

The Effect of Interval Aerobic Exercise Combined with Nano-emulsified Betaine Supplementation on the Genes 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. Obese samples were fed a high-fat and cholesterol diet for 12 weeks. Moderate-intensity interval aerobic training was performed for 8 weeks, including treadmill running for 30 minutes, 5 days a week, with gradual overload; the training protocol in the first week included 10 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 in the 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 was measured by Real-Time PCR, and the data were analyzed by independent t-tests, two-way ANOVA, and Bonferroni post hoc test at a significance level of $P \leq 0.05$.

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 ($P=0.0001$). Also, a statistically significant effect was observed in the interaction of exercise and supplementation on mTORC1 ($P=0.0001$), PI3K ($P=0.0001$) and calcineurin ($P=0.021$) levels.

Conclusion: It seems that moderate-intensity interval aerobic exercise and betaine supplementation, independently and together, may play an important role in improving obesity-induced fatty liver by affecting the

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 Genes Expression of mTORC1, PI3K, and Calcineurin in Hepatocytes of Obese Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(1):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: mahdiyeh.poursoltanizarandi@iau.ac.ir

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

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۹-؟

مقاله پژوهشی

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

مهديه پورسلطانی زرندي* , امير سرشدين , عليرضا رحيمي , فواد فيض الهی 

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 طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله دیابت، اختلالات متابولیک و کبد چرب در ارتباط است. گسترش روزافزون چاقی و سبک زندگی بی‌تحرک و ابتلا به بیماری‌های مرتبط با آن باعث شده است تا فعالیت ورزشی منظم به عنوان زیربنای درمان چاقی مطرح گردد. هم‌چنین شواهد اخیر نشان می‌دهند که مصرف بتائین از طریق تاثیر بر متابولیسم کبدی چربی و گلوکز، احتمالاً در بهبود چاقی موثر باشد. از این رو در پژوهش حاضر، تاثیر 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 هیپاتوسیستی موش‌های صحرایی چاق مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار 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 پرچرب و کلسترول تغذیه شدند. تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته شامل دویدن روی نوارگردان به مدت ۳۰ دقیقه و ۵ روز در هفته همراه با اضافه بار تدریجی انجام شد؛ پروتکل تمرینی در هفته اول شامل ۱۰ وهله فعالیتی ۱ دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) با تناوب‌های استراحتی ۲ دقیقه‌ای (با سرعت ۵ متر در دقیقه) بود که سرعت دویدن در وهله‌های فعالیتی در هفته چهارم الی هشتم به ۱۶ متر در دقیقه رسید. از روش فراصوت با دامنه بالا برای تهیه نانوامولسیون بتائین استفاده شد که پایداری سرمی و فراهمی زیستی آن را افزایش می‌دهد. گاوژ مکمل نانوامولسیفای شده بتائین با دوز ۵۰ میلی‌گرم/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 داده‌های حاصل توسط آزمون‌های آماری t-مستقل و آنوای دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری $P \leq 0.05$ تحلیل شدند. **نتایج:** چاقی باعث کاهش معنادار mTORC1 و PI3K و هم‌چنین افزایش کلسی نورین شد ($P=0/0001$). تمرین هوازی تناوبی منجر به افزایش معنادار mTORC1 و PI3K و کاهش معنادار کلسی نورین شد ($P=0/0001$). مکمل‌یاری بتائین نیز سطوح mTORC1 ($P=0/002$) و PI3K ($P=0/0001$) را افزایش و کلسی نورین ($P=0/0001$) 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 تاثیر بر بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین، از طریق تنظیم متابولیسم چربی کبدی احتمالاً نقش مهمی 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. تاثیر تمرین هوازی تناوبی به همراه مکمل‌یاری بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های PI3K، mTORC1 و کلسی نورین در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی چاق. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۴؛ ۱۹(۱): ۱-۹.

* رایانامه نویسنده مسئول: mahdiyeh.poursoltanizarandi@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۱

مقدمه

اضافه وزن و چاقی یک عامل خطر برای بیماری کبد چرب غیر الکلی (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 درگیر هستند که از مهم‌ترین آن‌ها پروتئین‌های تنظیم‌کننده بافت چربی به ویژه کمپلکس-۱ هدف راپامایسین پستانداران^۲ (mTORC1) و پروتئین متصل به عنصر پاسخ به استرول-۱^۳ (SREBP1) می‌باشند (۲). در سال‌های اخیر، محققان مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول-۳ کیناز^۴ (PI3K)/پروتئین کیناز B^۵ (PKB) یا SREBP1/mTORC1/(AKT را به عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم لیپوزنز 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 منجر به چاقی یا اضافه وزن شود (۳). علاوه بر این، ارتباط تنگاتنگی بین mTORC1 و مقاومت انسولینی مشاهده می‌شود. در حالی که فعال‌سازی حاد mTORC1 به دنبال مداخلات مختلف از جمله فعالیت ورزشی، می‌تواند حساسیت به انسولین را افزایش دهد، فعال‌سازی بیش از حد مزمن، به ویژه در زمینه رژیم‌های غذایی پرچرب و پرخوری و چاقی ناشی از آن، ممکن است از طریق مکانیسم‌هایی مانند فسفوریلاسیون سوبسترای گیرنده انسولین-۴ (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. به عنوان مثال، مطالعات 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 نماید (۵). در نتیجه این شواهد، فعال‌سازی PI3K و mTOR را به عنوان 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 به صورت 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، منجر به کاهش توده و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس شده که نهایتاً 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 مسیریابی است که می‌تواند منجر به افزایش ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی شود و از این طریق نیز مقاومت به انسولین را تشدید نماید (۸). در همین راستا نیز مطالعات نشان داده‌اند که کمبود mTORC1 در سلول‌های چربی می‌تواند منجر به افزایش التهاب بافت چربی و فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 شود که بازیگر کلیدی در تنظیم پاسخ‌های التهابی و رهایش سایتوکاین‌های پیش التهابی است (۹)؛ این شواهد نشان دهنده اهمیت فعالیت mTORC1 برای تنظیم التهاب در چاقی و ارتباط متقابل آن با کلسی نورین است.

امروزه فعالیت بدنی منظم، علاوه بر اثرات ضدالتهابی و کاهنده‌ی مقاومت به انسولین، به عنوان نقطه تنظیمی لیپوزنز و بتاکسیداسیون در کبد، از اصلی‌ترین مصادیق تغییر سبک زندگی برای درمان چاقی و کبد چرب به شمار می‌رود (۱۰). در همین راستا، مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۲ نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی با شدت‌های پایین، متوسط و بالا در موش‌های چاق مبتلا به NAFLD، منجر به بهبود معنادار نیمرخ چربی خون و وضعیت مورفولوژیک کبد به ویژه در گروهی که با شدت متوسط تمرین کرده

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

بودند، گردید (۱۱). هم‌چنین فعالیت بدنی اثرات قابل توجهی بر مسیرهای پیام‌رسانی PI3K, mTOR و کلسی نورین به ویژه 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 غیر الکلی^۷ (NASH) می‌تواند در بهبود مقاومت انسولینی (از طریق فعال‌سازی مسیر mTOR/PI3K و افزایش بیان ناقل غشایی گلوکز-۴ (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-B (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 (IL-6) که اغلب در حالت‌های التهابی مزمن مانند چاقی افزایش می‌یابند را 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، جهت روشن شدن مکانیزم‌های اثر فعالیت ورزشی در کاهش التهاب و مقاومت انسولینی از طریق تاثیر مستقیم بر کلسی نورین نیاز به مطالعات بیشتر احساس می‌شود.

در سال‌های اخیر توجه پژوهشگران به دلیل بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی موجب شده که تمایل به درمان‌های جایگزین همراه با فعالیت بدنی افزایش یابد. در این زمینه، یکی از محصولات طبیعی بتائین^۸ است که به عنوان تری متیل گلیسین هم شناخته می‌شود. بتائین به طور درون‌زا از طریق متابولیسم کولین سنتز می‌شود و یا به صورت برون‌زا از طریق دریافت غذایی مصرف می‌شود (۱۴). اخیراً اثرات بتائین و کولین بر عوامل خطر چاقی و NAFLD مورد مطالعه قرار گرفته است؛ در این زمینه نشان داده شده است که مکمل‌یاری با کولین و بتائین، هر دو از طریق کاهش سطوح تری گلیسرید 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 این که چگونه مکمل بتائین می‌تواند به درمان اختلالات مرتبط با چاقی کمک کند، ارائه می‌دهد (۱۵، ۱۶). در همین زمینه، نتایج پژوهش سیستماتیک بالینی گائو^۹ (۲۰۱۹) نیز نشان داد که مکمل‌یاری با بتائین می‌تواند در کاهش توده چربی کل بدن و درصد چربی نقش مثبت معناداری داشته باشد (۱۷). در حالی که بر خلاف این یافته‌ها، تحقیق دیگری نشان داد که مکمل‌یاری ۳ ماهه با ۶ گرم بتائین در روز در آزمودنی‌های چاق، اثر معناداری بر وزن، توده چربی و ترکیب بدنی نداشت (۱۷). علاوه بر این، مطالعات جدید، بتائین را به عنوان یک اهداکننده متیل و دارای خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۹، ۲۰)؛ یافته‌های تحقیق وسکوویچ^{۱۰} (۲۰۱۹) نشان می‌دهد که دریافت بتائین در موش‌های مدل NAFLD توانست با افزایش فسفوریلاسیون کبدی AKT و mTOR، بیان کبدی شاخص‌های التهابی IL-6، عامل نکرودهنده تومور-آلفا^{۱۱} (TNFα) و IL-10، شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی در کبد، شاخص‌های آپوپتوز، نیمرخ چربی خون و وضعیت استئاتوز کبدی را به طور معناداری بهبود بخشد (۲۱). با این وجود، تحقیقاتی نیز در دسترس هستند که عدم اثرگذاری بتائین بر عوامل التهابی در چاقی را مطرح کرده‌اند؛ بر اساس برخی از شواهد، اثرات ضدالتهابی بتائین قطعی نیست و یک متآنالیز فقط کاهش جزئی در نشانگرهای التهابی بدون تأثیر بالینی قابل توجه را نشان می‌دهند (۲۲). با توجه به این یافته‌های متناقض، بررسی بیشتر آثار ضدچاقی و ضدالتهابی بتائین از طریق تاثیر بر مسیرهای mTOR/PI3K و کلسی نورین ضروری به نظر می‌رسد. امروزه روش‌های فارماکولوژیک متعددی جهت افزایش فراهمی زیستی، کارایی و پایداری بیشتر در خون برای داروها و مکمل‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد که یکی از این روش‌ها نانومولسیون‌سازی می‌باشد که برای دستیابی به غلظت‌های درمانی موثر در

⁷ Nonalcoholic steatohepatitis

⁸ Glucose transporter-4

⁹ Nuclear factor kappa-B

¹ Interleukin-6

¹ Betaine

¹ Gao

¹ Veskovici

¹ Tumor necrosis factor-alpha

مدل‌های حیوانی بسیار مهم است. بتائین نانوامولسیون شده می‌تواند منجر به جذب بهتر روده‌ای شده و در نتیجه اثرات مثبت فیزیولوژیکی آن مانند کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات تحت شرایط اختلالات متابولیک را افزایش دهد (۱۴، ۱۵، ۱۹). از آنجا که شواهد موجود از اثرات مثبت تمرین هوازی بر بهبود متابولیسم کبدی چربی و وضعیت التهابی کبد حمایت می‌کنند (۱۱، ۱۲) و از طرفی، نقش بالقوه‌ی بتائین در کاهش توده چربی و اثر ضدالتهابی آن به تازگی مطرح شده است (۱۷، ۲۱)، لذا به نظر می‌رسد که مداخله همزمان ورزش هوازی و بتائین، احتمالاً از طریق اثرات ضدالتهابی و کاهنده مقاومت انسولینی و تاثیر بر شاخص‌های ژنی مرتبط با آن به ویژه 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. هر چند که تاکنون اثر تعاملی ورزش هوازی به همراه بتائین بر شاخص‌های مذکور در زمینه چاقی مورد مطالعه قرار نگرفته است و یافته‌های متناقض در خصوص اثر مستقل این مداخلات پژوهشی نیز وجود دارد؛ بنابراین در این مطالعه، بررسی تاثیر یک دوره تمرین هوازی تناوبی به همراه مکمل‌یاری با بتائین نانو امولسیفای شده بر بیان ژن‌های mTORC1، PI3K و کلسی نورین در سلول‌های هیپاتوسیتی موش‌های صحرایی چاق مطرح می‌گردد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این مطالعه آزمایشگاهی به منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، از نرم افزار 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، 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 مشابه پیشین است. موش‌های صحرایی بالغ نر و بیستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن 257 ± 4 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 پلی کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و فدا نمودن موش‌های صحرایی براساس 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، به صورت تصادفی به ۵ گروه (۵ 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 تشکیل دهنده غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب شامل غذای پایه جوندگان (استاندارد) بعلاوه ۱۵٪ چربی حیوانی، ۴٪ کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۱٪ 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 (۲۳). برای اطمینان از القای چاقی 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 موش‌های صحرایی گرفته شد. سپس سطوح گلوکز و نیمرخ چربی (تری گلیسرید، کلسترول تام، LDL و HDL) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات 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 میلی‌گرم/دسی‌لیتر، تری گلیسرید و کلسترول بالای ۲۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر، LDL بالای ۱۰۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر و HDL کمتر از ۴۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر)، تاییدی بر ابتلای موش‌های صحرایی به چاقی بود. هم‌چنین وزن موش‌های تغذیه شده 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 جهت آشنایی با پروتکل تمرین تناوبی روی نوارگردان شروع به دویدن کردند. در طول هفته اول موش‌ها با دویدن با سرعت ۸ متر در دقیقه، سه روز در هفته آشنا شدند. روز قبل از تمرین تناوبی، پاپلوت

پروتکل بر روی پنج سر موش جهت برآورد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) مناسب پروتکل تمرینی انجام شد. پیش از آن، پنج سر موش دیگر به عنوان گروه پایلوت برای اندازه‌گیری 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 ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سرعت تدریجی به ازای هر ۲ دقیقه، ۲ 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^۵ و همکاران (۲۰۲۲) به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا نمودند (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	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 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 گلايسين هیدروکلراید (بتائین) (شرکت سیگما، امریکا، Code Number: B3501) را پس از نانوامولسیفای سازی، به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته و ۵ 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 موثر در مدل‌های حیوانی بسیار مهم است.

زیرا بتائین نانوامولسیون شده می‌تواند منجر به جذب بهتر روده‌ای شده و در نتیجه اثرات فیزیولوژیکی آن مانند کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات تحت شرایط اختلالات متابولیک را افزایش دهد (ایکلاند و دیگران، ۲۰۰۵). هم‌چنین در تحقیقاتی که بر محافظت از کبد و اختلالات متابولیک متمرکز شده‌اند، بتائین نانوامولسیون شده پتانسیل بالقوه‌ای در کاهش آسیب کبد و بهبود سلامت متابولیک نشان داده است 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 ایجاد می‌کند که منجر به تشکیل ذرات کوچک‌تر (معمولاً در محدوده ۲۰۰-۲۰ نانومتر) می‌شود که پایداری سرمی و فراهمی زیستی نانوامولسیون را افزایش می‌دهد. نانوامولسیون‌های تولید شده از طریق فراصوت حساسیت کمتری نسبت به مسائلی مانند لخته‌سازی و ادغام دارند و از پایداری طولانی‌مدت فرمول اطمینان می‌دهند (۲۷).

به منظور 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 به حداکثر سرعت انجام شد. نانوامولسیون‌های تهیه شده دارای ساختار شفاف و بدون کدورت بودند. تمام فرمولاسیون‌های آماده شده تا پنج ماه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) و دمای یخچال (۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. هیچ تغییری در اندازه ذرات و شاخص پراکندگی چندگانه (PDI) مشاهده نشد که پایداری طولانی مدت نانوامولسیون‌ها و دوره نگهداری مشخص شده در دمای اتاق و یخچال را تایید می‌کند (۲۸).

روش‌های آزمایشگاهی: به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاواژ مکمل، 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. 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) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA به صورت RNX-Pluse و به منظور 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 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.

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Genes	Primer Sequence
Pi3K-F	CGGCAATGTGGAGCAGATGAA
Pi3K-R	GGGGCTCTTGTGCATCATCTT
mTORc1-F	TGATTTTGGGAGAACAGAAGATGA
mTORc1-R	GAGGTAACAGGATGGTGGAGTG

Calcinurein (ppp3ca)-F	GGAAGAAAGTGTGCGTTGAG
Calcinurein (ppp3ca)-R	GAAGAGGTAGCGAGTGTGGC
GAPDH-F	GGATAGTGAGAGCAAGAGAGAGG
GAPDH-R	ATGGTATTGGAGAGAAGGGAGGG

تحلیل آماری: اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ پردازش و تحلیل شدند و کلیه نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردیدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک و هم‌چنین بررسی همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین مورد بررسی قرار گرفت؛ سپس جهت تعیین تفاوت بین گروهی (سالم با چاق) و بررسی پیش فرض، از آزمون آماری t -مستقل استفاده شد و جهت بررسی تاثیر تعاملی مکمل بتائین با تمرین هوازی تناوبی بر سطوح کبدی PI3K، mTORC1 و کلسی نورین از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید.

یافته‌ها

یافته‌های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه در پس آزمون نمونه‌های پژوهش حاضر در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد بیان نسبی ژن‌ها (mRNA) 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)	$256/3 \pm 3/8$	$399/1 \pm 4/1$	$325/5 \pm 6/1$	$348/5 \pm 4/5$	$327/3 \pm 9/9$

پیش فرض این مطالعه، تاثیر ابتدا 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 پیش فرض، اطمینان از مدل‌سازی چاقی و تاثیر آن بر ژن‌های مورد مطالعه ما در نمونه‌های مدل می‌باشد. جهت بررسی این پیش فرض 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:

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

متغیر	Sig.	df	t
-------	------	----	---

۱۳/۲۸	۸	۰/۰۰۰۱*	PI3K
۶/۵۲	۸	۰/۰۰۰۱*	mTORC1
-۱۵/۰۹	۸	۰/۰۰۰۱*	کلسی نورین
-۲۵/۵۲	۸	۰/۰۰۰۱*	وزن

* نشانه اختلاف معنی دار 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 به طور معناداری کاهش یافته ($P=۰/۰۰۰۱$) و کلسی نورین و وزن به طور معناداری افزایش یافته است ($P=۰/۰۰۰۱$). نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی در سطح معنی داری $P \leq 0/05$ برای تعیین تغییرات بین گروهی متغیرهای مورد مطالعه در جدول ۵ قابل مشاهده است:

جدول ۵. نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی در تغییرات متغیرهای مورد مطالعه

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	۹۱/۳۰	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			
کلسینورین (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	۰/۰۲۱***	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

				۱۶	۳۴۹۷/۵	خطا	
--	--	--	--	----	--------	-----	--

* نشان دهنده اثر معنادار تمرین هوازی تناوبی بر متغیرهای تحقیق

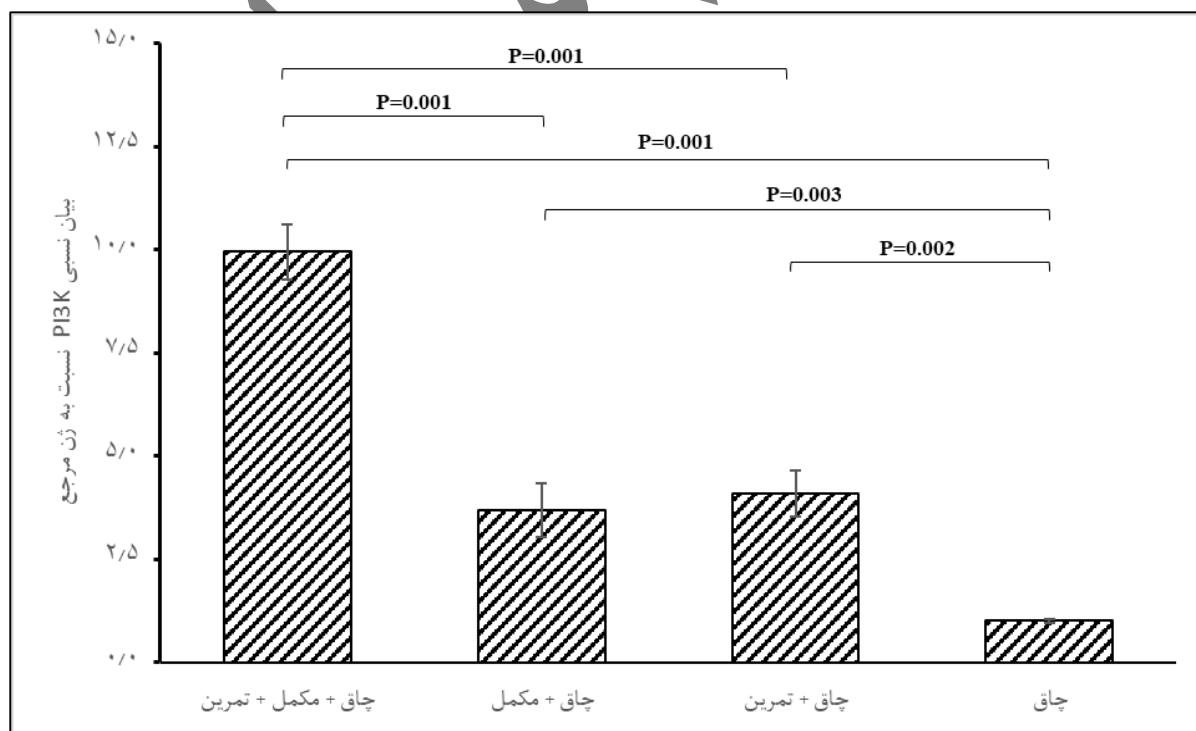
** نشان دهنده اثر معنادار مکمل بتائین بر متغیرهای تحقیق

*** نشان دهنده اثر تعاملی تمرین هوازی تناوبی همراه با مکمل بتائین بر متغیرهای تحقیق

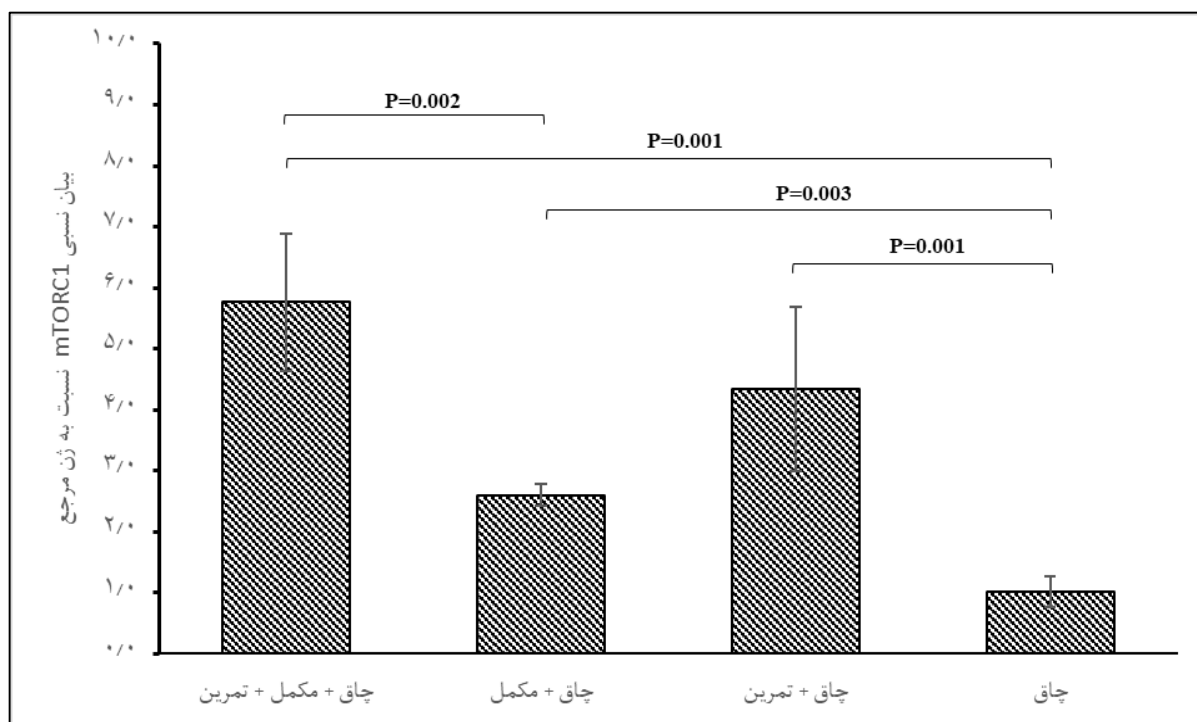
همانطور که در جدول ۵ قابل مشاهده است، نتایج حاصل از آزمون آماری تحلیل واریانس ۲ عاملی در تعیین تغییرات بین گروهی در بیان ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی منجر به افزایش معنادار PI3K ($p=0/0001$, $\eta^2=0/95$)، mTORC1 ($F_{(1,16)}=373/06$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/80$) و همچنین کاهش معنادار کلسی نورین ($F_{(1,16)}=52/90$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/92$) و وزن ($F_{(1,16)}=193/08$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/76$) در بافت کبد موش‌های چاق شد.

علاوه بر این، یافته‌های آماری نشان داد که یک دوره دریافت مکمل بتائین نانومولسیفای منجر به افزایش معنادار PI3K ($\eta^2=0/95$)، mTORC1 ($F_{(1,16)}=312/40$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/47$) و همچنین کاهش معنادار کلسی نورین ($F_{(1,16)}=14/43$, $p=0/002$, $\eta^2=0/63$) و وزن ($F_{(1,16)}=26/93$, $p=0/001$, $\eta^2=0/46$) در بافت کبد موش‌های چاق شد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس ۲ عاملی هم‌چنین نشان داد که یک دوره تمرین هوازی تناوبی همراه با دریافت مکمل بتائین نانومولسیفای بر بیان ژن‌های PI3K ($\eta^2=0/72$)، mTORC1 ($F_{(1,16)}=42/94$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/83$)، کلسی نورین ($F_{(1,16)}=71/01$, $p=0/0001$, $\eta^2=0/96$) و وزن ($F_{(1,16)}=6/61$, $p=0/021$, $\eta^2=0/29$) در بافت کبد موش‌های چاق، تاثیر تعاملی معناداری داشت. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی جهت تعیین تفاوت‌های بین دو گروه در بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه در نمودارهای ۱ تا ۳ ارائه شده است:

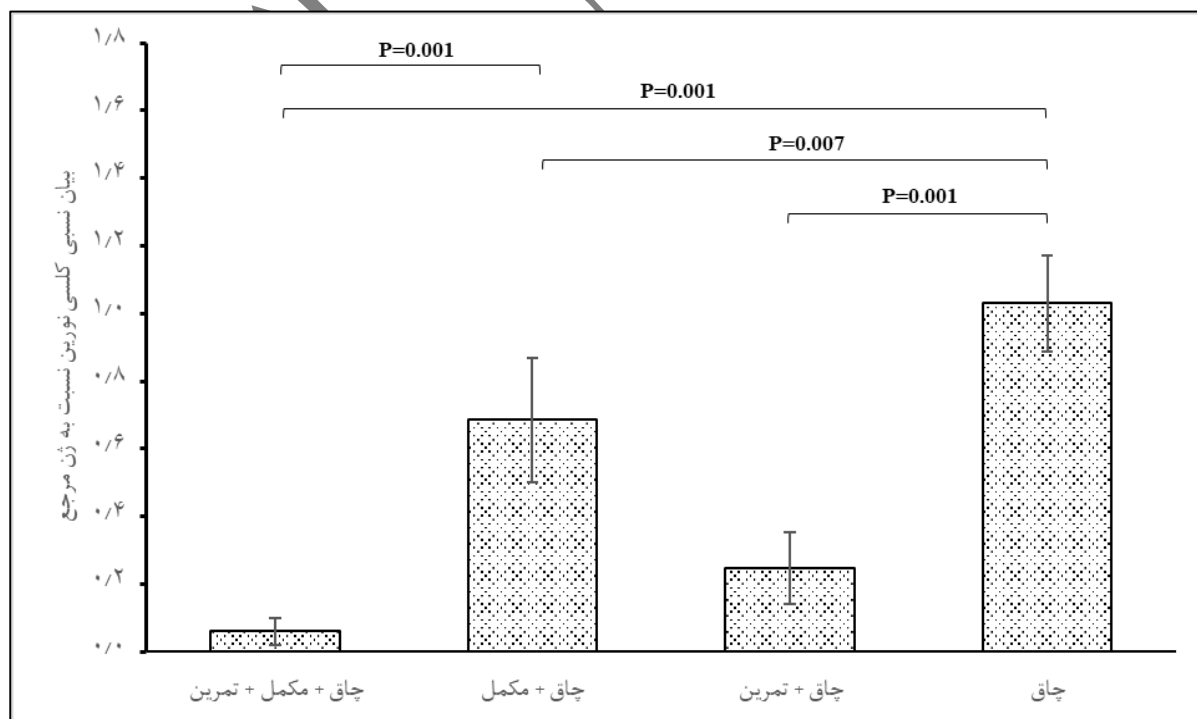


نمودار ۱. تغییرات بیان نسبی ژن PI3K بین گروه‌های آزمایشی در سطح معناداری $P \leq 0.05$



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

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



بحث و نتیجه گیری

یافته‌های این تحقیق، نشان داد که چاق شدن موش‌ها با کاهش سطوح PI3K، mTORC1 و افزایش کلسی نورین همراه بود. این نتایج، همسو با نتایج پژوهش‌های گذشته است (۳،۴،۶). مکانیزم‌های ناشی از چاقی در تغییرات محور mTOR/PI3K و پیام‌رسانی کلسی نورین مطرح شده‌اند که شامل تغییرات در متابولیسم چربی، افزایش مقاومت به انسولین و التهاب مزمن مرتبط با چاقی می‌باشد. دریافت بالای انرژی به ویژه از طریق رژیم غذایی پرچرب، با فعال‌سازی بیش از حد مزمن mTOR/PI3K همراه است که احتمالاً از طریق مکانیسم‌هایی مانند فسفوریلاسیون مکرر IRS-1، مقاومت به انسولین را تشدید می‌کند (۴). همچنین تغییرات اپی ژنتیکی در چاقی، مانند متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون، بر بیان ژن‌های مربوط به متابولیسم چربی‌ها تأثیر می‌گذارد که این تغییرات می‌تواند افراد را مستعد ابتلا به اختلالات چربی با تأثیر بر ژن‌های دخیل در تجمع چربی و متابولیسم آن کند (۲۹). از سویی دیگر، فعال شدن مزمن کلسی نورین در طول چاقی، منجر به کاهش توده و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس شده که نهایتاً 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 پیش التهابی نیز مقاومت به انسولین را تشدید می‌کند (۸). همچنین شواهد گزارش کرده‌اند که کمبود mTORC1 در سلول‌های چربی می‌تواند منجر به افزایش التهاب بافت چربی شود که این شواهد نشان دهنده 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 به تنهایی 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 نماید (۱۲). همچنین نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم نشانگرهای التهابی مانند IL-6 که اغلب در حالت‌های التهابی مزمن مانند چاقی افزایش می‌یابند را کاهش می‌دهد (۱۰). در همین راستا 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 ۸ 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 ، منجر به افزایش معنادار بیان PI3K و IRS-1 شد (۳۰). همچنین در پژوهش دیگری، ۸ هفته تمرین هوازی با شدت فزاینده در موش‌ها منجر به افزایش فعال‌سازی کبدی Akt و نشانگرهای اصلی پایین دست آن، mTORC1 و S6K1 شد (۳۱). در رابطه با مکانیزم اثر فعالیت ورزشی هوازی در تغییرات بیومارکرهای مذکور در چاقی، باید اذعان داشت که این بهبودها در درجه اول به افزایش متابولیسم چربی، تغییرات مثبت در عملکرد میتوکندری و کاهش مقاومت انسولینی نسبت داده می‌شود. تمرینات هوازی (به ویژه 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 توده چربی بسیار مهم است. افزایش تقاضای انرژی پس از ورزش، منجر به سازگاری در عملکرد میتوکندری می‌شود و از کاتابولیسم چربی بیشتر حمایت می‌کند (۳۲). از طرفی، کاهش توده چربی به واسطه ورزش، با کاهش مقاومت انسولینی، نیمرخ چربی خون و کاهش تجمع چربی در کبد همراه است (۳۳). با توجه به این که 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 توده چربی به دنبال تمرینات هوازی خود می‌تواند به عنوان محرکی در افزایش فعال شدن محور mTORC1/PI3K عمل کند. همچنین از آنجا که افزایش مزمن کلسی نورین در چاقی منجر به کاهش عملکرد سلول‌های بتای پانکراس می‌گردد (۷)، کاهش توده چربی به دنبال ورزش هوازی می‌تواند با متعادل نمودن سطوح کلسی نورین، عملکرد بهینه سلول‌های بتای پانکراس را بازیابی نماید.

یافته‌های دیگر مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مکمل‌یاری بتائین به طور مستقل بیان کبدی ژن‌های PI3K و mTORC1 را در موش‌های چاق افزایش و بیان کلسی نورین را کاهش داد. تاحدی همسو با این یافته‌ها، وسکوویچ (۲۰۱۹) گزارش کرد که دریافت بتائین در موش‌های مدل NAFLD، با افزایش فسفوریلاسیون کبدی AKT و mTOR، باعث بهبود معنادار بیان کبدی شاخص‌های التهابی IL-6، TNF α و IL-10، شاخص‌های دفاع آنتی اکسیدانی 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 مطالعه دیگری مشخص شد که دریافت غلظت‌های فیزیولوژیک مناسب بتائین، بیان آدیپوکاین‌های التهابی IL-6 و TNF α را در سلول‌های چربی انسانی

قرار گرفته در معرض هاپوپکسی کاهش می‌دهد (۳۴). علاوه بر این، مطالعات جدید، بتائین را به عنوان یک اهداکننده متیل و دارای خواص ضد التهابی و آنتی اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۹). مکانیزم اثر احتمالی بتائین در تغییرات شاخص‌های مورد مطالعه، شامل تنظیم مسیرهای التهابی و تغییرات اپی ژنتیکی است که مجموعاً به اثرات ضد التهابی بتائین کمک می‌کند. شواهد موجود در این زمینه نشان می‌دهند که بتائین، فعال شدن مسیر التهابی NF-kB 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 پیش التهابی 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 بین افزایش mTORC1 در سلول‌های چربی با کاهش التهاب بافت چربی و سرکوب فعال‌سازی اینفلامازوم NLRP3 را نشان داده‌اند (۹). در مجموع به نظر می‌رسد که مکمل‌یاری بتائین با کاهش فعال‌سازی مسیرهای التهابی NF-kB و NLRP3، در افزایش فعالیت محور mTORC1/PI3K و تعدیل سطوح کلسی‌نورین در چاقی نقش داشته باشد. با این حال، برخی از مطالعات نشان می‌دهند که شواهد برای اثرات ضدالتهابی بتائین قطعی نیست و یک متاآنالیز فقط کاهش جزئی در نشانگرهای التهابی بدون تأثیر بالینی قابل توجه را نشان می‌دهند (۲۲) که این تناقض با یافته‌های تحقیق ما احتمالاً به دلیل فراتحلیلی بودن و تفاوت در نمونه‌های پژوهشی به کار رفته در آن باشد.

بر اساس دیگر نتایج مطالعه‌ی حاضر، اثر تعاملی تمرین و مکمل در افزایش PI3K و mTORC1 و همچنین کاهش کلسی‌نورین معنادار بود. در زمینه اثرات تعاملی بتائین و فعالیت ورزشی بر وضعیت التهابی و توده چربی در چاقی و اضافه وزن، پژوهش‌های معدودی در دسترس است. در همین راستا و همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، یو^۶ دیگران (۲۰۲۲) نشان دادند که ۱۰ هفته مکمل‌یاری با بتائین (۱/۵ درصد وزن بدن) به همراه تمرین استقامتی تردمیل با شدت متوسط در موش‌های چاق، توانست وزن بدن و توده چربی را بطور معناداری کاهش داده 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 تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، باعث کاهش وزن بدن، بهبود سطوح چربی‌های کبدی و نیمرخ چربی خون، گلوکز سرم و لپتین گردید (۳۷). ساز و کار احتمالی که توسط آن فعالیت ورزشی در تعامل با مکمل بتائین بر کاهش توده چربی و التهاب تأثیر می‌گذارد، به تنظیم متابولیسم چربی و کاهش مقاومت انسولینی از طریق بهبود عملکرد میتوکندری برمی‌گردد. شواهد زیادی نشان می‌دهند که تمرین هوازی به طور قابل توجهی بر مکانیسم‌های درون سلولی به ویژه از طریق فعال شدن PGC-1 α که تنظیم کننده کلیدی بیوژنز و عملکرد میتوکندری و سازگاری متابولیک است، تأثیر می‌گذارد و نهایتاً منجر به کاهش استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز در کبد می‌شود (۳۸). ساز و کار احتمالی درگیر در تنظیم بیان PGC-1 α در ورزش، رهایش هیپاتوکاین‌ها از جمله فاکتور رشد فیبروبلاست-۲۲ (FGF21) 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 باعث 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 متابولیسم چربی در کبد تأثیر گذارد (۴۰). همچنین نشان داده شده است که PGC-1 α پیام رسانی انسولین را با افزایش فعالیت مسیر PI3K/Akt افزایش می‌دهد. این امر از طریق بهبود برداشت گلوکز و سنتز گلیکوژن در کبد به دست می‌آید که برای حفظ هموستاز گلوکز ضروری است (۴۱). علاوه بر این، نقش PGC-1 α در کاهش سطح کلسی‌نورین مطرح شده است که به اثرات مفید آن بر متابولیسم کمک کند؛ زیرا کلسی‌نورین در مسیرهای متابولیکی مختلفی که می‌تواند چاقی را تشدید کند، دخیل است (۴۲). از طرفی شواهد موجود نشانگر اثرات بتائین بر بهبود عملکرد میتوکندری و به ویژه از طریق تأثیر بر PGC-1 α هستند؛ پژوهش‌هایی تنظیم افزایشی بیان PGC-1 α توسط بتائین را در موش‌های db/db و موش‌های دریافت کننده‌ی الکل نشان داده‌اند (۴۳، ۴۴). اخیراً پیشنهاد 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 به نظر می‌رسد تعامل تمرین هوازی تناوبی و مکمل‌یاری بتائین، توانایی کافی برای فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با PGC-1 α و اثرات آن بر مسیرهای mTOR/PI3K و کلسی‌نورین را داشته باشد؛ شواهد در دسترس گزارش کرده‌اند که بهبود عملکرد میتوکندریایی ناشی از تغییرات PGC-1 α در چاقی از طریق افزایش متابولیسم 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

^۱ Yu

^۱ Fibroblast growth factor 21

مانند استرس ناشی از گاوآژ یا شوک دستگاه تردمیل ممکن است بر نتایج مطالعه اثرگذار بوده باشند که از محدودیت‌های این تحقیق به شمار می‌آیند. همچنین حجم نمونه کم، عدم اندازه‌گیری همزمان بیان پروتئین‌های mTOR، PI3K و کلسی نورین و عدم ارزیابی‌های هسیتولوژیک بافت کبد از دیگر محدودیت‌های این تحقیق می‌باشد که می‌توانست به گستردگی این مطالعه کمک شایانی کند که به دلیل محدودیت‌های مالی میسر نشد.

نتیجه‌گیری : به نظر می‌رسد که تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و مکمل‌یاری بتائین، به طور مستقل و هم‌چنین در کنار یکدیگر، با تنظیم متابولیسم چربی کبدی و تعدیل مقاومت انسولینی احتمالاً 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 مطالعه، به نظر می‌رسد که تعامل تمرین و مکمل، احتمالاً می‌تواند اثر پررنگ‌تری در بهبود متابولیسم چربی و حساسیت انسولینی به واسطه‌ی 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، می‌باشد. هزینه‌های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسنده همچنین از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج به خاطر همکاری صمیمانه تشکر می‌کند. تداخل در منافع وجود ندارد.

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.
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.
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.
4. Houde VP, Bru`lé 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.
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.
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.
7. Chakkeria 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.
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.
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.
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.
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.
12. Yu Q, Xia Z, Liong EC, Tipoe GL. Chronic aerobic exercise improves insulin sensitivity and modulates Nrf2 and NF-κB/IKBα pathways in the skeletal muscle of rats fed with a high fat diet. *Molecular medicine reports*. 2019 Dec 1;20(6):4963-72.
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.
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.
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 Jul 10;5:61.
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.
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.
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):961-7.
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.
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.
21. Veskovc M, Mladenovic D, Milenkovic M, Tosic J, Borožan 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.
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 Oct 3;74(7):721-9.
 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 Aug 16;114(4):521-8.
 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.
 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.
 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 Dec 31;10(1):19.
 27. Koroleva MY, Yurtov EV. Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. *Russian Chemical Reviews*. 2012;81(1):21.
 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 Jan 12;25(2):955.
 29. Trang K, Grant SF. Genetics and epigenetics in the obesity phenotyping scenario. *Reviews in endocrine and metabolic disorders*. 2023 Oct;24(5):775-93.
 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 Sep 10;14(18):3730.
 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 Aug;232(8):2094-103.
 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.
 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.
 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 Jan;109(1):43-9.
 35. Zhao C, 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.
 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.
 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.
 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.
 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.
 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 Aug 12;111(32):11592-9.
 41. Sun JP, Shi L, Wang F, Qin J, Ke B. Modified Linggui Zhugan Decoction (加味苓桂术甘汤) 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.
 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.
 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.

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 Oct 1;16(4):5225-34.
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.
46. Fromenty B, Roden M. Mitochondrial alterations in fatty liver diseases. *Journal of hepatology*. 2023 Feb 1;78(2):415-29.

نسخه
پیش
انتشار