

Original Article

The effect of interval aerobic exercise combined with nano-emulsified Betaine supplementation on the gene expression of mTORC1, PI3K, and calcineurin in hepatocytes of obese rats

Mahdiyeh Poursoltani Zarandi , Amir Sarshin* , Alireza Rahimi , Fuad Feizolahi 

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

Abstract

Background and Purpose: Obesity is one of the major health problems in today's societies, which is associated with a wide range of diseases, including diabetes, metabolic disorders, and fatty liver. The increasing prevalence of obesity and sedentary lifestyles and the development of related diseases have led to the emergence of regular exercise as the basis for obesity treatment. Recent evidence also suggests that betaine consumption may be effective in improving obesity by affecting hepatic lipid and glucose metabolism. Therefore, in the present study, the effect of interval aerobic exercise combined with nano-emulsified betaine supplementation on the genes expression of mammalian target of rapamycin complex-1 (mTORC1), phosphatidyl inositol-3 kinase (PI3K), and calcineurin in hepatocyte cells of obese rats was investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, 25 male Wistar rats were divided into five groups (five rats in each group): 1) healthy, 2) obese, 3) obese + supplement, 4) obese + exercise, 5) obese + supplement + exercise. Rats in obese groups were fed a high-fat and cholesterol diet for 12 weeks. Moderate-intensity interval aerobic training was performed for 8 weeks, included treadmill running for 30 minutes, 5 days a week, with gradual overload. The training protocol in the first week included ten 1-minute activity intervals (at a speed of 10 meters per minute) with 2-minute rest intervals (at a speed of 5 meters per minute), and the running speed in the activity intervals reached 16 meters per minute during fourth to eighth weeks. High-amplitude ultrasound was used to prepare betaine nanoemulsion, which increases its serum stability and bioavailability. Nanoemulsified betaine supplement was administered by gavage at a dose of 50 mg/kg body weight before exercise. At the end of the study period, the expression of mTORC1, PI3K, and calcineurin genes in the liver were measured by using Real-Time PCR, and the data were analyzed using independent t-tests, two-way ANOVA, and Bonferroni post-hoc test.

Results: Obesity significantly decreased mTORC1 and PI3K and also increased calcineurin ($p=0.0001$). Interval aerobic exercise significantly increased mTORC1 and PI3K and significantly decreased calcineurin ($p=0.0001$). Betaine supplementation also increased mTORC1 ($p=0.002$) and PI3K ($p=0.0001$) levels and decreased calcineurin ($p=0.0001$). Furthermore, a statistically significant interaction effects of exercise and

* Corresponding Author's E-mail: amir.sarshin@kiaau.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.240676.1376>

Received: 15/07/2025

Revised: 17/08/2025

Accepted: 02/09/2025



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/>.

supplementation on mTORC1 ($p=0.0001$), PI3K ($p=0.0001$) and calcineurin ($p=0.021$) levels were observed.

Conclusion: Based on our findings, it seems that moderate-intensity interval aerobic exercise and betaine supplementation, independently and together, might play an important role in improving obesity-induced fatty liver by affecting the expression of mTORC1, PI3K, and calcineurin genes through regulating hepatic fat metabolism.

Keywords: Obesity, Interval training, Betaine, mTOR, Calcineurin

How to cite this article: Poursoltani Zarandi M, Sarshin A, Rahimi A, Feizolahi F. The effect of interval aerobic exercise combined with nano-emulsified betaine supplementation on the gene expression of mTORC1, PI3K, and calcineurin in hepatocytes of obese rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(1):144-164.

تأثیر تمرین هوازی تناوبی به همراه مکمل‌یاری بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی چاق

مهدیه پورسلطانی زرنندی^۱، امیر سرشین^{۲*}، علیرضا رحیمی^۳، فواد فیض الهی^۴

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

چکیده

زمینه و هدف: چاقی، یکی از معضلات مهم بهداشتی درمانی در جوامع امروزی است که با گستره وسیعی از بیماری‌ها از جمله دیابت، اختلالات متابولیک و کبد چرب در ارتباط است. گسترش روزافزون چاقی و سبک زندگی بی‌تحرك و ابتلا به بیماری‌های مرتبط با آن سبب شده است تا فعالیت ورزشی منظم به عنوان زیربنای درمان چاقی مطرح شود. همچنین شواهد اخیر نشان می‌دهند که مصرف بتائین از طریق تأثیر بر سوخت‌وساز کبدی چربی و گلوکز، احتمالاً در بهبود چاقی مؤثر باشد. از این رو در پژوهش حاضر، تأثیر تمرین هوازی تناوبی به همراه مکمل‌یاری با بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های کمپلکس-۱ هدف راپامایسین پستانداران (mTORC1)، فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز (PI3K) و کلسی نورین در سلول‌های هیپاتوسیتی موش‌های صحرایی چاق بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی، ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه (پنج سر موش در هر گروه) شامل: سالم، ۲. چاق، ۳. چاق + مکمل، ۴. چاق + تمرین و ۵. چاق + مکمل + تمرین تقسیم شدند. گروه‌های چاق به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب و کلسترول تغذیه شدند. تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط به مدت هشت هفته شامل دویدن روی نوار گردان به مدت ۳۰ دقیقه و پنج روز در هفته همراه با اضافه بار تدریجی انجام شد؛ پروتکل تمرینی در هفته اول شامل ۱۰ وهله فعالیت یک دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) با تناوب‌های استراحتی دودقیقه‌ای (با سرعت پنج متر در دقیقه) بود که سرعت دویدن در وهله‌های فعالیتی در هفته چهارم تا هشتم به ۱۶ متر در دقیقه رسید. از روش فراصوت با دامنه بالا برای تهیه نانو امولسیون بتائین استفاده شد که پایداری سرمی و فراهمی زیستی آن را افزایش می‌دهد. گاوژ مکمل نانو امولسیفای شده بتائین با دوز ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن قبل تمرین صورت گرفت. در پایان دوره پژوهش، بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین در کبد با روش Real-Time PCR اندازه‌گیری شد و داده‌ها از طریق آزمون‌های آماری t-مستقل و آنوای دوعاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ تحلیل شد.

نتایج: چاقی سبب کاهش معنادار mTORC1 و PI3K و همچنین افزایش کلسی نورین شد ($P=0.0001$). تمرین هوازی تناوبی به افزایش معنادار mTORC1 و PI3K و کاهش معنادار کلسی نورین منجر شد ($P=0.0001$). مکمل‌یاری بتائین نیز سطوح mTORC1 ($P=0.002$) و PI3K ($P=0.0001$) را افزایش و کلسی نورین ($P=0.001$) را کاهش داد. همچنین در تعامل تمرین و مکمل اثر آماری معناداری بر سطوح mTORC1 ($P=0.0001$)، PI3K ($P=0.0001$) و کلسی نورین ($P=0.021$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و مکمل‌یاری بتائین، به طور مستقل و همچنین در کنار یکدیگر، با تأثیر بر بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین، از طریق تنظیم سوخت‌وساز چربی کبدی احتمالاً نقش مهمی

* رایانامه نویسنده مسئول: amir.sarshin@kiauo.ac.ir

در بهبود کبد چرب ناشی از چاقی دارند.

واژه‌های کلیدی: چاقی، تمرین تناوبی، بتائین، mTOR، کلسینورین

نحوه استناد به این مقاله: پورسلطانی زرنندی م، سرشین ا، رحیمی ع، فیض الهی ف. تأثیر تمرین هوازی تناوبی به همراه مکمل‌یاری بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های mTORC1، PI3K و کلسی نورین در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی چاق. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۱): ۱۴۴-۱۶۴.

مقدمه

اضافه وزن و چاقی یک عامل خطر برای بیماری کبد چرب غیرالکلی^۱ (NAFLD) است که در سراسر جهان در حال افزایش است. التهاب کبدی و بروز مقاومت به انسولین در شرایط چاقی بسیار رایج بوده و با استئاتوز کبدی و NAFLD همراه است. بر این اساس شیوع استئاتوز کبدی در افراد چاق در حدود ۷۵ درصد گزارش شده که این یافته‌ها نشان می‌دهد چاقی از عوامل خطر کلیدی در توسعه اختلالات کبدی است (۱).

عوامل مختلف سلولی و مولکولی در ایجاد عوارض متابولیک در چاقی درگیرند که از مهم‌ترین آن‌ها پروتئین‌های تنظیم‌کننده بافت چربی به‌ویژه کمپلکس-۱ هدف رایپامایسین پستانداران^۲ (mTORC1) و پروتئین متصل به عنصر پاسخ به استرول-۱^۳ (SREBP1) است (۲). در سال‌های اخیر، محققان مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول-۳-کیناز^۴ (PI3K)/پروتئین کیناز B^۵ (PKB) یا SREBP1/mTORC1/(AKT) را به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم لیپوژنز شناسایی کرده‌اند. مسیر mTORC1 که انسولین و مواد مغذی را حس می‌کند، بیوسنتز چربی را با تنظیم عملکرد SREBP1 در چند مرحله فعال می‌کند. اختلال در تنظیم سیگنالینگ mTORC1 می‌تواند به چاقی یا اضافه وزن منجر شود (۳). علاوه بر این، ارتباط تنگاتنگی بین mTORC1 و مقاومت انسولینی مشاهده می‌شود. درحالی‌که فعال‌سازی حاد mTORC1 به‌دنبال مداخلات مختلف از جمله فعالیت ورزشی، می‌تواند حساسیت به انسولین را افزایش دهد، فعال‌سازی بیش‌ازحد مزمن، به‌ویژه در زمینه رژیم‌های غذایی پرچرب و پرخوری و چاقی ناشی از آن، ممکن است از طریق سازوکارهایی مانند فسفوریلاسیون سوبسترای گیرنده انسولین-۱^۶ (IRS-1) مقاومت به انسولین را تشدید کند (۴). از طرفی، فعال‌سازی حاد mTORC1 در عضلات اسکلتی با افزایش مصرف انرژی و بهبود نیمرخ متابولیک مرتبط است. برای

مثال پژوهش‌ها نشان می‌دهند که فعال‌سازی سازنده و حاد mTORC1 در عضله اسکلتی می‌تواند از چاقی‌های ناشی از رژیم غذایی بدون ایجاد مقاومت سیستمیک به انسولین جلوگیری کند (۵). در نتیجه این شواهد، فعال‌سازی PI3K و mTOR را به‌عنوان عوامل با نقش چندگانه در تنظیم محتوای چربی و مقاومت انسولینی برجسته‌تر می‌کند. همچنین شواهد موجود نشان می‌دهند که با ابتلا به چاقی و افزایش مقاومت به انسولین، سطوح برخی نشانگرهای دخیل در تنظیم برداشت گلوکز از جمله کلسی نورین به‌صورت مزمن افزایش می‌یابد. در واقع، فعال شدن مزمن کلسی نورین با تغییر در نوع تارهای عضلانی می‌تواند جذب گلوکز و مقاومت به انسولین را مختل کند (۶)؛ علاوه بر این، به کاهش توده و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس منجر می‌شود که در نهایت به عدم تحمل گلوکز، چاقی و دیابت نیز کمک می‌کند (۷). کلسی نورین در پاسخ‌های التهابی که اغلب در چاقی تشدید می‌شوند نیز نقش دارد؛ این عامل واسطه مسیرهایی است که می‌تواند به افزایش ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی منجر شود و از این طریق نیز مقاومت به انسولین را تشدید کند (۸). در همین زمینه نیز تحقیقات نشان داده‌اند که کمبود mTORC1 در سلول‌های چربی می‌تواند به افزایش التهاب بافت چربی و فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 منجر شود که بازگر کلیدی در تنظیم پاسخ‌های التهابی و رهایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی است (۹)؛ این شواهد نشان‌دهنده اهمیت فعالیت mTORC1 برای تنظیم التهاب در چاقی و ارتباط متقابل آن با کلسی نورین است.

امروزه فعالیت بدنی منظم، علاوه بر تأثیرات ضدالتهابی و کاهنده مقاومت به انسولین، به‌عنوان نقطه تنظیمی لیپوژنز و بتاکسیداسیون در کبد، از اصلی‌ترین مصادیق تغییر سبک زندگی برای درمان چاقی و کبد

چرب به شمار می‌رود (۱۰). در همین زمینه تحقیقی در سال ۲۰۲۲ نشان داد که شش هفته تمرین هوازی با شدت‌های پایین، متوسط و بالا در موش‌های چاق مبتلا به NAFLD، به بهبود معنادار نیمرخ چربی خون و وضعیت مورفولوژیک کبد به‌ویژه در گروهی که با شدت متوسط تمرین کرده بودند، منجر شد (۱۱). همچنین فعالیت بدنی تأثیرات شایان توجهی بر مسیرهای پیام‌رسانی PI3K، mTOR و کلسی نورین به‌ویژه در زمینه چاقی، مقاومت به انسولین و NAFLD دارد. یو و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که یک دوره تمرین هوازی با شدت متوسط در موش‌های چاق مبتلا به استئاتوهپاتیت غیرالکلی^۷ (NASH) می‌تواند در بهبود مقاومت انسولینی (از طریق فعال‌سازی مسیر mTOR/PI3K و افزایش بیان ناقل غشایی گلوکز-۴^۸ (GLUT4))، کاهش تجمع چربی در کبد (از طریق کاهش بیان ژن‌های مرتبط با لیپوژنز کبدی) و کاهش التهاب مزمن مرتبط با چاقی (از طریق کاهش بیان عامل هسته‌ای کاپا-۹B^۹ (NF-kB) و سایتوکاین‌های التهابی مرتبط با آن) نقش داشته باشد (۱۲). همچنین نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم نشانگرهای التهابی مانند اینترلوکین-۶^{۱۰} (IL-6) را که اغلب در حالت‌های التهابی مزمن مانند چاقی افزایش می‌یابد کاهش می‌دهد (۱۰). پیشینه پژوهش‌ها بیانگر این یافته‌ها هستند که ورزش هوازی می‌تواند مسیر پیام‌رسانی کلسی نورین را تعدیل کند که در رونویسی IL-6 نقش دارد و در نتیجه التهاب سیستمیک را کاهش دهد (۱۳). با این حال، برای روشن شدن سازوکارهای اثر فعالیت ورزشی در کاهش التهاب و مقاومت انسولینی از طریق تأثیر مستقیم بر کلسی نورین به تحقیقات بیشتر نیاز است.

در سال‌های اخیر توجه پژوهشگران به دلیل بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی موجب افزایش تمایل به درمان‌های جایگزین همراه با فعالیت بدنی شده است. در این زمینه، یکی از

محصولات طبیعی بتائین^{۱۱} است که به‌عنوان تری متیل گلیسین هم شناخته می‌شود. بتائین به‌طور درون‌زا از طریق متابولیسم کولین سنتز می‌شود و یا به‌صورت برون‌زا از طریق دریافت غذایی مصرف می‌شود (۱۴). به‌تازگی تأثیرات بتائین و کولین بر عوامل خطر چاقی و NAFLD بررسی شده است؛ در این زمینه نشان داده شده است که مکمل‌یاری با کولین و بتائین، هر دو از طریق کاهش سطوح تری‌گلیسرید کبدی و خون، تحریک لیپولیز و بتاکسایش کبدی و همچنین کاهش معنادار مقاومت به انسولین می‌تواند استئاتوز کبدی را بهبود دهد. این داده‌ها بینش جدیدی در مورد اینکه چگونه مکمل بتائین می‌تواند به درمان اختلالات مرتبط با چاقی کمک کند، ارائه می‌دهد (۱۵، ۱۶). در همین زمینه، نتایج پژوهش نظام‌مند بالینی گائو^{۱۲} (۲۰۱۹) نیز نشان داد که مکمل‌یاری با بتائین می‌تواند در کاهش توده چربی کل بدن و درصد چربی نقش مثبت معناداری داشته باشد (۱۷). درحالی‌که بر خلاف این یافته‌ها، تحقیق دیگری نشان داد که مکمل‌یاری سه‌ماهه با شش گرم بتائین در روز در آزمودنی‌های چاق، اثر معناداری بر وزن، توده چربی و ترکیب بدنی نداشت (۱۸). علاوه بر این، پژوهش‌های جدید، بتائین را به‌عنوان اهداکننده متیل و دارای خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۹، ۲۰)؛ یافته‌های تحقیق وسکوویچ^{۱۳} (۲۰۱۹) نشان می‌دهد که دریافت بتائین در موش‌های مدل NAFLD با افزایش فسفوریلاسیون کبدی AKT و mTOR، بیان کبدی شاخص‌های التهابی IL-6، عامل نکروزدهنده تومور-آلفا^{۱۴} (TNFα) و IL-10، شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در کبد، شاخص‌های آپوپتوز، نیمرخ چربی خون و وضعیت استئاتوز کبدی را به‌طور معناداری بهبود بخشید (۲۱). با وجود این، برخی تحقیقات نیز عدم اثرگذاری بتائین بر عوامل التهابی در چاقی را مطرح کرده‌اند؛ بر اساس برخی شواهد، تأثیرات ضدالتهابی بتائین قطعی نیست و یک متاآنالیز فقط کاهش جزئی در

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این تحقیق آزمایشگاهی به‌منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، از نرم‌افزار آماری G Power استفاده شد و با انتخاب آزمون F و سپس روش آماری تحلیل واریانس (اثرات اصلی و تعاملی)، اندازه اثر بزرگ یا قوی، مقدار α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۷۰ در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۵ سر موش برای پنج گروه تعیین شد. استفاده از اندازه اثر بزرگ، بر اساس اندازه اثر گزارش شده در نتایج پژوهش‌های مشابه پیشین است. موش‌های صحرایی بالغ نر ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن بدن $4 \pm$ ۲۵۷ گرم (تهیه شده از مرکز بافت و ژن پاسارگاد)، 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 پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و فدا کردن موش‌های صحرایی بر اساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هلسینکی ۱۹۶۴ و کد اخلاق اخذ شده از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج با شماره شناسه IR.IAU.K.REC.1403.65 انجام شد.

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

گروه‌های چاق به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی چرب و کلسترول دچار بیماری شدند؛ گروه سالم با رژیم غذایی استاندارد جوندگان تغذیه شدند. با توجه به عناصر تشکیل‌دهنده غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب شامل غذای پایه جوندگان (استاندارد) به‌علاوه ۱۵ درصد چربی حیوانی،

نشانه‌های التهابی بدون تأثیر بالینی شایان توجه را نشان می‌دهند (۲۲). با توجه به این یافته‌های متناقض، بررسی بیشتر آثار ضدچاقی و ضدالتهابی بتائین از طریق تأثیر بر مسیرهای mTOR/PI3K و کلسی نورین ضروری به‌نظر می‌رسد. امروزه روش‌های فارماکولوژیک متعددی به‌منظور افزایش فراهمی زیستی، کارایی و پایداری بیشتر در خون برای داروها و مکمل‌ها استفاده می‌شود که یکی از این روش‌ها نانوامولسیون‌سازی است که برای دستیابی به غلظت‌های درمانی مؤثر در مدل‌های حیوانی بسیار مهم است. بتائین نانوامولسیون شده می‌تواند به جذب بهتر روده‌ای منجر شود و در نتیجه تأثیرات مثبت فیزیولوژیکی آن مانند کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات دز شرایط اختلالات متابولیک را افزایش دهد (۱۴، ۱۵، ۱۹).

از آنجا که شواهد موجود از آثار مثبت تمرین هوازی بر بهبود سوخت‌وساز کبدی چربی و وضعیت التهابی کبد حمایت می‌کنند (۱۱، ۱۲) و از طرفی، نقش بالقوه بتائین در کاهش توده چربی و اثر ضدالتهابی آن به‌تازگی مطرح شده است (۱۷، ۲۱)، از این‌رو به‌نظر می‌رسد که مداخله همزمان ورزش هوازی و بتائین، احتمالاً از طریق تأثیرات ضدالتهابی و کاهنده مقاومت انسولینی و تأثیر بر شاخص‌های ژنی مرتبط با آن به‌ویژه mTORC1 و کلسی نورین که نقش بسزایی در تنظیم محتوای چربی و التهاب دارند، در بهبود چاقی و اختلالات متابولیک ناشی از آن از جمله NAFLD نقش داشته باشد. هرچند تاکنون اثر تعاملی ورزش هوازی به‌همراه بتائین بر شاخص‌های مذکور در زمینه چاقی بررسی نشده است و یافته‌های متناقض در خصوص اثر مستقل این مداخلات پژوهشی نیز وجود دارد؛ بنابراین در این تحقیق، بررسی تأثیر یک دوره تمرین هوازی تناوبی به‌همراه مکمل‌یاری با بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های PI3K, mTORC1 و کلسی نورین در سلول‌های هپاتوسیتی موش‌های صحرایی چاق مطرح می‌شود.

۴ درصد کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۱ درصد اسید کولیک (شرکت سیگما-آمریکا) بود که توسط شرکت بافت و ژن پاسارگاد روزانه تهیه شد و به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت (۲۳). برای اطمینان از القای چاقی در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از پایان دوره تغذیه و پیش از شروع مداخلات اصلی پژوهش، نمونه‌های خونی از نوک دم موش‌های صحرایی گرفته شد. سپس سطوح گلوکز و نیمرخ چربی (تری‌گلیسرید، 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، ارزیابی شدند. افزایش سطح این شاخص‌ها (ALT سرم بالای ۶۰ واحد/لیتر، AST بالای ۱۴۰ واحد/لیتر، گلوکز بالای ۱۶۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، تری‌گلیسرید و کلسترول بالای ۲۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، LDL بالای ۱۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و HDL کمتر از ۴۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر)، تأییدی بر ابتلای موش‌های صحرایی به چاقی بود. همچنین وزن موش‌های

تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از ۱۲ هفته مدلسازی به میانگین 399 ± 4 گرم رسید. موش‌ها در گروه‌های تمرین ورزشی، دو هفته و سه جلسه در هفته به منظور آشنایی با پروتکل تمرین تناوبی روی نوار گردان شروع به دویدن کردند. در طول هفته اول موش‌ها با دویدن با سرعت هشت متر در دقیقه، سه روز در هفته آشنا شدند. روز پیش از تمرین تناوبی، پایلوت پروتکل بر روی پنج سر موش جهت برآورد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) مناسب پروتکل تمرینی انجام گرفت. پیش از آن، پنج سر موش دیگر به عنوان گروه پایلوت برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوار گردان انتخاب شدند و برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سرعت ترمیم به ازای هر دو دقیقه، دو متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا موش‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی). پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه‌های ورزشی، برنامه تمرین هوازی تناوبی را مطابق با پروتکل لی^{۱۵} و همکاران (۲۰۲۲) به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته اجرا کردند (۲۴) (جدول ۱).

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی

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 (R:W)	اضافه بار
گروه چاق + ورزش	دو هفته	دویدن با سرعت پنج متر/دقیقه در مجموع به مدت ۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	هفته 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 بر روی سرعت در وهله‌های فعالیتی: هفته اول، سرعت ۱۰ متر/دقیقه هفته دوم، سرعت ۱۲ متر/دقیقه هفته سوم، سرعت ۱۴ متر/دقیقه هفته چهارم تا هشتم، سرعت ۱۶ متر/دقیقه
گروه چاق + ورزش + مکمل						

موش‌ها در گروه چاق + مکمل و گروه چاق + مکمل + ورزش، مکمل تری متیل گلیاسین هیدروکلراید (بتائین) (شرکت سیگما، آمریکا، Code Number: B3501) را پس از نانوامولسیفای‌سازی، به مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته مشابه با روزهای تمرینی به صورت گاوژ دریافت کردند (۲۵). هدف از نانوامولسیون‌سازی بتائین در این تحقیق در درجه اول افزایش فراهمی زیستی و کارایی این ترکیب بود که برای دستیابی به غلظت‌های درمانی مؤثر در مدل‌های حیوانی بسیار مهم است، زیرا بتائین نانوامولسیون‌شده می‌تواند به جذب بهتر روده‌ای منجر شود و در نتیجه تأثیرات فیزیولوژیکی آن مانند کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات در شرایط اختلالات متابولیک را افزایش دهد (ایکلاند و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین در تحقیقاتی که بر محافظت از کبد و اختلالات متابولیک متمرکز شده‌اند، بتائین نانوامولسیون‌شده پتانسیل بالقوه‌ای در کاهش آسیب کبد و بهبود سلامت متابولیک نشان داده و آن را به ابزاری ارزشمند در مطالعات تجربی تبدیل کرده است (۲۶).

از روش فراصوت با دامنه بالا برای تهیه نانوامولسیون بتائین استفاده شد، زیرا این روش نیروهای برشی بالایی را ایجاد می‌کند که به تشکیل ذرات کوچک‌تر (به‌طور معمول در محدوده ۲۰-۲۰۰ نانومتر) منجر می‌شود که پایداری سرمی و فراهمی زیستی نانوامولسیون را افزایش می‌دهد. نانوامولسیون‌های تولیدشده از طریق فراصوت حساسیت کمتری نسبت به مسائلی مانند لخته‌سازی و ادغام دارند و از پایداری طولانی‌مدت فرمول اطمینان می‌دهند (۲۷).

به‌منظور تهیه نانوامولسیون‌ها به روش مذکور، غلظت‌های مختلف بتائین و Tween 80 با Span 80 به عنوان سورفکتانت مخلوط شدند. ترکیب بتائین و سورفکتانت روی صفحه با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. سپس محلول در ابتدا با استفاده از همزنایزر پرسرعت (مدل: Silent Crusher M,

Heidolph, Germany) در ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط و همگن شد. پس از آن، سونیکاسیون به مدت سه دقیقه با حداکثر سرعت انجام شد. نانوامولسیون‌های تهیه‌شده دارای ساختار شفاف و بدون کدورت بودند. تمام فرمولاسیون‌های آماده‌شده تا پنج ماه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و دمای یخچال (چهار درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. هیچ تغییری در اندازه ذرات و شاخص پراکندگی چندگانه (PDI) مشاهده نشد که پایداری طولانی‌مدت نانوامولسیون‌ها و دوره نگهداری مشخص‌شده در دمای اتاق و یخچال را تأیید می‌کند (۲۸).

روش‌های آزمایشگاهی: به‌منظور از بین بردن تأثیرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاوژ مکمل، حیوانات با تزریق درون‌صفافی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. برداشت بافت کبدی بلافاصله پس از بی‌هوشی و خونگیری انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در محلول نیتروژن فریز و در دمای ۸۰- درجه نگهداری شدند.

بررسی بیان ژن‌های PI3K, mTORC1 و کلسی نورین در کبد

بیان ژن‌های PI3K, mTORC1 و کلسی نورین، با روش Real-Time PCR (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems) بررسی شد. استخراج RNA به صورت 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 PI3K, mTORC1 و کلسی نورین با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم‌افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST به‌منظور اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها ارزیابی شد. در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer Sequence
Pi3K-F	CGGCAATGTGGAGCAGATGAA
Pi3K-R	GGGGCTCTTGTGCATCATCTT
mTORc1-F	TGATTTTGGGAGAACAGAAGATGA
mTORc1-R	GAGGTAACAGGATGGTGGAGTG
Calcineurin (ppp3ca)-F	GGAAGAAAGTGTCGCGTTGAG
Calcineurin (ppp3ca)-R	GAAGAGGTAGCGAGTGTTGGC
GAPDH-F	GGTAGTGAGAGCAAGAGAGAGG
GAPDH-R	ATGGTATTGGAGAGAAGGGAGGG

نتایج

یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد بررسی در پس‌آزمون نمونه‌های پژوهش حاضر در جدول ۳ نشان داده شده است. پیش‌فرض این تحقیق، تأثیر ابتلا به چاقی بر بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین و وزن بدن در موش‌های مدل بود. از آنجا که این نوع هدف در پژوهش‌های پیشین به انجام رسیده است، تنها مطلوب این پیش‌فرض، اطمینان از مدلسازی چاقی و تأثیر آن بر ژن‌های مورد بررسی ما در نمونه‌های مدل است. به‌منظور بررسی این پیش‌فرض و تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و چاق از روش آماری t-مستقل استفاده شد که نتایج آن در جدول ۴ ارائه شده است.

تحلیل آماری: اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ در سطح معنا-داری $P \leq 0.05$ پردازش و تحلیل شده و تمامی نتایج به‌صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک و همچنین بررسی همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین بررسی شد؛ سپس به‌منظور تعیین تفاوت بین گروهی (سالم با چاق) و بررسی پیش‌فرض، از آزمون آماری t-مستقل و برای بررسی تأثیر تعاملی مکمل بتائین با تمرین هوازی تناوبی بر سطوح کبدی PI3K، mTORC1 و کلسی نورین از آزمون تحلیل واریانس دوعاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد بیان نسبی ژن‌ها (mRNA) در مقیاس $2^{-\Delta CT}$ به همراه وزن پس از مداخله پژوهشی

گروه‌ها	سالم	چاق	چاق + ورزش	چاق + مکمل	چاق + مکمل + ورزش
PI3K	$11/68 \pm 1/79$	$1/008 \pm 0/056$	$4/09 \pm 0/567$	$3/69 \pm 0/639$	$9/95 \pm 0/659$
mTORC1	$4/63 \pm 1/24$	$1/01 \pm 0/025$	$4/34 \pm 1/35$	$2/60 \pm 0/184$	$5/76 \pm 1/13$
کلسی نورین	$0/063 \pm 0/012$	$1/03 \pm 0/143$	$0/248 \pm 0/105$	$0/686 \pm 0/183$	$0/0617 \pm 0/011$
وزن (گرم)	$256/3 \pm 3/8$	$399/1 \pm 4/1$	$325/5 \pm 6/1$	$348/5 \pm 4/5$	$327/3 \pm 9/9$

جدول ۴. نتایج آزمون t-مستقل جهت تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و چاق

متغیر	Sig.	df	t
PI3K	$0/0001^*$	8	13/28
mTORC1	$0/0001^*$	8	6/52
کلسی نورین	$0/0001^*$	8	-15/09
وزن	$0/0001^*$	8	-25/52

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

نتایج آزمون t-مستقل در بررسی تفاوت‌های بین گروهی نشان داد که سطوح ژن‌های PI3K و mTORC1 در گروه چاق یا مدل در مقایسه با گروه سالم به‌طور معناداری کاهش ($P=0/0001$) و کلسی نورین و وزن به‌طور معناداری افزایش یافته است ($P=0/0001$). نتایج روش آماری تحلیل واریانس دوعاملی در سطح معناداری $0/05 \leq P$ برای تعیین تغییرات بین گروهی متغیرهای مورد بررسی در جدول ۵ قابل مشاهده است.

نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین تفاوت‌های بین دو گروه در بیان نسبی ژن‌های مورد بررسی در شکل‌های ۱ تا ۳ ارائه شده است.

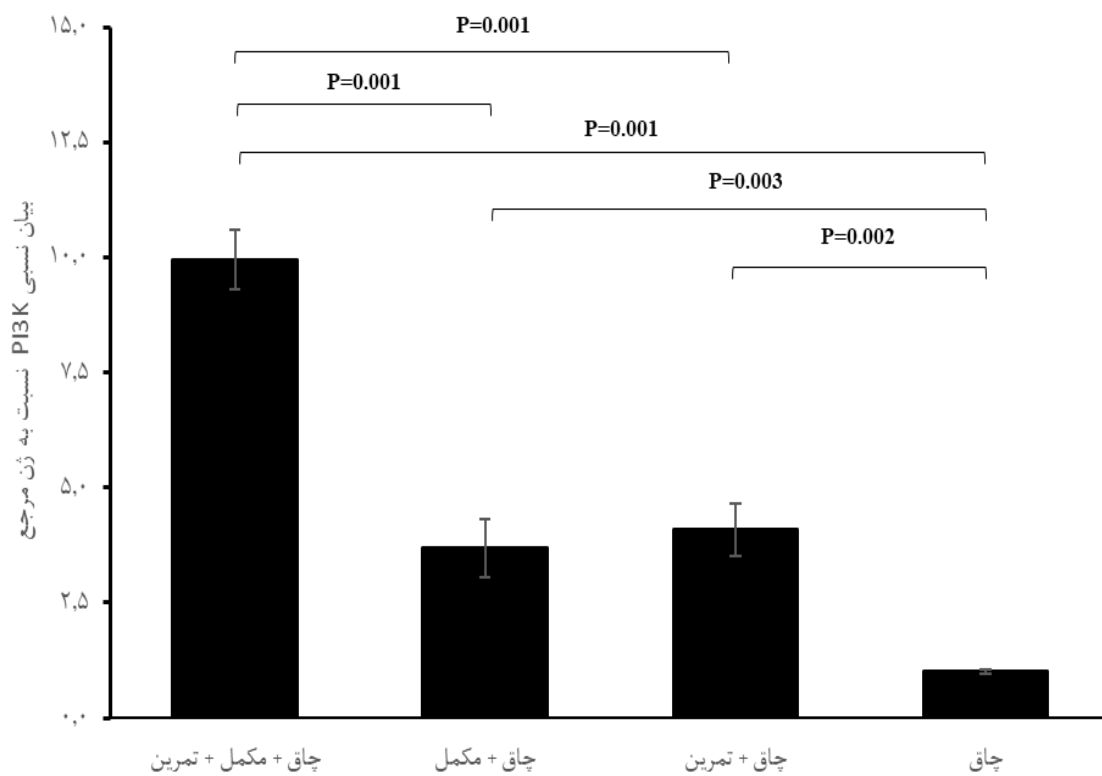
جدول ۵. نتایج تحلیل واریانس دوعاملی در تغییرات متغیرهای مورد بررسی

متغیرها	منبع	SS	Df	MS	F	Sig.	η^2
PI3K (mRNA)	تمرین	۱۰۹/۰۸	۱	۱۰۹/۰۸	۳۷۳/۰۶	* ۰/۰۰۰۱	۰/۹۵
	مکمل	۹۱/۳۰	۱	۹۱/۰۳	۳۱۲/۴۰	** ۰/۰۰۰۱	۰/۹۵
	تمرین «مکمل	۱۲/۵۵	۱	۱۲/۵۵	۴۲/۹۴	*** ۰/۰۰۱	۰/۷۲
	خطا	۴/۶۷	۱۶	۰/۲۹			
mTORC1 (mRNA)	تمرین	۵۲/۹۷	۱	۵۲/۹۷	۵۲/۹۰	* ۰/۰۰۰۱	۰/۸۰
	مکمل	۱۱/۴۳	۱	۱۱/۴۳	۱۴/۴۳	** ۰/۰۰۲	۰/۴۷
	تمرین «مکمل	۶۱/۸۵	۱	۶۱/۸۵	۷۱/۰۱	*** ۰/۰۰۰۱	۰/۸۳
	خطا	۱۲/۶۷	۱۶	۰/۷۹			
کلسی نورین (mRNA)	تمرین	۲/۳۱	۱	۲/۳۱	۱۹۳/۰۸	* ۰/۰۰۰۱	۰/۹۲
	مکمل	۰/۳۲	۱	۰/۳۲	۲۶/۹۳	** ۰/۰۰۱	۰/۶۳
	تمرین «مکمل	۰/۰۸	۱	۰/۰۸	۶/۶۱	*** ۰/۰۰۱	۰/۲۹
	خطا	۰/۱۹۲	۱۶	۰/۰۱۲			
وزن (گرم)	تمرین	۱۱۲۳۳/۸	۱	۱۱۲۳۳/۸	۵۱/۳۹	* ۰/۰۰۰۱	۰/۷۶
	مکمل	۲۹۷۶/۸	۱	۲۹۷۶/۸	۱۳/۶۱	** ۰/۰۰۲	۰/۴۶
	تمرین «مکمل	۳۴۳۲/۲	۱	۳۴۳۲/۲	۱۵/۷۰	*** ۰/۰۰۱	۰/۵۰
	خطا	۳۴۹۷/۵	۱۶				

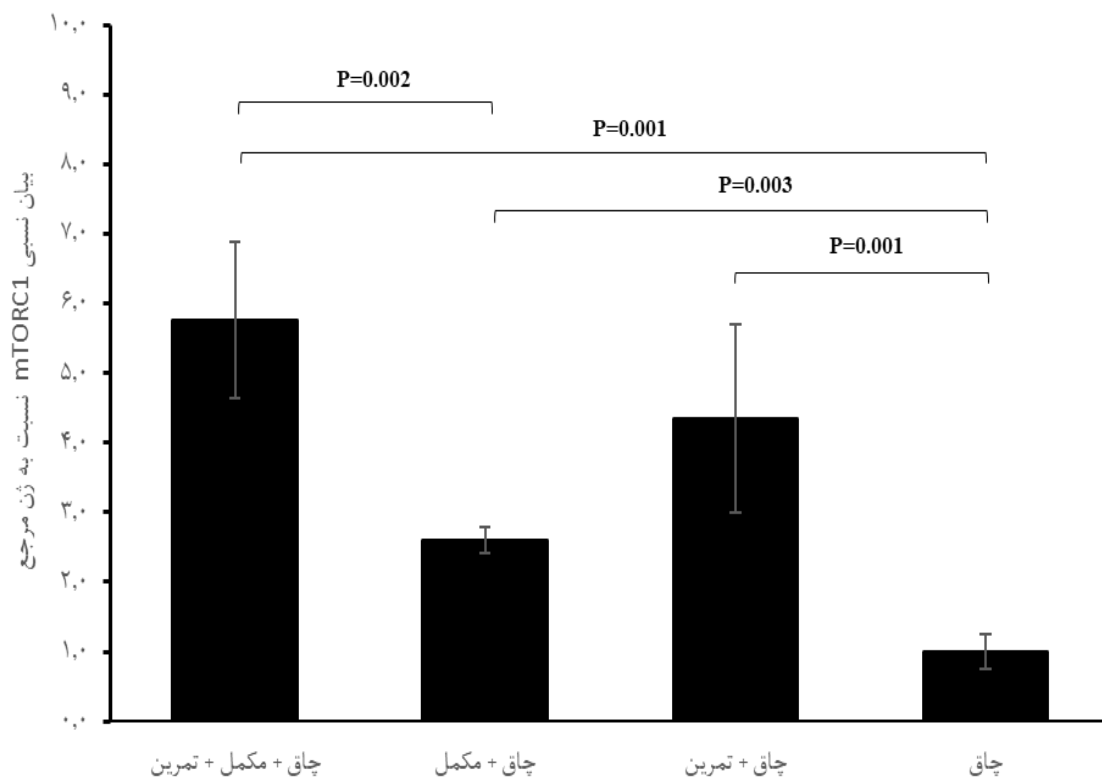
* نشان‌دهنده اثر معنادار تمرین هوازی تناوبی بر متغیرهای تحقیق

** نشان‌دهنده اثر معنادار مکمل بتائین بر متغیرهای تحقیق

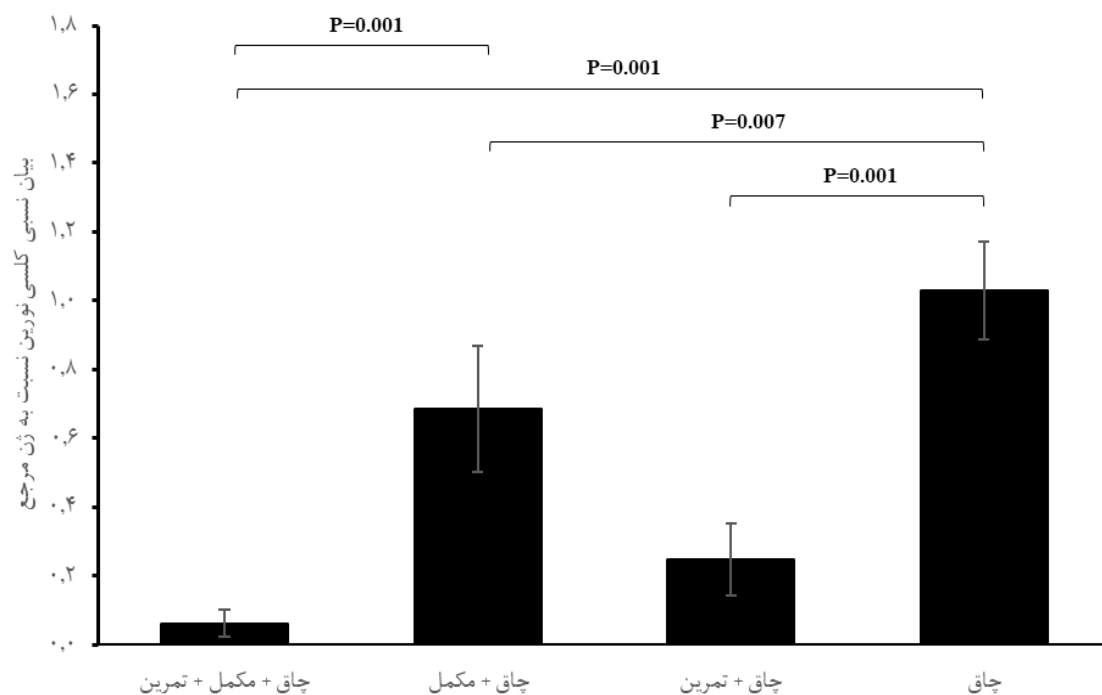
*** بیانگر اثر تعاملی معنادار تمرین هوازی تناوبی همراه با مکمل بتائین بر متغیرهای تحقیق



شکل ۱. تغییرات بیان نسبی ژن PI3K بین گروه‌های آزمایشی در سطح معناداری $P \leq 0.05$



شکل ۲. تغییرات بیان نسبی ژن mTORC1 بین گروه‌های آزمایشی در سطح معناداری $P \leq 0.05$



شکل ۳. تغییرات بیان نسبی ژن کلسی نورین بین گروه‌های آزمایشی در سطح معناداری $P \leq 0.05$

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این تحقیق نشان داد که چاق شدن موش‌ها با کاهش سطوح PI3K, mTORC1 و افزایش کلسی نورین همراه بود. این نتایج، با نتایج پژوهش‌های گذشته همسوست (۳,۴,۶). سازوکارهای ناشی از چاقی در تغییرات محور mTOR/PI3K و پیام‌رسانی کلسی نورین مطرح شده‌اند که شامل تغییرات در سوخت‌وساز چربی، افزایش مقاومت به انسولین و التهاب مزمن مرتبط با چاقی است. دریافت بالای انرژی به‌ویژه از طریق رژیم غذایی پرچرب، با فعال‌سازی بیش‌ازحد مزمن mTOR/PI3K همراه است که احتمالاً از طریق سازوکارهایی مانند فسفوریلاسیون مکرر IRS-1، مقاومت به انسولین را تشدید می‌کند (۴). همچنین تغییرات اپی‌ژنتیکی در چاقی، مانند متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون، بر بیان ژن‌های مربوط به سوخت‌وساز چربی‌ها تأثیر می‌گذارد که این تغییرات می‌تواند افراد را مستعد ابتلا به اختلالات چربی با تأثیر بر ژن‌های دخیل در تجمع چربی و سوخت‌وساز آن کند

(۲۹). از سوی دیگر، فعال شدن مزمن کلسی نورین در طول چاقی، به کاهش توده و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس منجر می‌شود که در نهایت به افزایش مقاومت انسولینی کمک می‌کند (۷). علاوه بر این، التهاب مزمن با درجه پایین ناشی از چاقی، با تحریک پاسخ‌های ایمنی و التهابی همراه است؛ در این زمینه، کلسی نورین با تحریک ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نیز مقاومت به انسولین را تشدید می‌کند (۸). همچنین شواهد گزارش کرده‌اند که کمبود mTORC1 در سلول‌های چربی می‌تواند به افزایش التهاب بافت چربی منجر شود که این شواهد نشان‌دهنده اهمیت فعالیت mTORC1 برای تنظیم التهاب در چاقی و ارتباط متقابل آن با کلسی نورین است (۹).

نتایج اصلی پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین هوازی تناوبی به‌تنهایی بیان کبدی ژن‌های PI3K و mTORC1 را در موش‌های چاق افزایش و بیان کلسی نورین را کاهش داد. همراستا با این یافته‌ها، محققان نشان دادند که یک دوره تمرین هوازی با شدت متوسط

در موش‌های چاق مبتلا به NASH توانست از طریق فعال‌سازی مسیر mTOR/Akt/Pi3K/TRIM72 و افزایش بیان GLUT4، مقاومت انسولینی را کاهش دهد؛ تجمع چربی در کبد را از طریق کاهش بیان ژن‌های مرتبط با لیپوژنز کبدی سرکوب کند و التهاب مزمن مرتبط با چاقی را از طریق کاهش بیان NF-kB و سایتوکاین‌های التهابی مرتبط با آن تعدیل سازد (۱۲). همچنین نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم نشانگرهای التهابی مانند IL-6 را که اغلب در حالت‌های التهابی مزمن مانند چاقی افزایش می‌یابند، کاهش می‌دهد (۱۰). در همین زمینه پژوهشی نشان می‌دهد که تمرین هوازی می‌تواند مسیر پیام‌رسانی کلسی نورین را تعدیل کند که در رونویسی IL-6 نقش دارد و در نتیجه التهاب سیستمیک را کاهش دهد (۱۳). لی و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی در موش‌های چاق، در کنار کاهش معنادار وزن، گلوکز، مقاومت به انسولین، محتوای چربی و شاخص‌های التهابی از جمله IL-6 و TNF α ، به افزایش معنادار بیان PI3K و IRS-1 منجر شد (۳۰). همچنین در پژوهش دیگری، هشت هفته تمرین هوازی با شدت فزاینده در موش‌ها به افزایش فعال‌سازی کبدی Akt و نشانگرهای اصلی پایین‌دست آن، mTORC1 و S6K1 منجر شد (۳۱). در خصوص سازوکار اثر فعالیت ورزشی هوازی در تغییرات بیومارکرهای مذکور در چاقی، باید گفت که این بهبودها در درجهٔ اول به افزایش سوخت‌وساز چربی، تغییرات مثبت در عملکرد میتوکندری و کاهش مقاومت انسولینی نسبت داده می‌شود. تمرینات هوازی (به‌ویژه با شدت متوسط) با افزایش لیپولیز بافت آدیپوز باعث افزایش دسترسی اسیدهای چرب خون به بافت عضلانی می‌شود که برای مصرف انرژی در ساعات پس از ورزش و کاهش کلی تودهٔ چربی بسیار مهم است. افزایش تقاضای انرژی پس از ورزش، به سازگاری در عملکرد میتوکندری منجر

می‌شود و از کاتابولیسم چربی بیشتر حمایت می‌کند (۳۲). از طرفی، کاهش تودهٔ چربی به‌واسطهٔ ورزش، با کاهش مقاومت انسولینی، نیمرخ چربی خون و کاهش تجمع چربی در کبد همراه است (۳۳). با توجه به اینکه فعال‌سازی حاد mTORC1 در عضلات اسکلتی ناشی از فعالیت ورزشی با افزایش مصرف انرژی و بهبود نیمرخ متابولیک در ارتباط است (۵)، در نتیجه کاهش تودهٔ چربی در پی تمرینات هوازی خود می‌تواند به‌عنوان محرکی در افزایش فعال شدن محور mTORC1/PI3K عمل کند. همچنین از آنجا که افزایش مزمن کلسی نورین در چاقی به کاهش عملکرد سلول‌های بتای پانکراس منجر می‌شود (۷)، کاهش تودهٔ چربی در پی ورزش هوازی می‌تواند با متعادل ساختن سطوح کلسی نورین، عملکرد بهینهٔ سلول‌های بتای پانکراس را بازایی کند.

یافته‌های دیگر تحقیق حاضر نشان می‌دهد که مکمل‌یاری بتائین به‌طور مستقل بیان کبدی ژن‌های PI3K و mTORC1 را در موش‌های چاق افزایش و بیان کلسی نورین را کاهش داد. تا حدی همسو با این یافته‌ها، وسکوویچ (۲۰۱۹) گزارش کرد که دریافت بتائین در موش‌های مدل NAFLD، با افزایش فسفوریلاسیون کبدی AKT و mTOR، سبب بهبود معنادار بیان کبدی شاخص‌های التهابی IL-6، TNF α و IL-10، شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در کبد، شاخص‌های آپوپتوز، نیمرخ چربی خون و وضعیت استئاتوز کبدی شد (۲۱) که این یافته‌ها به نقش بتائین از طریق تأثیر بر محور mTOR/PI3K در تنظیم شاخص‌های التهابی کبد اشاره می‌کند. در تحقیق دیگری مشخص شد که دریافت غلظت‌های فیزیولوژیک مناسب بتائین، بیان آدیپوکاین‌های التهابی IL-6 و TNF α را در سلول‌های چربی انسانی قرارگرفته در معرض هایپوکسی کاهش می‌دهد (۳۴). علاوه بر این، پژوهش‌های جدید، بتائین را به‌عنوان اهداکنندهٔ متیل

و دارای خواص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۹). سازوکار اثر احتمالی بتائین در تغییرات شاخص‌های مورد بررسی، شامل تنظیم مسیرهای التهابی و تغییرات اپی ژنتیکی است که در مجموع به تأثیرات ضدالتهابی بتائین کمک می‌کند. شواهد موجود در این زمینه نشان می‌دهند که بتائین، فعال شدن مسیر التهابی NF- κ B را که در میانجیگری پاسخ‌های التهابی بسیار مهم است، مهار می‌کند؛ در واقع فعال شدن این مسیر التهابی که در چاقی و اضافه وزن گزارش شده است، نقش مهمی در تحریک سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از جمله TNF α دارد. همچنین بتائین، فعال شدن اینفلامازوم NLRP3 را کاهش می‌دهد که یک بازیگر کلیدی در التهاب مزمن مرتبط با چاقی است (۳۵). شواهد موجود، رابطه مستقیمی را بین افزایش mTORC1 در سلول‌های چربی با کاهش التهاب بافت چربی و سرکوب فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 نشان داده‌اند (۹). در مجموع به نظر می‌رسد که مکمل‌یاری بتائین با کاهش فعال‌سازی مسیرهای التهابی NF- κ B و NLRP3، در افزایش فعالیت محور mTORC1/PI3K و تعدیل سطوح کلسی نورین در چاقی نقش داشته باشد. با این حال، برخی تحقیقات نشان می‌دهند که شواهد برای تأثیرات ضدالتهابی بتائین قطعی نیست و یک متاآنالیز فقط کاهش جزئی در نشانگرهای التهابی بدون تأثیر بالینی شایان توجه را نشان می‌دهند (۲۲) که این تناقض با یافته‌های تحقیق ما احتمالاً به دلیل فراتحلیلی بودن و تفاوت در نمونه‌های پژوهشی به‌کاررفته در آن باشد.

بر اساس دیگر نتایج تحقیق حاضر، اثر تعاملی تمرین و مکمل در افزایش PI3K و mTORC1 و همچنین کاهش کلسی نورین معنادار بود. در زمینه تأثیرات تعاملی بتائین و فعالیت ورزشی بر وضعیت التهابی و توده چربی در چاقی و اضافه وزن، پژوهش‌های معدودی در دسترس است. در همین زمینه و همسو با

یافته‌های پژوهش حاضر، یو^{۱۶} و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که ۱۰ هفته مکمل‌یاری با بتائین (۱/۵ درصد وزن بدن) به همراه تمرین استقامتی تدریجی با شدت متوسط در موش‌های چاق، توانست وزن بدن و توده چربی را به‌طور معناداری کاهش دهد و حساسیت انسولینی و تحمل گلوکز را بهبود بخشد (۳۶). در تحقیق دیگری مشاهده شد که تمرین هوازی شنا به همراه مکمل‌یاری بتائین در موش‌های چاق تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، سبب کاهش وزن بدن، بهبود سطوح چربی‌های کبدی و نیمرخ چربی خون، گلوکز سرم و لپتین شد (۳۷). سازوکار احتمالی که از طریق آن فعالیت ورزشی در تعامل با مکمل بتائین بر کاهش توده چربی و التهاب تأثیر می‌گذارد، به تنظیم سوخت‌وساز چربی و کاهش مقاومت انسولینی از طریق بهبود عملکرد میتوکندری برمی‌گردد. شواهد زیادی نشان می‌دهند که تمرین هوازی به‌طور چشمگیری بر سازوکارهای درون سلولی به‌ویژه از طریق فعال شدن PGC-1 α که تنظیم‌کننده کلیدی بیوژنز و عملکرد میتوکندری و سازگاری متابولیک است، تأثیر می‌گذارد و در نهایت به کاهش استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز در کبد منجر می‌شود (۳۸). سازوکار احتمالی درگیر در تنظیم بیان PGC-1 α در ورزش، رهایش هیپاتوکاین‌ها از جمله فاکتور رشد فیبروبلاست-۲۱ (FGF21)^{۱۷} در پاسخ به تمرینات ورزشی هوازی است که در مدل‌های چاقی، دیابت و NAFLD گزارش شده است. شواهد حاکی از آن است که تجویز FGF21 موجب بهبود نیمرخ متابولیک و کاهش چربی کبدی در این مدل‌ها می‌شود (۳۹)؛ شایان ذکر است که فعال‌سازی قوی mTORC1 در کبد نیز می‌تواند بیان FGF21 را از مسیر وابسته به فعال شدن PGC-1 α افزایش دهد و از این طریق بر سوخت‌وساز چربی در کبد تأثیر بگذارد (۴۰). همچنین نشان داده شده است که PGC-1 α

پیام‌رسانی انسولین را با افزایش فعالیت مسیر PI3K/Akt افزایش می‌دهد. این امر از طریق بهبود برداشت گلوکز و سنتز گلیکوژن در کبد به‌دست می‌آید که برای حفظ هموستاز گلوکز ضروری است (۴۱). علاوه بر این، نقش PGC-1 α در کاهش سطح کلسی نورین مطرح شده است که به آثار مفید آن بر سوخت‌وساز کمک کند، زیرا کلسی نورین در مسیرهای متابولیکی مختلفی که می‌تواند چاقی را تشدید کند، دخیل است (۴۲). از طرفی شواهد موجود بیانگر آثار بتائین بر بهبود عملکرد میتوکندری به‌ویژه از طریق تأثیر بر PGC-1 α هستند؛ پژوهش‌هایی تنظیم افزایشی بیان PGC-1 α توسط بتائین را در موش‌های db/db و موش‌های دریافت‌کننده الکل نشان داده‌اند (۴۳، ۴۴). اخیراً بیان شده است که افزایش میتوژنز توسط بتائین از طریق فعال‌سازی مسیر SIRT1/PGC-1 α انجام می‌شود. مکمل‌یاری بتائین، با افزایش مقدار پروتئین میتوکندری و محتوای ATP، افزایش mRNA و سطوح پروتئین SIRT1، PGC-1 α ، NRF1 و TFAM در سلول‌های C2C12 همراه بوده است (۴۵). در نتیجه به‌نظر می‌رسد تعامل تمرین هوازی تناوبی و مکمل‌یاری بتائین، توانایی کافی برای فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با PGC-1 α و تأثیرات آن بر مسیرهای mTOR/PI3K و کلسی نورین را داشته باشد. شواهد در دسترس گزارش کرده‌اند که بهبود عملکرد میتوکندریایی ناشی از تغییرات PGC-1 α در چاقی از طریق افزایش سوخت‌وساز چربی، تنظیم برداشت سلولی گلوکز و تعدیل مقاومت انسولینی، می‌تواند نقش محوری در کاهش التهاب مزمن مرتبط با چاقی و نشانگرهای آن داشته باشد (۴۶). علی‌رغم کنترل دقیق شرایط نگهداری حیوانات، برخی عوامل محیطی مانند استرس ناشی از گاوآژ یا شوک دستگاه تردمیل ممکن است بر نتایج تحقیق اثرگذار بوده باشند که از محدودیت‌های این تحقیق به‌شمار

می‌آیند. همچنین حجم نمونه کم، عدم اندازه‌گیری همزمان بیان پروتئین‌های PI3K، mTOR و کلسی نورین و عدم ارزیابی‌های هستیتولوژیک بافت کبد از دیگر محدودیت‌های این تحقیق است که می‌توانست به گستردگی این مطالعه کمک شایانی کند که به‌دلیل محدودیت‌های مالی میسر نشد. به‌نظر می‌رسد که تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و مکمل‌یاری بتائین، به‌طور مستقل و همچنین در کنار یکدیگر، با تنظیم متابولیسم چربی کبدی و تعدیل مقاومت انسولینی نقش مهمی در بهبود کبد چرب ناشی از چاقی دارند. مکمل‌یاری بتائین با تعدیل مسیرهای التهابی احتمالاً از طریق کاهش بیان کلسی نورین و افزایش mTOR، در کاهش التهاب مزمن مرتبط با چاقی نقش بالقوه‌ای نشان می‌دهد. همچنین با توجه به یافته‌های این تحقیق، به‌نظر می‌رسد که تعامل تمرین و مکمل، احتمالاً می‌تواند اثر پرنرنگ‌تری در بهبود سوخت‌وساز چربی و حساسیت انسولینی به‌واسطه کاهش بیان کلسی نورین و افزایش بیان PI3K و mTOR داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بر اساس رساله دکتری تخصصی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، است. نویسنده از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج به‌سبب همکاری صمیمانه تشکر می‌کند.

حمایت مالی

تمامی هزینه‌های تحقیق بر عهده محقق بوده است. امکانات آزمایشگاهی توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در اختیار محقق قرار گرفته است.

مشارکت نویسندگان

طراحی تحقیق، اجرای پروتکل‌ها، جمع‌آوری داده‌ها،

<https://doi.org/10.3390/toxins14120833>.

3. Liu DD, Han CC, Wan HF, He F, Xu HY, Wei SH, Du XH, Xu F. Effects of inhibiting PI3K-Akt-mTOR pathway on lipid metabolism homeostasis in goose primary hepatocytes. *Animal*. 2016;10(8):1319-27. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000380>.

4. Houde VP, Bruhlé S, Festuccia WT, Blanchard PG, Bellmann K, Deshaies Y, Marette A. Chronic rapamycin treatment causes glucose intolerance and hyperlipidemia by upregulating hepatic gluconeogenesis and impairing lipid deposition in adipose tissue. *Diabetes*. 2010;59(6):1338-48. <https://doi.org/10.2337/db09-1324>.

5. Stephenson EJ, Redd JR, Snyder D, Tran QT, Lu B, Peloquin MJ, Mulcahy MC, Harvey I, Fisher K, Han JC, Qi N. Skeletal muscle mTORC1 activation increases energy expenditure and reduces longevity in mice. *bioRxiv*. 2019:720540. <https://doi.org/10.1101/720540>.

6. Danowska M, Strączkowski M. The Ca²⁺/Calmodulin-dependent calcineurin/NFAT signaling pathway in the pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2023;131(11):589-94. <https://doi.org/10.1055/a-2174-7958>.

7. Chakkerla HA, Kudva Y, Kaplan B. Calcineurin inhibitors: pharmacologic mechanisms impacting both insulin resistance and insulin secretion leading to glucose dysregulation and diabetes mellitus. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017;101(1):114-20. <https://doi.org/10.1002/cpt.546>.

تحلیل آماری، نگارش نسخه اولیه و بازنگری نهایی مقاله توسط نویسندگان پورسلطانی زرنندی انجام شده است. راهنمایی علمی و نظارت کلی بر روند پژوهش توسط استاد راهنما (دکتر امیر سرشین) ارائه شده است. مشاوره تخصصی در بخش‌های مرتبط با طراحی آزمون‌ها، تحلیل داده‌ها و بهبود نسخه نهایی مقاله توسط دو مشاور علمی (دکتر علیرضا رحیمی و دکتر فواد فیض الهی) انجام گرفته است.

تعارض منافع

تداخل در منافع وجود ندارد.

پی‌نوشت‌ها

- ¹ Non-alcoholic fatty liver disease
- ² Mammalian target of rapamycin complex-1
- ³ Sterol regulatory element-binding protein 1
- ⁴ Phosphatidylinositol 3-kinase
- ⁵ Protein-kinase B
- ⁶ Insulin receptor substrate-1
- ⁷ Nonalcoholic steatohepatitis
- ⁸ Glucose transporter-4
- ⁹ Nuclear factor kappa-B
- ¹⁰ Interleukin-6
- ¹¹ Betaine
- ¹² Gao
- ¹³ Veskovic
- ¹⁴ Tumor necrosis factor-alpha
- ¹⁵ Li
- ¹⁶ Yu
- ¹⁷ Fibroblast growth factor 21

منابع

1. Brunt EM, Wong VW, Nobili V, Day CP, Sookoian S, Maher JJ, Bugianesi E, Sirlin CB, Neuschwander-Tetri BA, Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nature reviews Disease primers*. 2015;1(1):1-22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.80>.
2. Chu H, Du C, Yang Y, Feng X, Zhu L, Chen J, Yang F. MC-LR aggravates liver lipid metabolism disorders in obese mice fed a high-fat diet via PI3K/AKT/mTOR/SREBP1 signaling pathway. *Toxins*. 2022;14(12):833.

8. Weber K, Schilling JD. Lysosomes integrate metabolic-inflammatory cross-talk in primary macrophage inflammasome activation. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(13):9158-71. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.531202>.
9. Chimin P, Andrade ML, Belchior T, Paschoal VA, Magdalon J, Yamashita AS, Castro É, Castoldi A, Chaves-Filho AB, Yoshinaga MY, Miyamoto S. Adipocyte mTORC1 deficiency promotes adipose tissue inflammation and NLRP3 inflammasome activation via oxidative stress and de novo ceramide synthesis [S]. *Journal of Lipid Research*. 2017;58(9):1797-807. <https://doi.org/10.1194/jlr.M074518>.
10. Wong VW, Singal AK. Emerging medical therapies for non-alcoholic fatty liver disease and for alcoholic hepatitis. *Translational Gastroenterology and Hepatology*. 2019;4:53. <https://doi.org/10.21037/tgh.2019.06.06>.
11. Ruan L, Wang G, Qing Lv Z, Li S, Liu Q, Ren Y, Zhang Q, Lv X, Wu R, Jin Z. The effect of varied exercise intensity on antioxidant function, aortic endothelial function, and serum lipids in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Investigación Clínica*. 2022;63(4):327-43. <https://doi.org/10.54817/ic.v63n4a01>.
12. Yu Q, Xia Z, Liong EC, Tipoe GL. Chronic aerobic exercise improves insulin sensitivity and modulates Nrf2 and NF κ B/I κ B α pathways in the skeletal muscle of rats fed with a high fat diet. *Molecular medicine reports*. 2019;20(6):4963-72. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10787>.
13. Allen DL, Uyenishi JJ, Cleary AS, Mehan RS, Lindsay SF, Reed JM. Calcineurin activates interleukin-6 transcription in mouse skeletal muscle in vivo and in C2C12 myotubes in vitro. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2010;298(1): R198-210. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00325.2009>.
14. Eklund M, Bauer E, Wamatu J, Mosenthin R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition research reviews*. 2005;18(1):31-48. <https://doi.org/10.1079/NRR200493>.
15. Sivanesan S, Taylor A, Zhang J, Bakovic M. Betaine and choline improve lipid homeostasis in obesity by participation in mitochondrial oxidative demethylation. *Frontiers in Nutrition*. 2018;5:61. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00061>.
16. Du J, Shen L, Tan Z, Zhang P, Zhao X, Xu Y, Gan M, Yang Q, Ma J, Jiang AA, Tang G. Betaine supplementation enhances lipid metabolism and improves insulin resistance in mice fed a high-fat diet. *Nutrients*. 2018;10(2):131. <https://doi.org/10.3390/nu10020131>.
17. Gao X, Zhang H, Guo XF, Li K, Li S, Li D. Effect of betaine on reducing body fat—a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2019;11(10):2480. <https://doi.org/10.3390/nu11102480>.
18. Schwab U, Törrönen A, Toppinen L, Alfthan G, Saarinen M, Aro A, Uusitupa M. Betaine supplementation decreases plasma homocysteine concentrations but does not affect body weight, body composition, or resting energy expenditure in human subjects1, 2, 3. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;76(5):961-967. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.5.961>.

19. Alvarenga L, Ferreira MS, Kemp JA, Mafra D. The role of betaine in patients with chronic kidney disease: a narrative review. *Current Nutrition Reports*. 2022;11(3):395-406. <https://doi.org/10.1007/s13668-022-00426-z>.
20. Norouzzadeh M, Kalantar H, Khorsandi L, Mohtadi S, Khodayar MJ. Betaine ameliorates arsenic-induced kidney injury in mice by mitigating oxidative stress-mediated inflammation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2024;758:110076. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2024.110076>.
21. Veskovc M, Mladenovic D, Milenkovic M, Tosic J, Borozan S, Gopcevic K, Labudovic-Borovic M, Dragutinovic V, Vucevic D, Jorgacevic B, Isakovic A. Betaine modulates oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and Akt/mTOR signaling in methionine-choline deficiency-induced fatty liver disease. *European journal of pharmacology*. 2019;848:39-48. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.043>.
22. Xu J, Nie Z, Qiu X, Zhang J, Han S. Effects of betaine supplementation on inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2023;74(7):721-9. <https://doi.org/10.1080/09637486.2023.2257906>.
23. Wang DQ, Schmitz F, Kopin AS, Carey MC. Targeted disruption of the murine cholecystokinin-1 receptor promotes intestinal cholesterol absorption and susceptibility to cholesterol cholelithiasis. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(4):521-528. <https://doi.org/10.1172/JCI16801>.
24. 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. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.03.008>.
25. Chen W, Zhang X, Xu M, Jiang L, Zhou M, Liu W, Chen Z, Wang Y, Zou Q, Wang L. Betaine prevented high-fat diet-induced NAFLD by regulating the FGF10/AMPK signaling pathway in ApoE^{-/-} mice. *European journal of nutrition*. 2021;60:1655-68. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02362-6>.
26. Rasineni K, Lee SM, McVicker BL, Osna NA, Casey CA, Kharbanda KK. Susceptibility of asialoglycoprotein receptor-deficient mice to lps/galactosamine liver injury and protection by betaine administration. *Biology*. 2020;10(1):19. <https://doi.org/10.3390/biology10010019>.
27. Koroleva MY, Yurtov EV. Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. *Russian Chemical Reviews*. 2012;81(1):21. <https://doi.org/10.1070/RC2012v081n01ABEH004219>.
28. Pucek-Kaczmarek A, Celary D, Bazylińska U. Natural-Origin Betaine Surfactants as Promising Components for the Stabilization of Lipid Carriers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(2):955. <https://doi.org/10.3390/ijms25020955>.
29. Trang K, Grant SF. Genetics and epigenetics in the obesity phenotyping scenario. *Reviews in endocrine and metabolic disorders*. 2023;24(5):775-93. <https://doi.org/10.1007/s11154-023-09804->

- 6.
30. Li N, Shi H, Guo Q, Gan Y, Zhang Y, Jia J, Zhang L, Zhou Y. Aerobic Exercise Prevents Chronic Inflammation and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of High-Fat Diet Mice. *Nutrients*. 2022;14(18):3730. <https://doi.org/10.3390/nu14183730>.
31. da Rocha AL, Pinto AP, Teixeira GR, Pereira BC, Oliveira LC, Silva AC, Morais GP, Cintra DE, Pauli JR, da Silva AS. Exhaustive training leads to hepatic fat accumulation. *Journal of cellular physiology*. 2017;232(8):2094-103. <https://doi.org/10.1002/jcp.25625>.
32. de Melo DG, da Cruz Rodrigues VC, de Sá Pereira GJ, de Campos TD, dos Santos Canciglieri R, Pauli JR, da Silva AS, da Costa Fernandes CJ, de Moura LP. Effects of aerobic exercise on the regulation of mitochondrial carrier homolog-2 and its influence on the catabolic and anabolic activity of lipids in the mesenteric adipose tissue of obese mice. *Life Sciences*. 2024;345:122567. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122567>.
33. Abulfadle KA, Saied AA. Role of obestatin in improvement of obesity-induced metabolic and kidney function changes in exercised rats. *Am J Biomed Sci*. 2019;11(2):74-89. <https://doi.org/10.5099/aj190200074>.
34. Olli K, Lahtinen S, Rautonen N, Tiihonen K. Betaine reduces the expression of inflammatory adipokines caused by hypoxia in human adipocytes. *British journal of nutrition*. 2013;109(1):43-49. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000888>.
35. Zhao G, He F, Wu C, Li P, Li N, Deng J, Zhu G, Ren W, Peng Y. Betaine in inflammation: mechanistic aspects and applications. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1070. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01070>.
36. Yu J, Laybutt DR, Youngson NA, Morris MJ. Concurrent betaine administration enhances exercise-induced improvements to glucose handling in obese mice. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2022;32(10):2439-49. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2022.08.012>.
37. Jang A, Kim D, Sung KS, Jung S, Kim HJ, Jo C. The effect of dietary α -lipoic acid, betaine, l-carnitine, and swimming on the obesity of mice induced by a high-fat diet. *Food & Function*. 2014;5(8):1966-74. <https://doi.org/10.1039/c4fo00246f>.
38. Popov DV, Lysenko EA, Miller TF, Bachinin AV, Perfilov DV, Vinogradova OL. The effect of single aerobic exercise on the regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscles of trained men: A time-course study. *Human Physiology*. 2015;41:296-303. <https://doi.org/10.1134/S0362119715030123>.
39. Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Eguchi Y, Anzai K. Therapeutic approaches to nonalcoholic fatty liver disease: exercise intervention and related mechanisms. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9:588. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00588>.
40. Cornu M, Oppliger W, Albert V, Robitaille AM, Trapani F, Quagliata L, Fuhrer T, Sauer U, Terracciano L, Hall MN. Hepatic mTORC1 controls locomotor activity, body temperature, and lipid metabolism through FGF21. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences. 2014;111(32):11592-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412047111>.
41. Sun JP, Shi L, Wang F, Qin J, Ke B. Modified Linggui Zhugan Decoction ameliorates glycolipid metabolism and inflammation via PI3K-Akt/mTOR-S6K1/AMPK-PGC-1 α signaling pathways in obese type 2 diabetic rats. Chinese journal of integrative medicine. 2022;1-8. <https://doi.org/10.1007/s11655-020-3285-2>.
42. Rius-Pérez S, Torres-Cuevas I, Millán I, Ortega ÁL, Pérez S. PGC-1 α , inflammation, and oxidative stress: an integrative view in metabolism. Oxidative medicine and cellular longevity. 2020;2020(1):1452696. <https://doi.org/10.1155/2020/1452696>.
43. Jung GY, Won SB, Kim J, Jeon S, Han A, Kwon YH. Betaine alleviates hypertriglycemia and tau hyperphosphorylation in db/db mice. Toxicological Research. 2013;29:7-14. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7295>.
44. Yang W, Huang L, Gao J, Wen S, Tai Y, Chen M, Huang Z, Liu R, Tang C, Li J. Betaine attenuates chronic alcohol induced fatty liver by broadly regulating hepatic lipid metabolism. Molecular medicine reports. 2017;16(4):5225-34. <https://doi.org/10.5487/TR.2013.29.1.007>.
45. Ma J, Meng X, Kang SY, Zhang J, Jung HW, Park YK. Regulatory effects of the fruit extract of Lycium chinense and its active compound, betaine, on muscle differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 cells. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019;118:109297. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109297>.
46. Fromenty B, Roden M. Mitochondrial alterations in fatty liver diseases. Journal of hepatology. 2023;78(2):415-29. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.09.020>.