Journal of Sport and Exercise Physiology
2026, 19(1): 58-78

Orginal Article

The effect of simultaneous intervention of interval aerobic training and mealworm extract on the expression of CHOP and BIP genes and oxidative stress markers of MDA and SOD in liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease

Zohreh Bagherpour, Alireza Rahimi*, Fariba Aghaei, Fuad Feizolahi

Department of Exercise Physiology, Ka.C., Islamic Azad University, Karaj, Iran

Abstract

Background and Purpose: Regulation of autophagy, endoplasmic reticulum (ER) stress, lysosomal activity and their relationship with oxidative stress have been proposed as underlying cellular targets in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Nowadays, it seems necessary to investigate the changes resulting from NAFLD therapeutic interventions, especially exercise and dietary modification, on some hepatic markers in autophagy, cellular stress, and lipid metabolism. Therefore, the aim of this study was to investigate the simultaneous effects of interval aerobic training and mealworm extract on the expression of genes of bound immunoglobulin protein (BIP), C/EBP homolog protein (CHOP), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) in liver tissue of rats with nonalcoholic fatty liver.

Materials and Methods: This experimental and applied study was conducted on 25 male Wistar rats, which were divided into five equal groups: 1) healthy, 2) diseased, 3) diseased + supplement, 4) diseased + exercise, 5) diseased + supplement + exercise. To induce NAFLD, the samples were fed a high-fat, cholesterol, and cholic acid diet for 12 weeks, and the healthy group received a standard rodent diet. After ensuring the induction of the disease, a moderate-intensity interval aerobic training protocol was performed, 8 weeks/5 sessions per week of treadmill running for a total of 30 minutes with gradual overload. The Mealworm extract supplement gavage was performed at a dose of 20 mg/kg body weight similar to the exercise days. Hepatic expression of BIP and CHOP genes was measured by Real-Time PCR and hepatic MDA and SOD concentrations were measured by Western blotting. Data were analyzed using independent t-tests and two-way analysis of variance.

Results: Hepatic levels of BIP, CHOP, and MDA were increased and SOD level was significantly decreased in NAFLD group. Exercise and mealworm extract separately and in interaction with each other, resulted in a significant decrease in BIP, CHOP, and MDA levels and a significant increase in SOD in

* Corresponding Author's E-mail: arrahimi@kiau.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.239438.1350
Received: 17/04/2025 Revised: 23/05/2025 Accepted: 22/06/2025

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

NAFLD rats ($p<0.01$). The effect size of exercise was higher than that of supplementation alone or the interaction of exercise and supplementation, only for SOD.

Conclusion: Employing aerobic interval training along with mealworm extract intake simultanuously may be effective in the treatment of NAFLD, possibly through reducing hepatic fat accumulation, ER stress, and oxidative stress, and their role in regulating autophagy. Further research is needed to clarify the mechanism of the effect of these interventions on BIP and CHOP genes and their mediating role in regulating autophagy and cellular stress.

Keywords: Exercise, Mealworm, C/EBP Homologous protein, Superoxide dismutase

How to cite this article: Bagherpour Z, Rahimi A, Aghaei F, Feizolahi F. The effect of simultaneous intervention of interval aerobic training and mealworm extract on the expression of CHOP and BIP genes and oxidative stress markers of MDA and SOD in liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(1):58-78.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۵۸-۷۸

مقاله پژوهشی

تأثیر مداخلهٔ همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصارهٔ کرم آرد بر بیان ژن‌های CHOP و BIP و نشانگرهای فشار اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

زهره باقرپور، علیرضا رحیمی*، فریبا آقایی، فؤاد فیض الهی

گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تنظیم اتوفاژی، تنش شبکهٔ اندوپلاسمی (ER)، فعالیت لیزوزومی و ارتباط آن‌ها با فشار اکسایشی به‌عنوان اهداف زیربنایی یافته‌ای در درمان کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) مطرح شده‌اند. امروزه بررسی تغییرات حاصل از مداخلات درمانی NAFLD به‌ویژه ورزش و اصلاح رژیم غذایی بر برخی نشانگرهای کبدی در اتوفاژی، تنش یافته‌ای و سوخت‌وساز چربی ضروری به‌نظر می‌رسد. از این‌رو، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مداخلهٔ همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصارهٔ کرم آرد بر بیان ژن‌های پروتئین ایمونوگلوبولین پیوندی (BIP)، پروتئین همولوگ C/EBP (CHOP)، مالون دی آلدئید (MDA) و سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این پژوهش تجربی و کاربردی، روی ۲۵ سر موش صحرایی نر ویستار انجام شد که به پنج گروه مساوی شامل ۱. سالم، ۲. بیمار، ۳. بیمار+ مکمل، ۴. بیمار+ ورزش، ۵. بیمار+ مکمل+ ورزش تقسیم شدند. به‌منظور القای NAFLD، نمونه‌ها به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب، کلسترول و اسید کولیک تغذیه شدند و گروه سالم، رژیم غذایی استاندارد جوندگان را دریافت کردند. پس از اطمینان از القای بیماری، تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط، هشت هفته، پنج جلسه در هفته دویدن روی نوار گردان (در مجموع ۳۰ دقیقه) همراه با اضافه بار تدریجی انجام شد. گاواژ مکمل عصارهٔ کرم آرد، با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن مشابه با روزهای ورزش صورت گرفت. اندازه‌گیری بیان کبدی ژن‌های BIP و CHOP به روش Real-Time PCR و غلظت‌های کبدی MDA و SOD به روش وسترن بلات صورت گرفت. داده‌های حاصل از طریق آزمون‌های آماری t-مستقل و تحلیل واریانس دوعاملی در سطح معناداری P≤۰/۰۵ بررسی شدند.

نتایج: در موش‌های صحرایی با الگوی NAFLD، افزایش سطوح کبدی BIP، CHOP و MDA و کاهش سطح SOD دیده شد. تمرین و دریافت عصارهٔ کرم آرد، هر کدام به‌تنهایی و همچنین در تعامل با یکدیگر به کاهش معنادار سطوح BIP، CHOP و MDA و افزایش معنادار SOD در موش‌های مبتلا به NAFLD منجر شدند (P≤۰/۰۱)؛ اندازهٔ اثر تمرین نسبت به مکمل تنها یا تعامل تمرین و مکمل، فقط در افزایش SOD بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: بر پایهٔ یافته‌های پژوهش گمان می‌رود مداخلات همزمان تمرین تناوبی هوازی به‌همراه دریافت عصارهٔ کرم آرد از طریق کاهش انباشت چربی کبدی، تنش ER و فشار اکسایشی و نقش آن‌ها در تنظیم اتوفاژی در درمان NAFLD مؤثر باشد. نیاز به پژوهش‌های بیشتر به‌منظور روشن شدن سازوکار اثر این مداخلات پژوهشی بر ژن‌های BIP و CHOP و نقش میانجیگری آن‌ها در تنظیم اتوفاژی و تنش یافته‌ای احساس می‌شود.

* رایانامه نویسنده مسئول: arrahimi@kiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۱

واژه‌های کلیدی: پروتئین همولوگ C/EBP، سوپراکساید دیسموتاز، کرم آرد، ورزش.

نحوه استناد به این مقاله: باقرپور ز، رحیمی ع، آقایی ف، فیض الهی ف. تأثیر مداخلهٔ همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصارهٔ کرم آرد بر بیان ژن‌های CHOP و BIP و نشانگرهای فشار اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی.۱۴۰۵؛۱۹(۱):۵۸-۷۸.

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی[1] (NAFLD)، یک بیماری سوخت‌وسازی اکتسابی است که افزایش غلظت تری‌گلیسیرید داخل‌یاخته‌ای در کبد، اولین مرحله برای بروز و پیشرفت این بیماری است که در صورت عدم کنترل پیشرفت آن، در نهایت به وضعیت پیشرفته‌تر مانند سیروز و تخریب سلول‌های کبدی منتهی می‌شود (۱). این بیماری به وضعیت دیابت نوع دو، هایپرلیپیدمی، فشار خون بالا و نشانگان سوخت‌وسازی وابسته است. یافته‌ها نشان می‌دهند که ترکیبی از عوامل گوناگون مانند مقاومت به انسولین، فشار اکسایشی، پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب میتوکندری، فشار شبکهٔ آندوپلاسمی[2] (ER)، اختلال در تنظیم اتوفاژی کبدی و عوامل دیگر موجب بروز این بیماری می‌شوند (۱).

از آنجا که انباشت بیش‌ازحد چربی در کبد، از دلایل اصلی تحریک تنش ER به‌شمار می‌رود، اختلال عملکرد ER در هپاتوسیت‌ها و اختلال در تعامل آن با میتوکندری در پاتوفیزیولوژی NAFLD به‌خوبی شناخته شده است. ER برای تکامل پروتئین‌ها بسیار مهم و ارزنده است و اختلال در عملکرد آن می‌تواند به انباشت پروتئین‌هایی که به‌درستی تا نخورده‌اند، منجر شود. در مقابل، اتوفاژی یک دستگاه بسیار حفاظت‌شده برای تخریب پروتئین‌های تاخوردهٔ نادرست و اندامک‌های آسیب‌دیده است که می‌تواند از طریق تنش ER تحریک شود (۲). تنش ER پیوسته و بیش‌ازحد، موجب مرگ یاخته‌ای از طریق آغاز آپوپتوز و القای پروتئین همولوگ C/EBP[3] (CHOP) یا با فعال شدن مسیرهای وابسته به کاسپاز می‌شود. CHOP mRNA بیشتر در طول تنش ER رونویسی شده و به آپوپتوز منجر می‌شود. CHOP در تنظیم اتوفاژی از طریق مسیرهای فعال‌شده توسط تنش ER نقش دارد. برای نمونه CHOP می‌تواند بر بیان ژن‌های وابسته به اتوفاژی تأثیر بگذارد و در نتیجه پاسخ اتوفاژیک را در شرایط تنش یاخته‌ای تعدیل کند (۳).

پروتئین ایمونوگلوبولین پیوندی[4] (BiP) که همچنین به‌عنوان GRP78 شناخته می‌شود، عامل مهمی در شبکهٔ آندوپلاسمی است که نقش مهم و ارزنده‌ای در مهار تنش ER، به‌ویژه در شرایطی مانند NAFLD ایفا می‌کند. در NAFLD، بیان BiP به التهاب و فشار اکسایشی وابسته است. یافته‌ها نشان داده‌اند که مداخلات کاهش سطح BiP می‌تواند تنش ER و پاسخ‌های التهابی وابسته به آن را کاهش دهد که نشان می‌دهد تعدیل BiP می‌تواند یک هدف درمانی در NAFLD باشد (۴). فشار اکسایشی که با انباشت بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن[5] (ROS) مشخص می‌شود، می‌تواند تنش ER را با افزایش تاخوردگی و انباشت پروتئین تشدید کند. این امر یک چرخهٔ معیوب ایجاد می‌کند که در آن تنش ER موجب افزایش بیشتر فشار اکسایشی می‌شود که سرانجام به آسیب یاخته‌ای می‌انجامد (۵). فشار اکسایشی به تشکیل فرآورده‌های پراکسیداسیون لیپیدی منجر می‌شود که به‌طور مستقیم واکنش‌های بنیان آزاد را تحریک می‌کند. در نتیجهٔ پراکسیداسیون لیپیدی، فراورده‌ای به نام مالون دی آلدئید[6] (MDA) تولید می‌شود که نیمهٔ عمر بیشتری نسبت به ROS دارد. این افزایش MDA وابسته به پیشرفت آسیب کبدی و اختلال در دفاع ضداکسایشی نیز است. یافته‌ها بیانگر این مسئله هستند که افزایش MDA به کاهش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند سوپراکسید دیسموتاز[7] (SOD) وابسته است که شاید فشار اکسایشی را در بیماران NAFLD تشدید کند. بیماران NAFLD، در کنار افزایش سطوح MDA، فعالیت SOD کمتری نسبت به افراد سالم نشان می‌دهند (۶).

خط اول درمان NAFLD مداخله در سبک زندگی از جمله رژیم غذایی و فعالیت ورزشی است. گزارش شده است که تمرین ورزشی هوازی از طریق کاهش محتوای چربی کبد و تنش ER در هپاتوسیت‌ها، می‌تواند در کاهش التهاب کبدی، مقاومت انسولینی، فشار اکسایشی،

استئاتوز و مرگ سلول‌های کبدی در بیماران NAFLD نقش محوری داشته باشد (۷،۸). بر پایهٔ یافته‌های تازه گفتنی است که شدت ورزش در مقابل حجم ورزش در بهبود اختلال سوخت‌وسازی مؤثرتر بوده است. بنابراین گمان می‌رود تمرین هوازی تناوبی با شدت‌های متوسط و بالا در بهبود NAFLD در مقایسه با تمرینات استقامتی تداومی مؤثرتر باشد (۹). در همین زمینه حاجی قاسم و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که هشت هفته تمرین هوازی تناوبی در موش‌های NAFLD با افزایش SOD و کاهش MDA همراه بود که روی‌هم‌رفته به بهبود اختلال سوخت‌وسازی ناشی از بیماری انجامید (۱۰). از طرفی، بر خلاف این یافته‌ها، اسمارت[8] و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی نظام‌مند با ۱۵۳۰ بیمار مبتلا به NAFLD گزارش کردند با آنکه کاهش محتوای چربی کبدی و بهبود نیمرخ لیپیدی، فعالیت ورزشی تغییر معناداری در سطوح آنزیم‌های کبدی در بیماران ایجاد نکرده است، گمان می‌رود که دلیل این تناقضات ناشی از الگوهای متفاوت تمرینی باشد (۱۱). همچنین به‌تازگی در سال ۲۰۲۴ یافته‌هایی در راستای تأثیرات فعالیت ورزشی بر تنش ER و نشانگرهای آن در NAFLD، نشان داد که یک ماه تمرین هوازی در موش‌های دیابتی با الگوی NAFLD القایی، توانست بیان پروتئین CHOP و نشانگرهای دیگر تنش ER در کبد و بیان ژن‌های آپوپتوز (کاسپاز ۸ و ۱۲) را به‌طور معناداری کاهش و بیان ژن‌های سوخت‌وساز چربی را افزایش دهد (۱۲). افزون بر این، در پژوهش دیگری سوزا تاوارس[9] (۲۰۲۴) گزارش کرد که موش‌های با الگوی MAFLD ناشی از رژیم غذایی پرچرب، در پی ۱۰ هفته تمرین هوازی تناوبی شدید، با کاهش معنادار بیان پروتئین BiP، کاهش تنش ER و مقاومت انسولینی را نشان دادند (۱۳).

در کنار تعدیل رژیم غذایی در جهت درمان NFALD، استفاده از برخی مکمل‌های غذایی برای کمک به درمان نیز پیشنهاد شده است. امروزه برخی مکمل‌ها بر پایهٔ حشرات خوراکی، اثرات تحریک‌کنندهٔ ایمنی و ضدسرطانی، ضددیابتی با ویژگی ضداکسایشی قوی نشان داده‌اند (۱۴). یکی از این مکمل‌ها، کرم آرد[10] یا لارو Tenebrio molitor است که افزون بر محتوای پروتئینی بالا، اثر ضدچاقی از طریق فعال‌سازی گیرندهٔ فعال‌کنندهٔ تکثیر پروکسی زوم گاما هم فعال‌سازـ ۱ آلفا[11] (PGC-1α) و ژن‌های دخیل در سوخت‌وساز چربی نشان داده است (۱۵). از آنجا که تا به امروز، درمان NAFLD بیشتر از طریق مداخلات در جهت کاهش وزن و چربی بوده است، استفاده از کرم آرد با ویژگی ضداکسایشی شاید فواید مضاعفی در بهبود NAFLD از خود نشان دهد. در همین زمینه، لی[12] و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که دریافت عصارهٔ لارو Tenebrio molitor به مدت ۱۰ هفته در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب، توانست انباشت چربی کبدی، وزن بدن، تودهٔ چربی، سطوح سرمی گلوکز، نیمرخ چربی خون و نشانگرهای لیپوژنز را به‌طور معناداری کاهش و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در کبد را افزایش دهد (۱۶). افزون بر این، تجویز خوراکی لارو T. molitor به موش‌های چاق به کاهش وزن و استئاتوز کبدی منجر شد که نشان‌دهندهٔ نقش درمانی بالقوه در مهار چاقی است (۱۷). با این همه، تأثیرات خاص کرم آرد بر نشانگرهای تنش ER که بیشتر به اختلالات سوخت‌وسازی وابسته است، به‌طور مستقیم در پیشینهٔ موجود مورد توجه قرار نگرفته است و پژوهش‌های بیشتری برای روشن شدن این تأثیرات و پیامدهای آن‌ها برای NAFLD و اختلالات سوخت‌وسازی مورد نیاز است. روی‌هم‌رفته حشرات خوراکی نه‌تنها مواد مغذی ضروری را فراهم می‌کنند، بلکه به‌عنوان منبع پایداری از ضداکسایندهها نیز عمل می‌کنند. فعالیت ضداکسایشی پپتیدهای مشتق از حشرات خوراکی، نشان‌دهندهٔ توان آن‌ها برای مبارزه با فشار اکسایشی است. افزون بر این، یافته‌ها نشان داده‌اند که وجود ترکیبات زیست‌فعال در حشرات خوراکی،

به‌ویژه پلی فنول‌ها، فعالیت ضداکسایشی چشمگیری از خود نشان می‌دهند که بیشتر از منابع سنتی مانند میوه‌ها و سبزیجات پیشی می‌گیرد (۱۸). این مکمل‌ها می‌توانند تعادل آنزیم‌های ضداکسایشی را بازیابی کنند و نشانگرهای آسیب اکسایشی را در الگوهای حیوانی کاهش دهند. تعدیل فشار اکسایشی به‌طور غیرمستقیم با بهبود هومئوستاز یاخته‌ای و کاهش بار پروتئین‌های بدتاخورده، تنش ER را کاهش می‌دهد (۱۹).

در نتیجه با توجه به نقش مکمل کرم آرد یا همان لارو Tenebrio molitor در بهبود سوخت‌وساز چربی و دفاع ضداکسایشی و از سوی دیگر، آثار فعالیت ورزشی منظم در بهبود کلی تنش ER در هپاتوسیت‌ها، تعدیل فشار اکسایشی و کاهش التهاب کبدی، گمان می‌رود این دو مداخله در کنار یکدیگر خروجی مؤثرتری در درمان NAFLD داشته باشند. از آنجا که پژوهش‌های انجام‌گرفته در زمینهٔ تأثیرات همزمان این دو مداخله بر نشانگرهای تنش ER، فشار اکسایشی و سوخت‌وساز چربی در بیماری NAFLD بسیار محدود است، بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مداخلهٔ همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصارهٔ کرم آرد بر بیان ژن‌های BIP و CHOP و نشانگرهای فشار اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD انجام شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش تجربی و با هدف کاربردی به‌منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، با توجه به دشواری‌های تعیین انحراف معیار و اندازهٔ اثر در زمان‌هایی که بیش از سه گروه وجود دارد، توصیه شده است از نرم‌افزارهای آماری مانند G Power استفاده شود. پس از استفاده از این نرم‌افزار، با انتخاب آزمون F و سپس روش آماری تحلیل واریانس (تأثیرات اصلی و تعاملی)، اندازهٔ اثر بزرگ یا قوی، مقدار α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۷۰ در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۵ سر موش صحرایی برای پنج گروه تعیین شد. استفاده از اندازهٔ اثر بزرگ، بر پایهٔ اندازهٔ اثر گزارش‌شده در نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین است. موش‌های صحرایی بالغ نر ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۲۰ ± ۲۷۰ گرم از مرکز بافت و ژن پاسارگاد تهیه شدند؛ موش‌ها با هدف سازگاری با محیط در محیطی با میانگین دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۴±۵۵ درصد و چرخهٔ روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های ویژه از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. همهٔ حیوانات به آب و غذای ویژهٔ موش صحرایی دسترسی آزاد داشتند. گفتنی است که همهٔ روش‌های آزمایشگاهی در این پژوهش مطابق با شیوه‌نامهٔ مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی هلسینکی ۱۹۶۴ و همچنین مطابق با شیوه‌نامه‌های کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت. این پژوهش بر پایهٔ طرح پژوهشی رسالهٔ دکتری با کد ۱۶۲۹۲۸۱۸۴ ثبت‌شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد.

روش اجرای پژوهش: موش‌های صحرایی پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید، به‌صورت تصادفی به پنج گروه (پنج سر موش صحرایی در هر گروه) شامل ۱. سالم، ۲. بیمار، ۳. بیمار+ مکمل، ۴. بیمار+ ورزش، ۵. بیمار+ مکمل+ ورزش تقسیم شدند.

به‌منظور ایجاد الگوی NAFLD القایی، گروه‌های بیمار با رژیم غذایی پرچرب، کلسترول و اسید کولیک به مدت ۱۲ هفته دچار بیماری شدند؛ گروه سالم با رژیم غذایی استاندارد جوندگان تغذیه شدند. با توجه به عناصر تشکیل‌دهندهٔ غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب مطابق شیوه‌نامهٔ ۱۲ هفته‌ای وانگ[۱۳]، شامل غذای پایهٔ جوندگان (استاندارد) همراه با ۱۵ درصد چربی حیوانی، ۱ درصد کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۰/۵ درصد اسید کولیک (شرکت سیگما-آمریکا) بود که توسط شرکت بافت و

ژن پاسارگاد روزانه تهیه شد و به‌صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت (۱۸). برای اطمینان از القای کبد چرب در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از پایان دورهٔ تغذیه و پیش از آغاز مداخلات اصلی پژوهش، نمونه‌های خونی از نوک دم موش‌های صحرایی گرفته شد. سپس سطوح گلوکز، نیمرخ چربی (تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، LDL و HDL) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، به‌عنوان نشانگرهای مهم در تشخیص کبد چرب، بررسی شدند. افزایش سطح این نشانگرها (ALT سرم بالای ۶۰ واحد/لیتر، AST بالای ۱۴۰ واحد/لیتر، گلوکز بالای ۱۶۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، تری‌گلیسیرید و کلسترول بالای ۲۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، LDL بالای ۱۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و HDL کمتر از ۴۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر)، تأییدی بر ابتلای موش‌های صحرایی به کبد چرب بود. همچنین وزن موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از ۱۲ هفته الگوسازی به میانگین ۲۰ ± ۴۲۰ گرم رسید.

پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه برای گروه‌های تمرین ورزشی (پیش از دریافت رژیم غذایی پرچرب)، دو هفته و سه جلسه در هفته زمان، به‌منظور آشنایی با روش تمرین استقامتی تناوبی دویدن روی نوار گردان و تعیین شدت نسبی تمرین در نظر گرفته شد. در طول این دو هفته موش‌های گروه‌های تمرینی با دویدن روی نوار گردان با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آشنا شدند. روز پیش از اجرای روش تمرین استقامتی تناوبی، طرح آزمایشی برنامهٔ تمرینی بر روی پنج سر موش صحرایی به‌منظور برآورد VO2max مناسب تمرین انجام شد. همچنین پنج سر موش صحرایی دیگر به‌عنوان گروه طرح آزمایشی برای اندازه‌گیری بیشینهٔ سرعت دویدن روی نوار گردان انتخاب شد و برای برآورد بیشینهٔ سرعت دویدن، آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت پنج متر بر دقیقه آغاز و سرعت نوار گردان به ازای هر دو دقیقه، دو متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا موش‌های صحرایی قادر به دویدن نباشند (واماندگی). در این آزمون سرعت ۲۰ متر در دقیقه سرعت لازم جهت رسیدن به واماندگی حاصل شد. پس از برآورد بیشینهٔ سرعت، گروه‌های تمرینی، برنامهٔ تمرین استقامتی را مطابق روش لی[۱۴] و همکاران (۲۰۲۲) به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته اجرا کردند (۲۰) (جدول ۱).

جدول ۱. روش تمرین استقامتی

گروه‌ها	مدت زمان آشناسازی با تمرین	مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن (دقیقه)	مدت زمان بدنهٔ اصلی تمرین (دقیقه)	تعداد وهله‌های تمرینی در هر جلسه	نسبت کار به استراحت (W:R)	اضافه بار	شدت (VO2max)
گروه بیمار + ورزش	دو هفته	دویدن با سرعت پنج متر/دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	هفتهٔ اول، ۱۰ وهله فعالیتی یک‌دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) با تناوب‌های استراحتی دودقیقه‌ای (با سرعت پنج متر در دقیقه)	۲:۱	اعمال اضافه بار در سرعت در وهله‌های فعالیتی: هفتهٔ اول، سرعت ۱۰ متر/دقیقه هفتهٔ دوم، سرعت ۱۲ متر/دقیقه هفتهٔ سوم، سرعت ۱۴ متر/دقیقه هفتهٔ چهارم تا هشتم، سرعت ۱۶ متر/دقیقه	
گروه بیمار + ورزش + مکمل							۵۰ درصد ۶۰ درصد ۷۰ درصد ۸۰ درصد

موش‌های صحرایی در گروه بیمار + مکمل و گروه بیمار + مکمل + ورزش، مکمل پروتئینی عصارهٔ کرم آرد را به مقدار ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۴۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته مشابه با روزهای تمرینی در ساعات صبح به‌صورت گاواژ دریافت کردند (۲۰). این مکمل پروتئینی دارای ارزش غذایی در ۱۰۰ گرم میل ورم خشک به شرح زیر بود: رطوبت ۵ درصد، پروتئین ۵۰ درصد، چربی ۲۸ درصد، فیبر ۶ درصد، کربوهیدرات ۱/۷۳ درصد، آهن ۲/۰۶ درصد و انرژی آن در هر ۱۰۰ گرم ۵۱۵/۶ کیلوکالری (۲۱). در گروه‌های دیگر از آب مقطر به‌عنوان حلال استفاده شد.

روش‌های آزمایشگاهی: به‌منظور از بین بردن تأثیرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی و گاواژ مکمل، بافت‌برداری کبد در هر گروه انجام گرفت. حیوانات با تزریق درون‌صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی‌گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و مقدار ۳۰ میلی‌گرم از لوب میانی بافت کبدی به‌دلیل پراکندگی نسبتاً یکنواخت چربی در این ناحیه بی‌درنگ برداشته شد. بافت نمونهٔ هر حیوان بی‌درنگ در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد.

بیان ژن‌های CHOP و BiP با روش Real-Time PCR (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems) بررسی شد. استخراج RNA به‌صورت RNX-Pluse و به‌منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده شد. ابتدا توالی mRNA ی مربوط به ژن‌های CHOP و BiP با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. آغازگرها از طریق نرم‌افزار رایانه‌ای AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر از طریق نرم‌افزار BLAST به‌منظور اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن آغازگرها ارزیابی شد. در این پژوهش از ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های MDA و SOD در کبد از روش وسترن بلات استفاده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از بافر لیز سرد به پنج میلی‌گرم از بافت به سرعت اضافه و با هموژنایزر الکتریکی هموژنیزه شد؛ سپس دو بار دیگر با ۲۰۰ میکرومول بافر لیز شسته شد و پس از آن به مدت دو ساعت در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد در یک میکرو سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. سوپرنانت جدا شده و در یک لولهٔ جدید در یخ قرار داده خواهد شد. پس از تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از آزمون پروتئین BCA (بیسین چونینیک) (سیگما، آلمان)، مقدار مساوی از نمونه‌های پروتئین (۳۰ میلی‌گرم پروتئین‌های MDA و SOD) توسط ژل سدیم دودسیل سولفات (SDS) - پلی اکریلامید جداسازی شد. پروتئین‌های جداشده به غشای نیتروسلولزی یا PVDF شرکت GE انگلستان منتقل شد. پس از بلاکینگ در محلول TTBS غشای PVDF به مدت یک شب در آنتی‌بادی اولیه آنتی MDA و SOD و آنتی بتا - اکتین (با نسبت۱۰۰۰: ۱) (Abcam انگلستان) در چهار درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شد. متعاقباً غشای PVDF با استفاده از TTBS سه بار شست‌وشو داده شد و سپس به مدت دو ساعت در معرض آنتی‌بادی ثانویهٔ متصل به HRP (Abcam انگلستان) قرار گرفت. سپس غشا شست‌وشو داده شد و نوارهای پروتئینی با استفاده از کیت شناسایی chemilumescence (شرکت GE انگلستان) و فیلم‌های اتورادیوگرافی (شرکت GE انگلستان) ظاهر شدند و نسبت به کنترل داخلی GAPDH نرمالیزه و بهنجار شد (۲۲).

تحلیل آماری: داده‌های مورد نیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۴ در سطح

معناداری P<۰/۰۵ پردازش و تحلیل شدند و همهٔ یافته‌ها به‌صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد؛ سپس به‌منظور تعیین تفاوت بین‌گروهی (کنترل سالم با کنترل بیمار) و بررسی پیش‌فرض، از آزمون آماری t-مستقل و برای بررسی تأثیر تعاملی تمرین هوازی تناوبی و عصارهٔ کرم آرد بر بیان ژن‌های BIP و CHOP و نشانگرهای فشار اکسایشی MDA و SOD از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.

نتایج

یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد بررسی در پس‌آزمون نمونه‌های این پژوهش در جدول ۲ نشان داده شده است.

یکی از پیش‌فرض‌های این پژوهش، تأثیر ابتلا به NAFLD بر سطوح CHOP، BIP، MDA و SOD در موش‌های دارای الگوی بیماری بود. برای بررسی این پیش‌فرض و تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و بیمار از روش آماری t-مستقل استفاده شد که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۲. میانگین و انحراف استاندارد بیان نسبی ژن‌ها و غلظت نسبی پروتئین‌های مورد بررسی پس از اجرای پژوهش

گروه‌ها	CHOP		BIP		MDA		SOD	
	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M
سالم	۰/۰۰۷	۰/۱۱۷	۰/۰۱۶	۰/۰۳۹	۰/۰۱۴	۰/۰۲۳	۵/۸۷	۸۳/۸۲
بیمار	۰/۰۱۷	۱/۱۲	۰/۰۴۸	۱/۰۰۱	۰/۰۳۳	۰/۹۳۶	۱/۳۸	۱۵/۵۰
بیمار + ورزش	۰/۰۲۹	۰/۴۲۷	۰/۰۲۰	۰/۲۲۹	۰/۰۰۷	۰/۳۵۷	۳/۳۱	۴۱/۸۰
بیمار + مکمل	۰/۰۲۰	۰/۴۴۳	۰/۰۴۰	۰/۱۷۸	۰/۰۱۱	۰/۴۵۲	۴/۵۴	۳۸/۱۴
بیمار + مکمل + ورزش	۰/۰۲۵	۰/۱۹۶	۰/۰۳۱	۰/۰۶۴	۰/۰۰۹	۰/۳۰۶	۸/۲۷	۵۸/۶۰

جدول ۳. نتایج آزمون t-مستقل جهت تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و دارای الگوی NAFLD

متغیر	Sig.	df	t
CHOP	۰/۰۰۰*	۸	۱۱۸/۳
BIP	۰/۰۰۰*	۸	۴۲/۳۷
MDA	۰/۰۰۰*	۸	۵۵/۲
SOD	۰/۰۰۰*	۸	-۲۵/۳۱

* بیانگر اختلاف معنادار با گروه سالم (P≤۰/۰۵)

نتایج آزمون t-مستقل در بررسی تفاوت‌های بین‌گروهی نشان داد که مقدار CHOP، BIP و MDA در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم به‌طور معناداری افزایش و سطح SOD در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم به‌طور معناداری کاهش یافت (P≤۰/۰۵).

نتایج روش آماری تحلیل واریانس دوعاملی برای تعیین تغییرات بین‌گروهی متغیرهای مورد بررسی در جدول ۴ و همچنین در شکل ۱ دیده می‌شود.

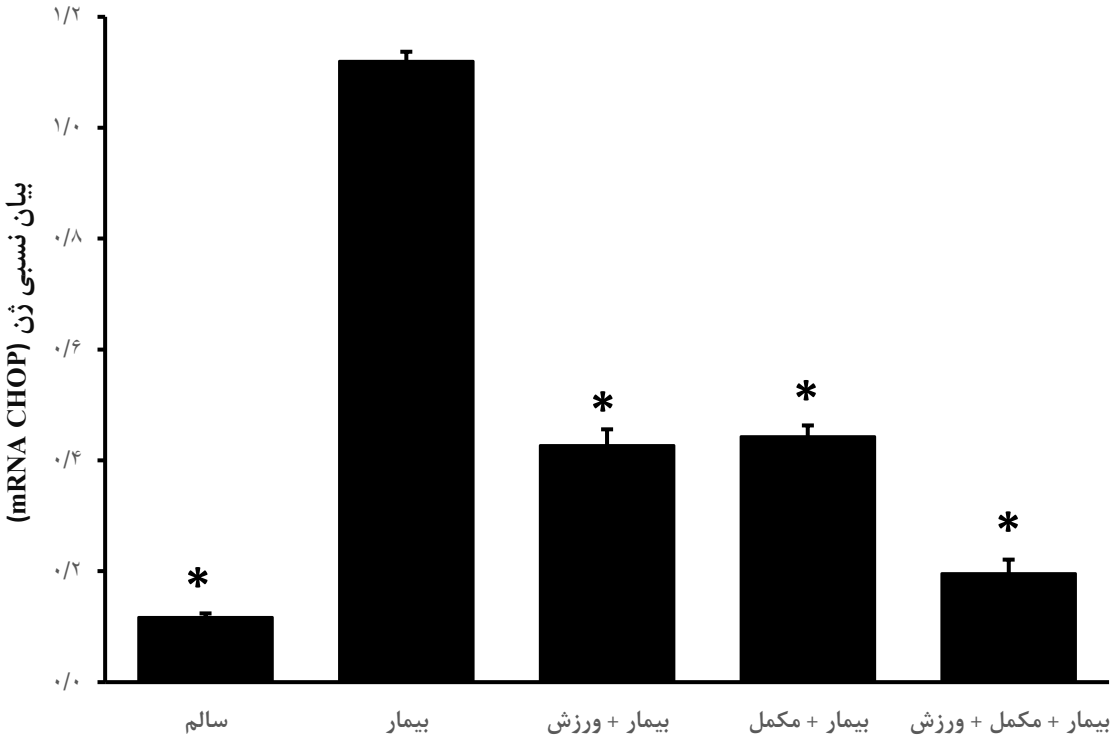
جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس دوعاملی برای تغییرات بیان نسبی ژن‌ها و غلظت نسبی پروتئین‌های مورد بررسی

متغیرها	منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
CHOP	تمرین	۱/۱۱	۱	۱/۱۱	۱۹۹۵/۴	≤۰/۰۰۱*	۰/۹۹
	مکمل	۱/۰۴	۱	۱/۰۴	۱۸۶۷/۶	≤۰/۰۰۱**	۰/۹۹
	تمرین×مکمل	۰/۲۵۷	۱	۰/۲۵۷	۴۵۸/۴	≤۰/۰۰۱***	۰/۹۶
	خطا	۰/۰۰۹	۱۶	۰/۰۰۱			
BIP	تمرین	۰/۹۸۲	۱	۰/۹۸۲	۷۳۴/۶	≤۰/۰۰۱*	۰/۹۷
	مکمل	۱/۲۱	۱	۱/۲۱	۹۱۰/۵۹	≤۰/۰۰۱**	۰/۹۸
	تمرین×مکمل	۰/۵۴۰	۱	۰/۵۴۰	۴۰۴/۲	≤۰/۰۰۱***	۰/۹۶
	خطا	۰/۰۲۱	۱۶	۰/۰۰۱			
MDA	تمرین	۱/۰۸	۱	۱/۰۸	۲۷۰۶/۲	≤۰/۰۰۱*	۰/۹۹
	مکمل	۰/۹۷۷	۱	۰/۹۷۷	۲۴۴۷/۵	≤۰/۰۰۱**	۰/۹۹
	تمرین×مکمل	۰/۵۴۲	۱	۰/۵۴۲	۱۳۵۶/۴	≤۰/۰۰۱***	۰/۹۸
	خطا	۰/۰۰۶	۱۶	۰/۰۰۰۱			
SOD	تمرین	۵۴۰۸/۸	۱	۵۴۰۸/۸	۲۱۲/۲	≤۰/۰۰۱*	۰/۹۳
	مکمل	۵۲۳/۰۵	۱	۵۲۳/۰۵	۲۰/۵۲	≤۰/۰۰۱**	۰/۵۶
	تمرین×مکمل	۲۱۷/۰۶	۱	۲۱۷/۰۶	۸/۵۱	۰/۰۱۰***	۰/۳۴
	خطا	۴۰۷/۸۲	۱۶	۲۵/۴۸			

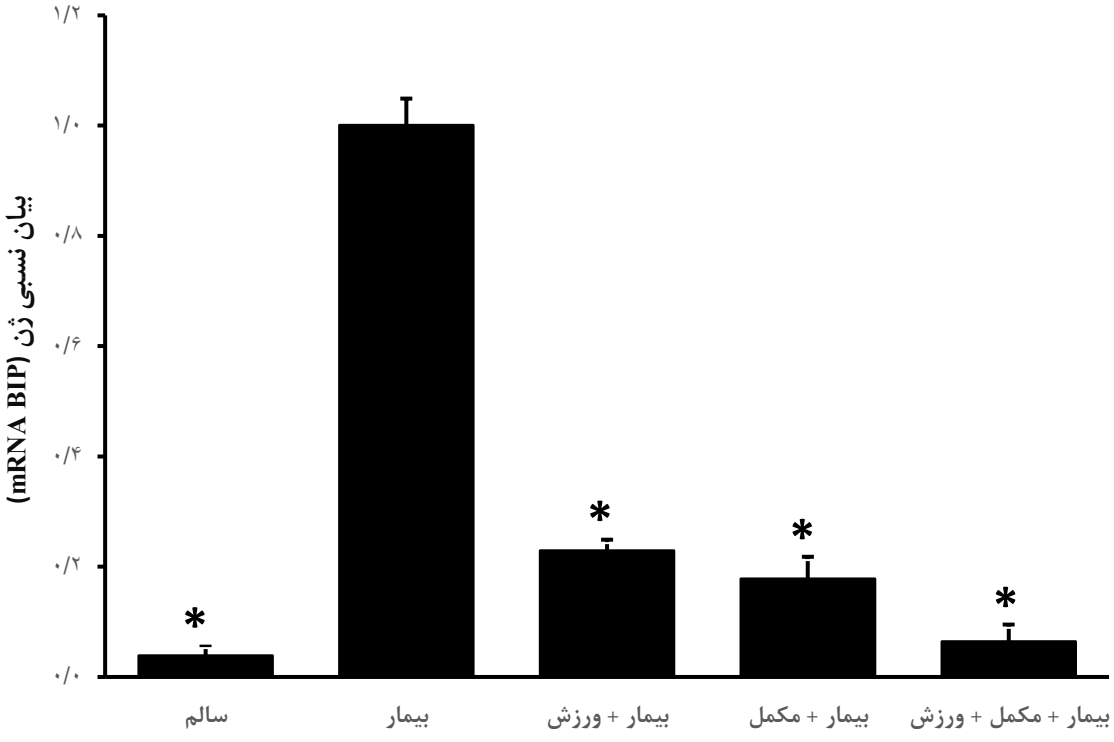
* بیانگر اثر معنادار تمرین هوازی تناوبی بر تغییرات متغیرهای پژوهش (P≤۰/۰۵)

** بیانگراثر معنادار مکمل عصارهٔ کرم آرد بر تغییرات متغیرهای پژوهش (P≤۰/۰۵)

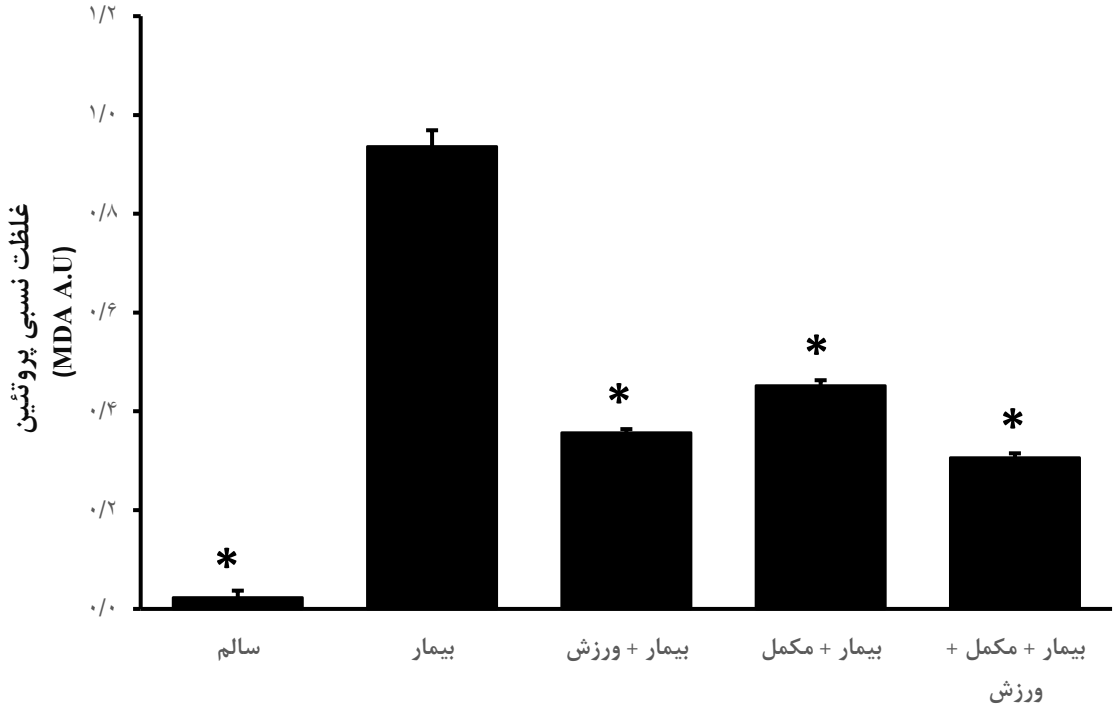
*** نشان‌دهندهٔ اثر تعاملی معنادار تمرین هوازی تناوبی همراه با مکمل عصارهٔ کرم آرد بر تغییرات متغیرهای پژوهش (P≤۰/۰۵)



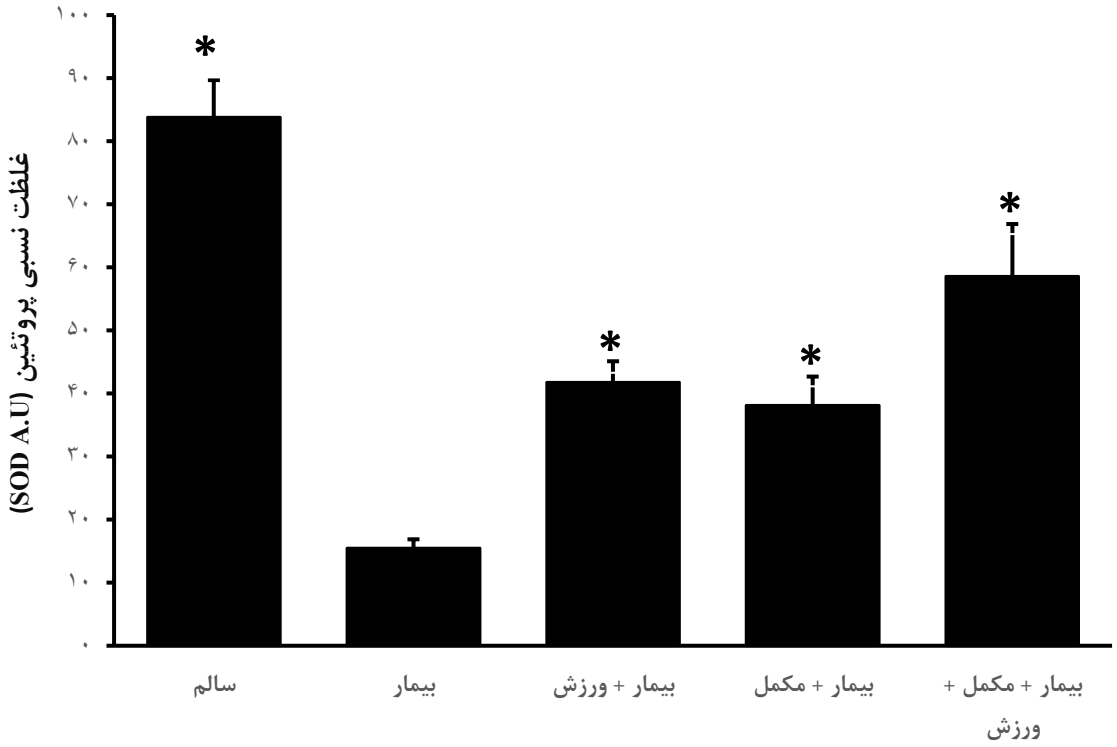
شکل ۱. تغییرات بیان نسبی ژن CHOP در کبد پس از مداخله
*** نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار با گروه بیمار (P≤۰/۰۵)**



شکل ۲. تغییرات بیان نسبی ژن BIP در کبد پس از مداخله
*** نشان‌دهندۀ تفاوت معنادار با گروه بیمار (P≤۰/۰۵)**



شکل ۳. تغییرات غلظت نسبی پروتئین MDA در کبد پس از مداخله
*** نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار با گروه بیمار (P≤۰/۰۵)**



شکل ۴. تغییرات غلظت نسبی پروتئین SOD در کبد پس از مداخله
*** نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار با گروه بیمار (P≤۰/۰۵)**

همان‌طور که در جدول ۴ و شکل‌های ۱ تا ۴ دیده می‌شود، نتایج حاصل از آزمون آماری تحلیل واریانس دوعاملی در تعیین تغییرات بین‌گروهی در متغیرهای مورد بررسی نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی به کاهش معنادار CHOP (P<۰/۰۰۱)، BIP (P<۰/۰۰۱) و MDA (P<۰/۰۰۱) و همچنین افزایش معنادار SOD (P<۰/۰۰۱) در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب منجر شد.

افزون بر این، یافته‌های آماری نشان داد که یک دوره دریافت مکمل عصارهٔ کرم آرد به کاهش معنادار CHOP (P<۰/۰۰۱)، BIP (P<۰/۰۰۱) و MDA (P<۰/۰۰۱) و همچنین افزایش معنادار SOD (p<۰/۰۰۱) در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب انجامید.

همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی همراه با دریافت مکمل عصارهٔ کرم آرد توانست سطوح CHOP (P<۰/۰۰۱)، BIP (P<۰/۰۰۱) و MDA (P<۰/۰۰۱) را در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب به‌طور معناداری کاهش و سطح SOD (P=۰/۰۱۰) را به‌طور معناداری افزایش دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

بر پایهٔ یافته‌های این پژوهش، ابتلا به NAFLD در موش‌ها موجب افزایش سطوح CHOP، BIP و MDA و همچنین کاهش سطح SOD در کبد شد. این نتایج، در پژوهش‌های گذشته نیز تأیید شده است (۳،۴،۶). یافته‌های نشان داده‌اند که تنش ER پیوسته و پایدار که در NAFLD رخ می‌دهد، از طریق رونویسی CHOP mRNA به مرگ هپاتوسیت‌ها منجر می‌شود (۳). از طرفی، در طول بیماری، با گسترش التهاب کبدی و فشار اکسایشی، بیان BiP نیز افزایش می‌یابد که یک عامل مهم در شبکهٔ آندوپلاسمی است که نقش برجسته و ارزشمندی در مهار تنش ER، به‌ویژه در شرایطی مانند NAFLD ایفا می‌کند (۴). افزایش فشار اکسایشی با تشکیل فراورده‌های پراکسیداسیون لیپیدی به‌ویژه MDA همراه است. افزایش MDA نیز به پیشرفت آسیب کبدی و اختلال در دفاع ضداکسایشی وابسته است و کاهش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند SOD در NAFLD در این شرایط دیده شده است (۶).

یافته‌های اصلی این پژوهش نشان می‌دهد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی و دریافت مکمل عصارهٔ کرم آرد هر کدام به‌طور جداگانه و همچنین در تعامل با یکدیگر به کاهش معنادار سطوح CHOP، BIP و MDA و افزایش سطح SOD در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD منجر شد. هرچند اندازهٔ اثر مداخلهٔ تمرین تنها، مکمل تنها و دریافت همزمان مداخلهٔ تمرین و مکمل در تغییرات CHOP، BIP و MDA کمابیش یکسان بود؛ درحالی‌که مداخلهٔ تمرین تنها، بیشترین اندازهٔ اثر را در افزایش SOD کبدی در قیاس با مکمل تنها و تعامل تمرین و مکمل داشت.

همسو با این یافته‌ها، به‌تازگی پژوهش‌ها (۲۰۲۴) نشان داده‌اند که تمرین هوازی منظم با کاهش سطوح نشانگرهای تنش ER به‌ویژه CHOP و BiP، ژن‌های آپوپتوزی، مقاومت انسولینی و از طرفی افزایش ژن‌های دخیل در سوخت‌وساز چربی در نمونه‌های مبتلا به اختلالات سوخت‌وسازی و NAFLD، نقش مهمی در بهبود کبد چرب داشته‌اند (۱۲،۱۳). در همین زمینه نیز بوزی[15] و همکاران نشان داده‌اند که تمرین هوازی دوماهه با شدت متوسط در موش‌ها، با کاهش سطوح CHOP و BiP (GRP78) و بهبود کنترل کیفیت پروتئین که برای حفظ کارکرد یاخته‌ای تحت فشار بسیار مهم است، تنش ER را کاهش می‌دهد (۲۴). همسو با این یافته‌ها، یافته‌های پژوهش (۲۰۲۵) نشان داده است که تمرینات تناوبی هوازی پرشدت، با کاهش چشمگیری در CHOP و

سایر نشانگرهای تنش ER در بیماران مبتلا به NAFLD همراه بوده است که نشان‌دهندۀ بهبود نیمرخ‌های سوخت‌وسازی و التهابی، بهبود کارکرد کبد و کاهش فشار اکسایشی است (۲۵). افزون بر این، یافته‌ها به‌طور پیاپی از تأثیرات چشمگیر تمرین هوازی در کاهش نشانگرهای فشار اکسایشی به‌ویژه MDA و افزایش ضداکسایندەهایی مانند SOD در NAFLD و بهبود کلی اختلالات سوخت‌وسازی در این بیماری حمایت کرده‌اند (۱۰)؛ در این زمینه می‌توان به یافته‌های پژوهش حاجی قاسم (۲۰۱۹) و یانگ[۱۶] (۲۰۲۳) اشاره کرد. تمرین هوازی به‌ویژه با شدت متوسط، بیشتر با کاهش سطح MDA همراه بوده است. برای نمونه، یانگ (۲۰۲۳) نشان داد که پس از یک مداخلۀ ورزشی هوازی ۱۲ هفته‌ای در بیماران چاق مبتلا به NAFLD، غلظت MDA پایین‌تر و فعالیت SOD بالاتر در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل دیده شد که نشان‌دهندۀ بهبود وضعیت فشار اکسایشی است (۲۶). از سوی دیگر، دریافت کرم آرد یا لارو Tenebrio molitor اثر ضدچاقی از طریق فعال‌سازی PGC-1α و ژن‌های دخیل در سوخت‌وساز چربی نشان داده است (۱۵). از آنجا که تا به امروز، درمان NAFLD بیشتر از طریق مداخلات در جهت کاهش وزن و چربی بوده است، گمان می‌رود استفاده از کرم آرد با ویژگی ضداکسایشی، فواید مضاعفی در بهبود NAFLD از خود نشان دهد. در همین زمینه لی[۱۷] همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی، کاهش انباشت چربی کبدی، وزن بدن، تودۀ چربی، سطوح سرمی گلوکز، نیمرخ چربی خون، نشانگرهای لیپوژنز و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در کبد را در پی یک دوره دریافت عصارۀ لارو Tenebrio molitor نشان داد (۱۶). سئو[۱۸] و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که تجویز خوراکی لارو T. molitor به موش‌های چاق به کاهش وزن و استئاتوز کبدی منجر شد (۱۷). پژوهش دیگری نشان داد که عصارۀ کرم آرد می‌تواند فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی از جمله SOD را در الگوهای آزمایشگاهی C.elegans افزایش دهد (۲۷). با این همه، پیشینۀ پژوهشی موجود به‌طور مستقیم به آثار خاص عصارۀ لارو Tenebrio molitor بر نشانگرهای تنش ER که به‌طور معمول با اختلالات سوخت‌وسازی مرتبط‌اند، نپرداخته‌اند. همچنین پژوهش‌ها در زمینۀ تأثیر همزمان مداخلات ورزش و کرم آرد بر نشانگرهای تنش ER، فشار اکسایشی و سوخت‌وساز چربی در بیماری NAFLD بسیار محدود است. اگرچه فعالیت ضداکسایشی پپتیدهای مشتق از حشرات خوراکی و همچنین ترکیبات زیست‌فعال آن‌ها به‌ویژه پلی‌فنول‌ها، نشان‌دهندۀ توانایی آن‌ها برای مبارزه با فشار اکسایشی است (۱۸). از این‌رو، دریافت حشرات خوراکی با کاهش سطح نشانگرهای تنش ER مرتبط شناخته شده است. برای نمونه، در تحقیق ژو[۱۹] و همکاران (۲۰۲۰)، خواص ضداکسایشی لارو مگس سرباز سیاه با کاهش آسیب اکسایشی مرتبط بود که می‌تواند پاسخ‌های تنش ER را کاهش دهد (۲۸). افزون بر این، یافته‌ها نشان می‌دهد که تأثیرات ضداکسایشی حشرات خوراکی شاید به تعدیل بیان ژن‌های وابسته به فشار کمک کند که به‌طور بالقوه در تنظیم کاهشی سطوح CHOP و BIP نقش دارند (۲۹).

تمرین ورزشی هوازی روی‌هم‌رفته تنش ER را بهبود می‌بخشد که عامل مهمی در پاتوژنز NAFLD و اختلالات سوخت‌وسازی است. سازوکارها شامل تنظیم بیان نشانگرهای کلیدی مانند CHOP و BiP است. تمرین هوازی از طریق افزایش سوخت‌وساز چربی در هپاتوسیت‌ها، کاهش التهاب کبدی و بهبود حساسیت به انسولین، بیان CHOP و BiP را به‌صورت

کاهشی تنظیم می‌کند که این امر تنش ER را کاهش می‌دهد (۲). یافته‌های موجود نشان داده‌اند که تمرین ورزشی وابسته به کاهش سطوح CHOP به‌عنوان یک عامل پیش‌آپوپتوتیک که نشان‌دهندهٔ اثر محافظتی ورزش در برابر مرگ یاخته‌ای در کبد است. ورزش به‌ویژه از نوع هوازی موجب فعال شدن مسیر پیام‌رسانی PERK-ATF4-CHOP می‌شود که به مهار تنش ER و بهبود کارکرد کبد کمک می‌کند (۳۰). افزون بر این، انجام تمرین ورزشی در NAFLD با سطوح پایین‌تر MDA و افزایش فعالیت SOD همراه بوده است که نشان‌دهندهٔ بهبود فشار اکسایشی است. تمرین هوازی با شدت متوسط به‌ویژه در افزایش ظرفیت ضداکسایشی و کاهش آپوپتوز هپاتوسیت مؤثر است، همان‌طور که با کاهش بیان نشانگرهای پیش‌آپوپتوتیک مشهود است (۳۱). ورزش هوازی با فعال‌سازی مسیر SIRT1/AMPK، افزون بر تقویت سوخت‌وساز چربی و کاهش انباشت چربی کبدی، با تحریک سنتز ضداکساینده‌های درونزاد از جمله SOD، در نهایت به کاهش سطح گونه‌های فعال اکسیژن و MDA منجر می‌شود (۳۲). تأثیرات مثبت دریافت عصارهٔ کرم آرد یا لارو Tenebrio molitor در بهبود سوخت‌وساز چربی و وضعیت فشار اکسایشی در پژوهش‌های مختلف مطرح شده است. گمان می‌رود سازوکار این تأثیرات مفید به فعال‌سازی PGC-1α توسط مداخلات رژیم‌های غذایی بر پایهٔ لارو Tenebrio molitor یا مکمل‌یاری با عصارهٔ کرم آرد مربوط می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که لارو Tenebrio molitor، به‌طور مثبت بر سطوح PGC1α در الگوهای چاقی و بیماری NAFLD تأثیر می‌گذارد که نشان‌دهندهٔ افزایش اکسایش اسیدهای چرب در این نمونه‌هاست (۱۵). عصارهٔ تخمیری کرم آرد همچنین تأثیرات محافظتی در برابر استئاتوز کبدی نشان می‌دهد که نشان‌دهندهٔ سازوکار بالقوه برای بهبود سلامت سوخت‌وسازی از طریق تعدیل PGC1α و مسیرهای وابسته به آن است (۳۳). همچنین گنجاندن کرم آرد در رژیم‌های غذایی پرچرب به کاهش چربی و بهبود شاخص‌های سوخت‌وسازی منجر شد که با افزایش سطح PGC1α همراه است (۳۴). بهبود سوخت‌وساز چربی در کبد و کاهش ذخایر تری‌گلیسیرید کبدی به‌واسطهٔ افزایش PGC1α، در نهایت با کاهش تنش ER و نشانگرهای آن از جمله CHOP و BiP همراه خواهد بود. فعال‌سازی PGC1α نقش مهمی در بهبود فشار اکسایشی و افزایش ظرفیت ضداکسایشی از طریق سازوکارهای مختلف ایفا می‌کند. PGC1α بیان آنزیم‌های ضداکسایشی مختلف از جمله SOD، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد و این تنظیم مثبت به حذف ROS کمک می‌کند. همچنین PGC1α با عامل تنفس هسته‌ای-۲ [۲۰] (NRF2)، یک تنظیم‌کنندهٔ اصلی دفاع ضداکسایشی، تعامل دارد. این تعامل، رونویسی ژن‌های دخیل در پاسخ‌های ضداکسایشی را ترویج کرده و محافظت یاخته‌ای را در برابر فشار اکسایشی بیشتر می‌کند (۳۵).

با توجه به تأثیر مثبت مداخلهٔ همزمان تمرین هوازی و عصارهٔ کرم آرد بر متغیرهای مورد بررسی، گمان می‌رود نقطهٔ مشترک سازوکار اثر این دو مداخله در بهبود سوخت‌وساز چربی و کاهش فشار اکسایشی به فعال‌سازی PGC1α از طریق مسیرهای مشابه معطوف شود. تمرین ورزشی هوازی، عاملی قوی در فعال‌سازی مسیر پروتئین کیناز فعال‌شده با آدنوزین مونو فسفات[۲۱] (AMPK) به‌شمار می‌رود (۳۶). از طرفی با افزایش مدت زمان تمرین هوازی تناوبی و تخلیهٔ ذخایر گلیکوژن که خود به‌عنوان محرکی جداگانه برای فعال شدن AMPK عمل می‌کند، مسیر پیام‌رسانی p38 پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن[۲۲]

(MAPK) نیز می‌تواند فعال شود. فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی p38 MAPK و AMPK در نهایت به افزایش بیان PGC-1α در هسته منجر می‌شود (۳۶). از سوی دیگر، یافته‌ها نشان داده‌اند که عصارۀ لارو Tenebrio molitor می‌تواند با فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی AMPK و پروتئین کینازهای فعال‌شده با میتوژن[۲۳] (MAPKs) موجب مهار چربی زایی در سلول‌های چربی شود. این فعال‌سازی به کاهش انباشت چربی و محتوای تری‌گلیسیرید در سلول‌ها منجر می‌شود که فرایندهایی هستند که بیشتر با تنظیم PGC1α، تنظیم‌کنندۀ کلیدی سوخت‌وساز انرژی و عملکرد میتوکندری مرتبط‌اند (۱۷). در نتیجه فعال‌سازی این عامل کلیدی، با بهبود سوخت‌وساز چربی در کبد می‌تواند تنش ER را کاهش دهد و از طرف دیگر با تنظیم بیان ضداکساینده‌ها از مسیرهای مختلف، فشار اکسایشی را تعدیل کند (۱۵،۳۵).

از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی فشار ناشی از شوک دستگاه نوار گردان، عدم ارزیابی سطح خونی ترکیبات فعال عصارۀ کرم آرد برای تأیید جذب واقعی و رسیدن به بافت کبد، ناتوانی در بررسی پویایی نشانگرهای پژوهش و نمونه‌برداری کبد در یک نقطۀ زمانی پس از اتمام هشت هفته که مانع بررسی تغییرات پویای (زمانی) نشانگرها می‌شود و دسترسی نداشتن به تعداد نمونۀ آماری بالاتر اشاره کرد. در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود که تعداد نمونه‌های بیشتر مدنظر قرار گیرد و پس از گاواژ مکمل، سطح در گردش ترکیبات زیست‌فعال کرم آرد به‌ویژه پلی‌فنول‌های آن اندازه‌گیری شود.

تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و دریافت عصارۀ کرم آرد هر کدام به‌تنهایی با ایجاد تغییرات مثبت بر سطوح کبدی برخی نشانگرهای مهم دخیل در تنش ER و فشار اکسایشی، با تنظیم سوخت‌وساز چربی و بهبود ظرفیت ضداکسایشی، شاید در درمان NAFLD مؤثر واقع شود. افزون بر این، گمان می‌رود دریافت همزمان این دو مداخله، تأثیرات مشابهی حاصل خواهد کرد؛ نیاز به پژوهش‌های بیشتر به‌منظور روشن شدن سازوکار اثر این مداخلات پژوهشی بر ژن‌های BIP و CHOP و نقش میانجیگری آن‌ها در تنظیم اتوفاژی و تنش یاخته‌ای احساس می‌شود.

انجام پژوهش‌های بیشتر با توجه به محدود بودن تحقیقات در زمینۀ اثر تعاملی تمرین ورزشی و دریافت کرم آرد بر عملکرد میتوکندری، سوخت‌وساز چربی، تنظیم تنش ER و ارتباط متقابل آن با اتوفاژی، با توجه به نقش اساسی آن‌ها در درمان NAFLD، ضروری به‌نظر می‌رسد. از این‌رو پیشنهاد می‌شود پژوهشی مشابه روی نمونه‌های مبتلا به چاقی و یا دیابت نوع دو که با NAFLD در ارتباط‌اند، در آینده اجرا شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر پایۀ پایان‌نامۀ دکتری تخصصی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، است. هزینه‌های پژوهش بر عهدۀ پژوهشگر بوده است. نویسنده از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج به‌سبب همکاری صمیمانه تشکر می‌کند.

حمایت مالی

هزینه‌های این پژوهش بر عهدۀ پژوهشگر بوده است.

مشارکت نویسندگان

نگارش، زهره باقرپور – ویراستاری فنی، دکتر علیرضا رحیمی، دکتر فؤاد فیض الهی – ویراستاری کلی، دکتر فریبا آقایی

تعارض منافع

نویسندگان تأیید می‌کنند که هیچ‌گونه تعارضی در منافع وجود ندارد.

پی‌نوشت‌ها

[1] Non-alcoholic fatty liver disease
[2] Endoplasmic reticulum
[3] C/EBP homologous protein
[4] Binding immunoglobulin protein
[5] Reactive oxygen speices
[6] Malondialdehyde
[7] Superoxide dismutase
[8] Smart
[9] Souza-Tavares
[10] Mealworm
[11] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
[12] Lee
[13] Wang
[14] Li
[15] Bozi
[16] Yang
[17] Lee
[18] Seo
[19] Zhou
[20] Nuclear respiratory factor-2
[21] AMP-activated protein kinase
[22] Mitogen-activated protein kinase
[23] Mitogen-activated protein kinases

منابع

1. Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. BMC Med. 2017;15(1):45. https://doi.org/10.1186/s12916-017-0806-8

2. Flessa CM, Kyrou I, Nasiri-Ansari N, Kaltsas G, Kassi E, Randeva HS. Endoplasmic reticulum stress in nonalcoholic (metabolic associated) fatty liver disease (NAFLD/MAFLD). J Cell Biochem. 2022;123(10):1585-606. https://doi.org/10.1186/ar2921

3. Shin YJ, Han SH, Kim DS, Lee GH, Yoo WH, Kang YM, et al. Autophagy induction and CHOP under-expression promotes survival of fibroblasts from rheumatoid arthritis patients under endoplasmic reticulum stress. Arthritis Res Ther. 2010;12(1):R19. https://doi.org/10.1186/ar2941

4. Zhang Y, Liu Y, Liu X, Yuan X, Xiang M, Liu J, et al. Exercise and Metformin Intervention Prevents Lipotoxicity-Induced Hepatocyte Apoptosis by Alleviating Oxidative and ER Stress and Activating the AMPK/Nrf2/HO-1 Signaling Pathway in db/db Mice. Oxid Med Cell Longev. 2022;2022:2297268. https://doi.org/10.1155/2022/2297268

5. Tse G, Yan BP, Chan YW, Tian XY, Huang Y. Reactive oxygen species, endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction: the link with cardiac arrhythmogenesis. Front Physiol. 2016;7:313. https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00313

6. Arya A, Azarmehr N, Mansourian M, Doustimotlagh AH. Inactivation of the superoxide dismutase by malondialdehyde in the nonalcoholic fatty liver disease: a combined molecular docking approach to clinical studies. Arch Physiol Biochem. 2021;127(6):557-64. https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1659827

7. Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. World J Gastroenterol. 2017;23(36):6549-70. https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i36.6549

8. Passos E, Ascensão A, Martins MJ, Magalhães J. Endoplasmic reticulum stress response in non-alcoholic steatohepatitis: the possible role of physical exercise. Metabolism. 2015;64(7):780-92. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.02.003

9. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjae 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):242-9. https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1510968

10. 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 non-alcoholic fatty liver disease. Arch Physiol Biochem. 2019;125(2):142-9. https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1441872

11. Smart NA, King N, McFarlane JR, Graham PL, Dieberg G. Effect of exercise training on liver function in adults who are overweight or exhibit fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. Br J Sports Med. 2018;52(13):834-43. https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-096197

12. Mohammadpour-Asl S, Roshan-Milani B, Roshan-Milani S, Saboory E, Ghobadian B, Chodari L. Endoplasmic reticulum stress PERK-ATF4-CHOP pathway is involved in non-alcoholic fatty liver disease in type 1 diabetic rats: The rescue effect of treatment exercise and insulin-like growth factor I. Heliyon. 2024;10(5):e27225. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27225

13. Souza-Tavares H, Santana-Oliveira DA, Vasques-Monteiro IML, Silva-Veiga FM, Mandarim-de-Lacerda CA, Souza-Mello V. Exercise enhances hepatic mitochondrial structure and function while preventing endoplasmic reticulum stress and metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease in mice fed a high-fat diet. Nutr Res. 2024;126:180-92. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2024.04.002

14. Gu J, Liang H, Ge X, Xia D, Pan L, Mi H, et al. A study of the potential effect of yellow mealworm (Tenebrio molitor) substitution for fish meal on growth, immune and antioxidant capacity in juvenile largemouth bass (Micropterus salmoides). Fish Shellfish Immunol. 2022;120:214-21. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.11.024

15. Caldas BV, Guimarães VH, Ribeiro GH, dos Santos TA, Nobre DA, de Castro RJ, et al. Effect of dietary supplementation with Tenebrio molitor wholemeal and fermented flour modulating adipose lipogenesis gene expression in obese mice. J Insects Food Feed. 2023;9(5):625-35. https://doi.org/10.3920/jiff2022.0070

16. Lee JY, Im AR, Shim KS, Ji KY, Kim KM, Kim YH, et al. Beneficial effects of insect extracts on nonalcoholic fatty liver disease. J Med Food. 2020;23(7):760-71. https://doi.org/10.1089/jmf.2019.4536

17. Seo M, Goo TW, Chung MY, Baek M, Hwang JS, Kim MA, et al. Tenebrio molitor larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice. Int J Mol Sci. 2017;18(3):518. https://doi.org/10.3390/ijms18030518

18. Di Mattia C, Battista N, Sacchetti G, Serafini M. Antioxidant activities in vitro of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects and invertebrates. Front Nutr. 2019;6:106. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00106

19. D'Antonio V, Serafini M, Battista N. Dietary modulation of oxidative stress from edible insects: A mini-review. Front Nutr. 2021;8:642551. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.642551

20. Li J, Huang L, Xiong W, Qian Y, Song M. Aerobic exercise improves non-alcoholic fatty liver disease by down-regulating the protein expression of the CNPY2-PERK pathway. Biochem Biophys Res Commun. 2022;603:35-40. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.03.008

21. Kim SY, Park JE, Han JS. Tenebrio molitor (mealworm) extract improves insulin sensitivity and alleviates hyperglycemia in C57BL/Ksj-db/db mice. J Life Sci. 2019;29(5):570-9. https://doi.org/10.5352/JLS.2019.29.5.570

22. Simoes ICM, Karkucinska-Wieckowska A, Janikiewicz J, Szymanska S, Pronicki M, Dobrzyn P, et al. Western Diet Causes Obesity-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development by Differentially Compromising the Autophagic Response. Antioxidants (Basel). 2020;9(10):995. https://doi.org/10.3390/antiox9100995

23. Payne CL, Scarborough P, Rayner M, Nonaka K. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. Trends Food Sci Technol. 2016;47:69-77. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.012

24. Bozi LH, Jannig PR, Rolim N, Voltarelli VA, Dourado PM, Wisløff U, et al. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. J Cell Mol Med. 2016;20(11):2208-12. https://doi.org/10.1111/jcmm.12894

25. Guo D, Sun J, Feng S. Comparative analysis of the effects of high-intensity interval training and traditional aerobic training on improving physical fitness and biochemical indicators in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Sports Med Phys Fitness. 2025;65(1):132-9.

https://doi.org/10.23736/s0022-4707.24.16206-8

26. Yang R, Wan L, Zhu H, Peng Y. The effect of 12 week-maximum fat oxidation (FATmax) intensity exercise on microvascular function in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease and its mechanism. Gen Physiol Biophys. 2023;42(3):251-62. https://doi.org/10.4149/gpb_2023004

27. Won SM, Cha HU, Yi SS, Kim SJ, Park SK. Tenebrio molitor extracts modulate the response to environmental stressors and extend lifespan in Caenorhabditis elegans. J Med Food. 2016;19(10):938-44. https://doi.org/10.1089/jmf.2016.3729

28. Zhu D, Huang X, Tu F, Wang C, Yang F. Preparation, antioxidant activity evaluation, and identification of antioxidant peptide from black soldier fly (Hermetia illucens L.) larvae. J Food Biochem. 2020;44(5):e13186. https://doi.org/10.1111/jfbc.13186

29. Mudd N, San Martin-Gonzalez F, Ferruzzi M, Liceaga AM. In vivo antioxidant effect of edible cricket (Gryllodes sigillatus) peptides using a Caenorhabditis elegans model. Food Hydrocoll Health. 2022;2:100083. https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100083

30. Zhang Y, Liu XW, Wei J, Liu XJ, Zhang

NY, Sheng L. HIIT and MICT attenuate high-fat diet-induced hepatic lipid accumulation and ER stress via the PERK-ATF4-CHOP signaling pathway. J Physiol Biochem. 2022;78(3):641-52. https://doi.org/10.1007/s13105-022-00884-7

31. Ruan L, Li F, Li S, Zhang M, Wang F, Lv X, et al. Effect of Different Exercise Intensities on Hepatocyte Apoptosis in HFD-Induced NAFLD in Rats: The Possible Role of Endoplasmic Reticulum Stress through the Regulation of the IRE1/JNK and eIF2α/CHOP Signal Pathways. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6378568. https://doi.org/10.1155/2021/6378568

32. Zou Y, Chen Z, Sun C, Yang D, Zhou Z, Peng X, et al. Exercise intervention mitigates pathological liver changes in NAFLD zebrafish by activating SIRT1/AMPK/NRF2 signaling. Int J Mol Sci. 2021;22(20):10940. https://doi.org/10.3390/ijms222010940

33. Ham JR, Choi RY, Lee Y, Lee MK. Effects of edible insect Tenebrio molitor larva fermentation extract as a substitute protein on hepatosteatogenesis and proteomic changes in obese mice induced by high-fat diet. Int J Mol Sci. 2021;22(7):3615. https://doi.org/10.3390/ijms22073615

34. Kang Y, Applegate CC, He F, Oba PM, Vieson MD, Sánchez-Sánchez L, et al. Yellow mealworm (Tenebrio molitor) and lesser mealworm (Alphitobius diaperinus) proteins slowed weight gain and improved metabolism of diet-induced obesity mice. J Nutr. 2023;153(8):2237-48. https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.06.014

35. Liu D, Ma Z, Xu L, Zhang X, Qiao S, Yuan J. PGC1α activation by pterostilbene ameliorates acute doxorubicin cardiotoxicity by reducing oxidative stress via enhancing AMPK and SIRT1 cascades. Aging (Albany NY). 2019;11(22):10061-73. https://doi.org/10.18632/aging.102418

36. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1α in human skeletal muscle. J Appl Physiol. 2009;106(3):929-34. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.90880.2008