

Research Paper

Simultaneous effect of mealworm supplement with aerobic exercise on mitochondrial genes expression in the soleus muscle of rats with non-alcoholic fatty liver

   
Somayeh Paykari¹, Alireza Rahimi^{2*}, Fariba Aghaei³, Fuad Feizolahi³

Received: Dec 16, 2024

Revised: Mar 30, 2025

Accepted: Apr 01, 2025

Article info

1. PhD Student at Department of Exercise Physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3. Assistant Professor at Department of Exercise Physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

*Corresponding Author Address:

Department of Exercise Physiology,
Ka.C., Islamic Azad University, Karaj,
Iran;
Email: arrahimi@kiaou.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aim: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is an acquired metabolic disorder characterized by the accumulation of triglycerides in the liver, resulting from causes other than alcohol consumption. Exercise has been shown to not only reduce liver inflammation but also enhances mitochondrial biogenesis, improving morphological dynamics and regeneration rates through biogenesis and mitophagy. In addition, insect-based supplements, such as mealworms, have demonstrated strong immunostimulatory, anticancer, antidiabetic, and antioxidant properties. This supplement, rich in protein, has been reported to exhibit anti-obesity effects by activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α). Furthermore, it has been shown to effectively reduce weight and fat mass by influencing the expression of genes involved in fat metabolism. Therefore, the present study aimed to investigate the combined effect of mealworm protein supplementation and aerobic exercise on the expression of genes associated with mitochondrial biogenesis—including PGC-1 α , uncoupling protein 1 (UCP1), mitofusin 1 (Mfn1), and dynamin-related protein 1 (Drp1)—in the soleus muscle tissue of rats with NAFLD.

Materials and Methods: In this experimental study, 25 male Wistar rats were divided into five equal groups including: 1- healthy, 2- patient, 3- patient+supplement, 4- patient+exercise, 5- patient+supplement+exercise. The sick groups developed NAFLD with high fat and cholesterol diet. The exercise protocol consisted of interval endurance exercise was performed for eight weeks, involving treadmill running for 30 minutes per

Cite this article:

Paykari S, Rahimi A, Aghaei F, Feizolahi F. Simultaneous effect of mealworm supplement with aerobic exercise on mitochondrial genes expression in the soleus muscle of rats with non-alcoholic fatty liver. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(36):26-41. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2025.8593.1933>



session, five days per week with gradual overload. Mealworm protein supplement was administered via oral gavage at a dose of 20 mg/kg body weight on the same days as exercise sessions.

Tissue sampling of the soleus muscle was performed 48 hours after the last exercise and supplement session. The animals were anesthetized with intraperitoneal injections of Ketamine and Xylazine, and the soleus muscle tissue was immediately collected.

Each tissue sample was placed in a microtube containing liquid nitrogen and stored at -80°C until gene expression analysis.

Total RNA was extracted using the RNX-Plus method, and RNA purity and concentration were determined by spectrophotometry and confirmed by Agarose gel electrophoresis. The mRNA sequences of target genes (PGC-1 α , UCP1, Mfn1, and Drp1) were obtained from the NCBI database. Primer sequences were designed using AllelID software and validated for specificity using BLAST analysis.

Data were analyzed using independent t-tests and two-way ANOVA, with the significance level set at $p \leq 0.05$.

Results: The independent t-test results revealed that in the diseased group, the expression of PGC-1 α , UCP1, and Mfn1 genes significantly decreased compared to the healthy group, while the expression of Drp1 significantly increased ($p=0.0001$). According to the two-way ANOVA (Table 1) and Bonferroni tests, aerobic exercise significantly increased the expression of PGC-1 α ($p=0.0001$), UCP1 ($p=0.0001$), and Mfn1 ($p=0.0001$), while significantly decreased the expression of Drp1 ($p=0.0001$) in the soleus muscle tissue of rats with NAFLD. Additionally, statistical findings revealed that mealworm protein supplementation significantly increased the expression of UCP1 ($p=0.0001$), PGC-1 α ($p=0.0001$), and Mfn1 ($p=0.0001$), while significantly decreased the expression of Drp1 ($p=0.0001$) in the soleus muscle tissue of rats with NAFLD. However, the two-way ANOVA (Table 1) and Bonferroni tests, showed that the combination of aerobic exercise and mealworm protein supplementation did not have a significant effect on the expression of UCP1 ($p=0.53$), PGC-1 α ($p=0.36$), or Drp1 ($p=0.88$) in the soleus muscle tissue of rats with NAFLD. Nevertheless, the simultaneous intervention of aerobic exercise and mealworm protein supplementation significantly increased the expression of Mfn1 ($p=0.0001$) in the soleus muscle tissue of rats with NAFLD.

Table 1. Results of two-way ANOVA comparing relative gene expression changes in the study groups

Genes	Source of Variation	Mean \pm SD	F	p	Partial η^2
PGC-1 α	Exercise	15.24 \pm 8.82	87.65	0.0001*	0.84
	Supplement	14.88 \pm 3.60	79.81	0.0001**	0.83
	Supplement+Exercise	26.58 \pm 4.11	0.88	0.36	0.05
UCP-1	Exercise	6.68 \pm 0.94	108.19	0.0001*	0.87
	Supplement	8.99 \pm 1.43	221.80	0.0001**	0.93
	Supplement+Exercise	14.03 \pm 1.53	0.39	0.53	0.02
MFN-1	Exercise	5.20 \pm 0.42	564.68	0.0001*	0.97
	Supplement	4.56 \pm 0.08	374.63	0.0001**	0.95
	Supplement+Exercise	7.17 \pm 0.46	32.05	0.0001***	0.66
DRP-1	Exercise	0.62 \pm 0.10	104.20	0.0001*	0.86
	Supplement	0/61 \pm 0.07	109.00	0.0001**	0.87
	Supplement+Exercise	0.25 \pm 0.06	0.02	0.88	0.001

*Significant effect of aerobic exercise on gene expression. **Significant effect of supplement on gene expression.

***Significant interaction effect; $p \leq 0.05$. PGC-1 α : Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator; (UCP1): uncoupling protein 1; (Mfn1): Mitofusin 1; Drp1: Dynamin-related protein 1.

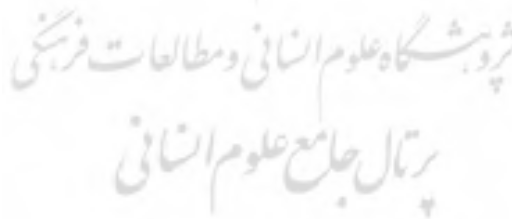
Conclusion: The findings of this study demonstrate that both intermittent aerobic exercise and mealworm protein supplementation independently led to a significant upregulation of key genes involved in mitochondrial biogenesis—namely PGC-1 α , UCP1, and Mfn1—in the soleus muscle of rats with NAFLD. Concurrently, these interventions resulted in a marked downregulation of Drp1, a gene associated with excessive mitochondrial fission and cellular apoptosis. These gene expression changes reflect improved mitochondrial function, enhanced fatty acid oxidation capacity, and reduced oxidative stress in muscle tissue—all of which are critical factors in the management and potential reversal of NAFLD. Notably, the interaction effect between exercise and supplementation was significant only for Mfn1 expression, suggesting a synergistic role in promoting mitochondrial fusion and stabilizing mitochondrial membrane potential. This may contribute to reduced apoptosis and improved mitochondrial dynamics under pathological conditions. Given the pivotal roles of the investigated genes in lipid metabolism, metabolic flexibility, and cellular homeostasis, the results suggest that both aerobic exercise and mealworm protein supplementation represent promising non-pharmacological strategies for mitigating NAFLD. Furthermore, considering the antioxidant, anti-obesity, and metabolic regulatory properties of mealworm supplementation, along with the well-established benefits of aerobic exercise in enhancing mitochondrial performance and reducing inflammation, the combination of these two interventions may offer a novel and multifaceted therapeutic approach for metabolic disorders such as NAFLD. However, further research is recommended—particularly in advanced animal models and clinical trials involving individuals with obesity or type 2 diabetes who are at risk for NAFLD.

Keywords: Aerobic exercise, Mealworm, Mitochondrial biogenesis, Fatty liver.

Hical Considerations: Ethical approval was obtained from the Ethics Committee of Islamic Azad University, Karaj Branch (Code: IR.IAU.K.REC.1403.029).

Funding: The costs of the study were borne by the researcher.

Conflict of Interest: No conflicts of interest declared.



تاثیر همزمان مکمل یاری کرم آرد با تمرین هوازی بر بیان برخی ژن‌های میتوکندریایی در عضله نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

سمیه پایکاری^۱، علیرضا رحیمی^{۲*}، فریبا آقایی^۳، فواد فیض الهی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۶

اطلاعات مقاله

چکیده

زمینه و هدف: در این تحقیق تاثیر همزمان مکمل پروتئینی کرم آرد با تمرین هوازی بر بیان ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندریایی شامل گیرنده فعال شده توسط پراکسی زوم گاما هم‌فعال کننده یک-آلفا (PGC1 α)، پروتئین جفت نشده-یک (UCP1)، پروتئین‌های میتوفیوژن (Mfn1) و پروتئین-یک وابسته به دینامین (Drp1) در عضله نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) بررسی گردید. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه مساوی شامل گروه سالم، بیمار، بیمار+ مکمل، بیمار+ تمرین، و بیمار+ مکمل+ تمرین تقسیم شدند. گروه بیمار با رژیم غذایی پرچرب و کلسترول دچار NAFLD شدند. تمرین هوازی تناوبی شامل دویدن روی نوارگردان به مدت ۳۰ دقیقه و پنج روز در هفته همراه با اضافه بار تدریجی، به مدت هشت هفته انجام شد. گاوآژ مکمل کرم آرد با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن مشابه با روزهای ورزش صورت گرفت. در نهایت، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات قربانی شدند و سنجش بیان ژن‌های PGC1 α ، UCP1، Mfn1 و Drp1 در عضله نعلی با روش Real-Time PCR صورت گرفت. داده‌های تحقیق با استفاده از آزمون‌های آماری t مستقل و تحلیل واریانس دو عاملی در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند. **یافته‌ها:** ابتلا به NAFLD، بیان PGC1 α ، UCP1 و Mfn1 را کاهش و بیان Drp1 را در عضله افزایش داد ($p=0.001$). تمرین و مکمل کرم آرد هر کدام به تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار بیان PGC1 α ($p=0.001$)، UCP1 ($p=0.001$) و Mfn1 ($p=0.001$) و کاهش معنی‌دار بیان Drp1 ($p=0.001$) در موش‌های مبتلا به NAFLD شدند و اثر تعاملی تمرین و مکمل فقط در افزایش Mfn1 ($p=0.001$) معنی‌دار بود. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین هوازی و مکمل کرم آرد هر کدام به تنهایی با ایجاد تغییرات مثبت در بیان برخی ژن‌های دخیل در بیوژنز میتوکندری و تعدیل متابولیسم چربی، احتمالاً در بهبود وضعیت NAFLD موثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، مکمل کرم آرد، بیوژنز میتوکندریایی، کبد چرب.

۱. دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۳. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

* آدرس نویسنده مسئول:
گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران؛
پست الکترونیک:
arahimi@kiau.ac.ir

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی^۱ (NAFLD)، یک بیماری متابولیک اکتسابی است که با رسوب تری گلیسیرید در کبد توسط عواملی غیر از مصرف الکل ایجاد می شود. این بیماری با مقاومت به انسولین، دیابت نوع دو، هایپرلیپیدمی، فشار خون بالا و سندرم متابولیک همراه است (۱). شواهد مختلف نشان می دهند که ترکیبی از عوامل مختلف مانند مقاومت به انسولین، ترشح آدیپوکاین ها، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب میتوکندری، استرس شبکه اندوپلاسمی و عوامل دیگر؛ باعث بروز این بیماری می شود (۱).

میتوکندری ها از طریق سازوکارهای مختلف از جمله اختلال عملکرد زیست انرژی، استرس اکسیداتیو و تغییر دینامیک سلول نقش مهمی در توسعه و پیشرفت NAFLD دارند (۲). ناهنجاری های میتوکندری، مانند اختلال در عملکرد زنجیره انتقال الکترون و کاهش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، به تجمع چربی در سلول های کبدی کمک می کند که منجر به تخریب سلولی و پیشرفت استئاتوهپاتیت غیرالکلی^۲ (NASH) می شود (۲). هم فعال کننده گیرنده گاما فعال شده از طریق تکثیر پراکسی زوم - یک آلفا^۳ (PGC-1 α)، یک هم فعال کننده رونویسی است که به عنوان تنظیم کننده اصلی بایونز و عملکرد میتوکندری، از جمله فسفوریلاسیون اکسیداتیو و سم زدایی گونه های اکسیژن فعال، توصیف می شود. PGC-1 α در بافت هایی با نیازهای انرژی بالا (مانند عضلات اسکلتی) به شدت بیان می شود (۳). اختلال در تنظیم PGC-1 α منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری و متابولیسم چربی می شود که به استئاتوز و التهاب متعاقب آن کمک می کند. در همین راستا، برخی از مطالعات نشان می دهد که افزایش فعالیت PGC-1 α می تواند به طور بالقوه پیشرفت NASH را با بهبود انعطاف پذیری متابولیک و کاهش التهاب متوقف کند که نشان دهنده نقش پیچیده PGC-1 α در آسیب شناسی کبد است (۴). فعال شدن PGC-1 α می تواند عوامل دیگری از جمله پروتئین جفت نشده - یک^۴ (UCP-1) را فعال کند که به طور غیرمستقیم در جلوگیری از پیشرفت NAFLD نقش دارد. عامل UCP-1 برای ترمونز ضروری است که به تنظیم

مصرف انرژی کمک می کند و ممکن است از چاقی که یک عامل خطر مهم برای NAFLD است، جلوگیری کند. شواهد موجود نشان می دهند که افزایش بیان UCP-1 با بهبود متابولیسم چربی همراه است و به طور بالقوه پیشرفت NAFLD را کاهش می دهد (۵).

از سوی دیگر، تغییرات در مورفولوژی میتوکندری ها از طریق همجوشی و شکافت^۵، به طور قابل توجهی با توسعه بیماری های مرتبط با سوخت و ساز از جمله NAFLD در ارتباط است (۶). پویایی میتوکندریایی در عملکرد میتوکندری ها و متابولیسم سلولی نقش به سزایی دارد که با فرآیندهای مستمر هم جوشی و شکافت به واسطه چندین گوانوزین تری فسفاتاز^۶ (GTPase) تنظیم می شود. پروتئین های میتوفیوژن^۷ (Mfn) یک و دو، در همجوشی میتوکندری ها دخیل اند و از سوی دیگر، پروتئین - یک وابسته به دینامین^۸ (Drp1) از پروتئین های مرتبط با شکافت میتوکندری ها می باشد (۷). افزایش استرس اکسیداتیو حاصل از NAFLD باعث اختلال عملکرد میتوکندری و آپوپتوز سلول های کبدی می شود. در این راستا، شواهد نشان داده اند که افزایش بیان Drp1 منجر به شکافت بیش از حد میتوکندری و اختلال در عملکرد میتوکندری می شود و در نهایت، به فعال شدن مسیر سلولی آپوپتوز میتوکندری ختم می گردد. از طرفی، همجوشی میتوکندری عمدتاً توسط توسط Mfn1/2 تنظیم می شود که پتانسیل غشای میتوکندری را تثبیت و مسیر آپوپتوز میتوکندری را مسدود می کند (۸).

شواهد موجود نشان می دهند که پیشرفت NAFLD در افراد چاق و غیرچاق، ارتباط نزدیکی با سبک زندگی کم تحرک و رژیم غذایی غیرسالم دارد. نشان داده شده است که فعالیت بدنی، به ویژه ورزش منظم، استئاتوز کبدی را بهبود می بخشد و به عنوان درمان کلی بیماری NAFLD محسوب می شود (۹). ورزش نه تنها می تواند وضعیت التهابی کبد را کاهش دهد، بلکه باعث تقویت بیونز میتوکندری شده و پویایی مورفولوژیکی و سرعت بازسازی را از طریق بیونز و میتوفازی افزایش می دهد (۱۰). در همین راستا، نتایج مطالعه ای در سال ۲۰۲۲ نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط در موش های مدل NA-

1. Non-alcoholic fatty liver disease

co-activator- 1 alpha

6. Guanosine triphosphatase

2. Non-alcoholic steatohepatitis

4. Uncoupling protein-1

7. Mitofusion

3. Peroxisome proliferator-activated receptor

5. Fission & Fusion

8. Dynamin-related protein-1

دیگران (۲۰۲۰) نشان دادند که دریافت عصاره کرم آرد به مدت ۱۰ هفته در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب، توانست تجمع چربی کبدی، وزن بدن، توده چربی، سطوح سرمی گلوکز، نیمرخ چربی خون و شاخص‌های لیپوئنز را به‌طور معنی‌داری کاهش؛ و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در کبد را افزایش دهد (۱۹). در پژوهش دیگری هام^۵ و دیگران (۲۰۲۱) گزارش کردند که جایگزینی عصاره تخمیر شده کرم آرد با سویا در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۲ هفته، منجر به کاهش وزن، توده چربی، محتوای چربی کبدی، استئاتوز کبدی، سطوح گلوکز و مقاومت به انسولین در این نمونه‌ها شد. در این مطالعه نیز اثرات مفید عصاره کرم آرد بر ژن‌های متابولیسم چربی مشاهده شد (۲۰).

در مجموع، با توجه به نقش مکمل پروتئینی کرم آرد در بهبود متابولیسم چربی، مقاومت انسولینی و دفاع ضداکسایشی و از سویی، اثرات فعالیت ورزشی منظم در بهبود کلی همین عوامل، به‌نظر می‌رسد که احتمالاً این دو مداخله در کنار یکدیگر خروجی موثرتری در درمان NAFLD داشته باشند. از آنجا که تاکنون اثرات هم‌افزای این دو مداخله بر شاخص‌های بیوئنز میتوکندری و ظرفیت متابولیسم چربی در بیماری NAFLD کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، هدف این پژوهش بررسی تاثیر همزمان مکمل پروتئینی کرم آرد با تمرین بدنی هوازی بر ژن‌های بیوئنز میتوکندریایی در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD می‌باشد.

روش تحقیق

نمونه‌ها در این پژوهش تجربی و کاربردی، ۲۵ سر موش صحرایی بالغ نر ویستار هشت هفته‌ای با میانگین وزن بدن 270 ± 20 گرم (تهیه شده از مرکز بافت و ژن پاسارگاد) بودند. موش‌ها در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 4 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 کشتار موش‌های صحرایی براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هلسنیکی^۶ (۱۹۶۴) و کمیته اخلاق دانشگاه آزاد

FLD، علاوه بر کاهش وزن بدن، گلوکز، مقاومت انسولینی و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو، توانست بیان ژن‌های PGC-1 α و UCP1 را در عضله نعلی افزایش دهد (۱۱). همچنین، یافته‌های تحقیق مصطفویان (۲۰۲۰) نشان داد که به دنبال هشت هفته تمرین هوازی فزآینده در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های PGC-1 α و UCP1 در بافت چربی احشایی مشاهده شد (۱۲). گونسالوز^۱ و دیگران (۲۰۱۶) نیز نشان دادند که یک دوره تمرین استقامتی هوازی در موش‌های مدل استئاتوز کبدی دارای رژیم غذایی پرچرب، باعث افزایش معنی‌دار بیان PGC-1 α و Mfn1 شد؛ هر چند که این مداخله تمرینی تاثیری بر Drp1 نداشت (۱۳). در مقابل این نتیجه، یافته‌های پژوهش هو^۲ و دیگران (۲۰۲۳) نشان داد که مداخله تمرین هوازی در موش‌های مبتلا به NAFLD از طریق رژیم غذایی پرچرب، با کاهش معنی‌دار فعالیت Drp1 در کبد و بهبود تجمع چربی کبدی و اختلال عملکرد میتوکندری همراه است (۱۴). برخلاف این نتایج، در پژوهش دیگری در سال ۲۰۲۱ گزارش شد که هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط روی نوارگردان، تغییر معنی‌داری بر سطوح کبدی Mfn1 و Drp1 در موش‌های دیابتی نوع دو ایجاد نکرد (۱۵).

امروزه، اصلاح رژیم غذایی و استفاده از برخی مکمل‌های غذایی یکی از مداخلات سبک زندگی در جهت درمان NA-FLD محسوب می‌شود (۱۶). مکمل‌های بر پایه حشرات خوراکی، خواص تحریک کننده ایمنی و ضد سرطانی، ضد دیابتی و ضد اکسایشی قوی از خود نشان داده‌اند (۱۷). یکی از این مکمل‌ها، کرم آرد^۲ است که علاوه بر محتوای پروتئینی بالا، اثر ضد چاقی از طریق فعال‌سازی PGC-1 α نشان می‌دهد. این مطالعه همچنین نشان داد که این مکمل با تاثیری که بر بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی می‌گذارد، می‌تواند به‌طور موثری در کاهش وزن و توده چربی ایفای نقش کند (۱۸). از آنجا که تا به امروز، درمان NAFLD بیشتر از طریق مداخلات در جهت کاهش وزن و چربی بوده است، استفاده از مکمل پروتئینی کرم آرد با خواص ضداکسایشی، احتمالاً فواید مضاعفی در بهبود NAFLD از خود نشان خواهد داد. در همین راستا، لی^۴ و

1. Gonçalves

2. Hu

3. Mealworm

4. Lee

5. Ham

6. Helsinki

اسلامی واحد کرج (با شناسه IR.IAU.K.REC.1403.029) انجام شد.

روش اجرای پژوهش: موش‌های صحرایی پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید، به صورت تصادفی به پنج گروه پنج تایی شامل گروه سالم، بیمار، بیمار+مکمل، بیمار+تمرین، و بیمار+مکمل+تمرین تقسیم شدند. برای ایجاد مدل NAFLD، گروه‌های بیمار با رژیم غذایی پرچرب، کلسترول و اسید کولیک درگیر بیماری شدند؛ و گروه سالم با رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند. با توجه به عناصر تشکیل دهنده غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب مطابق دستورالعمل ۱۲ هفته‌ای وانگ^۱ (۲۰۰۴)، شامل غذای پایه جوندگان (استاندارد) به همراه ۱۵ درصد چربی حیوانی، یک درصد کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۰/۵ درصد اسید کولیک (شرکت سیگما-آمریکا) بود که توسط شرکت بافت و ژن پاسارگاد، روزانه تهیه گردید و به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت (۲۱). برای اطمینان از القای کبد چرب در گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از پایان دوره تغذیه و قبل از شروع مداخلات اصلی پژوهش، نمونه‌های خونی از نوک دم رت‌ها گرفته شد. سپس سطوح گلوکز، نیمرخ چربی (تری گلیسرید^۲، کلسترول تام^۳، لیپوپروتئین با چگالی پایین^۴ و لیپو پروتئین با چگالی بالا^۵) و آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز^۶ و آسپارات آمینوترانسفراز^۷ که به عنوان شاخص‌های مهم در تشخیص کبد چرب محسوب می‌شوند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. افزایش سطح این شاخص‌ها، تاییدی بر ابتلای رت‌ها به کبد چرب بود. هم‌چنین وزن موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از ۱۲ هفته مدل‌سازی،

به میانگین 420 ± 30 گرم رسید.

نحوه اجرای تمرین هوازی: موش‌ها در گروه‌های تمرین هوازی، پس از دو هفته و سه جلسه در هفته آشناسازی با پروتکل تمرین هوازی تناوبی دویدن روی نوارگردان، برنامه تمرین هوازی را مطابق با پروتکل لی^۱ و دیگران (۲۰۲۲) به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته اجرا نمودند (۲۲) (جدول یک).

نحوه مکمل دهی: موش‌ها در گروه بیمار + مکمل و گروه بیمار + مکمل + تمرین، مکمل پروتئینی کرم آرد را به میزان ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته مشابه با روزهای تمرینی، در ساعات صبح به صورت گاوژ دریافت نمودند (۲۳). ارزش غذایی در هر ۱۰۰ گرم کرم آرد خشک به شرح زیر بود: رطوبت پنج درصد، پروتئین ۵۰ درصد، چربی ۲۸ درصد، فیبر شش درصد، کربوهیدرات ۱/۷۳ درصد، آهن ۲/۰۶ درصد و انرژی ۵۱۵/۶ کیلوکالری (۲۴).

روش‌های تعیین متغیرهای وابسته: به‌منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاوژ مکمل، بافت‌برداری از عضله نعلی در هر گروه انجام شد. حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی‌گرم کتامین به زایلازین به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند و برداشت بافت عضله نعلی بلافاصله انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد فریز گردید. بیان ژن‌های PGC1 α ، UCP1، Mfn1 و Drp1 با روش Real-Time PCR (سیستم‌های زیستی کاربردی، دستگاه‌های تشخیص توالی پرایمرها^۱) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA

جدول ۱. جزئیات پروتکل تمرین هوازی در گروه‌های تمرینی

سرعت تمرین متر/دقیقه	شدت تمرین VO2max	تعداد ست‌های تمرین	استراحت	مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن	مجموع بدنه اصلی تمرین	هفته
۱۰	۵۰ درصد	۱۰ ست یک دقیقه ای	۲ دقیقه (با سرعت ۵ متر در دقیقه) در ست	۱۰ دقیقه (با سرعت ۵ متر در دقیقه)	۳۰ دقیقه	اول
۱۲	۶۰ درصد					دوم
۱۴	۷۰ درصد					سوم
۱۶	۸۰ درصد					چهارم تا هشتم

1. Wang

2. Sigma

3. Triglyceride

4. Total cholesterol

5. Low-density lipoprotein

6. High-density lipoprotein

7. Alanine Aminotransferase

8. Aspartate Transaminase

9. Li

10. Applied Biosystems

برای بررسی تاثیر تعاملی مکمل پروتئینی کرم آرد با تمرین بدنی هوازی بر ژن‌های *PGC1α*، *UCP1*، *Mfn1* و *Drp1* از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی توکی^۵ استفاده گردید.

یافته‌ها

اطلاعات توصیفی ژن‌های مورد مطالعه در پژوهش در جدول دو گزارش شده است. نتایج آزمون *t* مستقل نشان داد که بیان ژن‌های *PGC1α*، *UCP1* و *Mfn1* در گروه بیمار، در مقایسه با گروه سالم، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. در حالی‌که، بیان *Drp1* به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (جدول سه). طبق نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی، یک دوره تمرین هوازی و مصرف مکمل کرم آرد هر کدام به تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های *PGC1α*، *UCP1* و *Mfn1* و کاهش معنی‌دار بیان ژن *DRP1*، در بافت عضله سولئوس رت‌های مبتلاء به کبد چرب شدند. همچنین، یک دوره تمرین هوازی به همراه مکمل پروتئینی کرم آرد نسبت به تمرین یا مکمل به تنهایی، بر بیان ژن *Mfn1*، در بافت عضله سولئوس رت‌های مبتلاء به کبد چرب تاثیر معنی‌داری داشت، اما بر بیان

با استفاده از کیت RNX-Plus انجام شد و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن، از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده گردید. ابتدا توالی mRNA ی مربوط به ژن‌های *PGC1α*، *UCP1*، *Mfn1* و *Drp1* با استفاده از سایت مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری^۱ (NCBI) استخراج شد. پرایمرها توسط نرم افزار تخصصی طراحی پرایمر AlleleID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST^۲ (ابزار پایه‌ی تطابق محلی توالی‌ها) جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق از ژن گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز^۳ (GAPDH) به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

روش‌های 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 به‌صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردیدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک^۴ مورد بررسی قرار گرفت؛ سپس جهت تعیین تفاوت بین گروهی (کنترل سالم با کنترل بیمار) و بررسی پیش فرض، از آزمون آماری *t* مستقل استفاده شد. در ادامه،

جدول ۲. توصیف بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه پس از اجرای پژوهش

گروه‌ها	UCP-1 میانگین±انحراف استاندارد	PGC-1α میانگین±انحراف استاندارد	MFN-1 میانگین±انحراف استاندارد	DRP-1 میانگین±انحراف استاندارد
سالم	۱۲±۱/۱۴	۲۶/۱۳±۲/۶۷	۷/۶۳±۱/۵۲	۰/۲۸±۰/۰۱
بیمار	۰/۹۹±۰/۰۱	۱/۱۶±۰/۰۷	۰/۹۶±۰/۰۳	۰/۹۸±۰/۰۵
بیمار + تمرین	۶/۶۸±۰/۹۴	۱۵/۴۸±۲/۸۲	۵/۲۰±۰/۴۲	۰/۶۲±۰/۱۰
بیمار + مکمل	۸/۹۹±۱/۴۳	۱۴/۸۸±۳/۶۰	۴/۵۶±۰/۰۸	۰/۶۱±۰/۰۷
بیمار + مکمل + تمرین	۱۴/۰۳±۱/۵۳	۲۶/۵۸±۴/۱۱	۷/۱۷±۰/۴۶	۰/۲۵±۰/۰۶

جدول ۳. نتایج آزمون *t* مستقل در مورد مقایسه بیان ژن‌های *PGC1α*، *UCP1*، *Mfn1* و *Drp1* در دو گروه کنترل سالم و بیمار

متغیرها	درجه آزادی	<i>t</i>	<i>p</i>
بیان نسبی UCP-1	۸	۲۱/۴۱	۰/۰۰۰۱*
بیان نسبی PGC-1α	۸	۲۰/۸۳	۰/۰۰۰۱*
بیان نسبی MFN-1	۸	۹/۷۹	۰/۰۰۰۱*
بیان نسبی DRP-1	۸	-۲۴/۹۴	۰/۰۰۰۱*

* نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه سالم در سطح $p \leq 0/05$.

1. National center for biotechnology information

2. Basic local alignment search tool

3. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

4. Shapiro-Wilk

5. Tukey

کردند، تفاوت معنی‌داری وجود دارد؛ به گونه‌ای که بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ و $Mfn1$ در سطح دریافت تمرین + مکمل در مقایسه با سطح تمرین + بدون مکمل، بالاتر بود و بیان نسبی ژن $DRP1$ در همین نوع مقایسه بین سطحی، پایین‌تر قرار داشت (جدول پنج). در نهایت، نتایج این آزمون نشان داد که بین میانگین بیان نسبی ژن‌ها در نمونه‌هایی که مداخله همزمان تمرین هوازی و مکمل کرم آرد دریافت نمودند، در قیاس با نمونه‌هایی که مداخله مکمل کرم آرد تنها بدون تمرین را دریافت کردند، تفاوت معنی‌داری دارد، به گونه‌ای که بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ و $Mfn1$ در سطح دریافت مکمل + تمرین در مقایسه با سطح مکمل + بدون تمرین، بالاتر بود و بیان نسبی ژن $DRP1$ در همین نوع مقایسه، در سطحی پایین‌تر قرار داشت (جدول پنج).

بحث

طبق یافته‌های پژوهش حاضر، ابتلا به NAFLD در موش‌ها باعث کاهش بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ ، $Mfn1$ و افزایش بیان $DRP1$ در عضله نعلی می‌شود. این نتایج، در

ژن‌های $UCP-1$ ، $PGC1\alpha$ ، $DRP1$ ، در بافت عضله سولئوس رت‌های مبتلاء به کبد چرب تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول چهار).

همچنین نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در مقایسه تفاوت‌های بین سطحی در بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ ، $Mfn1$ و $DRP1$ در بافت عضله سولئوس رت‌های مبتلاء به کبد چرب نشان داد که بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ و $Mfn1$ در سطح دریافت تمرین در مقایسه با سطح بدون تمرین، بالاتر است و بیان نسبی ژن $DRP1$ در همین نوع مقایسه بین سطحی، پایین‌تر بود (جدول پنج). به علاوه، نتایج این آزمون نشان داد که بیان نسبی ژن‌های $PGC1\alpha$ ، $UCP1$ و $Mfn1$ در سطح دریافت مکمل در مقایسه با سطح بدون مکمل، بالاتر است و بیان نسبی ژن $DRP1$ در همین نوع مقایسه بین سطحی، پایین‌تر بود (جدول پنج). همچنین این آزمون نشان داد که بین میانگین بیان نسبی ژن‌ها در نمونه‌هایی که مداخله همزمان تمرین هوازی و مکمل کرم آرد دریافت نمودند، در قیاس با نمونه‌هایی که مداخله تمرین تنها بدون مکمل را دریافت

جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس دو عاملی در خصوص تغییرات بیان نسبی ژن‌ها در عامل‌های مورد مطالعه

متغیرها	عامل‌ها	میانگین مربعات	درجه آزادی	F	p	ضریب آتاء
بیان نسبی $PGC-1\alpha$	تمرین	۸۴۶/۳۶	۱	۸۷/۶۵	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۴
	مکمل	۷۷۰/۶۵	۱	۷۹/۸۱	۰/۰۰۰۱**	۰/۸۳
	مکمل + تمرین	۸/۵۳	۱	۰/۸۸	۰/۳۶۱	۰/۰۵
بیان نسبی $UCP-1$	تمرین	۱۴۳/۶۴	۱	۱۰۸/۱۹	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۷
	مکمل	۲۹۴/۴۶	۱	۲۲۱/۸۰	۰/۰۰۰۱**	۰/۹۳
	مکمل + تمرین	۰/۵۲	۱	۰/۳۹	۰/۵۳۷	۰/۰۲
بیان نسبی $MFN-1$	تمرین	۵۸/۵۲	۱	۵۶۴/۶۸	۰/۰۰۰۱*	۰/۹۷
	مکمل	۳۸/۸۳	۱	۳۷۴/۶۳	۰/۰۰۰۱**	۰/۹۵
	مکمل + تمرین	۳/۳۲	۱	۳۲/۰۵	۰/۰۰۰۱***	۰/۶۶
بیان نسبی $DRP-1$	تمرین	۰/۶۶	۱	۱۰۴/۲۰	۰/۰۰۰۱*	۰/۸۶
	مکمل	۰/۶۹	۱	۱۰۹/۰۰	۰/۰۰۰۱**	۰/۸۷
	مکمل + تمرین	۰/۰۰۱	۱	۰/۰۲	۰/۸۸۱	۰/۰۰

* نشانه اثر معنی‌دار تمرین هوازی بر بیان ژن‌ها در سطح $p < 0.05$; ** نشانه اثر معنی‌دار مکمل بر بیان ژن‌ها در سطح $p < 0.05$; *** نشانه اثر معنی‌دار تعاملی تمرین هوازی و مکمل بر بیان ژن‌ها در سطح $p < 0.05$.

جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در خصوص مقایسه بین سطحی بیان نسبی ژن‌ها

p	خطای استاندارد	اختلاف میانگین‌ها (MD)	مقایسه بین دو سطح		متغیرها
			بدون تمرین	تمرین	
۰/۰۰۰۱*	۱/۳۹	۱۳/۰۱	بدون تمرین	تمرین هوازی	بیان نسبی PGC-1 α
۰/۰۰۰۱*	۱/۳۹	۱۲/۴۱	بدون مکمل	مکمل کرم آرد	
۰/۰۰۰۱*	۱/۹۶	۱۱/۱۰	تمرین + بدون مکمل	تمرین + مکمل	
۰/۰۰۰۱*	۱/۹۶	۱۱/۷۰	مکمل + بدون تمرین	مکمل + تمرین	
۰/۰۰۰۱*	۰/۵۱	۵/۳۶	بدون تمرین	تمرین هوازی	بیان نسبی UCP-1
۰/۰۰۰۱*	۰/۵۱	۷/۶۷	بدون مکمل	مکمل کرم آرد	
۰/۰۰۰۱*	۰/۷۳	۷/۳۴	تمرین + بدون مکمل	تمرین + مکمل	
۰/۰۰۰۱*	۰/۷۳	۵/۰۳	مکمل + بدون تمرین	مکمل + تمرین	
۰/۰۰۰۱*	۰/۱۴	۳/۴۲	بدون تمرین	تمرین هوازی	بیان نسبی MFN-1
۰/۰۰۰۱*	۰/۱۴	۲/۷۸	بدون مکمل	مکمل کرم آرد	
۰/۰۰۰۱*	۰/۲۰	۱/۹۷	تمرین + بدون مکمل	تمرین + مکمل	
۰/۰۰۰۱*	۰/۲۰	۲/۶۰	مکمل + بدون تمرین	مکمل + تمرین	
۰/۰۰۰۱*	۰/۰۳	-۰/۳۶	بدون تمرین	تمرین هوازی	بیان نسبی DRP-1
۰/۰۰۰۱*	۰/۰۳	-۰/۳۷	بدون مکمل	مکمل کرم آرد	
۰/۰۰۰۱*	۰/۰۵	-۰/۳۸	تمرین + بدون مکمل	تمرین + مکمل	
۰/۰۰۰۱*	۰/۰۵	-۰/۳۷	مکمل + بدون تمرین	مکمل + تمرین	

* نشانه اختلاف معنی‌دار بین سطحی بر بیان نسبی ژن‌ها در سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$.

مطالعات گذشته نیز مورد تایید قرار گرفته است (۱۴-۱۱). مطالعات موجود نشان می‌دهند که اختلال در تنظیم PGC-1 α به دنبال ابتلا به NAFLD، منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری و متابولیسم چربی می‌شود و به استئاتوز کبدی کمک می‌کند (۴). با توجه به این که PGC-1 α به عنوان یکی از تنظیم کننده‌های محوری در بیان UCP1 در نظر گرفته شده است، به نظر می‌رسد کاهش بیان UCP1 با اختلال در متابولیسم چربی همراه است و سبب پیشرفت NAFLD را تحریک می‌کند (۵). تغییرات مورفولوژیکی در میتوکندری در بیماران مبتلا به NAFLD مشاهده شده است. سطوح بالای Drp1 که با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است، به شکافت بیش از حد میتوکندری و اختلال در عملکرد آن کمک می‌کند و در نهایت، باعث ایجاد مسیر آپوپتوز میتوکندری می‌شود. در حالی که، Mfn1 که ارتباط معکوسی با سطوح استرس اکسیداتیو دارد، نقش کلیدی در تنظیم همجوشی میتوکندری، حفظ پتانسیل غشای و مهار مسیر آپوپتوز میتوکندری ایفا می‌کند (۷).

نتایج اصلی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که یک دوره تمرین هوازی و دریافت مکمل عصاره کرم آرد هر کدام به‌طور جداگانه، منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های PGC-1 α ، UCP1 و Mfn1 و همچنین کاهش معنی‌دار بیان Drp1 در عضله نعلی موش‌های مبتلا به NAFLD می‌شود. با این حال، تعامل تمرین و مکمل اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های PGC-1 α ، UCP1 و Drp1 نداشت و فقط اثر تعاملی

تمرین و مکمل در افزایش Mfn1 معنی‌دار بود. همسو با این نتایج، یافته‌های پژوهش ایوانگلیستا^۱ و دیگران (۲۰۲۲) نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط در موش‌های مدل NAFLD، علاوه بر کاهش وزن بدن، گلوکز، مقاومت انسولینی و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو، توانست بیان ژن‌های PGC-1 α و UCP1 را در عضله نعلی افزایش دهد (۱۱). همچنین یافته‌های پژوهش اخیر هو^۲ و دیگران (۲۰۲۳) نشان داد که مداخله تمرین هوازی در موش‌های مبتلا به NAFLD از طریق رژیم غذایی پرچرب، با کاهش معنی‌دار فعالیت Drp1 در کبد و بهبود تجمع چربی کبدی و اختلال عملکرد میتوکندری همراه است (۱۴). از سوی دیگر، کالداس^۳ و دیگران (۲۰۲۳) نشان دادند که یک دوره چهار هفته‌ای مکمل یاری با عصاره تخمیر شده کرم آرد در موش‌های چاق شده از طریق رژیم غذایی پرچرب، توانست علاوه بر کاهش معنی‌دار وزن، توده چربی و ژن‌های لیپوژنیک در بافت آدیپوز، بیان PGC-1 α را به‌صورت افزایشی تنظیم کند (۱۸). تأثیر مکمل پروتئینی کرم آرد بر سطوح UCP1 در بیماری NAFLD و چاقی توسط مطالعات مختلف پشتیبانی می‌شود که مزایای بالقوه آن را برجسته می‌کند. رژیم‌های غذایی بر پایه کرم آرد، به‌ویژه آن‌هایی که حاوی عصاره‌ها و روغن‌های تخمیری هستند، نتایج امیدوارکننده‌ای را در تعدیل مسیرهای متابولیک مرتبط با استئاتوز کبدی و چاقی نشان داده‌اند که با تنظیم بیان UCP1 در ارتباط است. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۳، گنجاندن کرم آرد در رژیم‌های غذایی پرچرب منجر به کاهش چربی و بهبود پارامترهای متابولیک شد و با افزایش سطح PGC-1 α همراه بود (۲۵)؛ از آنجا که PGC-1 α نقش محوری در تنظیم بیان UCP1 دارد، احتمالاً دریافت عصاره این ماده پروتئینی در تغییرات سطوح UCP1 نیز نقش داشته باشد. در حالی که این یافته‌ها نشان می‌دهد که مکمل پروتئینی کرم آرد می‌تواند بر سطح UCP1 و سلامت متابولیک تأثیر بگذارد، تحقیقات بیشتری برای روشن شدن کامل مکانیسم‌های درگیر و پیامدهای آن‌ها برای سلامت انسان مورد نیاز است. سازوکار اصلی تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییر بیان ژن‌های مورد مطالعه در بیماری NAFLD، به این موضوع برمی‌گردد که تمرین هوازی به‌طور قابل توجهی بر مکانیسم‌های

درون سلولی به‌ویژه از طریق فعال شدن PGC-1 α که تنظیم کننده کلیدی بیوژنز میتوکندری و سازگاری متابولیک است، تأثیر می‌گذارد. فعالیت ورزشی می‌تواند بیان PGC-1 α را افزایش دهد و از این طریق، عملکرد میتوکندری را بهبود می‌بخشد و منجر به کاهش استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز در کبد می‌شود (۲۶). شواهد علمی نشان می‌دهند که تمرینات هوازی تناوبی، با کاهش ذخایر آدنوزین تری فسفات^۴ (ATP) عضلانی و افزایش آدنوزین مونو فسفات^۵ (AMP) همراه هستند و تغییر در این متابولیت‌ها، می‌تواند پیام‌رسانی پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونو فسفات^۶ (AMPK) را فعال کند (۲۷، ۲۸). از طرفی، با افزایش مدت زمان تمرینات هوازی تناوبی و تخلیه ذخایر گلیکوژن که خود به‌عنوان محرک جداگانه برای فعال شدن AMPK عمل می‌کند، مسیر پیام‌رسانی p38 پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن^۷ (MAPK) نیز می‌تواند فعال شود (۲۷). فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی AMPK و p38 MAPK در نهایت، منجر به فسفوریلاسیون و افزایش بیان PGC-1 α در هسته می‌شود. فعال شدن و بیان PGC-1 α در هسته به‌عنوان محرک کلیدی در بیان UCP1 عمل می‌کند (۲۸-۲۷). سازوکار احتمالی دیگر در تنظیم بیان PGC-1 α در ورزش، رهایش هیپاتوکاین‌ها از جمله عامل رشد فیبروبلاست-۲۱^۸ (FGF21) در پاسخ به تمرینات ورزشی هوازی است که در مدل‌های چاقی، دیابت و NAFLD نیز گزارش شده است. شواهد حاکی از آن است که تجویز FGF21 باعث بهبود نیمرخ متابولیک و کاهش سطح تری‌گلیسیرید کبدی در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب و نمونه‌های دیابتی می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که مهار ژن FGF21 در موش‌های بی‌تحرک، محتوای هسته‌ای PGC-1 α را ۳۰ تا ۵۰ درصد کاهش می‌دهد (۲۹). علاوه بر این، رابطه بین PGC-1 α و Mfn1 در پاسخ به تمرین ورزشی قابل توجه است، زیرا PGC-1 α نقش مهمی در پویایی و عملکرد میتوکندری ایفا می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که فعال‌سازی PGC-1 α سطوح Mfn1 را افزایش می‌دهد که برای همجوشی میتوکندری ضروری است و در نتیجه، سلامت میتوکندری را در طول تمرین و پس از آن بهبود می‌بخشد (۳۰). از سوی دیگر، نشان داده شده است که

1. Evangelista
2. Hu
3. Caldas

4. Adenosine tri-phosphate
5. Adenosine mono-phosphate
6. AMP-activated protein kinase

7. Mitogen-activated protein kinase
8. Fibroblast growth factor 21

و پروتئین کینازهای فعال شده با میتوزن^۱ (MAPKs)، باعث مهار چربی‌زایی در سلول‌های چربی شود (۳۴). در همین راستا، گزارش شده است که دریافت عصاره اتانولی کرم آرد به‌طور موثر استئاتوز کبدی و همچنین سطوح آنزیم‌های آسپارات ترانس آمیناز و آلانین ترانس آمیناز (شاخص‌های آسیب کبدی) را در موش‌هایی که از رژیم غذایی پرچرب تغذیه می‌کردند، کاهش می‌دهد (۳۴). علاوه بر این، مصرف کرم آرد برای بررسی اثرات آن بر استرس اکسیداتیو و مسیرهای ضد اکسایشی در مدل‌های حیوانی مورد مطالعه قرار گرفته است. در حالی که اثرات خاص بر PGC1 α به‌طور دقیق روشن نشده است، دخالت مسیرهای سیگنالینگ حساس به استرس اکسیداتیو اثرات غیرمستقیم بالقوه بر عملکرد میتوکندری و متابولیسم انرژی را نشان می‌دهد (۳۵).

از آنجا که مداخله همزمان تمرین هوازی تناوبی و مصرف عصاره‌ی کرم آرد تأثیر آماری معنی‌داری بر بیان نسبی ژن PGC1 α در موش‌های مبتلا به NAFLD نشان نداد، می‌توان چنین استنباط کرد که مسیرهای سلولی خاصی مانع از بروز اثر تعاملی این دو مداخله می‌شوند. به نظر می‌رسد مسیرهای اصلی تحت تأثیر عصاره کرم آرد شامل مسیرهای سیگنالینگ AMPK و MAPK باشد که در فرآیند چربی‌زایی و تنظیم متابولیسم اسیدهای چرب نقش اساسی دارند (۳۴). با این حال، این مسیرها ممکن است تأثیر بیشتری بر بیان PGC1 α در مقایسه با محرک ورزش مخصوصاً در بافت عضله نداشته باشند، به‌ویژه هنگامی که با ورزش هوازی ترکیب می‌شود که خود یک فعال کننده قوی PGC1 α از طریق مکانیسم‌های مختلف، مانند پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/کالمودولین^۲ (CaMK) و مسیرهای MAPK p38 است (۲۸). بنابراین، فقدان اثر تعاملی ورزش هوازی و کرم آرد بر PGC1 α عضلانی می‌تواند به دلیل تأثیر غالب مسیرهای ناشی از ورزش بر مسیرهایی باشد که توسط عصاره کرم آرد تعدیل شده‌اند؛ و یا یک اثر سقف بالقوه که در آن ورزش به‌تنهایی بیان PGC1 α را به حداکثر می‌رساند. از سوی دیگر، از آن جایی که کرم آرد سرشار از پروتئین است، مطالعات زیادی مطرح کرده‌اند که استفاده از این لارو، جایگزین خوبی برای پروتئین‌های

در کاردیومیوسیت‌ها، فعال‌سازی PGC-1 α می‌تواند شکافت میتوکندری با واسطه Drp1 را مهار کند، بنابراین در برابر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلولی محافظت می‌شود (۳۱). در واقع، بیان افزایش یافته PGC-1 α در طول تمرین ورزشی منجر به پویایی بهتر میتوکندری، کاهش فعالیت Drp1 و ترویج همجوشی میتوکندری به وسیله تحریک بیان Mfn1 می‌شود (۳۲).

اثرات مثبت دریافت عصاره کرم آرد در تحریک بایونز و پویایی میتوکندری، بهبود متابولیسم چربی و بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو در تحقیقات مختلف مطرح شده است. سازوکار احتمالی این اثرات مفید احتمالاً به فعال‌سازی PGC-1 α توسط مداخلات رژیم‌های غذایی بر پایه کرم آرد و یا مکمل‌یاری با عصاره کرم آرد مربوط می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که کرم آرد، به‌ویژه به شکل آرد سبوس‌دار و تخمیری، به‌طور مثبت بر سطوح PGC1 α در مدل‌های چاقی و بیماری NAFLD تأثیر می‌گذارد (۱۸). عصاره تخمیری کرم آرد همچنین اثرات محافظتی در برابر استئاتوز کبدی نشان داده که نشان دهنده مکانیسم بالقوه برای بهبود سلامت متابولیک از طریق تعدیل PGC1 α و مسیرهای مرتبط با آن است (۲۰). همچنین، گنجاندن کرم آرد در رژیم‌های غذایی پرچرب منجر به کاهش چربی و بهبود پارامترهای متابولیک شد که با افزایش سطح PGC1 α همراه است (۲۵). گزارش شده است که رژیم‌های غذایی مبتنی بر کرم آرد، بیان پروتئین‌های مختلف دخیل در متابولیسم چربی را به‌طور مثبت تغییر داده و نقش PGC1 α را در این فرآیندها حمایت می‌کنند. در حالی که، یافته‌ها امیدوارکننده هستند، تحقیقات بیشتری برای روشن شدن کامل مکانیسم‌هایی لازم است که توسط آن مکمل پروتئینی کرم آرد بر PGC1 α و پیامدهای آن بر سلامت انسان، به‌ویژه در زمینه مداخلات غذایی برای چاقی و NAFLD تأثیر می‌گذارد (۳۳). همچنین، مصرف مکمل پروتئینی کرم آرد یا کرم‌های خوراکی می‌تواند بر مکانیسم‌های سلولی و مسیرهای سیگنالی مرتبط با PGC1 α ، عمدتاً از طریق تأثیر بر چربی‌زایی و متابولیسم لیپیدها تأثیر بگذارد. مطالعات نشان داده‌اند که عصاره پروتئینی کرم آرد می‌تواند با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ AMPK

1. Mitogen-activated protein kinases

2. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase

ناشی از شوک دستگاه نوارگردان اشاره کرد. نتیجه گیری: با توجه به این که تمرین هوازی و مکمل پروتئینی کرم آرد هر کدام به طور جداگانه منجر به افزایش بیان نسبی ژن های PGC-1 α ، UCP1 و Mfn1 و همچنین کاهش معنی دار بیان Drp1 در در عضله موش های مبتلا به NAFLD شد، به نظر می رسد تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و دریافت عصاره کرم آرد هر کدام به تنهایی با ایجاد تغییرات مثبت بر بیان برخی ژن های مهم دخیل در بیوژنز میتوکندری و تعدیل متابولیسم چربی، احتمالاً در درمان NAFLD موثر واقع شود. انجام مطالعات بیشتری با توجه به محدود بودن تحقیقات در زمینه اثر تعاملی تمرینات ورزشی و دریافت کرم آرد بر ظرفیت میتوکندریایی و متابولیسم چربی و نقش اساسی آن ها در درمان NAFLD، ضروری به نظر می رسد. لذا پیشنهاد می شود مطالعه ای مشابه روی نمونه های مبتلا به چاقی و یا دیابت نوع دو که با NAFLD در ارتباط هستند، در آینده اجرا شود.

تعارض منافع

تداخل در منافع وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله بر اساس پایان نامه دکتری تخصصی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج ثبت شده است، می باشد. هزینه های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسنده همچنین از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج به دلیل همکاری صمیمانه تشکر می کند.

دیگر در تحریک سنتز پروتئین می باشد (۳۶). هرمانز^۱ و دیگران (۲۰۲۱) نشان دادند که مصرف مقدار کمتری پروتئین مشتق شده از کرم آرد مانند وعده غذایی، نرخ سنتز پروتئین عضلانی را هم در حالت استراحت و هم در طول ریکاوری پس از ورزش افزایش می دهد (۳۷). با توجه به این یافته ها، می توان دریافت که ترکیبات زیست فعال خاص و آمینواسیدهای ضروری موجود در کرم های آرد، احتمالاً منجر به ایجاد تداخل هایی در فعال سازی مسیره های AMPK و PGC1 α شود. در واقع، لوسین و اسیدهای آمینه موجود در این مکمل پروتئینی، از طریق تحریک حسگرهای آمینو اسیدی Rag در سلول های عضلانی، نقش یک محرک قوی در فسفوریلاسیون و فعال سازی کمپلکس ۱-هدف راپامایسین پستانداران^۲ (mTORC1) را بازی می کند (۳۸). شواهد علمی زیربنایی نشان می دهند که mTORC1 که به عنوان اصلی ترین پیام رسان در سنتز پروتئین مطرح شده است، می تواند به طور بالقوه ای مسیر سیگنالینگ AMPK را مهار کند (۳۹). در نتیجه، به نظر می رسد که احتمالاً آمینواسیدهای ضروری موجود در کرم آرد سرشار از پروتئین، برخلاف تمرین هوازی که محرکی قوی در پیام رسانی AMPK/PGC1 α است، این محور پیام رسانی را تا حدی مختل نماید.

از آنجا که این پژوهش به صورت آزمایشگاهی انجام شد، محدودیت خاصی در اجرای پژوهش وجود نداشت؛ با این حال، از جمله محدودیت های احتمالی این پژوهش می توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی استرس

منابع

1. Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. *Bio Med Central Medicine*. 2017;15:1-6. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0806-8>
2. Di Ciaula A, Passarella S, Shanmugam H, Noviello M, Bonfrate L, Wang DQ, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Mitochondria as players and targets of therapies? *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(10):5375. <https://doi.org/10.3390/ijms22105375>
3. Kang C, Ji LL. Role of PGC-1 α in muscle function and aging. *Journal of Sport and Health Science*. 2013;2(2):81-6. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2013.03.005>
4. Léveillé M, Besse-Patin A, Juvet N, Gunes A, Sczelecki S, Jeromson S, Khan NP, Baldwin C, Dumouchel A, Correia JC, Jannig PR. PGC-1 α isoforms coordinate to balance hepatic metabolism and apoptosis in inflammatory environments. *Molecular Metabolism*. 2020;34:72-84. <https://doi.org/10.1101/703678>

5. Mills EL, Harmon C, Jedrychowski MP, Xiao H, Garrity R, Tran NV, Bradshaw GA, Fu A, Szpyt J, Reddy A, Prendeville H. UCP1 governs liver extracellular succinate and inflammatory pathogenesis. *Nature Metabolism*. 2021;3(5):604-17. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00389-5>
6. Galloway CA, Yoon Y. Mitochondrial morphology in metabolic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013;19(4):415-30. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4779>
7. Archer SL. Mitochondrial dynamics—mitochondrial fission and fusion in human diseases. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(23):2236-51. <https://doi.org/10.1056/nejmra1215233>
8. Li R, Toan S, Zhou H. Role of mitochondrial quality control in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(7):6467. <https://doi.org/10.18632/aging.102972>
9. Orci LA, Gariani K, Oldani G, Delaune V, Morel P, Toso C. Exercise-based interventions for nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis and meta-regression. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2016;14(10):1398-411. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.04.036>
10. Cho J, Johnson BD, Watt KD, Niven AS, Yeo D, Kim CH. Exercise training attenuates pulmonary inflammation and mitochondrial dysfunction in a mouse model of high-fat high-carbohydrate-induced NAFLD. *Bio Med Central Medicine*. 2022;20(1):429. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02629-1>
11. Evangelista FS, Ferreira MM, Fortunato-Lima VC, Correa SM, Vecchiato B, Martucci LF, et al. Metabolic cooperation between adipose tissue and skeletal muscle mediates the prevention of NAFLD through aerobic physical exercise. *The FASEB Journal*. 2022;36. <https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.s1.r3228>
12. Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. Effect of eight weeks of aerobic progressive training with capsaicin on changes in PGC-1 α and UPC-1 expression in visceral adipose tissue of obese rats with diet. *Complementary Medicine Journal*. 2020;10(2):106-17. <https://doi.org/10.32598/cmja.10.2.627.4>
13. Gonçalves IO, Passos E, Diogo CV, Rocha-Rodrigues S, Santos-Alves E, Oliveira PJ, et al. Exercise mitigates mitochondrial permeability transition pore and quality control mechanisms alterations in nonalcoholic steatohepatitis. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2016;41(3):298-306. <https://doi.org/10.1139/apnm-2015-0470>
14. Hu Z, Zhang H, Wang Y, Li B, Liu K, Ran J, Li L. Exercise activates Sirt1-mediated Drp1 acetylation and inhibits hepatocyte apoptosis to improve nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids in Health and Disease*. 2023;22(1):33. <https://doi.org/10.1186/s12944-023-01798-z>
15. Rasht I. The interaction effect of aerobic exercise and atorvastatin consumption on the expression level of MFN1/2 and DRP1 in hepatocytes of the rat liver with type 2 diabetes. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2022;21(4):388-401. [In Persian]. <https://doi.org/10.52547/jarums.21.4.388>
16. Akyüz F, Demir K, Özdil S, Aksoy N, Poturoglu S, Ibrişim D, Kaymakoglu S, Besisik F, Boztas G, Çakaloglu Y, Mungan Z. The effects of rosiglitazone, metformin, and diet with exercise in nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases and Sciences*. 2007;52:2359-67. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9145-x>
17. Gu J, Liang H, Ge X, Xia D, Pan L, Mi H, Ren M. A study of the potential effect of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*)

- substitution for fish meal on growth, immune and antioxidant capacity in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish & Shellfish Immunology*. 2022;120:214-21. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.11.024>
18. Caldas B.V, Guimarães V.H.D, Ribeiro G.H.M, dos Santos T.A.X, Nobre D.A, de Castro, R.J.S, et al. Effect of dietary supplementation with *Tenebrio molitor* wholemeal and fermented flour modulating adipose lipogenesis gene expression in obese mice. *Journal of Insects as Food and Feed*. 2023;9(5):625-636. <https://doi.org/10.3920/jiff2022.0070>
19. Lee JY, Im AR, Shim KS, Ji KY, Kim KM, Kim YH, Chae S. Beneficial effects of insect extracts on nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Medicinal Food*. 2020;23(7):760-71. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.4536>
20. Ham JR, Choi RY, Lee Y, Lee MK. Effects of edible insect *Tenebrio molitor* larva fermentation extract as a substitute protein on hepatosteatogenesis and proteomic changes in obese mice induced by high-fat diet. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3615. <https://doi.org/10.3390/ijms22073615>
21. Wang DQ, Schmitz F, Kopin AS, Carey MC. Targeted disruption of the murine cholecystokinin-1 receptor promotes intestinal cholesterol absorption and susceptibility to cholesterol cholelithiasis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004;114(4):521-8. <https://doi.org/10.1172/jci200416801>
22. Li J, Huang L, Xiong W, Qian Y, Song M. Aerobic exercise improves non-alcoholic fatty liver disease by down-regulating the protein expression of the CNPY2-PERK pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2022;603:35-40. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.03.008>
23. Kim SY, Park JE, Han JS. *Tenebrio molitor* (mealworm) extract improves insulin sensitivity and alleviates hyperglycemia in C57BL/Ksj-db/db mice. *Journal of Life Science*. 2019;29(5):570-9. <https://doi.org/10.1007/s13596-024-00813-7>
24. Payne CL, Scarborough P, Rayner M, Nonaka K. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science & Technology*. 2016;47:69-77. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.012>
25. Kang Y, Applegate CC, He F, Oba PM, Vieson MD, Sánchez-Sánchez L, Swanson KS. Yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) proteins slowed weight gain and improved metabolism of diet-induced obesity mice. *The Journal of Nutrition*. 2023;153(8):2237-48. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.06.014>
26. Popov DV, Lysenko EA, Miller TF, Bachinin AV, Perfilov DV, Vinogradova OL. The effect of single aerobic exercise on the regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscles of trained men: A time-course study. *Human Physiology*. 2015;41:296-303. <https://doi.org/10.1134/s0362119715030123>
27. Kianmehr P, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Synergic effects of exercise training and octopamine on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1a and uncoupling protein 1 mRNA in heart tissue of rat treated with deep frying oil. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2020;22:100735. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100735>
28. Mj G. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1alpha in human skeletal muscle. *Journal Appl Physiology*. 2009;106:929-34. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.90880.2008>

29. Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Egucih Y, Anzai K. Therapeutic approaches to nonalcoholic fatty liver disease: exercise intervention and related mechanisms. *Frontiers in Endocrinology*. 2018;9:588. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00588>
30. Mozaffaritarab S, Koltai E, Zhou L, Bori Z, Kolonics A, Kujach S, Gu Y, Koike A, Boros A, Radák Z. PGC-1 α activation boosts exercise-dependent cellular response in the skeletal muscle. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2024;80(2):329-35. <https://doi.org/10.1007/s13105-024-01006-1>
31. Mou YL, Zhao R, Lyu SY, Zhang ZY, Zhu MF, Liu Q. Crocetin protects cardiomyocytes against hypoxia/reoxygenation injury by attenuating Drp1-mediated mitochondrial fission via PGC-1 α . *Journal Geriatr Cardiol*. 2023;20(1):68-82. <https://doi.org/10.26599/1671-5411.2023.01.001>
32. Gill JF, Delezie J, Santos G, McGuirk S, Schnyder S, Frank S, et al. PGC-1 α regulates mitochondrial calcium homeostasis, SR stress and cell death to mitigate skeletal muscle aging. *BioRxiv*. 2019;23:451229. <https://doi.org/10.1101/451229>
33. Turkyilmaz A, Lee Y, Lee MK. Fermented extract of mealworm (*Tenebrio molitor* larvae) as a dietary protein source modulates hepatic proteomic profiles in C57BLKS/J-db/db mice. *Journal of Insects as Food and Feed*. 2023;9(9):1199-210. <https://doi.org/10.3920/jiff2022.0162>
34. Seo M, Goo TW, Chung MY, Baek M, Hwang JS, Kim MA, Yun EY. *Tenebrio molitor* larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(3):518. <https://doi.org/10.3390/ijms18030518>
35. Ringseis R, Peter L, Gessner DK, Meyer S, Most E, Eder K. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on the antioxidant status and stress response pathways in tissues of growing pigs. *Archives of Animal Nutrition*. 2021;75(4):237-50. <https://doi.org/10.1080/1745039x.2021.1950106>
36. Lee JB, Kwon DK, Jeon YJ, Song YJ. Mealworm (*Tenebrio molitor*)-derived protein supplementation attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb casting immobilized rats. *Journal of Physiological Investigation*. 2021;64(5):211-7. https://doi.org/10.4103/cjp.cjp_40_21
37. Hermans WJ, Senden JM, Churchward-Venne TA, Paulussen KJ, Fuchs CJ, Smeets JS, et al. Insects are a viable protein source for human consumption: from insect protein digestion to postprandial muscle protein synthesis in vivo in humans: a double-blind randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2021;114(3):934-944. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab115>
38. Moberg M, Apró W, Ekblom B, Van Hall G, Holmberg HC, Blomstrand E. Activation of mTORC1 by leucine is potentiated by branched-chain amino acids and even more so by essential amino acids following resistance exercise. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2016;310(11):C874-84. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00374.2015>
39. Kimball SR. Interaction between the AMP-activated protein kinase and mTOR signaling pathways. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2006 Nov 1;38(11):1958. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000233796.16411.13>