

The Effect of Simultaneous Intervention of Interval Aerobic Training and Mealworm Extract on the Expression of CHOP and BIP Genes and Oxidative Stress Markers 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, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

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); today, 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 effect of simultaneous intervention 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 mice 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. The obtained data were analyzed through independent t-tests and two-way analysis of variance at a significance level of $P \leq 0.05$.

Results: Based on the findings, in NAFLD model mice, increased hepatic levels of BIP, CHOP, and MDA and decreased SOD levels were observed. Exercise and mealworm extract, each alone and in interaction with each other, resulted in a significant decrease in BIP, CHOP, and MDA levels and a significant increase in SOD in NAFLD mice ($P \leq 0.01$). The effect size of exercise was higher than that of supplementation alone or the interaction of exercise and supplementation, only in increasing SOD.

Conclusion: Simultaneous interventions of aerobic interval training along with mealworm extract intake may be effective in the treatment of NAFLD, possibly by 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 research 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 MDA and SOD in liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease. J Sport Exerc Physiol. 2025;18(?):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: a_r_rahimi@hotmail.com

<https://doi.org/?>

Received: 17/04/2025

Revised: 23/05/2025

Accepted: 01/07/2025

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۴، دوره ۱۸، شماره ۳

مقاله پژوهشی

تاثیر مداخله همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصاره کرم آرد بر بیان ژن های CHOP و BIP و نشانگرهای استرس اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

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

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

چکیده

زمینه و هدف: تنظیم اتوفاژی، استرس شبکه اندوپلاسمی (ER)، فعالیت لیپوزومی و ارتباط آن ها با استرس اکسایشی به عنوان اهداف زیربنایی سلولی در درمان کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) مطرح شده اند؛ امروزه بررسی تغییرات حاصل از مداخلات درمانی NAFLD به ویژه ورزش و اصلاح رژیم غذایی بر برخی نشانگرهای کبدی در اتوفاژی، استرس سلولی و متابولیسم چربی ضروری به نظر می رسد. لذا هدف این تحقیق بررسی تاثیر مداخله همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصاره کرم آرد بر بیان ژن های پروتئین ایمونوگلوبولین پیوندی (BIP)، پروتئین همولوگ (CHOP) C/EBP، مالون دی آلدئید (MDA) و سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت کبد موش های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود.

مواد و روش ها: 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. جهت القای NAFLD، نمونه ها به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب، کلسترول و اسیدکولیک تغذیه شدند و گروه سالم، رژیم غذایی استاندارد جوندگان را دریافت نمودند. پس از اطمینان از القای بیماری، پروتکل تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط، ۸ هفته/۵ جلسه در هفته دویدن روی نوارگردان در مجموع ۳۰ دقیقه همراه با اضافه بار تدریجی انجام شد. گاوژ مکمل عصاره کرم آرد، با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن مشابه با روزهای ورزش صورت گرفت. اندازه گیری بیان کبدی ژن های BIP و CHOP به روش Real-Time PCR و غلظت های کبدی MDA و SOD به روش وسترن بلات صورت گرفت. داده های حاصل از طریق آزمون های آماری t-مستقل و تحلیل واریانس دو عاملی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ بررسی شدند.

نتایج: بر اساس یافته ها، در موش های مدل NAFLD، افزایش سطوح کبدی BIP، CHOP و MDA و همچنین کاهش سطح SOD مشاهده شد. تمرین و دریافت عصاره کرم آرد، هر کدام به تنهایی و همچنین در تعامل با یکدیگر منجر به کاهش معنادار سطوح BIP، CHOP و MDA و افزایش معنادار SOD در موش های مبتلا به NAFLD شدند ($P \leq 0.01$)؛ اندازه اثر تمرین نسبت به مکمل تنها و یا تعامل تمرین و مکمل، فقط در افزایش SOD بالاتر بود.

نتیجه گیری: مداخلات همزمان تمرین تناوبی هوازی به همراه دریافت عصاره کرم آرد احتمالاً از طریق کاهش تجمع چربی کبدی، استرس ER و استرس اکسایشی و نقش آن ها در تنظیم اتوفاژی، ممکن است در درمان NAFLD موثر واقع شود؛ نیاز

به پژوهش‌های بیشتر جهت روشن شدن مکانیزم اثر این مداخلات پژوهشی بر ژن‌های BIP و CHOP و نقش واسطه‌ای آن‌ها در تنظیم اتوفاجی و استرس سلولی احساس می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ورزش، Mealworm، پروتئین همولوگ C/EBP، سوپراکساید دیسموتاز

نحوه استناد به این مقاله: باقرپور ز، رحیمی ع، آقای ف، فیض الهی ف. تاثیر مداخله همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصاره کرم آرد بر بیان ژن‌های CHOP و BIP و نشانگرهای استرس اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۴؛ ۱۸(۴): ۹-۹.

* رایانامه نویسنده مسئول: a_r_rahimi@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۰

بیماری کبد چرب غیر الکلی^۱ (NAFLD)، یک بیماری متابولیک اکتسابی است که افزایش غلظت تری گلیسرید داخل سلولی در کبد، اولین مرحله برای بروز و پیشرفت این بیماری است که در صورت عدم کنترل پیشرفت آن، در نهایت به وضعیت پیشرفته تر مانند سیروز و تخریب سلول‌های کبدی منتهی می‌شود (۱). این بیماری با دیابت نوع ۲، هایپرلیپیدمی، فشار خون بالا و سندرم متابولیک مرتبط است. شواهد مختلفی نشان می‌دهند که ترکیبی از عوامل مختلف مانند مقاومت به انسولین، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب میتوکندری، استرس شبکه آندوپلاسمی^۲ (ER)، اختلال در تنظیم اتوفازی کبدی و عوامل دیگر باعث بروز این بیماری می‌شوند (۱).

از آنجا که تجمع بیش از حد چربی در کبد، از دلایل اصلی تحریک استرس ER محسوب می‌شود، اختلال عملکرد ER در هپاتوسیت‌ها و اختلال در تعامل آن با میتوکندری در پاتوفیزیولوژی NAFLD به خوبی شناخته شده است. ER برای تکامل پروتئین‌ها بسیار مهم است و اختلال در عملکرد آن می‌تواند منجر به تجمع پروتئین‌هایی که به درستی تا نخورده‌اند، شود. در مقابل، اتوفازی یک سیستم بسیار حفاظت شده برای تخریب پروتئین‌های تاخوردیده نادرست و اندامک‌های آسیب دیده است که می‌تواند توسط استرس ER تحریک شود (۲). استرس ER مداوم و بیش از حد، باعث مرگ سلولی از طریق شروع آپوپتوز و القای پروتئین همولوگ C/EBP^۳ (CHOP) یا با فعال شدن مسیرهای وابسته به کاسپاز می‌شود. CHOP mRNA عمدتاً در طول استرس ER رونویسی و منجر به آپوپتوز می‌شود. CHOP در تنظیم اتوفازی از طریق مسیرهای فعال شده توسط استرس ER نقش دارد. برای مثال، CHOP می‌تواند بر بیان ژن‌های مرتبط با اتوفازی تأثیر بگذارد و در نتیجه پاسخ اتوفازی را در شرایط استرس سلولی تعدیل کند (۳). پروتئین ایمونوگلوبولین پیوندی^۴ (BiP) که همچنین به عنوان GRP78 شناخته می‌شود، یک عامل مهم در شبکه آندوپلاسمی است که نقش مهمی در مدیریت استرس ER، به ویژه در شرایطی مانند NAFLD ایفا می‌کند. در NAFLD، بیان BiP با التهاب و استرس اکسیداتیو مرتبط است. مطالعات نشان داده‌اند که مداخلات کاهش سطح BiP می‌تواند استرس ER و پاسخ‌های التهابی مرتبط با آن را کاهش دهد که نشان می‌دهد تعدیل BiP می‌تواند یک هدف درمانی در NAFLD باشد (۴). استرس اکسیداتیو که با تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن^۵ (ROS) مشخص می‌شود، می‌تواند استرس ER را با افزایش تاخوردگی و تجمع پروتئین تشدید کند. این امر یک چرخه معیوب ایجاد می‌کند که در آن استرس ER باعث افزایش بیشتر استرس اکسیداتیو می‌شود که نهایتاً منجر به آسیب سلولی می‌گردد (۵). استرس اکسیداتیو منجر به تشکیل محصولات پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود که مستقیماً واکنش‌های رادیکال آزاد را تحریک می‌کند. در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی، محصولی به نام مالون دی آلدئید^۶ (MDA) تولید می‌شود که نیمه عمر بیشتری نسبت به ROS دارد. این افزایش MDA با پیشرفت آسیب کبدی و اختلال در دفاع آنتی اکسیدانی نیز مرتبط است. شواهد بیانگر این مساله هستند که افزایش MDA با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز^۷ (SOD) مرتبط است که ممکن است استرس اکسیداتیو 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 تمرینات ورزشی هوازی از طریق کاهش محتوای چربی کبد و استرس ER در هپاتوسیت‌ها، می‌تواند در کاهش التهاب کبدی، مقاومت انسولینی، استرس اکسایشی، استئاتوز و مرگ سلول‌های کبدی در بیماران NAFLD نقش محوری داشته باشد (۷، ۸). قابل ذکر است که بر اساس مطالعات اخیر، شدت ورزش در مقابل حجم ورزش در بهبود اختلال متابولیک موثرتر بوده است. بنابراین انتظار می‌رود تمرینات هوازی تناوبی با شدت‌های متوسط و بالا در بهبود NAFLD در مقایسه با تمرینات استقامتی تداومی موثرتر باشد (۹). در همین راستا، حاجی قاسم و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی در موش‌های NAFLD با افزایش SOD و کاهش MDA همراه بود که

^۱Non-alcoholic fatty liver disease

^۲Endoplasmic reticulum

^۳C/EBP homologous protein

^۴Binding immunoglobulin protein

^۵Reactive oxygen speices

^۶Malondialdehyde

^۷Superoxide dismutase

بطور کلی منجر به بهبود اختلال متابولیک ناشی از بیماری شد (۱۰). از طرفی بر خلاف این یافته‌ها، اسمارت^۸ و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی سیستماتیک با ۱۵۳۰ بیمار مبتلا به NAFLD گزارش کردند که علی‌رغم کاهش محتوای چربی کبدی و بهبود نیمرخ لیپیدی، فعالیت ورزشی تغییر معناداری در سطوح آنزیم‌های کبدی در بیماران ایجاد نکرد که به نظر می‌رسد دلیل وجود این تناقضات ناشی از الگوهای متفاوت تمرینی باشد (۱۱). هم‌چنین شواهد اخیر در سال ۲۰۲۴ در راستای اثرات فعالیت ورزشی بر استرس ER و نشانگرهای آن در NAFLD، نشان داد که ۱ ماه تمرین هوازی در موش‌های دیابتی مدل NAFLD، توانست بیان پروتئین CHOP و نشانگرهای دیگر استرس ER در کبد و بیان ژن‌های آپوپتوز (کاسپاز ۸ و ۱۲) را بطور معناداری کاهش و بیان ژن‌های متابولیسم چربی را افزایش دهد (۱۲). علاوه بر این، در پژوهش دیگری در سال ۲۰۲۴، سوزا تاوارس^۹ گزارش شد که موش‌های مدل MAFLD ناشی از رژیم غذایی پرچرب، به دنبال ۱۰ هفته تمرین هوازی تناوبی شدید، با کاهش معنادار بیان پروتئین BiP، کاهش استرس 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 از مکمل‌ها بر پایه حشرات خوراکی، اثرات تحریک‌کننده ایمنی و ضد سرطانی، ضد دیابتی با خواص آنتی‌اکسیدانی قوی نشان داده‌اند (۱۴). یکی از این مکمل‌ها، کرم آرد یا لارو *Tenebrio molitor* است که علاوه بر محتوای پروتئینی بالا، اثر ضد چاقی از طریق فعال‌سازی گیرنده فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسی زوم گاما هم فعال ساز-۱ آلفا^۱ (PGC-1α) و ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی نشان داده است (۱۵). از آنجا که تا به امروز، درمان NAFLD عمدتاً از طریق مداخلات در جهت کاهش وزن و چربی بوده است، استفاده از کرم آرد با خواص آنتی‌اکسیدانی احتمالاً فواید مضاعفی در بهبود NAFLD از خود نشان دهد. در همین راستا، لی^۲ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که دریافت عصاره لارو *Tenebrio molitor* به مدت ۱۰ هفته در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب، توانست تجمع چربی کبدی، وزن بدن، توده چربی، سطوح سرمی گلوکز، نیمرخ چربی خون و شاخص‌های لیپوژنز را به طور معناداری کاهش دهد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد را افزایش دهد (۱۶). علاوه بر این، تجویز خوراکی لارو *T. molitor* به موش‌های چاق منجر به کاهش وزن و استئاتوز کبدی شد که نشان‌دهنده نقش درمانی بالقوه در مدیریت چاقی است (۱۷). با این حال، اثرات خاص کرم آرد بر نشانگرهای استرس ER که اغلب با اختلالات متابولیک مرتبط است، به طور مستقیم در ادبیات موجود مورد توجه قرار نگرفته است و مطالعات بیشتری برای روشن شدن این اثرات و پیامدهای آنها برای NAFLD و اختلالات متابولیک مورد نیاز است. به طور کلی، حشرات خوراکی نه تنها مواد مغذی ضروری را فراهم می‌کنند، بلکه به عنوان منبع پایداری از آنتی‌اکسیدان‌ها نیز عمل می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای مشتق‌شده از حشرات خوراکی، نشان‌دهنده پتانسیل آن‌ها برای مبارزه با استرس اکسیداتیو است. به علاوه، مطالعات نشان داده‌اند که وجود ترکیبات زیست‌فعال در حشرات خوراکی، به ویژه پلی‌فنول‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند که اغلب از منابع سنتی مانند میوه‌ها و سبزیجات پیشی می‌گیرد (۱۸). این مکمل‌ها می‌توانند تعادل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بازیابی کرده و نشانگرهای آسیب اکسیداتیو را در مدل‌های حیوانی کاهش دهند. تعدیل استرس اکسیداتیو به طور غیرمستقیم با بهبود هموستاز سلولی و کاهش بار پروتئین‌های بدتاخورده، استرس ER را کاهش می‌دهد (۱۹).

در نتیجه با توجه به نقش مکمل کرم آرد یا همان لارو *Tenebrio molitor* در بهبود متابولیسم چربی و دفاع آنتی‌اکسیدانی و از سویی دیگر، اثرات فعالیت ورزشی منظم در بهبود کلی استرس ER در هیپاتوسیت‌ها، تعدیل استرس اکسایشی و کاهش التهاب کبدی، به نظر می‌رسد که احتمالاً این دو مداخله در کنار یکدیگر خروجی موثرتری در درمان NAFLD داشته باشند. از آنجا که مطالعات انجام شده در زمینه اثرات همزمان این دو مداخله بر شاخص‌های استرس ER، استرس اکسایشی و متابولیسم چربی در بیماری NAFLD بسیار محدود است، لذا هدف این بررسی تاثیر مداخله همزمان تمرین هوازی تناوبی و دریافت عصاره کرم آرد بر بیان ژن‌های BIP و CHOP و نشانگرهای استرس اکسایشی MDA و SOD بافت کبد موش‌های مبتلا به NAFLD می‌باشد.

روش پژوهش

^۸Smart

^۹Souza-Tavares

^۱Mealworm

^۱Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

^۱Lee

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه تجربی و با هدف کاربردی به منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، با توجه به دشواری‌های تعیین انحراف معیار و اندازه اثر در زمان‌هایی که بیش از ۳ گروه وجود دارد، توصیه شده است از نرم افزارهای آماری مانند G Power استفاده شود. پس از استفاده از این نرم افزار، با انتخاب آزمون F و سپس روش آماری تحلیل واریانس (اثرات اصلی و تعاملی)، اندازه اثر بزرگ یا قوی، میزان α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۷۰ در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۵ سر موش برای ۵ گروه تعیین شد. استفاده از اندازه اثر بزرگ، بر اساس اندازه اثر گزارش شده در نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین است. موش‌های صحرایی بالغ نر ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن 20 ± 270 گرم از مرکز بافت و ژن پاسارگاد تهیه شدند؛ موش‌ها با هدف سازگاری با محیط در محیطی با میانگین دمای $1/4 \pm 22$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 4 ± 55 درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. لازم به ذکر است که تمامی روش‌های آزمایشگاهی در این پژوهش مطابق با دستورالعمل مراقبت و کار با حیوانات آزمایشگاهی هلسینکی ۱۹۶۴ و همچنین مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت. این تحقیق بر اساس طرح پژوهشی رساله دکتری با کد ۱۶۲۹۲۸۱۸۴ ثبت شده در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد.

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

جهت ایجاد مدل NAFLD، 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 تشکیل دهنده غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب مطابق دستورالعمل ۱۲ هفته‌ای وانگ^۱ شامل غذای پایه جوندگان (استاندارد) به علاوه ۱۵٪ چربی حیوانی، ۱٪ کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۰/۵٪ اسید کولیک (شرکت سیگما-آمریکا) بود که توسط شرکت بافت و ژن پاسارگاد روزانه تهیه گردیده و به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت (۱۸). برای اطمینان از القای کبد چرب در گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از پایان دوره تغذیه و قبل از شروع مداخلات اصلی پژوهش، نمونه‌های خونی از نوک دم رت‌ها گرفته شد. سپس سطوح گلوکز، نیمرخ چربی (تری گلیسرید، کلسترول تام، LDL و HDL) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) که به عنوان شاخص‌های مهم در تشخیص کبد چرب محسوب می‌شوند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. افزایش سطح این شاخص‌ها (ALT سرم بالای ۶۰ واحد/لیتر، AST بالای ۱۴۰ واحد/لیتر، گلوکز بالای ۱۶۰ میلی گرم/دسی لیتر، تری گلیسرید و کلسترول بالای ۲۰۰ میلی گرم/دسی لیتر، LDL بالای ۱۰۰ میلی گرم/دسی لیتر و HDL کمتر از ۴۰ میلی گرم/دسی لیتر)، تاییدی بر ابتلای رت‌ها به کبد چرب بود. همچنین وزن موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از ۱۲ هفته مدلسازی به میانگین 20 ± 420 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، جهت آشنایی با پروتکل تمرین استقامتی تناوبی دویدن روی نوارگردان و تعیین شدت نسبی تمرین در نظر گرفته شد. در طول این دو هفته موش‌های گروه‌های تمرینی با دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آشنا شدند. روز قبل از اجرای پروتکل تمرین استقامتی تناوبی، پایلوت برنامه تمرینی بر روی پنج سر موش جهت برآورد VO_{2max} مناسب پروتکل تمرین انجام شد. همچنین پنج سر موش دیگر به عنوان گروه پایلوت برای اندازه گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان انتخاب شده و برای برآورد حداکثر سرعت دویدن، آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت ۵ متر بر دقیقه آغاز و سرعت تردمیل به ازای هر ۲ دقیقه، ۲ متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا رت‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی)؛ در این آزمون سرعت ۲۰ متر در دقیقه سرعت لازم جهت رسیدن به واماندگی حاصل گردید. پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه‌های تمرینی، برنامه تمرین استقامتی را مطابق با پروتکل لی^۴ و همکاران (۲۰۲۲) به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا نمودند (۲۰) (جدول ۱).

^۱Wang

^۴Li

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

گروه‌ها	مدت زمان آشناسازی با پروتکل تمرینی	مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن (دقیقه)	مدت زمان بدنه اصلی تمرین (دقیقه)	تعداد وهله‌های تمرینی در هر جلسه	نسبت کار به استراحت (W:R)	اضافه بار	شدت (VO ₂ max)
گروه بیمار + ورزش	۲ هفته	دویدن با سرعت ۵ متر/دقیقه مجموعاً به مدت ۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	هفته اول، ۱۰ وهله فعالیتی ۱ دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) با تناوب‌های استراحتی ۲ دقیقه‌ای (با سرعت ۵ متر در دقیقه)	۲:۱	اعمال اضافه بار در سرعت در وهله‌های فعالیتی:	
گروه بیمار + ورزش + مکمل						هفته اول، سرعت ۱۰ متر/دقیقه	۵۰ درصد
						هفته دوم، سرعت ۱۲ متر/دقیقه	۶۰ درصد
						هفته سوم، سرعت ۱۴ متر/دقیقه	۷۰ درصد
						هفته چهارم تا هشتم، سرعت ۱۶ متر/دقیقه	۸۰ درصد

موش‌ها در گروه بیمار + مکمل و گروه بیمار + مکمل + ورزش، مکمل پروتئینی عصاره کرم آرد را به میزان ۲۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۴۰ میلی گرم/میلی لیتر) به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته مشابه با روزهای تمرینی در ساعات صبح به صورت گاوآژ دریافت نمودند (۲۰). این مکمل پروتئینی دارای ارزش غذایی در ۱۰۰ گرم میل ورم خشک به شرح زیر بود: رطوبت ۵٪، پروتئین ۵۰٪، چربی ۲۸٪، فیبر ۶٪، کربوهیدرات ۱/۷۳٪، آهن ۲/۰۶٪ و انرژی آن در هر ۱۰۰ گرم ۵۱۵/۶ کیلوکالری (۲۱). در گروه‌های دیگر از آب مقطر به عنوان حلال استفاده گردید.

روش‌های آزمایشگاهی:

به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاوآژ مکمل، بافت برداری کبد در هر گروه انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلو گرم وزن بدن) بیهوش شدند و مقدار ۳۰ میلی گرم از لوب میانی بافت کبدی به دلیل پراکندگی نسبتاً یکنواخت چربی در این ناحیه بلافاصله برداشته شد. بافت

نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای ۸۰- درجه فریز گردید. نمونه در آزمایشگاه تا زمان انجام آزمایشات ارزیابی مقدار تغییرات بیان ژن در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شد.

بیان ژن‌های CHOP و BiP با روش Real-Time PCR (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA به صورت RNX-Pluse و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده شد. ابتدا توالی mRNA ی مربوط به ژن‌های CHOP و BiP با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

جهت اندازه گیری غلظت پروتئین‌های MDA و SOD در کبد از روش وسترن بلات استفاده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از بافر لیز سرد به ۵ میلی گرم از بافت سریعاً اضافه و با هموژنایزر الکتریکی هموژنیزه گردید؛ سپس دو بار دیگر با ۲۰۰ میکرومول بافر لیز شسته شد و پس از آن به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محلول به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یک میکرو سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. سوپرنانت جدا شده و در یک لوله جدید در یخ قرار داده خواهد شد. بعد از تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از آزمون پروتئین BCA (بیسین چونینیک) (سیگما، آلمان)، مقدار مساوی از نمونه‌های پروتئین (۳۰ میلی گرم پروتئین‌های MDA و SOD) توسط ژل سدیم دودسیل سولفات (SDS) - پلی اکریلامید جداسازی شد. پروتئین های جدا شده به غشاء نیتروسلولزی یا PVDF شرکت GE انگلستان منتقل شد. بعد از بلاکینگ در محلول TTBS غشاء PVDF به مدت یک شب در آنتی بادی اولیه آنتی MDA و SOD و آنتی بتا - اکتین (با نسبت ۱:۱۰۰۰) (Abcam انگلستان) در ۴ درجه سانتی گراد انکوبه شد. متعاقباً غشاء PVDF با استفاده از TTBS سه بار شستشو داده شد و سپس به مدت دو ساعت در معرض آنتی بادی ثانویه متصل به HRP (Abcam انگلستان) قرار گرفت. سپس غشاء شستشو داده شد و نوارهای پروتئینی با استفاده از کیت شناسایی chemiluminescence (شرکت GE انگلستان) و فیلم‌های اتورادیو گرافی (شرکت GE انگلستان) ظاهر شدند و نسبت به کنترل داخلی GAPDH نرمالیزه شد (۲۲).

تحلیل آماری: اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ پردازش و تحلیل شدند و کلیه نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردیدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک مورد بررسی قرار گرفت؛ سپس جهت تعیین تفاوت بین گروهی (کنترل سالم با کنترل بیمار) و بررسی پیش فرض، از آزمون آماری t -مستقل استفاده شد و جهت بررسی تاثیر تعاملی تمرین هوازی تناوبی و عصاره کرم آرد بر بیان ژن‌های BIP و CHOP و نشانگرهای استرس اکسایشی MDA و SOD از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید.

نتایج

یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه در پس آزمون نمونه‌های پژوهش حاضر در جدول ۲ نشان داده شده است.

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

SOD		MDA		BIP		CHOP		گروه‌ها
M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	
۸۳/۸۲	۵/۸۷	۰/۰۲۳	۰/۰۱۴	۰/۰۳۹	۰/۰۱۶	۰/۱۱۷	۰/۰۰۷	سالم
۱۵/۵۰	۱/۳۸	۰/۰۳۶	۰/۰۳۳	۱/۰۰۱	۰/۰۴۸	۱/۱۲	۰/۰۱۷	بیمار

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

یکی از پیش فرض‌های این مطالعه، تاثیر ابتلا به NAFLD بر سطوح CHOP، BIP، MDA و SOD در موش‌های مدل بود. جهت بررسی این پیش فرض 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 ۳. نتایج آزمون t-مستقل جهت تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و مدل 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

* نشانه اختلاف معنی دار با گروه سالم ($P \leq 0/05$)

نتایج آزمون t-مستقل در بررسی تفاوت‌های بین گروهی نشان داد که میزان CHOP، BIP و MDA در گروه بیمار یا مدل در مقایسه با گروه سالم به طور معناداری افزایش یافت و سطح SOD در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم به طور معناداری کاهش یافت ($P \leq 0/05$).

نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی برای تعیین تغییرات بین گروهی متغیرهای مورد مطالعه در جدول ۴ و هم‌چنین در شکل ۱ قابل مشاهده است:

جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی برای تغییرات بیان نسبی ژن‌ها و غلظت نسبی پروتئین‌های مورد مطالعه

متغیرها	منبع	SS	df	MS	F	Sig.	η^2
CHOP	تمرین	۱/۱۱	۱	۱/۱۱	۱۹۹۵/۴	۰/۰۰۰*	۰/۹۹
	مکمل	۱/۰۴	۱	۱/۰۴	۱۸۶۷/۶	۰/۰۰۰**	۰/۹۹
	تمرین×مکمل	۰/۲۵۷	۱	۰/۲۵۷	۴۵۸/۴	۰/۰۰۰***	۰/۹۶
	خطا	۰/۰۰۹	۱۶	۰/۰۰۱			
BIP	تمرین	۰/۹۸۲	۱	۰/۹۸۲	۷۳۴/۶	۰/۰۰۰*	۰/۹۷
	مکمل	۱/۲۱	۱	۱/۲۱	۹۱۰/۵۹	۰/۰۰۰**	۰/۹۸

شکل ۱. تغییرات بیان نسبی ژن‌های CHOP و BIP و غلظت پروتئین‌های MDA و SOD در کبد پس از مداخله

* نشان دهنده تفاوت معنادار با گروه بیمار ($P \leq 0/05$)

همانطور که در جدول ۴ و شکل ۱ قابل مشاهده است، نتایج حاصل از آزمون آماری تحلیل واریانس ۲ عاملی در تعیین تغییرات بین گروهی در متغیرهای مورد مطالعه نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی منجر به کاهش معنادار CHOP ($p=0/000$)، BIP ($p=0/000$) و MDA ($p=0/000$) و همچنین افزایش معنادار SOD ($p=0/000$) در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب شد.

علاوه بر این، یافته‌های آماری نشان داد که یک دوره دریافت مکمل عصاره کرم آرد منجر به کاهش معنادار CHOP ($p=0/000$)، BIP ($p=0/000$) و MDA ($p=0/000$) و همچنین افزایش معنادار SOD ($p=0/000$) در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب شد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس ۲ عاملی همچنین نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی همراه با دریافت مکمل عصاره کرم آرد توانست سطوح CHOP ($p=0/000$)، BIP ($p=0/000$) و MDA ($p=0/000$) را در بافت کبد موش‌های مبتلا به کبد چرب به طور معناداری کاهش و سطح SOD ($p=0/000$) را به طور معناداری افزایش دهد.

بحث و نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر، ابتدا به NAFLD در موش‌ها باعث افزایش سطوح CHOP، BIP و MDA و همچنین کاهش سطح SOD در کبد شد. این نتایج، در مطالعات گذشته نیز مورد تایید قرار گرفته است (۳،۴،۶). شواهد نشان داده‌اند که تداوم استرس ER که در NAFLD رخ می‌دهد، از طریق رونویسی CHOP mRNA منجر به مرگ هپاتوسیت‌ها می‌شود (۳). از طرفی در طول بیماری، با گسترش التهاب کبدی و استرس اکسیداتیو، بیان BiP نیز افزایش می‌یابد که یک عامل مهم در شبکه آندوپلاسمی است که نقش مهمی در مدیریت استرس ER، به ویژه در شرایطی مانند NAFLD ایفا می‌کند (۴). افزایش استرس اکسیداتیو با تشکیل محصولات پراکسیداسیون لیپیدی به ویژه MDA همراه است. این افزایش MDA با پیشرفت آسیب کبدی و اختلال در دفاع آنتی اکسیدانی نیز مرتبط است و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند SOD در NAFLD در این شرایط مشاهده شده است (۶).

نتایج اصلی پژوهش حاضر نشان می‌دهد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی و دریافت مکمل عصاره کرم آرد هر کدام به طور جداگانه و همچنین در تعامل با یکدیگر منجر به کاهش معنادار سطوح CHOP، BIP و MDA و همچنین افزایش سطح SOD در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD شد. هر چند که اندازه اثر مداخله‌ی تمرین تنها، مکمل تنها و دریافت همزمان مداخله تمرین و مکمل در تغییرات CHOP، BIP و MDA تقریباً یکسان بود؛ در حالی که مداخله‌ی تمرین تنها، بیشترین اندازه اثر را در افزایش SOD کبدی در قیاس با مکمل تنها و تعامل تمرین و مکمل داشت.

همسو با این نتایج، پژوهش‌های اخیر در سال ۲۰۲۴ نشان داده‌اند که تمرینات هوازی منظم با کاهش سطوح نشانگرهای استرس ER به ویژه CHOP و BiP، ژن‌های آپوپتوزی، مقاومت انسولینی و از طرفی افزایش ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی در نمونه‌های مبتلا به اختلالات متابولیک و NAFLD، نقش مهمی در بهبود کبد چرب داشته‌اند (۱۲،۱۳). در همین زمینه نیز بوزی^۵ و همکاران نشان داده‌اند که تمرین هوازی ۲ ماهه با شدت متوسط در موش‌ها، با کاهش سطوح CHOP و BiP (GRP78) و بهبود کنترل کیفیت پروتئین که برای حفظ عملکرد سلولی تحت استرس بسیار مهم است، استرس ER را کاهش می‌دهد (۲۴). همسو با این نتایج، مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۵ نشان داده است که تمرینات تناوبی هوازی پرشدت، با کاهش قابل توجهی در CHOP و سایر نشانگرهای استرس ER در بیماران مبتلا به NAFLD همراه بوده است که نشان دهنده بهبود پروفایل‌های متابولیک و التهابی، بهبود عملکرد کبد و کاهش استرس اکسیداتیو است (۲۵). علاوه بر این، تحقیقات به طور مکرر از اثرات قابل توجه تمرینات هوازی در کاهش نشانگرهای استرس اکسایشی به ویژه MDA و افزایش آنتی اکسیدان‌هایی از جمله SOD در NAFLD و بهبود کلی اختلالات متابولیک در این بیماری حمایت کرده‌اند (۱۰)؛

در این راستا می‌توان به یافته‌های تحقیق حاجی قاسم (۲۰۱۹) و یانگ^۴ (۲۰۲۳) اشاره کرد. تمرینات هوازی به ویژه با شدت متوسط، اغلب با کاهش سطح MDA همراه بوده است. به عنوان مثال، یانگ در سال ۲۰۲۳ نشان داد که پس از یک مداخله ورزشی هوازی ۱۲ هفته‌ای در بیماران چاق مبتلا به NAFLD، غلظت MDA پایین تر و فعالیت SOD بالاتر در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که نشان دهنده بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو است (۲۶). از سویی دیگر، دریافت کرم آرد یا لارو *Tenebrio molitor* اثر ضد چاقی از طریق فعال‌سازی PGC-1 α و ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی نشان داده است (۱۵). از آنجا که تا به امروز، درمان NAFLD عمدتاً از طریق مداخلات در جهت کاهش وزن و چربی بوده است، استفاده از کرم آرد با خواص آنتی اکسیدانی احتمالاً فواید مضاعفی در بهبود NAFLD از خود نشان دهد. در همین راستا، لی^۵ همکاران (۲۰۲۰) در پژوهشی، کاهش تجمع چربی کبدی، وزن بدن، توده چربی، سطوح سرمی گلوکز، نیمرخ چربی خون، شاخص‌های لیپوژنز و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در کبد را به دنبال یک دوره دریافت عصاره لارو *Tenebrio molitor* نشان داد (۱۶). سنو^۶ و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که تجویز خوراکی لارو *T. molitor* به موش‌های چاق منجر به کاهش وزن و استئاتوز کبدی شد (۱۷). مطالعه دیگری نشان داد که عصاره کرم آرد می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله SOD را در مدل‌های آزمایشگاهی *C.elegans* افزایش دهد (۲۷). با این حال، ادبیات پژوهشی موجود به طور مستقیم به اثرات خاص عصاره لارو *Tenebrio molitor* بر نشانگرهای استرس ER که معمولاً با اختلالات متابولیک مرتبط هستند، نپرداخته‌اند؛ همچنین مطالعات انجام شده در زمینه اثرات همزمان مداخلات ورزش و کرم آرد بر شاخص‌های استرس ER، استرس اکسایشی و متابولیسم چربی در بیماری NAFLD بسیار محدود است. اگر چه فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدهای مشتق شده از حشرات خوراکی و همچنین ترکیبات زیست فعال آن‌ها به ویژه پلی فنول‌ها، نشان دهنده پتانسیل آن‌ها برای مبارزه با استرس اکسیداتیو است (۱۸). از این رو مصرف حشرات خوراکی یا کاهش سطح نشانگرهای استرس ER مرتبط شناخته شده است. به عنوان مثال، در مطالعه ژو^۷ و همکاران (۲۰۲۰)، خواص آنتی اکسیدانی لارو مگس سرباز سیاه با کاهش آسیب اکسیداتیو مرتبط بود که می‌تواند پاسخ‌های استرس ER را کاهش دهد (۲۸). علاوه بر این، مطالعات نشان می‌دهد که اثرات آنتی اکسیدانی حشرات خوراکی ممکن است به تعدیل بیان ژن‌های مرتبط با استرس کمک کند که به طور بالقوه در تنظیم کاهشی سطوح CHOP و BIP نقش دارند (۲۹).

تمرینات ورزشی هوازی بطور کلی استرس ER را بهبود می‌بخشد که عامل مهمی در پاتوژنز NAFLD و اختلالات متابولیک است. مکانیسم‌ها شامل تنظیم بیان نشانگرهای کلیدی مانند CHOP و BiP است. تمرین هوازی از طریق افزایش متابولیسم چربی در هیپاتوسیت‌ها، کاهش التهاب کبدی و بهبود حساسیت به انسولین، بیان CHOP و BiP را به صورت کاهشی تنظیم می‌کند که این امر استرس ER را کاهش می‌دهد (۲). شواهد موجود نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی با کاهش سطوح CHOP، یک عامل پیش آپوپتوتیک که نشان دهنده اثر محافظتی ورزش در برابر مرگ سلولی در کبد است، مرتبط می‌باشد. ورزش به ویژه از نوع هوازی باعث فعال شدن مسیر سیگنالینگ PERK-ATF4-CHOP می‌شود که به مدیریت استرس ER و بهبود عملکرد کبد کمک می‌کند (۳۰). علاوه بر این، انجام تمرینات ورزشی در NAFLD با سطوح پایین تر MDA و افزایش فعالیت SOD همراه بوده است که نشان دهنده بهبود استرس اکسیداتیو است. تمرین هوازی با شدت متوسط به ویژه در افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش آپوپتوز هیپاتوسیت موثر است، همانطور که با کاهش بیان نشانگرهای پیش آپوپتوتیک مشهود است (۳۱). ورزش هوازی با فعال‌سازی مسیر SIRT1/AMPK، علاوه بر تقویت متابولیسم چربی و کاهش تجمع چربی کبدی، با تحریک سنتز آنتی اکسیدان‌های درون‌زاد از جمله SOD، نهایتاً منجر به کاهش سطح گونه‌های فعال اکسیژن و MDA می‌شود (۳۲).

اثرات مثبت دریافت عصاره کرم آرد یا لارو *Tenebrio molitor* در بهبود متابولیسم چربی و وضعیت استرس اکسیداتیو در تحقیقات مختلف مطرح شده است. ساز و کار احتمالی این اثرات مفید احتمالاً به فعال‌سازی PGC-1 α توسط مداخلات رژیم‌های غذایی بر پایه لارو *Tenebrio molitor* و یا مکملیاری با عصاره کرم آرد مربوط می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که لارو *Tenebrio molitor*، به طور مثبت بر سطوح PGC1 α در مدل‌های چاقی و بیماری NAFLD تأثیر می‌گذارد که نشان دهنده افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در این نمونه‌ها است (۱۵). عصاره تخمیری کرم آرد همچنین اثرات محافظتی در برابر استئاتوز کبدی نشان می‌دهد که نشان دهنده مکانیسم

^۴Yang

^۵Lee

^۶Seo

^۷Zhou

بالقوه برای بهبود سلامت متابولیک از طریق تعدیل PGC1 α و مسیرهای مرتبط با آن است (۳۳). هم‌چنین گنجاندن کرم آرد در رژیم‌های غذایی پرچرب منجر به کاهش چربی و بهبود پارامترهای متابولیک شد که با افزایش سطح PGC1 α همراه است (۳۴). بهبود متابولیسم چربی در کبد و کاهش ذخایر تری‌گلیسرید کبدی به واسطه افزایش PGC1 α ، در نهایت با کاهش استرس ER و نشانگرهای آن از جمله CHOP و BiP همراه خواهد بود. فعال‌سازی PGC1 α نقش مهمی در بهبود استرس اکسیداتیو و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق مکانیسم‌های مختلف ایفا می‌کند. PGC1 α بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف از جمله SOD، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز را افزایش می‌دهد و این تنظیم مثبت به حذف ROS کمک می‌کند. هم‌چنین PGC1 α با فاکتور تنفس هسته‌ای-۲ (NRF2)، یک تنظیم‌کننده اصلی دفاع آنتی‌اکسیدانی، تعامل دارد. این تعامل، رونویسی ژن‌های دخیل در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را ترویج می‌کند و محافظت سلولی را در برابر استرس اکسیداتیو بیشتر می‌کند (۳۵).

با توجه به تاثیر مثبت مداخله همزمان تمرین هوازی و عصاره کرم آرد بر متغیرهای مورد مطالعه، به نظر می‌رسد که احتمالاً نقطه مشترک مکانیزم اثر این دو مداخله در بهبود متابولیسم چربی و کاهش استرس اکسایشی به فعال‌سازی PGC1 α از طریق مسیرهای مشابه معطوف شود. تمرینات ورزشی هوازی، یک عامل قوی در فعال‌سازی مسیر پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK) محسوب می‌شوند (۳۶). از طرفی با افزایش مدت زمان تمرینات هوازی تناوبی و تخلیه ذخایر گلیکوژن که خود به عنوان محرک جدایه برای فعال شدن AMPK عمل می‌کند، مسیر پیام‌رسانی p38 پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK) نیز می‌تواند فعال شود. فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی MAPK p38 و AMPK در نهایت منجر به افزایش بیان PGC-1 α در هسته می‌شود (۳۶). از سویی دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که عصاره لارو *Tenebrio molitor* می‌تواند با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ AMPK و پروتئین کینازهای فعال شده با میتوژن (MAPKs) باعث مهار چربی زایی در سلول‌های چربی شود. این فعال‌سازی منجر به کاهش تجمع چربی و محتوای تری‌گلیسرید در سلول‌ها می‌شود که فرآیندهایی هستند که اغلب با تنظیم PGC1 α ، تنظیم‌کننده کلیدی متابولیسم انرژی و عملکرد میتوکندری مرتبط هستند (۱۷). در نتیجه فعال‌سازی این عامل کلیدی، با بهبود سوخت و ساز چربی در کبد می‌تواند استرس ER را کاهش داده و از طرف دیگر با تنظیم بیان آنتی‌اکسیدان‌ها از مسیرهای مختلف، استرس اکسایشی را تعدیل نماید (۱۵، ۳۵).

از جمله محدودیت‌های احتمالی این پژوهش می‌توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی استرس ناشی از شوک دستگاه تردمیل، عدم ارزیابی سطح خونی ترکیبات فعال عصاره کرم آرد برای تأیید جذب واقعی و رسیدن به بافت کبد، عدم توانایی بررسی دینامیک نشانگرهای تحقیق و نمونه‌برداری کبد در یک نقطه زمانی پس از اتمام هشت هفته که مانع بررسی تغییرات دینامیک (زمانی) نشانگرها می‌شود و عدم دسترسی به تعداد نمونه آماری بالاتر اشاره کرد. در پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود که تعداد نمونه‌های بیشتر مد نظر قرار گیرد و پس از گاوژ مکمل، سطح در گردش ترکیبات زیست فعال کرم آرد به ویژه پلی‌فنول‌های آن اندازه‌گیری شود.

تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و دریافت عصاره کرم آرد هر کدام به تنهایی با ایجاد تغییرات مثبت بر سطوح کبدی برخی نشانگرهای مهم دخیل در استرس ER و استرس اکسایشی، با تنظیم متابولیسم چربی و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، احتمالاً در درمان NAFLD موثر واقع شود. به علاوه، دریافت همزمان این دو مداخله، احتمالاً اثرات مشابهی حاصل خواهد کرد؛ نیاز به پژوهش‌های بیشتر جهت روشن شدن مکانیزم اثر این مداخلات پژوهشی بر ژن‌های BIP و CHOP و نقش واسطه‌ای آن‌ها در تنظیم اتوفاژی و استرس سلولی احساس می‌شود.

انجام پژوهش‌های بیشتر با توجه به محدود بودن تحقیقات در زمینه اثر تعاملی تمرینات ورزشی و دریافت کرم آرد بر عملکرد میتوکندری، متابولیسم چربی، تنظیم استرس ER و ارتباط متقابل آن با اتوفاژی، با توجه به نقش اساسی آن‌ها در درمان NAFLD، ضروری به نظر می‌رسد. لذا پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای مشابه روی نمونه‌های مبتلا به چاقی و یا دیابت نوع ۲ که با NAFLD در ارتباط هستند، در آینده اجرا شود.

^۲Nuclear respiratory factor-2

^۳AMP-activated protein kinase

^۴Mitogen-activated protein kinase

^۵Mitogen-activated protein kinases

این مقاله بر اساس پایان نامه دکتری تخصصی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، می‌باشد. هزینه‌های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسنده همچنین از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج بخاطر همکاری صمیمانه تشکر می‌کند.

منابع

1. Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC medicine*. 2017;15(1):1-6.
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). *Journal of Cellular Biochemistry*. 2022;123(10):1585-606.
3. Shin YJ, Han SH, Kim DS, Lee GH, Yoo WH, Kang YM, Choi JY, Lee YC, Park SJ, Jeong SK, Kim HT. Autophagy induction and CHOP under-expression promotes survival of fibroblasts from rheumatoid arthritis patients under endoplasmic reticulum stress. *Arthritis research & therapy*. 2010;12:1-1.
4. Zhang Y, Liu Y, Liu X, Yuan X, Xiang M, Liu J, Zhang L, Zhu S, Lu J, Tang Q, Cheng S. 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. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022(1):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. *Frontiers in Physiology*. 2016;7:313.
6. Arya A, Azarmehr N, Mansourian M, Doustimonlagh AH. Inactivation of the superoxide dismutase by malondialdehyde in the nonalcoholic fatty liver disease: a combined molecular docking approach to clinical studies. *Archives of physiology and biochemistry*. 2021;127(6):557-64.
7. Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(36):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.
9. Kalaki-Jouybari F, Shanaki M, Delfan M, Gorgani-Firouzjaee S, Khakdan S. High-intensity interval training (HIIT) alleviated NAFLD feature via miR-122 induction in liver of high-fat high-fructose diet induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2020 May 26;126(3):242-9.
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. *Archives of physiology and biochemistry*. 2019 Mar 15;125(2):142-9.
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. *British journal of sports medicine*. 2018 Jul 1;52(13):834-43.
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).
13. Souza-Tavares H, Santana-Oliveira DA, Vasques-Monteiro IM, Silva-Veiga FM, Mandarin-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. *Nutrition Research*. 2024;126:180-92.
14. Gu J, Liang H, Ge X, Xia D, Pan L, Mi H, Ren M. 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 Immunology*. 2022;120:214-21.

15. Caldas BV, Guimarães VH, Ribeiro GH, dos Santos TA, Nobre DA, de Castro RJ, da Costa DV, de Paula AM, Guimarães AL, Mafra V, Cota J. Effect of dietary supplementation with *Tenebrio molitor* wholemeal and fermented flour modulating adipose lipogenesis gene expression in obese mice. *Journal of Insects as Food and Feed*. 2023 Apr 28;9(5):625-35.
16. Lee JY, Im AR, Shim KS, Ji KY, Kim KM, Kim YH, Chae S. Beneficial effects of insect extracts on nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of medicinal food*. 2020;23(7):760-71.
17. Seo M, Goo TW, Chung MY, Baek M, Hwang JS, Kim MA, Yun EY. *Tenebrio molitor* larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(3):518.
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. *Frontiers in nutrition*. 2019 Jul 15;6:438996.
19. D'Antonio V, Serafini M, Battista N. Dietary modulation of oxidative stress from edible insects: A mini-review. *Frontiers in Nutrition*. 2021 Feb 26;8:642551.
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. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2022;603:35-40.
21. Kim SY, Park JE, Han JS. *Tenebrio molitor* (mealworm) extract improves insulin sensitivity and alleviates hyperglycemia in C57BL/Ksj-db/db mice. *Journal of Life Science*. 2019;29(5):570-9.
22. Simoes ICM, Karkucinska-Wieckowska A, Janikiewicz J, Szymanska S, Pronicki M, Dobrzyn P, Dabrowski M, Dobrzyn A, Oliveira PJ, Zischka H, Potes Y, Wieckowski MR. Western Diet Causes Obesity-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease Development by Differentially Compromising the Autophagic Response. *Antioxidants (Basel)*. 2020 Oct 15;9(10):995.
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 in Food Science & Technology*. 2016;47:69-77.
24. Bozi LH, Jannig PR, Rolim N, Voltarelli VA, Dourado PM, Wisløff U, Brum PC. Aerobic exercise training rescues cardiac protein quality control and blunts endoplasmic reticulum stress in heart failure rats. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2016 Nov;20(11):2208-12.
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 Jan;65(1):132-139.
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. *General Physiology & Biophysics*. 2023 May 1;42(3).
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*. *Journal of Medicinal Food*. 2016 Oct 1;19(10):938-44.
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. *Journal of Food Biochemistry*. 2020 May;44(5):e13186.
29. Mudd N, San Martin-Gonzalez F, Ferruzzi M, Liceaga AM. In vivo antioxidant effect of edible cricket (*Gryllos sigillatus*) peptides using a *Caenorhabditis elegans* model. *Food Hydrocolloids for Health*. 2022 Dec 1;2:100083.
30. Yuan Z, Xiao-Wei L, Juan W, Xiu-Juan L, Nian-Yun Z, Lei S. HIIT and MICT attenuate high-fat diet-induced hepatic lipid accumulation and ER stress via the PERK-ATF4-CHOP signaling pathway. *Journal of physiology and biochemistry*. 2022 Aug;78(3):641-52.
31. Ruan L, Li F, Li S, Zhang M, Wang F, Lv X, Liu Q. 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 eIF2 α /CHOP Signal Pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021(1):6378568.

32. Zou Y, Chen Z, Sun C, Yang D, Zhou Z, Peng X, Zheng L, Tang C. Exercise intervention mitigates pathological liver changes in NAFLD zebrafish by activating SIRT1/AMPK/NRF2 signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(20):10940.
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. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3615.
34. Kang Y, Applegate CC, He F, Oba PM, Vieson MD, Sánchez-Sánchez L, Swanson KS. Yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) proteins slowed weight gain and improved metabolism of diet-induced obesity mice. *The Journal of Nutrition*. 2023;153(8):2237-48.
35. Liu D, Ma Z, Xu L, Zhang X, Qiao S, Yuan J. PGC1 α activation by pterostilbene ameliorates acute doxorubicin cardiotoxicity by reducing oxidative stress via enhancing AMPK and SIRT1 cascades. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(22):10061.
36. Gibala, Martin J., et al. "Brief Intense Interval Exercise Activates AMPK and P38 MAPK Signaling and Increases the Expression of PGC-1 α in Human Skeletal Muscle." *Journal of Applied Physiology*, 2009, <https://doi.org/JAPPL-90880-2008>. Accessed 16 Feb. 2025.