Journal of Sport and Exercise Physiology
2026, 19(3): 48-70

Orginal Article

Independent and interactive effects of environmental enrichment-associated voluntary physical activity and cineole on hepatic inflammatory, oxidative-stress, and metabolic gene expression in obese mice exposed to acrylamide

Masoud Ardeshiri Lordejani, Farzaneh Taghian [*], Khosro Jalali Dehkordi

Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education & Sports Sciences, Islamic Azad University Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Purpose: Obesity, as a chronic metabolic disorder, is associated with the activation of inflammatory pathways, impaired energy regulation, and increased production of reactive oxygen species. Obesity-induced inflammation and exposure to acrylamide may disturb the metabolic rate of liver tissue. In this study, the effect of the synergistic combination of enriched medium and cineole on the expression of key genes related to inflammation, metabolism, and oxidative stress were evaluated in an obese animal model induced by a high-fat diet containing acrylamide.

Materials and Methods: 54 C57BL/6J mice were subjected to different treatments for eight weeks. Mice were randomly assigned to nine equal groups (n, 6 per group): (1) healthy control; (2) obese mice fed a high-fat diet containing acrylamide (45% high-fat diet heated and enriched with 1000 ppm acrylamide); (3) obese mice fed a high-fat diet without acrylamide (45% high-fat diet); (4) obese mice fed acrylamide-containing-diet and undergoing voluntary physical activity in an enriched environment (8 weeks, 5 days/week, 60-90 minutes/day, at low to moderate intensity); (5) obese mice fed an acrylamide-containing diet and treated with cineole (10 µM concentration by gavage); (6) obese mice, undergoing voluntary physical activity in an enriched environment; (7) obese mice treated with cineole; (8) obese mice fed an acrylamide-containing diet, undergoing voluntary physical activity in an enriched environment, and receiving cineole; (9) obese mice exposed to an enriched environment and treated with cineole without acrylamide exposure. Drug affinity analyses were based on pharmacophore modeling and molecular binding. Advanced biological data analysis was performed using microarray datasets. Gene expression was measured by Real-Time PCR following RNA extraction from liver tissue.

Results: voluntary physical activity in enriched environment complained with cineole significantly increased the expression ($P<0.001$) of Sirt1, PPARα ($P<0.001$) and PPARγ ($P<0.001$) and significantly decreased ($P<0.001$) of CXCL15 and Cyp2e1 ($P<0.001$) compared to the other intervention groups.

[*] Corresponding Author's E-mail: f.taghian@iau.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.242701.1414
Received: 10/07/2025 Revised: 06/04/2026 Accepted: 09/04/2026

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/).

Conclusion: Analysis of the biological data showed that the genes Sirt1, PPARα, PPARγ, CXCL15, and Cyp2e1 play key roles in inflammatory pathways activation, disruption of energy regulation, and increasing production of reactive oxygen species in the liver tissue of obese mice. Exposure to an enriched environment and treatment with cineole modulated the expression of these genes, suggesting that these two interventions may represent an effective approach for preventing metabolic disorders associated with obesity.

Keywords: Obesity, cineole, Enriched environment, Acrylamide, Inflammation, Oxidative stress

How to cite this article: Ardeshiri Lordejani, M., Taghian, F., Jalali Dehkordi, K.,. Independent and interactive effects of environmental enrichment-associated voluntary physical activity and cineole on hepatic inflammatory, oxidative-stress, and metabolic gene expression in obese mice exposed to acrylamide. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(3):48-70.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحه‌های ۴۸-۷۰

مقاله پژوهشی

اثرات مستقل و تعاملی فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول بر بیان ژن‌های مرتبط با التهاب، استرس اکسیداتیو و متابولیسم کبدی در موش‌های چاقِ در معرض آکریل‌آمید

مسعود اردشیری لردجانی[۱]، فرزانه تقیان[*]، خسرو جلالی دهکردی

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: چاقی به عنوان یک اختلال مزمن سوخت‌وسازی، با فعال‌سازی مسیرهای التهابی، اختلال در تنظیم انرژی و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن همراه است. التهاب ناشی از چاقی و مواجهه با آکریل‌آمید، سبب اختلالات در میزان سوخت‌وساز بافت کبد می‌شود. در پژوهش حاضر، اثر ترکیب هم‌افزای فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول بر بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با التهاب، سوخت‌وساز و فشار اکسایشی در الگوی حیوانی چاقی القاشده با رژیم پرچرب حاوی آکریل‌آمید ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: ۵۴ سر موش از نژاد C57BL/6J به مدت هشت هفته تحت تیمارهای مختلف قرار گرفتند. موش‌ها به صورت تصادفی در ۹ گروه مساوی (هر گروه شامل ۶ موش) قرار گرفتند: ۱- کنترل سالم، ۲- چاق با رژیم پرچرب حاوی آکریل‌آمید (رژیم غذایی پرچرب ۴۵ درصدی حرارت‌دیده و غنی‌شده با ۱۰۰۰ واحد در میلیارد آکریل‌آمید)، ۳- چاق با رژیم پرچرب بدون آکریل‌آمید (رژیم غذایی پرچرب ۴۵ درصدی)، ۴- چاق با رژیم آکریل‌آمید و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده (به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته، روزانه ۶۰ تا ۹۰ دقیقه با شدت کم تا متوسط)، ۵- چاق با رژیم آکریل‌آمید و تیمار سینئول (با غلظت ۱۰ میکرومولار، به صورت گاواژ)، ۶- چاق با تمرین در محیط غنی‌شده، ۷- چاق با سینئول، ۸- چاق با رژیم حاوی آکریل‌آمید، تمرین در محیط غنی‌شده و سینئول، ۹- چاق در محیط غنی‌شده و سینئول، بدون آکریل‌آمید. میل ترکیبی دارویی بر پایهٔ الگوسازی فارماکوفور و اتصال مولکولی ارزیابی شد. تحلیل پیشرفتهٔ داده‌های زیستی از مجموعه داده‌های میکروآرایه انجام گردید. پس از استخراج RNA از بافت کبد، بیان ژن‌ها با استفاده از روش Real-Time PCR سنجیده شد.

نتایج: فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول، در مقایسه با سایر گروه‌های مداخله، سبب افزایش معنادار بیان ژن‌های Sirt1 ($P < ۰/۰۰۱$)، PPARα ($P < ۰/۰۰۱$) و PPARγ ($P < ۰/۰۰۱$) و کاهش معنادار CXCL15 ($P < ۰/۰۰۱$) و Cyp2e1 ($P < ۰/۰۰۱$) شد.

نتیجه‌گیری: تحلیل داده‌های زیستی نشان داد که ژن‌های Sirt1، PPARα، PPARγ، CXCL15 و Cyp2e1، در فعال‌سازی مسیرهای التهابی، اختلال در تنظیم انرژی و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بافت کبد موش‌های چاق، نقش کلیدی دارند. نقش محافظتی سینئول و فعالیت در محیط غنی‌شده سبب تعدیل بیان ژن‌های یادشده می‌شود. این دو مداخله می‌توانند به عنوان رویکردهایی مؤثر در پیشگیری از اختلالات سوخت‌وسازی وابسته به چاقی مطرح شوند.

واژه‌های کلیدی: چاقی، سینئول، محیط غنی‌شده، آکریل‌آمید، التهاب، فشار اکسایشی.

[*] رایانامه نویسنده مسئول: f.taghian@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۱/۲۰

نحوه استناد به این مقاله: اردشیری لردجانی م، تقیان ف، جلالی دهکردی خ. اثرات مستقل و تعاملی فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول بر بیان ژن‌های مرتبط با التهاب، استرس اکسیداتیو و متابولیسم کبدی در موش‌های چاقِ در معرض آکریل‌آمید. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛۱۹(۳):۴۸-۷۰.

مقدمه

در سال‌های اخیر، چاقی به عنوان یکی از چالش‌های اصلی سلامت همگانی در سطح جهانی شناخته شده است (۱). این وضعیت پیچیدهٔ سوخت‌وسازی که حاصل تعامل عوامل ژنتیکی، رفتاری و محیطی است، با افزایش خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌های مزمن، از جمله دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی‌عروقی، کبد چرب غیرالکلی و اختلالات نورودژنراتیو[1] (تخریب‌کننده عصبی) همراه است (۲). در میان این اختلالات، بیماری آلزایمر، به عنوان شایع‌ترین نوع زوال عقل، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است (۳). یافته‌های متعدد تجربی نشان می‌دهند که چاقی، به‌ویژه در دورهٔ میانسالی، می‌تواند با افزایش التهاب سراسری، فشار اکسایشی و مقاومت به انسولین، زمینه‌ساز بروز یا تشدید آسیب‌های نورونی و اختلالات شناختی شود (۴).

در این راستا، بررسی مسیرهای مولکولی درگیر در پاتوفیزیولوژی چاقی و آلزایمر اهمیت بسزایی دارد (۵). ژن‌هایی مانند سیرتوئین[1] (Sirt1)، گیرندهٔ فعال‌شونده با پرولیفراسیون پراکسی‌زوم نوع آلفا (PPARα)[2] و نوع گاما[3] (PPARγ)، کموکاین موتیف C-X-C-۱۵ (CXCL15[4]) و سیتوکروم P450 ایزوفرم E۱۲ (Cyp2e1[5])، به عنوان نشانگرهای کلیدی در تنظیم فرایندهای التهابی، سوخت‌وساز چربی، فشار اکسایشی و سم‌زدایی کبدی شناخته می‌شوند (۶). کاهش بیان ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ سوخت‌وساز و پاسخ‌های ضدالتهابی، مانند Sirt1 و PPARα، با اختلال در تراز انرژی سلولی، افزایش انباشت چربی در بافت‌ها و تشدید التهاب سراسری همراه است (۷). Sirt1، به عنوان یک داستیلاز[6] وابسته به NAD^+، نقش کلیدی در تنظیم پیری سلولی، سوخت‌وساز گلوکز و لیپید و مهار مسیرهای التهابی دارد (۸). کاهش بیان این ژن در شرایط چاقی و تنش سوخت‌وسازی، به کاهش فعالیت ضداکسایشی سلول، افزایش حساسیت به آسیب‌های اکسایشی و کاهش بیان عوامل نوروتروفیک مانندBDNF [7] منجر می‌شود که در نهایت عملکرد شناختی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۹). به طور مشابه، PPARα، به عنوان یک عامل رونویسی هسته‌ای، در تنظیم β- اکسایش اسیدهای چرب، کاهش تری‌گلیسریدهای پلاسما و مهار التهاب نقش دارد (۱۰). کاهش بیان PPARα در بافت‌های کبدی و چربی، با انباشت لیپیدها، افزایش مقاومت به انسولین و فعال‌سازی مسیرهای التهابی مرتبط است (۱۱). این اختلالات می‌توانند زمینه‌ساز آسیب‌های کبدی، اختلال در عملکرد پانکراس و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های پیش‌روندهٔ عصبی باشند (۱۱). از طرفی، در شرایط چاقی، بیان ژن PPARγ نیز به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (۱۲). این گیرنده یکی از عوامل رونویسی کلیدی در تنظیم سوخت‌وساز چربی، حساسیت به انسولین و پاسخ‌های ضدالتهابی محسوب می‌شود. کاهش بیان PPARγ با اختلال در تمایز سلول‌های چربی، افزایش انباشت لیپید در بافت‌های محیطی و کاهش ظرفیت سلول‌ها برای پاسخ به انسولین همراه است (۱۲). از سوی دیگر، افت فعالیت این گیرنده موجب افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و تشدید التهاب سراسری می‌شود؛ وضعیتی که در نهایت می‌تواند عملکرد پانکراس، کبد و بافت عصبی را تحت تأثیر قرار دهد (۱۳). در بافت مغزی، کاهش PPARγ با افزایش التهاب عصبی، کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی و اختلال در حافظه و یادگیری مرتبط است (۱۴). در مقابل، افزایش بیان ژن‌های وابسته به التهاب و تولید بنیان‌های آزاد، مانند Cyp2e1 و CXCL15، فعال‌سازی مسیرهای آسیب‌زا را در بدن نشان می‌دهد. Cyp2e1 آنزیمی از خانوادهٔ سیتوکروم P450

است که در سوخت‌وساز ترکیبات شیمیایی خارجی، مانند آکریل‌آمید، اتانول و داروها نقش دارد (۱۵). افزایش بیان این آنزیم در شرایط چاقی یا مواجهه با ترکیبات سمی، به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اختلال در عملکرد میتوکندری و آسیب به سلول‌های کبدی و عصبی منجر می‌شود. این فرایندها با افزایش فشار اکسایشی و التهاب مزمن همراه هستند و می‌توانند در بروز اختلالات شناختی نقش داشته باشند (۱۵). CXCL15 نیز به عنوان یک سایتوکاین پیش‌التهابی از خانوادهٔ CXC، در جذب نوتروفیل‌ها و تحریک پاسخ‌های التهابی نقش دارد (۱۶). افزایش بیان CXCL15 در بافت‌های چربی و مغزی، با فعال‌سازی میکروگلیاها، افزایش نفوذ سلول‌های ایمنی و تشدید التهاب عصبی همراه است. این وضعیت می‌تواند به تخریب نورونی، کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی و اختلال در حافظه و یادگیری منجر شود (۱۶).

در کنار درمان‌های دارویی، استفاده از ترکیبات طبیعی با ویژگی ضداکسایشی و ضدالتهابی، به عنوان رویکردی مکمل و کم‌عارضه، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (۱۷). سینئول (1,8-cineole)، ترکیبی مونوترپنی با منشأ گیاهی، یکی از این ترکیبات است که در اسانس گیاهانی مانند اکالیپتوس یافت می‌شود. پژوهش‌های پیش‌بالینی نشان داده‌اند که سینئول با مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، کاهش بیان سایتوکاین‌های التهابی و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند SOD وCAT ، می‌تواند اثرات محافظتی چشمگیری در بافت‌های عصبی، کبدی و پانکراسی داشته باشد؛ همچنین یافته‌هایی از تأثیر این ترکیب بر تنظیم بیان ژن‌هایی مانند Sirt1 و PPARγ وجود دارد؛ ژنهایی که نقش مهمی در تراز انرژی، سوخت‌وساز چربی و پاسخ‌های ضدالتهابی ایفا می‌کنند (۱۷).

از سوی دیگر، فعالیت بدنی منظم و قرارگیری در محیط‌های غنی‌شده از نظر محرک‌های حسی و شناختی، به عنوان مداخلاتی غیردارویی با اثرات گسترده بر سلامت مغز و سوخت‌وساز بدن شناخته شده‌اند (۱۸). این مداخلات از طریق افزایش بیان عوامل نوروتروفیک، بهبود جریان خون مغزی، کاهش التهاب سراسری و بهبود انعطاف‌پذیری سیناپسی، می‌توانند در کاهش شدت یا پیشگیری از اختلالات شناختی ناشی از چاقی مؤثر باشند. ترکیب این مداخلات با دریافت ترکیبات گیاهی مانند سینئول نیز ممکن است اثرات هم‌افزایی در بهبود وضعیت التهابی و اکسایشی بدن ایجاد کند (۱۸).

در مقابل، مواجهه با ترکیبات شیمیایی زیان‌آوری مانند آکریل‌آمید که در فرایندهای حرارتی مواد غذایی پرکربوهیدرات و پرچرب تولید می‌شود، می‌تواند از طریق افزایش فشار اکسایشی، اختلال در سد خونی - مغزی و کاهش بیان عوامل نوروتروفیک، به تشدید آسیب‌های عصبی و سوخت‌وسازی منجر شود. آکریل‌آمید همچنین با افزایش بیان ژن‌هایی مانند Cyp2e1و CXCL15، نقش مهمی در القای التهاب و سمیت عصبی ایفا می‌کند (۱۹).

با توجه به اهمیت بررسی اثرات ترکیبی مداخلات تغذیه‌ای، محیطی و رفتاری بر نشانگرهای زیستی مرتبط با چاقی و آلزایمر، این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر سینئول و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده بر بیان ژن‌های Sirt1، PPARα، PPARγ، CXCL15 و Cyp2e1 در الگوی حیوانی چاقی، با و بدون دریافت رژیم غذایی حاوی آکریل‌آمید طراحی شده است. نتایج این پژوهش می‌تواند افق‌های جدیدی به سوی پیشرفت راهکارهای پیشگیرانه و درمانی مبتنی بر ترکیبات طبیعی و اصلاح سبک زندگی، برای مقابله با اختلالات سوخت‌وسازی و بیماری‌های پیش‌روندهٔ عصبی بگشاید.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش، تحلیل داده‌های زیستی پیشرفته‌ای بر داده‌های بیان ژنی به‌دست‌آمده از مجموعه داده‌های میکروآرایه با عنوان «رونمایی از میراث مولکولی مقاومت گذرا به انسولین: پیامدهایی برای سازگاری سوخت‌وساز کبدی» انجام شد. این مجموعه داده با شمارهٔ دسترسی GSE249679 در پایگاه دادهٔ Gene Expression Omnibus ثبت شده و با هدف تبیین رخدادهای مولکولی تأثیرگذار بر ایجاد اختلالات سوخت‌وسازی در مراحل بعدی زندگی طراحی گردیده است. در این پژوهش، با ایجاد الگویی حیوانی از مقاومت گذرای انسولینی و ثبت اثرات تغذیهٔ ثانویه، زمینه برای بررسی اختلالات عملکرد کبد و پیامدهای احتمالی بعدی فراهم شده است. نمونه‌های مورد بررسی از بافت کبد موش‌های نر سویهٔ C57BL/6Jتهیه شدند. نمونه‌ها در دو گروه قرار داشتند: چهار نمونه از موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب و چهار نمونه از موش‌های تحت رژیم غذایی استاندارد. روی هم رفته هشت نمونه در تحلیل گنجانده شد. استخراج RNA کل از نمونه‌ها صورت پذیرفت و نمونه‌های به‌دست‌آمده روی پلتفرم Affymetrix Mouse Gene 2/0 ST Array با شناسهٔ GPL16570هیبریدیزه شدند. این مرحله با رعایت اصول کنترل کیفیت و پیروی از روش‌های استاندارد استخراج و آماده‌سازی RNA انجام گردید تا درستی و هم‌خوانی زیست‌شناختی داده‌ها حفظ شود. تحلیل داده‌های بیان ژنی با استفاده از زبان برنامه‌نویسی R و بسته‌های تخصصی مرتبط انجام گرفت. بدین منظور، بستهٔ قدرتمند limma (Linear Models for Microarray Analysis) به کار گرفته شد که با بهره‌گیری از آزمون‌های آماری پیشرفته، امکان شناسایی ژن‌های دارای بیان افتراقی میان گروه‌ها را فراهم می‌کند. به منظور تثبیت واریانس داده‌ها و نزدیک کردن توزیع آنها به توزیع بهنجار، تبدیل لگاریتمی با پایهٔ ۲ بر شدت خام سیگنال‌ها (نشانک‌ها) اعمال شد. این تبدیل، افزون بر تسهیل تفسیر fold-change، دقت تحلیل‌های آماری را افزایش می‌دهد. پس از این مرحله، داده‌ها با هدف حذف اثرات عمومی و کاهش نویزهای تجربی هنجارسازی شدند تا قابلیت مقایسه میان نمونه‌ها تضمین گردد. برای شناسایی ژن‌های دیفرانسیلی، آزمون t تعدیل‌شده با استفاده از رویکرد Empirical Bayes اجرا شد که یکی از ویژگی‌های ممتاز بستهٔ limma است. سطح معناداری تحلیلی روی مقدار برش ۰/۰۵ تنظیم گردید و به منظور کنترل نرخ کشف نادرست (False Discovery Rate)، روش Benjamini-Hochberg به کار گرفته شد. بدین ترتیب، تنها ژن‌هایی انتخاب شدند که p-value تعدیل‌شدهٔ آنها کمتر از ۰/۰۵ بود و بیان افتراقی معناداری داشتند تا نسبت یافته‌های مثبت کاذب به کمترین میزان برسد. نتایج اولیهٔ تحلیل، شامل جدولی از ژن‌هاست که بر پایهٔ p-valueهای حاصل مرتب شده‌اند. برای نمایش بهتر تفاوت‌های بیان ژنی و ارزیابی کیفیت داده‌ها، نقشه‌های حرارتی با کمک ابزارهای گرافیکی ویژه ترسیم شدند. این نمودارها به شناسایی الگوهای بیان ژنی در میان گروه‌های کنترلی و آزمایشی یاری می‌رسانند و درک عمیق‌تری از وضعیت تنظیم بیان ژن‌ها به دست می‌دهند.

برای تحلیل شبکهٔ تعاملات مولکولی، نخست داده‌های تعاملی از پایگاه STRING استخراج شدند؛ سپس شبکه‌های PPI با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape (نسخهٔ ۳/۶/۰)، الگوی‌سازی و مصورسازی گردیدند. این نرم‌افزار با فراهم آوردن امکاناتی چون بررسی توپولوژیکی، شناسایی خوشه‌ها و فیلترینگ پیشرفته، زمینهٔ شناسایی مولکول‌های کلیدی و مسیرهای حیاتی زیستی را فراهم می‌کند. نرم‌افزار Gephi نیز برای تحلیل

گرافیکی و نمایش پویا و تعاملی شبکهٔ تعاملات به کار گرفته شد و قدرت ویژه‌ای در نمایش و تحلیل ساختارهای شبکه‌ای از خود نشان داد. برای تبیین مسیرهای زیستی، تحلیل غنی‌سازی بر پایهٔ فرایندهای ژن‌شناسی (GO Biological Process) و با استفاده از پایگاه Enrichr انجام شد. این تحلیل به شناسایی مسیرها و فرایندهای سلولی غالب در مجموعه ژن‌های بررسی‌شده کمک کرد و ارتباطات عمیق میان ژن‌ها و پروتئین‌ها را آشکار ساخت. ترکیب رویکردهای تحلیلی یادشده، چارچوبی چندجانبه و نظام‌مند را برای الگوی‌سازی و تحلیل داده‌های ژنومی فراهم کرد. استفاده از ابزارهای روز دنیا و انجام تحلیل‌های دقیق، سبب افزایش قابلیت اعتماد یافته‌ها و شناسایی شناساگرهای زیستی مولکولی جدید مرتبط با چاقی و اختلالات سوخت‌وسازی شد. شناسایی این نشانگرهای زیستی می‌تواند گام مهمی در بهبود درک سازوکار مولکولی، پیش‌بینی روند بیماری و شناسایی اهداف درمانی در اختلالات سوخت‌وسازی باشد. این پژوهش شالوده‌ای علمی و کاربردی برای پژوهش‌های آینده در زیست‌فناوری پزشکی فراهم می‌آورد.

روش اجرای پژوهش: این پژوهش تجربی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) و با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. طرح پژوهش به تأیید کمیتهٔ اخلاق پژوهش رسید و کد اخلاق (IR.IAU.KHUISF.REC.1403.492) دریافت گردید. ۵۴ سر موش ماده از نژاد C57BL/6J، با میانگین سنی هفت هفته، پس از یک هفته سازگاری با محیط، به صورت تصادفی در ۹ گروه مساوی (هر گروه شامل ۶ موش) قرار گرفتند: ۱- کنترل سالم، ۲- چاق با رژیم پرچرب حاوی آکریل‌آمید (رژیم غذایی پرچرب ۴۵ درصدی حرارت‌دیده و غنی‌شده با ۱۰۰۰ واحد در میلیارد آکریل‌آمید)، ۳- چاق با رژیم پرچرب بدون آکریل‌آمید (رژیم غذایی پرچرب ۴۵ درصدی)، ۴- چاق با رژیم آکریل‌آمید و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده (به مدت ۸ هشت هفته، ۵ روز در هفته، روزانه ۶۰ تا ۹۰ دقیقه با شدت کم تا متوسط)، ۵- چاق با رژیم آکریل‌آمید و تیمار سینئول (با غلظت ۱۰ میکرومولار، به صورت گاواژ)، ۶- چاق با تمرین در محیط غنی‌شده، ۷- چاق با سینئول، ۸- چاق با رژیم آکریل‌آمید، تمرین در محیط غنی‌شده و سینئول، ۹- چاق با محیط غنی‌شده و سینئول (بدون آکریل‌آمید). موش‌ها در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵٪ ± ۶۵٪ و چرخهٔ نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. محیط غنی‌شده شامل قفس‌های بزرگ مجهز به چرخ متحرک، لوله‌های پلاستیکی و مواد تو در تو، مانند دستمال کاغذی، چمن مصنوعی و نوارهای کاغذی بود. این امکانات برای تحریک حسی، حرکتی و شناختی در نظر گرفته شدند. موش‌های ماده انتخاب شدند تا از بروز رفتارهای پرخاشگرانه و تنش‌زا که در موش‌های نر رایج است، جلوگیری شود.

فعالیت بدنی ارادی - اکتشافی به منظور فراهم کردن محرک‌های حرکتی و شناختی در شرایطی غیرالزامی طراحی شد تا حیوانات ضمن آزادی حرکت، درگیر فعالیت‌های متنوع حرکتی و اکتشافی گردند. محیط تمرین شامل جعبه‌هایی از جنس پلکسی‌گلاس، با ابعاد تقریبی ۴۰ سانتی‌متر طول، ۳۰ سانتی‌متر عرض و ۶۰ سانتی‌متر ارتفاع بود که با مجموعه‌ای از اجزای غنی‌سازی فیزیکی و حسی تجهیز شدند. این اجزا شامل رمپ‌هایی با شیب ۲۰ تا ۳۰ درجه، سکوهایی با ارتفاع‌های متفاوت (۵ تا ۲۰ سانتی‌متر)، نردبان، تونل‌ها و لوله‌های PVC، چرخ و فلک (wheel running) و سازه‌های بالارونده بودند. این تجهیزات به منظور تحریک مهارت‌های حرکتی و افزایش تحرک بدنی حیوانات در محیط تعبیه شدند. ابزارهای اکتشافی و جویدنی شامل چوب‌های طبیعی، لوله‌های مقوایی و

اسباب‌بازی‌های پلاستیکی غیرسمی با رنگ‌های متنوع بودند تا حس کنجکاوی و رفتارهای کاوشی حیوانات تقویت شود. مواد لانه‌سازی شامل کاغذ خردشده و دستمال کاغذی بود و برای هر قفس، حداقل یک سرپناه پلاستیکی یا مقوایی در نظر گرفته شد. این امکانات شرایط مناسبی را برای استراحت و بروز رفتارهای طبیعی جست‌وجو و لانه‌سازی فراهم می‌کرد. حیوانات به صورت گروهی و در قفس‌های حاوی ۴ تا ۵ موش نگهداری شدند و به منظور سازگاری با محیط آزمایش، پیش از آغاز جلسات تمرین، به مدت هفت روز در محیطی مشابه قرار گرفتند. دورهٔ تمرینی هشت هفته (پنج روز در هفته) به طول انجامید و تمرینات به طور میانگین ۶۰ تا ۹۰ دقیقه در هر جلسه اجرا شدند. شدت فعالیت بر پایهٔ مشاهدهٔ مستقیم رفتارهای حرکتی، از جمله صعود و فرود از سازه‌ها، میزان استفاده از چرخ و فلک، جابه‌جایی بین سکوها و مدت تعامل با اشیای محیطی ارزیابی شد و در محدودهٔ کم تا متوسط طبقه‌بندی گردید. به منظور جلوگیری از یکنواختی محیط و حفظ انگیزش اکتشافی، در پایان هر هفته، چیدمان قفس و ترکیب وسایل غنی‌سازی تغییر داده می‌شد تا حیوانات با محرک‌های جدید روبه‌رو شوند. همهٔ جلسات تمرین، تصویربرداری و ثبت شدند و نشانگرهای فعالیت بدنی، شامل شمار حرکات، مدت‌زمان تعامل با اشیا و میزان بالارفتن از سازه‌ها مورد تحلیل قرار گرفتند. تمیز کردن محیط به صورت هفتگی انجام شد و اجزای کاغذی یا مقوایی آن جایگزین گردیدند و وضعیت رفتاری و سلامت عمومی حیوانات به صورت روزانه پایش شد. این روش با هدف فعالیت بدنی طبیعی، با شدت کم تا متوسط و بدون اجبار طراحی گردید تا ضمن کاهش تنش، دستگاه‌های حرکتی و شناختی حیوانات به شیوه‌ای طبیعی تحریک شوند.

موش‌های گروه کنترل سالم با رژیم استاندارد، با محتوای ۲/۴ کیلوکالری به ازای هر گرم، تغذیه شدند. برای القای چاقی، در گروه‌های مورد نظر، از رژیم پرچرب ویژهٔ موش‌های C57BL/6J استفاده گردید که دست‌کم ۴۵ درصد انرژی آن از چربی تأمین می‌شد. ترکیب انرژی‌زای این رژیم شامل ۴۵ درصد چربی، ۳۷ درصد کربوهیدرات و ۱۸ درصد پروتئین بود و چربی آن بیشتر از روغن سویا تأمین می‌گردید. رژیم پرچرب مذکور توسط شرکت «ایده اطلس آرام» تهیه شد و بر پایهٔ شیوه‌نامه و رهنمود سازنده، به صورت پلت آماده به حیوانات ارائه گردید. برای گروه‌های دریافت‌کنندهٔ آکریل‌آمید، خوراک در دمای ۲۷۰ درجهٔ فارنهایت به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد و پس از اتوکلاو، آکریل‌آمید به میزان ۱۰۰۰ واحد در میلیارد (ppb) به ازای هر کیلوگرم خوراک، به رژیم پرچرب افزوده و به طور یکنواخت با آن مخلوط شد. آکریل‌آمید از شرکت آلکالی ساینتیفیک (کشور آمریکا، شمارهٔ فراورده A8887) تهیه گردید. موش‌ها به مدت هشت هفته، به صورت تغذیهٔ آزاد (ad libitum) از رژیم مربوط به گروه خود استفاده کردند و در تمام مدت، به آب آشامیدنی، دسترسی آزاد داشتند.

ترکیب زیست‌فعال سینئول از شرکت Sigma-Aldrich تهیه شد. مقدار ایمن بر پایهٔ منابع معتبر انتخاب گردید و با غلظت ۱۰ میکرومولار، روزانه و به صورت گاواژ به موش‌ها داده شد.

پس از هشت هفته تیمار و ۲۴ ساعت پس از آخرین مداخله، موش‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند؛ سپس بافت کبد استخراج و برای انجام آنالیزهای مولکولی در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش‌های آزمایشگاهی: برای بررسی اثرات مداخلات بر مسیرهای مولکولی مرتبط با التهاب، فشار اکسایشی و سوخت‌وساز لیپیدها، بیان ژن‌های Sirt1، PPARα،

PPARγ، CXCL15 و Cyp2e1 در بافت کبد با استفاده از تکنیک Real-Time PCR ارزیابی شد (جدول ۱). RNA با استفاده از روش TRIzol استخراج گردید و پس از ارزیابی خلوص آن و حذف DNA ژنومی، ساخت cDNAبا استفاده از کیت تجاری شرکت بیوفکت (کرهٔ جنوبی) صورت گرفت. صحت ساخت cDNA با PCR تأیید شد. ژن B2M به عنوان کنترل داخلی به کار رفت و بررسی داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ انجام گرفت.

جدول ۱. فهرست آغازگرهای استفاده‌شده در پژوهش

GENE	NCBI ID	FORWARD PRIMER (5`-3`)	REVERSE PRIMER (5`-3`)	TEMPERATURE (°C)
Sirt1	NM_011146/4	CTGTTATGGGTGAAACTCTGG	GTGGTAAAGGGCTTGATGTC	۵۸
PPARα	NM_011144	ACCACTACGGAGTTCACGCATG	GAATCTTGCAGCTCCGATCACAC	۵۹
PPARγ	NM_001159589/2	GGCAGTAACAGTGACAGT	CTCTCCGTATCATCTTCCAA	۶۰
CXCL15	NM_011339	GGTGATATTCGAGACCATTTACTG	GCCAACAGTAGCCTTCACCCAT	۵۹
Cyp2e1	NM_021282	AGGCTGTCAAGGAGGTGCTACT	AAAACCTCCGCACGTCCTTCCA	۶۰
B2M	NM_008084	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG	۶۰

تحلیل آماری: برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون کولموگروف اسمیرنف استفاده شد. مقایسهٔ بین گروه‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) به همراه آزمون تعقیبی Tukey صورت گرفت. جهت مشخص شدن تأثیرپذیری متغیرهای مستقل، از آزمون تحلیل واریانس سه‌راهه با سطح معناداری آماری برابر با $p \leq ۰/۰۵$ استفاده شد. پردازش‌های آماری نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS 27 انجام گرفتند.

نتایج

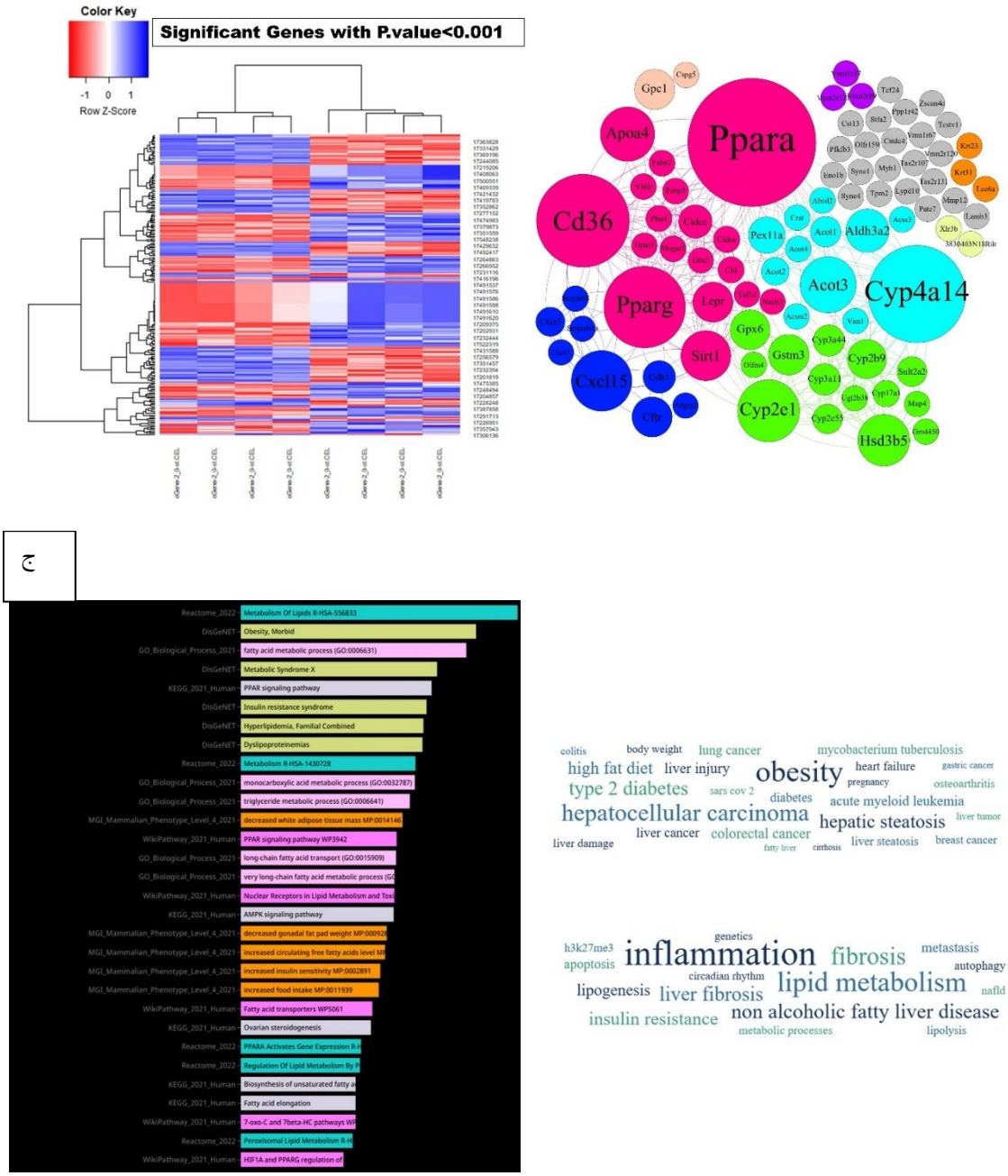
شناسایی ژن ها، عوامل تنظیمی و مسیرهای پیام‌رسانی مولکولی بر پایهٔ زیست شناسی مولکولی محاسباتی

بر پایهٔ تحلیل مجموعه داده‌های بیان ژنی GSE249679 و منطبق با اهداف پژوهش، ژن‌های کلیدی مرتبط با چاقی و اختلالات سوخت‌وسازی کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب بررسی شدند. نتایج، تغییرات بیان ژن‌های کلیدی، از جمله Sirt1، Pparα، Pparγ، Cxcl15 و Cyp2e1 را در بافت کبد نشان داد. مراحل تحلیل، شامل انتقال‌دهندهٔ پادتوانی[۸] داده‌ها، هنجارسازی کوانتایلی، اعمال وزن‌های دقت و به‌کارگیری آزمون تعدیل‌شدهٔ بیزی برای افتراق بیان، در شناسایی دقیق ژن‌های با تغییر بیان معنادار نقش داشتند (شکل۱، الف). تحلیل شبکهٔ تعاملات پروتئین به پروتئین با استفاده از داده‌های پایگاه STRING و مصورسازی با ابزارهای Cytoscape و Gephi نشان داد که ژن Pparα در تعاملات مولکولی وابسته به اختلالات سوخت‌وسازی کبدی ناشی از رژیم غذایی پرچرب، نقش مرکزی و کلیدی دارد. در تحلیل غنی‌سازی داده‌ها، فرایندهای زیستی وابسته به سوخت‌وساز لیپیدها، چاقی، مقاومت به انسولین، مسیرهای پیام‌رسانی Ppar، Ampk و Hif1α، التهاب، کارسینومای هپاتوسلولار، فیبروز کبدی و آهنگ شبانه‌روزی برجسته شدند (شکل۱، ب). تحلیل‌های توصیفی و گراف‌های ارائه‌شده در «شکل ۱، ب»، موقعیت مرکزی PPARα در شبکهٔ

تعاملات و نقش تعاملی ژن‌های شاخص مرتبط با سوخت‌وساز را نشان می‌دهند. این یافته‌ها، مجموعه‌ای از اهداف ملکولی را معرفی می‌کنند که نه تنها در تنظیم پایه‌ای عملکرد سوخت‌وسازی و کبدی، سازوکارهای بازسازی و پاسخ‌های تطبیقی نقش دارند؛ بلکه از دید زیست‌پزشکی نیز می‌توانند به عنوان نشانگرهای زیستی و اهداف درمانی بالقوه و نهفته در اختلالات سوخت‌وسازی و کبدی مطرح شوند (شکل ۱، ج).

الف

ب



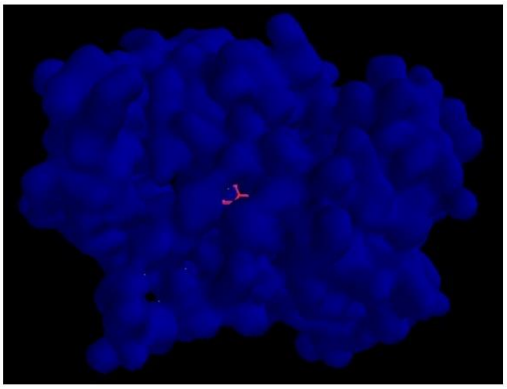
ج

شکل ۱. تجزیه و تحلیل داده‌های زیستی ترانسکریپوم. الف) ژن‌های با بیان متفاوت قابل توجه (P-value<0/001) در اختلالات سوخت‌وسازی کبد (نمودار نقشهٔ حرارتی)، ب) شبکهٔ ژنی مشترک و قابل توجه دخیل در اختلالات سوخت‌وسازی کبد، ج) شناسایی مسیرهای دخیل در اختلالات سوخت‌وسازی کبد.

نتایج میل ترکیبی دارویی بر پایهٔ اتصال مولکولی

همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده است، با توجه به امتیاز اتصال و مرکزیت بالای PPARα در شبکهٔ PPI، این پروتئین به عنوان یک پروتئین تنظیمی محوری و یکی از اهداف دارویی امیدوارکننده شناسایی گردید. با توجه به تأثیر نامطلوب اختلال در سوخت‌وساز کبدی در آسیب به کبد، PPARα به عنوان کاندیدای اصلی برای پژوهش‌های داکینگ مولکولی (هم‌نشانی مولکولی[۹]) انتخاب شد.

ساختار سه‌بعدی PPARα (شناسهٔ PDB: 4BCR) با استفاده از نرم‌افزار UCSF Chimera (نسخهٔ ۱/۱۷/۱) بهینه شد. شبیه‌سازی‌های هم‌نشانی مولکولی با استفاده از نرم‌افزار PyRx (نسخهٔ پایتون ۰/۸) انجام گرفت تا میل ترکیبی اتصال بین ترکیبات ارگانوفسفره و جایگاه فعال PPARα ارزیابی شود. امتیازهای هم‌نشانی محاسبه‌شده، برآوردی کمی در مورد قدرت و ماهیت این تعاملات مولکولی ارائه دادند. برای ارزیابی وابستگی دارویی PPARα، تجزیه و تحلیل‌های هم‌نشانی مولکولی با ادغام یافته‌های تحلیل داده‌های زیستی انجام شد. شبیه‌سازی‌ها، تمایل اتصال قوی سینئول به جایگاه فعال PPARα را با انرژی اتصال ۵/۹- کیلوکالری بر مول و مقادیر RMSD کمتر از ۲ آنگستروم نشان دادند. این نتایج محاسباتی نشان می‌دهند که سینئول می‌تواند به طور مستقیم فعالیت PPARα را تعدیل کند و به طور بالقوه در سازوکار آسیب‌ها و اختلالات سوخت‌وسازی ناشی از آکریل‌آمید در سلول‌های کبدی نقش داشته باشد. افزون بر این، استفاده از ترکیب زیست‌فعال سینئول در مطالعات هم‌نشانی مولکولی، ضمن بهبود دقت و کارایی محاسباتی، رویکرد راهبردی بالقوه و نهفته‌ای را برای طراحی عوامل محافظتی ارائه می‌دهد که مسیرهای سوخت‌وسازی با واسطهٔ PPARα را در بافت کبد هدف قرار می‌دهد.



شکل ۲. محاسبات اتصال مولکولی بین لیگاند و پروتئین هدف

تأثیر فعالیت در محیط غنی‌شده و دریافت سینئول بر تنظیم شبکهٔ Sirt1، PPARα، Pparγ، Cyp2e1 و Cxcl15

نتایج آزمون تحلیل واریانس سه‌راهه نشان داد که متغیرهای مستقل فعالیت در محیط غنی‌شده، آکریل‌آمید و سینئول، تأثیرات معناداری بر نشانگرهای پژوهش داشته‌اند. بر این پایه، میزان تغییرات بیان ژن‌های Sirt1، PPARα، Pparγ، Cyp2e1 و Cxcl15 معنادار بوده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه نشان داد که تعامل سه‌گانه‌ای بین رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید، سینئول و فعالیت ورزشی (ضریب تأثیر:

۰/۰۹۵، $p < 0/03$، جدول ۲) وجود دارد که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح Sirt1 است. در بررسی میزان بیان Sirt1، اثرات اصلی متغیرهای تمرین در محیط غنی‌شده (ضریب تأثیر: ۲، $p < 0/016$، جدول ۲)، آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۲۵، $p < 0/001$، جدول ۲) و سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۱۲، $p < 0/006$، جدول ۲) همگی معنادار بودند که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات است. همچنین، همهٔ اثرات تعاملی دوگانه، شامل محیط غنی‌شده با آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۰۲۷، $p < 0/26$، جدول ۲)، محیط غنی‌شده با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۱۵، $p < 0/006$) و آکریل‌آمید با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۳، $p < 0/21$، جدول ۲) از دید آماری معنادار نبودند که نشان‌دهندهٔ نبود وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح Sirt1 است.

تحلیل واریانس سه راهه جهت تحلیل بیان ژن PPARα نشان داد که تعامل سه‌گانه‌ای بین رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید، سینئول و فعالیت ورزشی (ضریب تأثیر: ۰/۰۹۵، $p < 0/03$، جدول ۲) وجود دارد که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح PPARα است. در بررسی میزان بیان PPARα، اثرات اصلی تمرین در محیط غنی‌شده (ضریب تأثیر: ۰/۲، $p < 0/001$، جدول ۲)، آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۳۲، $p < 0/001$، جدول ۲) و سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۲۰۴، $p < 0/001$، جدول ۲) همگی معنادار بودند که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات است. همچنین، همهٔ اثرات تعاملی دوگانه، شامل محیط غنی‌شده با آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۰۰۸، $p < 0/55$، جدول ۲)، محیط غنی‌شده با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۱۵، $p < 0/4$) و آکریل‌آمید با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۳۹، $p < 0/18$، جدول ۲) از دید آماری معنادار نبودند که نشان‌دهندهٔ نبود وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح PPARα است. نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه برای میزان بیان ژن PPARγ نشان داد که تعامل سه‌گانه‌ای بین رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید، سینئول و فعالیت ورزشی (ضریب تأثیر: ۰/۰۹۱، $p < 0/037$، جدول ۲) وجود دارد که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح PPARγ است. در بررسی میزان بیان PPARγ، اثرات اصلی تمرین در محیط غنی‌شده (ضریب تأثیر: ۰/۱۶، $p < 0/004$، جدول ۲)، آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۳، $p < 0/001$، جدول ۲) و سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۲، $p < 0/001$، جدول ۲) همگی معنادار بودند که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات است. همچنین، اثرات تعاملی دوگانه، شامل محیط غنی‌شده با آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۰۰۸، $p < 0/53$، جدول ۲) و آکریل‌آمید با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۰۶، $p < 0/6$، جدول ۲) از دید آماری معنادار نبودند که نشان‌دهندهٔ نبود وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح PPARγ است. از سویی، اثر تعاملی محیط غنی‌شده با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۲۴، $p < 0/001$) از دید آماری معنادار بود که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه برای میزان بیان ژن Cyp2e1 نشان داد که تعامل سه‌گانه‌ای بین رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید، سینئول و فعالیت ورزشی (ضریب تأثیر: ۰/۰۹۹، $p < 0/029$، جدول ۲) وجود دارد که نشان‌دهندهٔ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح Cyp2e1 است. در بررسی میزان بیان Cyp2e1، اثرات اصلی تمرین در محیط غنی‌شده (ضریب تأثیر: ۰/۲، $p < 0/001$، جدول ۲)، آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۵۱، $p <$

0/001، جدول ۲) و سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۳۲، p < 0/001، جدول ۲) همگی معنادار بودند که نشان‌دهندۀ وابستگی اثرات این مداخلات است. همچنین، اثرات تعاملی دوگانه، شامل محیط غنی‌شده با آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۰۸۲، p < 0/049، جدول ۲)، از نظر آماری معنادار بود که نشان‌دهندۀ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر است. از سویی، اثر تعاملی محیط غنی‌شده با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۰۱، p < 0/96) و آکریل‌آمید با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۶۵، p < 0/08، جدول ۲) از نظر آماری معنادار نبودند که نشان‌دهندۀ نبود وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح Cyp2e1 است. نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه برای میزان بیان ژن Cxcl15نشان داد تعامل سه‌گانه‌ای بین رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید، سینئول و فعالیت ورزشی (ضریب تأثیر: ۰/۱۶۵، p < 0/004، جدول ۲) وجود دارد که نشان‌دهندۀ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر در تنظیم سطوح Cxcl15 است.

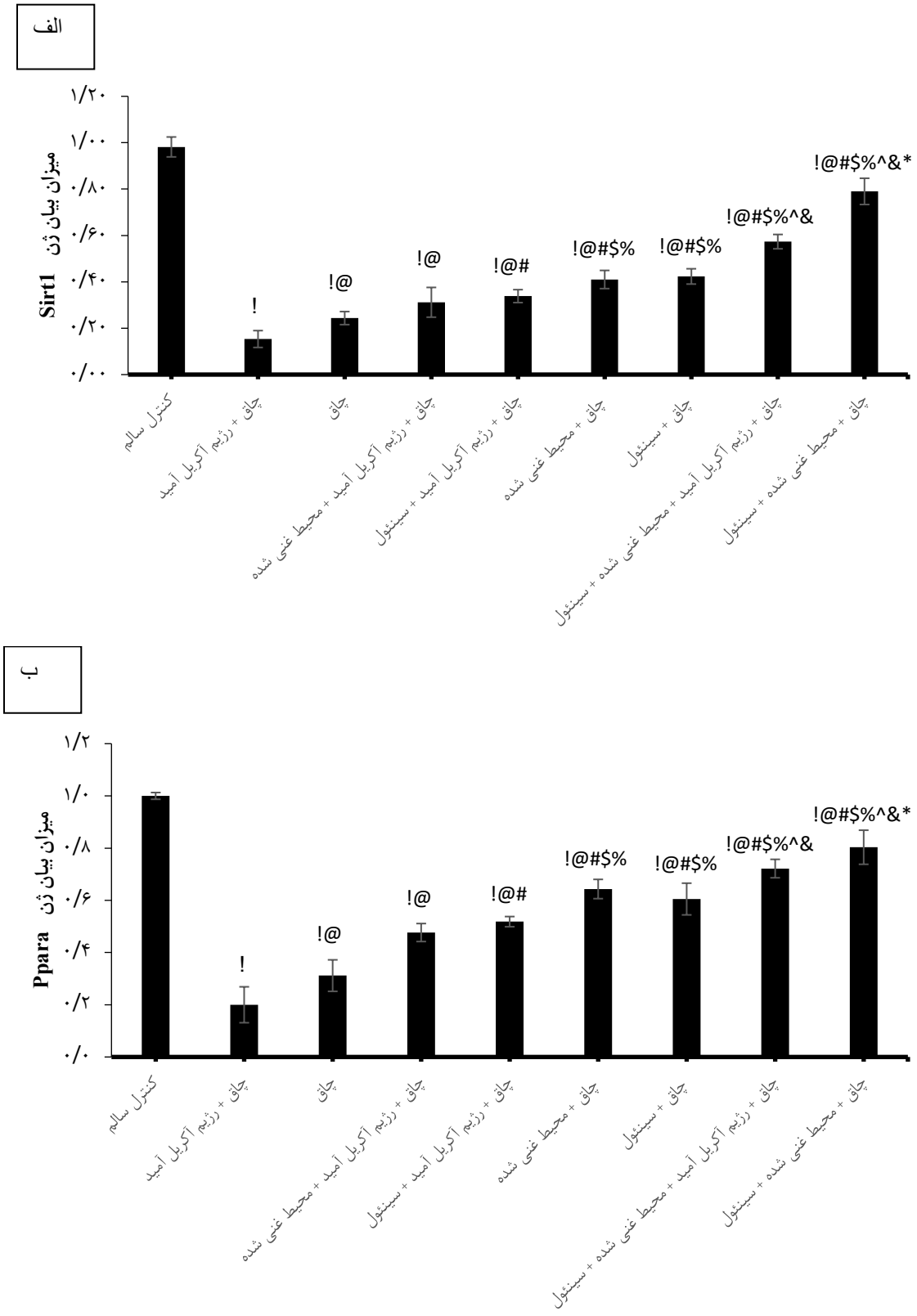
در بررسی میزان بیان Cxcl15، اثرات اصلی تمرین در محیط غنی‌شده (ضریب تأثیر: ۰/۱۸، p < 0/003، جدول ۲)، آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۶۹، p < 0/001، جدول ۲) و سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۲، p < 0/001، جدول ۲) همگی معنادار بودند که نشان‌دهندۀ وابستگی اثرات این مداخلات است. همچنین، اثرات تعاملی دوگانه، شامل محیط غنی‌شده با آکریل‌آمید (ضریب تأثیر: ۰/۱۱، p < 0/02، جدول ۲)، آکریل‌آمید با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۸۴، p < 0/045، جدول ۲) و محیط غنی‌شده با سینئول (ضریب تأثیر: ۰/۰۹۱، p < 0/037) از دید آماری معنادار بودند که نشان‌دهندۀ وابستگی اثرات این مداخلات به یکدیگر است.

در این پژوهش، بیان ژن‌های Sirt1، PPARα، PPARγ، CXCL15 و Cyp2e1 در گروه‌های مختلف تحت شرایط چاقی، رژیم غذایی حاوی آکریل‌آمید، محیط غنی‌شده و تیمار با سینئول بررسی شد. نتایج حاصل از تحلیل Real-Time PCR نشان داد که گروه چاق همراه با رژیم آکریل‌آمید در مقایسه با گروه کنترل سالم، تفاوت معناداری در بیان ژن‌های Sirt1، PPARα و PPARγ دارد (شکل ۱ الف - پ، P <۰/۰۰۱). این افت بیان نشان‌دهندۀ اختلال در تنظیم سوخت‌وساز و کاهش فعالیت ضدالتهابی در اثر مواجهه با آکریل‌آمید است. در مقابل، گروه‌هایی که تحت تیمار با سینئول یا قرارگیری در محیط غنی‌شده بودند، افزایش قابل توجهی را در بیان ژن‌های سوخت‌وسازی و ضدالتهابی نشان دادند (شکل ۳، الف - پ، P <۰/۰۰۱). به‌ویژه در گروه چاق تحت رژیم آکریل‌آمید همراه با محیط غنی‌شده و سینئول، بیشترین سطح بیان ژن‌های Sirt1، PPARα و PPARγدر میان گروه‌های چاق مشاهده شد که از نظر آماری، نسبت به گروه چاق و گروه چاق با رژیم آکریل‌آمید، معنادار بود (شکل ۳، الف - پ، P <۰/۰۰۱). این یافته‌ها بیانگر اثر هم‌افزایانۀ محیط غنی‌شده و سینئول در بهبود تنظیم سوخت‌وساز لیپیدها و کاهش التهاب است. از سوی دیگر، بیان ژن‌های CXCL15 و Cyp2e1، به عنوان نشانگرهای التهابی و فشار اکسایشی، در گروه چاق با رژیم آکریل‌آمید، به طور معناداری افزایش یافت (شکل ۳، ت - ج، P <۰/۰۰۱) که نشان‌دهندۀ فعال‌سازی مسیرهای التهابی و تولید ROS در اثر مواجهه با این ترکیب غذایی است. در گروه‌های دریافت‌کننده سینئول و محیط غنی‌شده، بیان این دو ژن به طور معناداری کاهش یافت (شکل ۳، ت-ج، P <۰/۰۰۱) و به سطحی نزدیک به گروه کنترل رسید. این کاهش بیان، نشان‌دهندۀ اثر محافظتی سینئول و محیط غنی‌شده در مهار التهاب و فشار اکسایشی ناشی از رژیم آکریل‌آمید است (شکل ۳، ت - ج، P <۰/۰۰۱).

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس سه راهه برای بررسی تأثیر عوامل مختلف بر بیان ژن‌های Sirt1، PPARα، Pparγ و Cxcl15، Cyp2e1

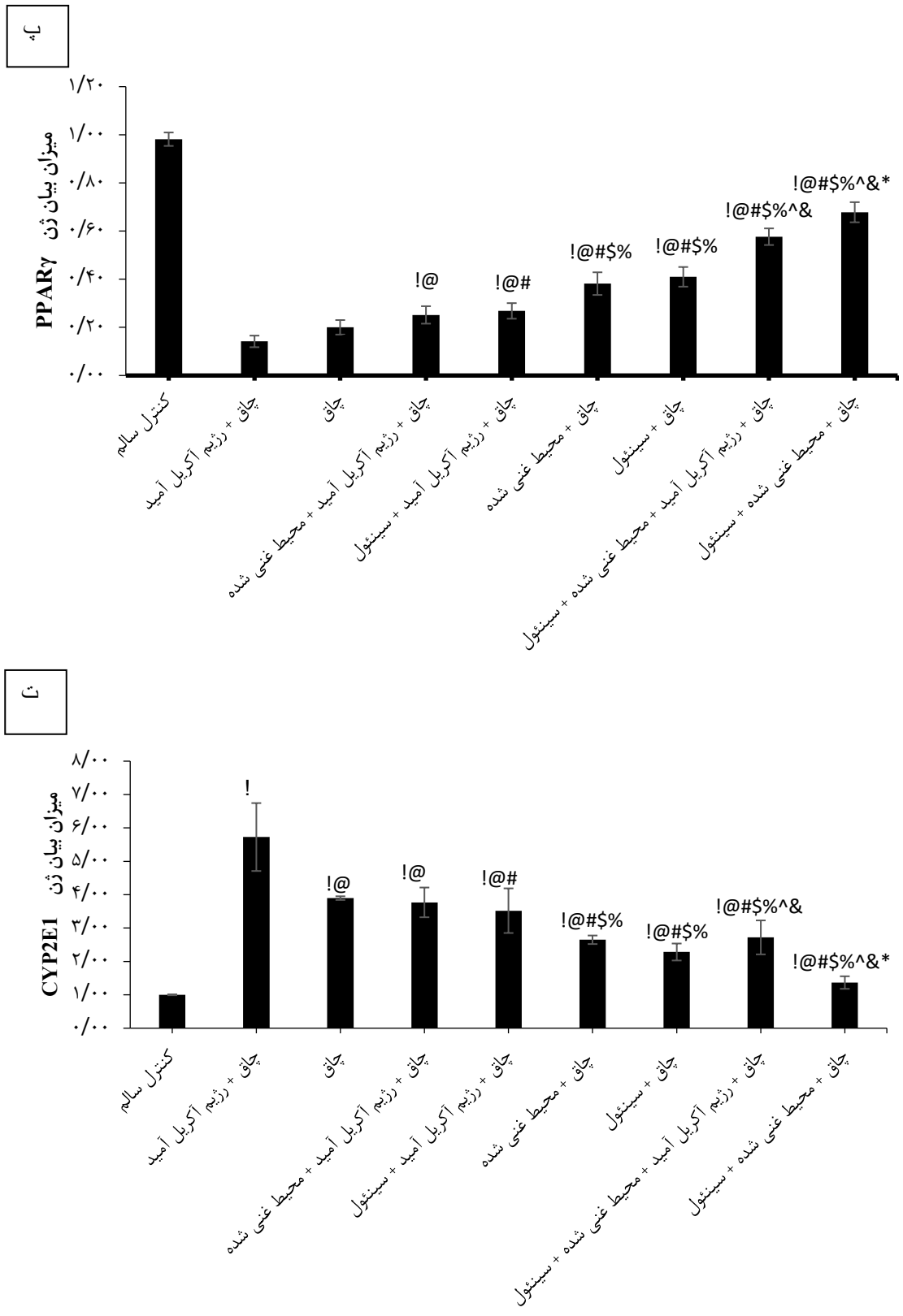
متغیر		F- مقدار	ضریب تأثیر	معنی‌داری
Sirt1	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید	۱۵/۰۸	۰/۲۵	**۰/۰۰۱**
	سینئول	۸/۱۸	۰/۱۱۹	**۰/۰۰۶**
	فعالیت بدنی داوطلبانهٔ مرتبط با محیط غنی‌شده	۶/۲۱	۰/۲	**۰/۰۱۶**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول	۱/۵۸	۰/۰۳۳	**۰/۲۱**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۱/۲۸	۰/۰۲۷	**۰/۲۶**
	سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۸/۴	۰/۱۵۵	**۰/۰۰۶**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۴/۸	۰/۰۹۵	**۰/۰۳**
PPARα	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید	۲۱/۶۴	۰/۳۲	**۰/۰۰۱**
	سینئول	۱۱/۸	۰/۲۰۱	**۰/۰۰۲**
	فعالیت بدنی داوطلبانهٔ مرتبط با محیط غنی‌شده	۱۱/۵۸	۰/۲۰۴	**۰/۰۰۲**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول	۱/۸۶	۰/۰۳۹	**۰/۱۸**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۰/۳۵	۰/۰۰۸	**۰/۵۵**
	سینئول* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۰/۷۲	۰/۰۱۵	**۰/۴**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۴/۸۵	۰/۰۹۵	**۰/۰۳**
PPARγ	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید	۲۰/۱۸	۰/۳	**۰/۰۰۱**
	سینئول	۱۱/۴۸	۰/۲	**۰/۰۰۱**
	فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۸/۹۹	۰/۱۶۴	**۰/۰۰۴**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول	۰/۲۷	۰/۰۰۶	**۰/۶**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۰/۲۷	۰/۰۰۸	**۰/۵۴**
	سینئول* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۱۴/۸۸	۰/۲۴	**۰/۰۰۱**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۵/۶۸	۰/۰۹۹	**۰/۰۳**
Cyp2e1	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید	۴۷/۹۲	۰/۵۱	**۰/۰۰۱**
	سینئول	۲۱/۷	۰/۳۲	**۰/۰۰۱**
	فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۱۱/۸۳	۰/۲۰۵	**۰/۰۰۱**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول	۴/۰۹۵	۰/۰۶۵	**۰/۰۴۹**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۲/۵	۰/۰۸۲	**۰/۱۲۱**
	سینئول* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۰/۰۰۲	۰/۰۱	**۰/۹۶**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۵/۰۶۸	۰/۰۹۹	**۰/۰۲۹**
CXCL15	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید	۱۰۳/۵۳	۰/۶۹	**۰/۰۰۱**
	سینئول	۱۱/۶۶	۰/۲	**۰/۰۰۱**
	فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۱۰/۱۲	۰/۱۸	**۰/۰۰۳**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید* سینئول	۴/۶	۰/۰۹	**۰/۰۳۷**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۵/۷۷	۰/۱۱	**۰/۰۲**
	سینئول* فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۴/۵۹	۰/۰۹۱	**۰/۰۳۷**
	رژیم غذایی پرچرب غنی از آکریل‌آمید*سینئول*فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده	۹/۰۶۶	۰/۱۶۵	**۰/۰۰۴**

نماد «*» نشان‌دهندهٔ اثر تعاملی بین عوامل است.



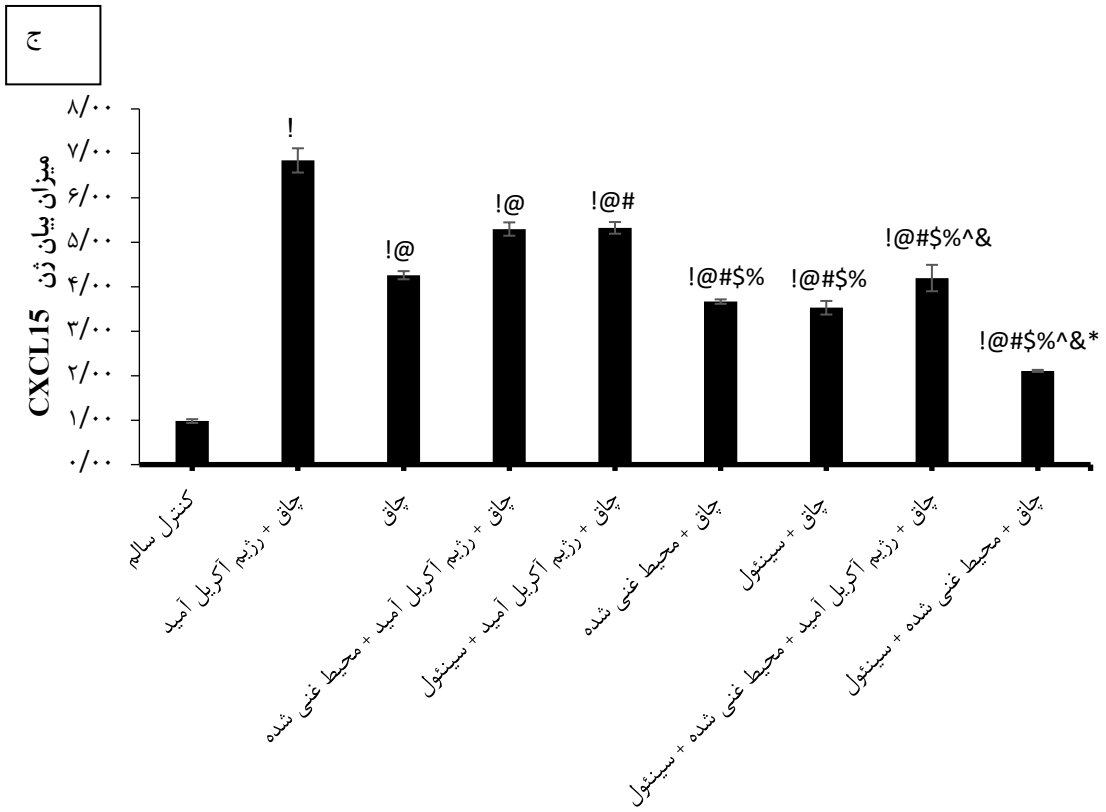
شکل ۳. میزان تغییرات بیان ژن‌های Sirt1، Ppara، Pparγ، Cyp2e1 و Cxcl15 در بافت کبد

الف) میزان بیان نسبی ژن Sirt1، ب) میزان بیان نسبی ژن Ppara، پ) میزان بیان نسبی ژن Cyp2e1، ت) میزان بیان نسبی ژنCxcl15، ج) میزان بیان نسبی ژن Pparγ.



ادامه شکل ۳. میزان تغییرات بیان ژن‌های Sirt1، Ppara، Pparγ، Cyp2e1 و Cxcl15 در بافت کبد

الف) میزان بیان نسبی ژن Sirt1، ب) میزان بیان نسبی ژن Ppara، پ) میزان بیان نسبی ژن Cyp2e1، ت) میزان بیان نسبی ژنCxcl15، ج) میزان بیان نسبی ژن Pparγ.



ادامه شکل ۳. میزان تغییرات بیان ژن‌های Sirt1، Ppara، Pparγ، Cyp2e1 و Cxcl15 در بافت کبد

الف) میزان بیان نسبی ژن Sirt1، ب) میزان بیان نسبی ژن Ppara، پ) میزان بیان نسبی ژن Cyp2e1، ت) میزان بیان نسبی ژنCxcl15، ج) میزان بیان نسبی ژن Pparγ.

علائم آماری: !: تفاوت معنادار با گروه کنترل سالم؛ @: تفاوت معنادار با گروه چاق + رژیم آکریل‌آمید؛ #: تفاوت معنادار با گروه چاق؛ $: تفاوت معنادار با گروه چاق+رژیم آکریل‌آمید + محیط؛ %: تفاوت معنادار با گروه چاق + رژیم آکریل‌آمید + سینئول؛ ^: تفاوت معنادار با گروه چاق + محیط غنی؛ &: تفاوت معنادار با گروه چاق + سینئول؛ *: تفاوت معنادار با گروه چاق + رژیم آکریل‌آمید + محیط غنی + سینئول.

برای مقایسهٔ بین گروه ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. ژن B2M به عنوان ژن خانه‌گردان در این پژوهش به کار رفت. سطح بیان ژن‌ها با استفاده از روش 2-ΔΔCT محاسبه و ارزیابی گردید ($p<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و ترکیب این مداخله با سینئول، در الگوی حیوانی چاقی القاشده با رژیم غذایی پرچرب حاوی آکریل‌آمید، با افزایش معنادار بیان ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ سوخت‌وساز و پاسخ‌های ضدالتهابی، شامل Sirt1، PPARα و PPARγ همراه بود. همچنین، بیان ژن‌های مرتبط با التهاب و فشار اکسایشی، مانند CXCL15 و Cyp2e1 کاهش یافت. این تغییرات در بیان ژن‌ها، نشان‌دهندهٔ اثرات محافظتی ترکیب سینئول و محیط غنی‌شده در تعدیل مسیرهای مولکولی آسیب‌زا و تقویت سازوکارهای دفاعی سلولی است.

پژوهش چن[۱۰] و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که سیرتوئین‌ها، به‌ویژه Sirt1، در تنظیم التهاب و بازسازی بافت چربی در شرایط چاقی، نقش کلیدی دارند. آنها گزارش کردند که کاهش بیان Sirt1، با افزایش التهاب

و اختلال در سوخت‌وساز لیپیدها همراه است؛ در حالی که فعال‌سازی آن موجب بهبود عملکرد سوخت‌وسازی و کاهش نشانگرهای التهابی می‌شود (۲۰). این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر، مبنی بر افزایش بیان Sirt1 را در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ سینئول و گروه‌های دارای فعالیت بدنی در محیط غنی‌شده، کاملاً هم‌خوانی دارد. وانگ[11] و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که PPARαو Sirt1 به طور هم‌افزا در افزایش فعالیت سوخت‌وسازی و تحریک قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید نقش دارند. آنها دریافتند که فعال‌سازی این مسیرها موجب افزایش هزینهٔ انرژی و کاهش نشانگرهای چاقی در الگوی‌های حیوانی می‌شود (۲۱). این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر افزایش بیان PPARα و PPARγ در گروه‌های تیمار شده با سینئول و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده، هم‌راستا است. در زمینهٔ ژن‌های التهابی، پژوهشی نشان داد که حذف ژنتیکی Cyp2e1 در موش‌ها، موجب کاهش التهاب، افزایش قهوه‌ای شدن بافت چربی و بهبود نشانگرهای سوخت‌وسازی می‌شود. در پژوهش آنان، به تعامل بین Cyp2e1 و گیرنده‌های PPARα نیز اشاره شد و مهار Cyp2e1 با افزایش فعالیت PPARα و در نتیجه کاهش التهاب همراه بود (۲۲). در پژوهش حاضر نیز کاهش بیان Cyp2e1 و CXCL15 در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ سینئول و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده مشاهده شد. این یافته‌ها نشان‌دهندهٔ تعدیل مسیرهای التهابی و اکسایشی در پاسخ به مداخلات غیرداروییِ هستند. افزون بر این، پژوهش دیگری نشان داد که فعال‌سازی Sirt1 موجب دِاستیلاسیون PPARγ و در نتیجه تحریک ویژگی‌های قهوه‌ای در آدیپوسیت‌های سفید می‌شود؛ سازوکاری که می‌تواند به عنوان راهکاری برای مقابله با چاقی و التهاب مزمن در نظر گرفته شود (۲۳). این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر افزایش همزمان بیان Sirt1 و PPARγ در گروه‌های تیمارشده با سینئول و فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده، هم‌راستا هستند. بنابراین، می‌توان گفت که این پژوهش با تلفیق دو مداخلهٔ غیرداروییِ مؤثر (فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول) در یک الگوی پیچیده از چاقی و مواجهه با آکریل‌آمید، گامی فراتر از پژوهش‌های پیشین برداشته و شواهد تجربی قوی‌تری را برای اثربخشی این ترکیب ارائه داده است. افزایش بیان Sirt1، PPARα و PPARγبه عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی سوخت‌وساز چربی و پاسخ‌های ضدالتهابی، نشان‌دهندهٔ فعال‌سازی مسیرهای دفاعی سلولی در برابر آسیب‌های ناشی از چاقی و رژیم‌های پرخطر است. این فعال‌سازی موجب کاهش بیان ژن‌های التهابی، مانند CXCL15 و آنزیم‌های تولیدکننده ROS، مانند Cyp2e1 می‌شود و نقش مهمی در کاهش التهاب و فشار اکسایشی ایفا می‌کند (۲۴ و ۲۵).

مزیت بارز این پژوهش، استفادهٔ همزمان از سه رویکرد مداخله‌ای غیرداروییِ (سینئول، فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده) در الگویی پیچیده از چاقی القاشده و بررسی دقیق بیان ژن‌های کلیدی تنظیم‌کنندهٔ التهاب و سوخت‌وساز بود. این طراحی چندوجهی، نشان‌دهندهٔ قابلیت تلفیق رویکردهای تغذیه‌ای، زیست‌محیطی و رفتاری برای مقابله با آسیب‌های مزمن سوخت‌وسازی است (۲۶ و ۲۷).

با این همه، این پژوهش محدودیت‌هایی نیز داشت؛ چنانکه به منظور کنترل رفتارهای پرخاشگرانه، تمرکز مطالعه صرفاً بر روی موش‌های ماده بود؛ بنابراین، تعمیم یافته‌ها به موش‌های نر باید با احتیاط صورت گیرد. همچنین، بررسی اثرات بلندمدت مداخله، ارزیابی دوزهای متفاوت سینئول و تجزیه‌وتحلیل دقیق‌تر پروتئین‌های مرتبط با مسیرهای PPAR و Sirt1، می‌تواند به نتایج جامع‌تری منجر شود (۲۸).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، پژوهش‌های آینده می‌توانند به روشن‌تر شدن ابعاد سازوکارهای مؤثر کمک کنند. در این راستا، بررسی دوزها و مقادیر مختلف و مسیرهای تجویزی جایگزین سینئول، با هدف تعیین محدودهٔ بهینهٔ اثرگذاری، بسیار حائز اهمیت است. همچنین، گنجاندن موش‌های نر در طراحی آزمایش‌ها، می‌تواند در کشف تفاوت‌های جنسیتی احتمالی در پاسخ‌های سوخت‌وسازی و التهابی، نقش مؤثری ایفا کند (۲۹).

به منظور تکمیل داده‌های ژنتیکی، انجام آنالیزهای پروتئینی و سنجش سطح فعالیت آنزیم‌های وابسته به مسیرهای PPAR، Sirt1 و Cyp2e1 توصیه می‌شود. افزون بر این، بهره‌گیری از الگوی‌های سلولی، می‌تواند امکان بررسی دقیق‌تر سازوکارهای مولکولی دخیل در پاسخ‌های دیده‌شده را فراهم سازد، به‌ویژه دربارهٔ مسیرهای تنظیمی PI3K/Akt و نقش آنها در مقابله با التهاب و فشار اکسایشی (۱۷).

در مجموع، پژوهش حاضر نشان داد که ترکیب فعالیت بدنی داوطلبانه در محیط غنی‌شده و سینئول، می‌تواند به صورت هم‌افزا مسیرهای تنظیمی سوخت‌وساز و التهاب را در برابر آسیب‌های ناشی از چاقی و رژیم‌های غذایی پرخطر تعدیل کند. افزایش بیان ژن‌های Sirt1، PPARα و PPARγ و کاهش بیان CXCL15 و Cyp2e1، نشان‌دهندهٔ فعال‌سازی سازوکارهای حفاظتی بدن در شرایط تنش سلولی بود. این نتایج، می‌توانند زمینه‌ای را برای پژوهش‌های بیشتر در مورد مداخلات کم‌عارضه، زیست‌سازگار و کاربردی در پیشگیری و کاهش صدمات سوخت‌وسازی و تخریب‌کنندهٔ عصبی فراهم سازند.

تشکر و قدردانی

از همهٔ افرادی که در طراحی و انجام این پژوهش ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

حمایت مالی

این پژوهش هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

همهٔ نویسندگان به طور برابر در این پژوهش مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

پی‌نوشت‌ها

[1] Sirtuin 1
[2] peroxisome proliferator-activated receptor alpha
[3] peroxisome proliferator-activated receptor gamma
[4] Chemokine (C-X-C motif) ligand 15
[5] Cytochrome P450 2E1
[6] deacetylase
[7] Brain-Derived Neurotrophic Factor
[8] Logarithmic
[9] Molocular Docking
[10] Chen
[11] Wang

منابع

1. Ataey A, Jafarvand E, Adham D, Moradi-Asl E. The relationship between obesity, overweight, and the human development index in world health organization eastern mediterranean region countries. Journal of Preventive Medicine and Public Health. 2020;53(2):98. DOI: 10.3961/jpmph.19.100.

2. Flores-Cordero JA, Pérez-Pérez A, Jiménez-Cortegana C, Alba G, Flores-Barragán A, Sánchez-Margalet V. Obesity as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease: the role of leptin. International journal of molecular sciences. 2022;23(9):5202. DOI:10.3390/ijms23095202.

3. Mehramiz M, Porter T, O'Brien EK, Rainey-Smith SR, Laws SM. A potential role for sirtuin-1 in Alzheimer's disease: reviewing the biological and environmental evidence. Journal of Alzheimer's Disease Reports. 2023;7(1):823-43. DOI:10.3233/ADR-220088.

4. Zhang Q, Jin K, Chen B, Liu R, Cheng S, Zhang Y, et al. Overnutrition induced cognitive impairment: insulin resistance, gut-brain axis, and neuroinflammation. Frontiers in Neuroscience. 2022;16:884579. DOI: 10.3389/fnins.2022.884579.

5. Dhurandhar Y, Tomar S, Das A, Prajapati JL, Singh AP, Bodake SH, et al. Chronic inflammation in obesity and neurodegenerative diseases: exploring the link in disease onset and progression. Molecular Biology Reports. 2025;52(1):424. DOI: 10.1007/s11033-025-10509-z.

6. Naomi R, Teoh SH, Embong H, Balan SS, Othman F, Bahari H, et al. The Role of Oxidative Stress and Inflammation in Obesity and Its Impact on Cognitive Impairments—A Narrative Review. Antioxidants. 2023;12(5):1071. DOI: 10.3390/antiox12051071.

7. Butler MJ, Muscat SM, Caetano-Silva ME, Shrestha A, Olmo BMG, Mackey-Alfonso SE, et al. Obesity-associated memory impairment and neuroinflammation precede widespread peripheral perturbations in aged rats. Immunity & Ageing. 2025;22(1):2. DOI: 10.1186/s12979-024-00496-3.

8. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado de Oliveira R, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-γ. Nature. 2004;429(6993):771-6. DOI: 10.1038/nature02583.

9. Ma Y, Ji Y, Xu L, Li Z, Ge S. Obesity aggravated hippocampal-dependent cognitive impairment after sleeve gastrectomy in C57/BL6J mice via SIRT1/CREB/BDNF pathway. Experimental brain research. 2022;240(11):2897-906. DOI: 10.1007/s00221-022-06465-w.

10. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. Nature. 2000;405(6785):421-4. DOI: 10.1038/35013000

11. Montagner A, Polizzi A, Fouché E, Ducheix S, Lippi Y, Lasserre F, et al. Liver PPARα is crucial for whole-body fatty acid homeostasis and is protective against NAFLD. Gut. 2016;65(7):1202-14. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310798.

12. Ma X, Wang D, Zhao W, Xu L. Deciphering the roles of PPARγ in adipocytes via dynamic change of transcription complex. Frontiers in endocrinology. 2018;9:473. DOI: 10.3389/fendo.2018.00473.

13. Ahmadian M, Suh JM, Hah N, Liddle C, Atkins AR, Downes M, et al. PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. Nature medicine. 2013;19(5):557-66. DOI: 10.1038/nm.3159.

14. Kapadia R, Yi J-H, Vemuganti R. Mechanisms of anti-inflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. Frontiers in bioscience: a journal and virtual library. 2008;13:1813. DOI: 10.2741/2802.

15. Cederbaum AI. CYP2E1potentiates toxicity in obesity and after chronic ethanol treatment. Drug metabolism and drug

interactions. 2012;27(3):125-44. DOI: 10.1515/dmdi-2012-0014

16. Semple BD, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Role of chemokines in CNS health and pathology: a focus on the CCL2/CCR2 and CXCL8/CXCR2 networks. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2010;30(3):459-73. DOI: 10.1038/jcbfm.2009.240.

17. Wu W, Wang D, Shi Y, Wang Y, Wu Y, Wu X, et al. 1, 8-Cineole Alleviates Hippocampal Oxidative Stress in CUMS Mice via the PI3K/Akt/Nrf2 Pathway. Nutrients. 2025;17(6):1027. DOI: 10.3390/nu17061027.

18. Zhou B, Wang Z, Zhu L, Huang G, Li B, Chen C, et al. Effects of different physical activities on brain-derived neurotrophic factor: A systematic review and bayesian network meta-analysis. Frontiers in aging neuroscience. 2022;14:981002. DOI: 10.3389/fnagi.2022.981002

19. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. Acrylamide: a cooking carcinogen? Chemical research in toxicology. 2000;13(6):517-22. DOI: 10.1021/tx9901938.

20. Chen J, Lou R, Zhou F, Li D, Peng C, Lin L. Sirtuins: Key players in obesity-associated adipose tissue remodeling. Frontiers in immunology. 2022;13:1068986. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1068986.

21. Wang L, Teng R, Di L, Rogers H, Wu H, Kopp JB, et al. PPARα and Sirt1 mediate erythropoietin action in increasing metabolic activity and browning of white adipocytes to protect against obesity and metabolic disorders. Diabetes. 2013;62(12):4122-31. DOI: 10.2337/db13-0518.

22. Zhang Y, Yan T, Wang T, Liu X, Hamada K, Sun D, et al. Crosstalk between CYP2E1and PPARα substrates and agonists modulate adipose browning and obesity. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2022;12(5):2224-38. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.02.004.

23. Qiang L, Wang L, Kon N, Zhao W, Lee S, Zhang Y, et al. Brown remodeling of white adipose tissue by SirT1-dependent deacetylation of Pparγ. Cell. 2012;150(3):620-32. DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.027.

24. Mayoral R, Osborn O, McNelis J, Johnson AM, Oh DY, Izquierdo CL, et al. Adipocyte SIRT1 knockout promotes PPARγ activity, adipogenesis and insulin sensitivity in chronic-HFD and obesity. Molecular metabolism. 2015;4(5):378-91. DOI: 10.1016/j.molmet.2015.02.007.

25. Abdelmegeed MA, Yoo S-H, Henderson LE, Gonzalez FJ, Woodcroft KJ, Song B-J. PPARα Expression Protects Male Mice from High Fat–Induced Nonalcoholic Fatty Liver1–3. The Journal of nutrition. 2011;141(4):603-10. DOI: 10.3945/jn.110.135210.

26. Díaz de León-Guerrero S, Salazar-León J, Meza-Sosa KF, Valle-Garcia D, Aguilar-León D, Pedraza-Alva G, et al. An enriched environment re-establishes metabolic homeostasis by reducing obesity-induced inflammation. Disease Models & Mechanisms. 2022;15(6):dmm048936. DOI: 10.1242/dmm.048936.

27. Manzo R, Gallardo-Becerra L, Diaz de Leon-Guerrero S, Villaseñor T, Cornejo-

Granados F, Salazar-León J, et al. Environmental enrichment prevents gut dysbiosis progression and enhances glucose metabolism in high-fat diet-induced obese mice. Int J Mol Sci. 2024;25(13):6904. DOI: 10.3390/ijms25136904.

28. Yang H, Chen Y-x, Linghu K-g, Ren P-y, Yao Y-t, Jiang F, et al. 1, 8-Cineole alleviates Nrf2-mediated redox imbalance and mitochondrial dysfunction in diabetes mellitus by targeting Sirt1. Phytomedicine. 2024;135:156099. DOI: 10.1016/j.phymed.2024.156099

29. Shao J, Yin Z, Wang Y, Yang Y, Tang Q, Zhang M, et al. Effects of different doses of Eucalyptus oil from Eucalyptus globulus Labill on respiratory tract immunity and immune function in healthy Rats. Frontiers in Pharmacology. 2020;11:1287. DOI: 10.3389/fphar.2020.01287.