



The effect of moderate-intensity interval training combined with nano-emulsified betaine supplementation on the expression of the inflammatory CD28 gene in hepatocytes, serum levels of urea, creatinine, and lipid profile in obese rats

Mahdiyeh Poursoltani Zarandi, Department of exercise physiology, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Amir sarshin*, Department of exercise physiology, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Alireza rahimi, Department of exercise physiology, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Foad feizolahi, Department of exercise physiology, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

Abstract

Background and Aim: The increasing prevalence of obesity and its associated diseases, including diabetes and fatty liver disease, highlights the importance of regular exercise in obesity management. Moreover, evidence suggests that betaine may improve obesity by influencing hepatic fat and glucose metabolism. This study aimed to investigate the combined effect of moderate-intensity interval training (MIIT) and Betaine supplementation on hepatic CD28 gene expression, serum levels of urea, creatinine, and lipid profile in obese rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 25 male Wistar rats were divided into five groups: (1) Healthy, (2) Obese, (3) Obese + Supplement, (4) Obese + Training, and (5) Obese + Supplement + Training. Obese rats were fed a high-fat diet for six weeks. The MIIT protocol included treadmill running for 30 minutes, five days per week, with progressive overload for eight weeks. Nano-emulsified betaine supplementation (50 mg/kg body weight) was administered via gavage before training. At the end of the study, hepatic CD28 gene expression was measured using Real-Time PCR, while serum levels of creatinine, urea, triglycerides (TG), total cholesterol, low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL) were analyzed. Statistical analysis was performed using independent t-tests and two-way ANOVA at a significance level of $p \leq 0.05$. **Results:** Obesity significantly increased TG, total cholesterol, LDL, CD28, creatinine, and urea, while HDL decreased. Both training and supplementation independently reduced CD28, creatinine, TG, total cholesterol, and LDL, while increasing HDL. The interaction between training and supplementation significantly influenced CD28, LDL, total cholesterol, and creatinine. **Conclusion:** Moderate-intensity aerobic training and nano-emulsified betaine supplementation, both independently and in combination, may play a significant role in reducing obesity-induced hepatic inflammation through lipid metabolism regulation.

Keywords: Physical activity, Betaine supplementation, inflammation, obesity



تأثیر تمرین تناوبی متوسط به همراه مکمل بتائین نانو امولسیفای بر بیان ژن CD28 التهابی در سلول‌های هیپاتوسیتی، سطوح سرمی اوره، کراتینین و نیمرخ چربی موش‌های چاق

مهديه پورسلطانی زرنده^۱، امير سرشین*^۲، علیرضا رحیمی^۳، فواد فیض‌اللهی^۴

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۳. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۴. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: افزایش چاقی و بیماری‌های مرتبط، از جمله دیابت و کبد چرب، اهمیت تمرین منظم را در درمان چاقی نشان داده است. همچنین، شواهد حاکی از تأثیر بتائین بر متابولیسم کبدی چربی و گلوکز در بهبود چاقی است. هدف این پژوهش بررسی تأثیر همزمان تمرین تناوبی با شدت متوسط و مکمل بتائین بر بیان کبدی ژن CD28، سطوح سرمی اوره، کراتینین و نیمرخ چربی در موش‌های چاق بود. **روش تحقیق:** در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه تقسیم شدند: ۱- سالم، ۲- چاق، ۳- چاق + مکمل، ۴- چاق + تمرین، ۵- چاق + مکمل + تمرین. موش‌های چاق به مدت شش هفته با رژیم پرچرب تغذیه شدند. تمرین تناوبی شامل دویدن روی نوارگردان به مدت ۳۰ دقیقه و پنج روز در هفته، همراه با افزایش تدریجی شدت، به مدت هشت هفته انجام شد. گاوژ مکمل بتائین نانوامولسیفای (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) قبل از تمرین انجام گرفت. در پایان، بیان ژن CD28 با روش Real-Time PCR و سطوح سرمی کراتینین، اوره، تری‌گلیسرید، کلسترول تام، LDL و HDL با روش‌های معتبر اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آزمون‌های t-مستقل و آنوای دوعاملی در سطح معناداری ۰/۰۵ p < بررسی شدند. **یافته‌ها:** چاقی باعث افزایش معنی‌دار TG، کلسترول تام، LDL، CD28، کراتینین و اوره و کاهش HDL شد. تمرین و مکمل به‌طور مستقل باعث بهبود شاخص‌های فوق شدند. تعامل تمرین و مکمل نیز تغییرات معنی‌داری در CD28، LDL، کلسترول تام و کراتینین داشت. **نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی با شدت متوسط و مکمل بتائین نانوامولسیفای، مستقل و به‌طور ترکیبی، احتمالاً از طریق تنظیم متابولیسم چربی، در کاهش التهاب کبدی ناشی از چاقی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت بدنی، مکمل بتائین، التهاب، چاقی.



مقدمه

چاقی به عنوان نتیجه به هم خوردن تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی، به طور گسترده‌ای در حال افزایش است و عامل خطرزای اصلی اختلالات پاتولوژیکی از جمله دیابت نوع دو، کبد چرب، التهاب کبدی و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود. در شرایط دریافت انرژی اضافی به ویژه از طریق غذای پرچرب، تری گلیسیرید در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها تجمع غیرطبیعی یافته و استئاتوز^۱ کبدی را به وجود می‌آورد. کبد چرب غیر الکلی^۲ (NAFLD) یک التهاب کبدی است که ارتباط نزدیک با برخی بیماری‌های متابولیک دارد که از آن جمله: چاقی، دیابت، افزایش کلسترول و تری گلیسیرید خون و سندرم متابولیک را می‌توان نام برد (۱). التهاب کبدی و بروز مقاومت به انسولین در شرایط چاقی بسیار رایج بوده و با استئاتوز کبدی و NAFLD همراه است. بر این اساس شیوع استئاتوز کبدی در افراد چاق در حدود ۷۵ درصد گزارش شده که این یافته‌ها نشان می‌دهد چاقی از عوامل خطر کلیدی در توسعه اختلالات کبدی است (۲).

رابطه بین پروفایل چربی سرم و ابتلا به NAFLD به ویژه در جمعیت‌های دارای چاقی و اختلالات متابولیک قابل توجه است. مطالعات نشان می‌دهد که سطوح بالای کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی کم^۳ (LDL) و تری گلیسیرید با بروز NAFLD مرتبط است. به عنوان مثال، در کودکان چاق، سطوح تری گلیسیرید و کلسترول بالاتر با تشخیص NAFLD مرتبط بوده است (۳). از سویی دیگر، چاقی ارتباط نزدیکی با التهاب کبد و سطوح کراتینین و اوره دارد، به ویژه در زمینه NAFLD. چاقی اغلب منجر به التهاب مزمن با درجه پایین می‌شود که در نتیجه منجر به افزایش مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی در بافت چربی و کبد می‌شود (۴). مطالعه‌ای روی افراد چاق سطوح بالاتری از اوره و کراتینین را در مقایسه با افراد غیر چاق نشان داد (۵). مجموع شواهد نشان می‌دهد که سطوح کراتینین و اوره ممکن است نشان دهنده التهاب کبد و اختلالات متابولیک در زمینه چاقی باشد. درک این روابط برای توسعه راهبردهای درمانی برای رسیدگی به التهاب کبد مرتبط با چاقی و اختلالات متابولیک بسیار مهم است. از آنجایی که التهاب مزمن با درجه پایین ناشی از چاقی، با تحریک پاسخ‌های ایمنی و التهابی نیز همراه است؛ CD28 به عنوان یک گیرنده تحریک کننده ضروری برای فعال سازی کامل لنفوسیت‌های T عمل می‌کند که نقش مهمی در تحریک التهاب درجه پایین در چاقی دارد. این عامل، سیگنال‌های گیرنده سلول^۴ T^۴ (TCR) را افزایش می‌دهد و می‌تواند سیگنال‌های مستقلی را ارائه دهد که منجر به فعال شدن مسیر التهابی عامل هسته‌ای کاپا- B^5 (NF- κ B) که خود یک عامل رونویسی در پاسخ‌های التهابی است، می‌شود. فعال شدن CD28 می‌تواند منجر به رونویسی انتخابی ژن‌های پیش التهابی به ویژه اینترلوکین-۸^۶ (IL-8)، عامل نکروزدهنده تومور-آلفا^۷ (TNF α) و اینترفرون-گاما^۸ (IFN γ) شود که این سایتوکاین‌ها در افزایش التهاب کبد، مقاومت به انسولین و به طور کلی گسترش چاقی نقش بسزایی دارند (۶).

شواهد زیادی نشان می‌دهند که چاقی طولانی مدت، همراه با تغذیه پرکالری و سبک زندگی کم تحرک تشدید شده و احتمال اینکه چاقی به سندرم متابولیک، کبد چرب و دیابت آشکار تبدیل شود، بسیار زیاد است (۷). فعالیت ورزشی منظم زیربنای اصلی درمان چاقی و پیشگیری از بیماری‌های مزمن متعددی معرفی شده است (۸). فعالیت بدنی منظم، به عنوان نقطه تنظیمی لیپوژنز و بتااکسیداسیون در کبد، از اصلی ترین مصادیق تغییر سبک زندگی به شمار می‌رود. ورزش همزمان با

¹ Steatosis

² Non-alcoholic fatty liver disease

³ Low-density lipoprotein

⁴ T Cell Receptor

⁵ nuclear factor kappa B

⁶ Interleukin-8

⁷ Tumor necrosis factor-alpha

⁸ Interferon gamma



تحریک بتاکسایش و کاهش لیپوژنز، یکی از تنظیم کننده‌های اصلی متابولیسم کبد محسوب می‌شود (۹). در همین راستا، اخیراً مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۳ نشان داد که تنها یک هفته تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی در آزمودنی‌های میانسال چاق مبتلا به NAFLD، می‌تواند بطور معنی داری شاخص تجمع چربی در کبد، دور کمر، نسبت دور کمر به دور لگن، تری گلیسرید و کلسترول تام را بهبود بخشد (۱۰). در پژوهش دیگری در سال ۲۰۲۲ گزارش شد که ۶ هفته تمرین هوازی با شدت‌های پایین، متوسط و بالا در موش‌های مبتلا به NAFLD از طریق رژیم غذایی پرچرب، منجر به بهبود معنی دار نیمرخ چربی خون (تری گلیسرید، کلسترول تام و LDL) و وضعیت مورفولوژیک کبد به ویژه در گروهی که با شدت متوسط تمرین کرده بودند، گردید (۱۱). هر چند که بر خلاف این یافته‌ها، مطالعه جدید دیگری گزارش داد که شدت‌های مختلف ورزش هوازی دوجرخه‌سواری منجر به تغییرات قابل توجهی در ترکیب بدن و نیمرخ چربی در زنان میانسال چاق نمی‌شود (۱۲). اثرات ضدالتهابی ورزشی منظم نیز مورد بررسی قرار گرفته است؛ (۱۳) گزارش کرد که ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط در موش‌های چاق دیابتی، باعث کاهش معنی دار سطوح سرمی کراتینین، اوره، تری گلیسرید و فعالیت آنزیم‌های کبدی شد (۱۳).

در سال‌های اخیر توجه محققین بخاطر عواملی مانند عدم رضایت بیماران در مصرف داروهای شیمیایی و بروز عوارض جانبی موجب شده که تمایل به درمان‌های جایگزین و سنتی همراه با فعالیت بدنی افزایش یابد. در این زمینه، یکی از محصولات طبیعی بتائین^۱ است که به عنوان تری متیل گلیسین هم شناخته می‌شود و یک ماده طبیعی پایدار و غیرسمی که در حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها وجود دارد. بتائین به طور درون زا از طریق متابولیسم کولین سنتز می‌شود و یا به صورت برون زا از طریق دریافت غذایی مصرف می‌شود (۱۴). اخیراً اثرات بتائین و کولین بر عوامل خطر چاقی و NAFLD مورد مطالعه قرار گرفته است؛ در این زمینه نشان داده شده است که مکمل‌یاری با کولین و بتائین، هر دو از طریق کاهش سطوح تری گلیسرید کبدی و خون، تحریک لیپولیز و بتاکسایش کبدی می‌تواند استئاتوز کبدی را کاهش دهد. این داده‌ها بینش جدیدی در مورد این که چگونه مکمل بتائین می‌تواند به درمان اختلالات مرتبط با چاقی کمک کند، ارائه می‌دهد (۱۵). در همین زمینه، نتایج پژوهش سیستماتیک بالینی (۱۶) نیز نشان داد که مکمل‌یاری با بتائین می‌تواند در کاهش توده چربی کل بدن و درصد چربی نقش مثبت معنی داری داشته باشد (۱۶). در حالی که بر خلاف این یافته‌ها، تحقیق دیگری نشان داد که مکمل‌یاری ۳ ماهه با ۶ گرم بتائین در روز در آزمودنی‌های چاق، اثر معنی داری بر وزن، توده چربی و ترکیب بدنی نداشت (۱۷). علاوه بر این، مطالعات جدید، بتائین را به عنوان یک اهداکننده متیل و دارای خواص ضدالتهابی و آنتی اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۸). در همین راستا، اخیراً (۱۹) گزارش کردند که مکمل‌یاری با بتائین در موش‌های مدل سمیت کلیوی، توانست سطوح افزایش یافته‌ی کراتینین، اوره، شاخص‌های اکسایشی و بیان پروتئین NF-κB التهابی را معکوس نماید؛ این یافته‌ها عملکرد ضدالتهابی و مهار استرس اکسایشی توسط بتائین را برجسته تر می‌کند (۱۹). با این وجود، تحقیقاتی نیز در دسترس هستند که عدم اثرگذاری بتائین بر عوامل التهابی در چاقی را مطرح کرده‌اند؛ برخی از مطالعات نشان می‌دهند که شواهد برای اثرات ضدالتهابی بتائین قطعی نیست و یک متآنالیز فقط کاهش جزئی در نشانگرهای التهابی بدون تأثیر بالینی قابل توجه را نشان می‌دهند (۲۰).

از آنجا که شواهد موجود از اثرات مثبت تمرین هوازی بر بهبود متابولیسم کبدی چربی و وضعیت التهابی کبد حمایت می‌کنند (۱۱؛ ۱۳) و از طرفی، نقش بالقوه‌ی بتائین در کاهش توده چربی و اثر ضدالتهابی آن به تازگی مطرح شده است (۱۶؛ ۱۹)، لذا به نظر می‌رسد که مداخله همزمان ورزش هوازی و مکمل‌یاری بتائین، احتمالاً از طریق اثرات ضدالتهابی و تاثیر بر شاخص‌های مرتبط با آن به ویژه CD28 که نقش محوری در تنظیم مسیر التهابی NF-κB دارد و اخیراً مورد بررسی قرار گرفته است، در بهبود چاقی و اختلالات متابولیک ناشی از آن از جمله NAFLD نقش داشته باشد. هر چند که تاکنون اثر تعاملی ورزش هوازی به همراه بتائین بر شاخص‌های مذکور در زمینه چاقی مورد مطالعه قرار نگرفته است و یافته‌های متناقض در خصوص اثر مستقل این

¹ Betaine



مداخلات پژوهشی نیز وجود دارد؛ بنابراین در این مطالعه، بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی با شدت متوسط به همراه مکمل بتائین نانومولسیفای بر وضعیت التهابی در سلول‌های هیپاتوسیتی از طریق تغییر در بیان ژن CD28، شاخص‌های التهابی اوره، کراتینین و نیمرخ چربی موش‌های چاق مطرح می‌گردد.

روش تحقیق

طرح تحقیق و روش نمونه‌گیری: در این مطالعه آزمایشگاهی و کاربردی به منظور تعیین تعداد نمونه‌های مورد نیاز در پژوهش، باتوجه به دشواری‌های تعیین انحراف معیار و اندازه اثر در زمان‌هایی که بیش از ۳ گروه وجود دارد، توصیه شده است از نرم افزارهای آماری مانند G Power استفاده شود. پس از استفاده از این نرم افزار، با انتخاب آزمون F و سپس روش آماری تحلیل واریانس (اثرات اصلی و تعاملی)، اندازه اثر بزرگ یا قوی، میزان α معادل ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۷۰ در نظر گرفته شد و در نهایت ۲۵ سر موش برای ۵ گروه تعیین شد. موش‌های صحرایی بالغ نر و بیستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن 270 ± 20 گرم (تهیه شده از مرکز بافت و ژن پاسارگاد)، در محیطی با میانگین دمای $1/4 \pm 22$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 4 ± 55 درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. تمامی مراحل نگهداری و فدا نمودن موش‌های صحرایی براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هلسینگی ۱۹۶۴ و کد اخلاق اخذ شده از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج با شماره شناسه IR.IAU.K.REC.1403.65 انجام شد.

موش‌های صحرایی پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید، به صورت تصادفی به ۵ گروه (۵ سر موش در هر گروه) شامل: ۱- سالم، ۲- چاق، ۳- چاق + مکمل، ۴- چاق + ورزش، ۵- چاق + مکمل + ورزش تقسیم شدند. گروه‌های چاق به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی چرب و کلسترول دچار بیماری شدند؛ گروه سالم با رژیم غذایی استاندارد جوندگان تغذیه شدند. با توجه به عناصر تشکیل دهنده غذای استاندارد جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده برای القای کبد چرب شامل غذای پایه جوندگان (استاندارد) بعلاوه ۱۵٪ چربی حیوانی، ۴٪ کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۱٪ اسید کولیک (شرکت سیگما-آمریکا) بود که توسط شرکت بافت و ژن پاسارگاد روزانه تهیه گردیده و به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت (۲۱). برای اطمینان از القای چاقی در گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از پایان دوره تغذیه و قبل از شروع مداخلات اصلی پژوهش، نمونه‌های خونی از نوک دم رت‌ها گرفته شد. سپس سطوح گلوکز و نیمرخ چربی (تری‌گلیسرید، کلسترول تام، HDL و LDL) مورد ارزیابی قرار گرفتند. افزایش سطح این شاخص‌ها، تاییدی بر ابتلای رت‌ها به چاقی بود. هم‌چنین وزن موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب، پس از ۱۲ هفته مدلسازی به میانگین 420 ± 30 گرم رسید.

روش اجرای پروتکل تمرین: موش‌ها در گروه‌های تمرین ورزشی (پیش از القای چاقی)، دو هفته و سه جلسه در هفته جهت آشنایی با پروتکل تمرین تناوبی روی نوارگردان شروع به دویدن کردند. در طول هفته اول موش‌ها با دویدن با سرعت ۸ متر در دقیقه، سه روز در هفته آشنا شدند. روز قبل از تمرین تناوبی، پایلوت پروتکل بر روی پنج سر موش جهت برآورد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) مناسب پروتکل تمرینی انجام شد. پیش از آن، پنج سر موش دیگر به عنوان گروه پایلوت برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان انتخاب شده و برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سرعت تدریجی به ازای هر ۲ دقیقه، ۲ متر بر دقیقه افزوده می‌شد تا موش‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی). پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه‌های تمرینی پروتکل تمرین استقامتی تناوبی دویدن روی نوارگردان، برنامه تمرین استقامتی را مطابق با پروتکل لی^۱ و دیگران به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا نمودند (۲۲) (جدول ۱).

¹ Li



مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش



جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی اجرایشده

گروه‌ها	مدت زمان آشناسازی با پروتکل تمرینی	مجموع زمان گرم کردن و سرد کردن (دقیقه)	مدت زمان بدنه اصلی تمرین (دقیقه)	تعداد وهله‌های تمرینی در هر جلسه	نسبت کار به استراحت	اضافه بار
گروه چاق + تمرین	۲ هفته	دویدن با سرعت ۵ متر/دقیقه مجموعاً به مدت ۱۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	هفته اول، ۱۰ وهله فعالیتی ۱ دقیقه‌ای (با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) با تناوب‌های استراحتی ۲ دقیقه‌ای (با سرعت ۵ متر در دقیقه)	۲:۱	اعمال اضافه بار بر روی سرعت در وهله‌های فعالیتی: هفته اول، سرعت ۱۰ متر/دقیقه هفته دوم، سرعت ۱۲ متر/دقیقه هفته سوم، سرعت ۱۴ متر/دقیقه هفته چهارم تا هشتم، سرعت ۱۶ متر/دقیقه
گروه چاق + تمرین + مکمل						

نحوه تهیه و خوراندن مکمل: موش‌ها در گروه چاق + مکمل و گروه چاق + مکمل + ورزش، مکمل تری متیل گلایسین هیدروکلراید (بتائین) (شرکت سیگما، امریکا، Code Number: B3501) را پس از نانومولسیفای سازی، به میزان ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته مشابه با روزهای تمرینی به صورت گاواژ دریافت کردند (۲۳). هدف از نانومولسیون سازی بتائین در این تحقیق در درجه اول افزایش فراهمی زیستی و کارایی این ترکیب بود که برای دستیابی به غلظت‌های درمانی موثر در مدل‌های حیوانی بسیار مهم است. زیرا بتائین نانومولسیون شده می‌تواند منجر به جذب بهتر روده‌ای شده و در نتیجه اثرات فیزیولوژیکی آن مانند کاهش استرس اکسیداتیو در حیوانات تحت شرایط اختلالات متابولیک را افزایش دهد (۱۴). هم‌چنین در تحقیقاتی که بر محافظت از کبد و اختلالات متابولیک متمرکز شده‌اند، بتائین نانومولسیون شده پتانسیل بالقوه‌ای در کاهش آسیب کبد و بهبود سلامت متابولیک نشان داده است و آن را به ابزاری ارزشمند در مطالعات تجربی تبدیل کرده است (۲۴).

از روش فراصوت با دامنه بالا برای تهیه نانومولسیون بتائین استفاده شد. زیرا این روش نیروهای برشی بالایی ایجاد می‌کند که منجر به تشکیل ذرات کوچک‌تر (معمولاً در محدوده ۲۰۰-۲۰ نانومتر) می‌شود که پایداری سرمی و فراهمی زیستی نانومولسیون را افزایش می‌دهد. نانومولسیون‌های تولید شده از طریق اولتراسوند حساسیت کمتری نسبت به مسائلی مانند لخته‌سازی و ادغام دارند و از پایداری طولانی مدت فرمول اطمینان می‌دهند (۲۵). برای این منظور، غلظت‌های مختلف بتائین و Tween 80 با Span



80 به عنوان سورفکتانت مخلوط شدند. ترکیب بتائین و سورفکتانت روی صفحه با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. سپس محلول در ابتدا با استفاده از همزنایزر پرسرعت (مدل: Silent Crusher M, Heidolph, Germany) در ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه مخلوط و همگن شد. پس از آن، سونیکاسیون به مدت سه دقیقه با حداکثر سرعت انجام شد. نانومولسیون های تهیه شده دارای ساختار شفاف و بدون کدورت بودند. تمام فرمولاسیون های آماده شده تا پنج ماه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) و دمای یخچال (۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. هیچ تغییری در اندازه ذرات و شاخص پراکندگی چندگانه (PDI) مشاهده نشد که پایداری طولانی مدت نانومولسیون ها و دوره نگهداری مشخص شده در دمای اتاق و یخچال را تایید می کند (۲۶).

روش های ارزیابی شاخص های بیوشیمیایی: به منظور از بین بردن اثرات حاد تمرین، ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و گاوژ مکمل، حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین (مقدار ۸۰ به ۱۰ میلی گرم کتامین به زایلازین به ازای هر کیلو گرم وزن بدن) بی هوش شدند. پس از اطمینان از بی هوشی حیوانات، قفسه سینه شکافته شده و ۱۰ میلی لیتر خون مستقیم از قلب موش ها گرفته شد. نمونه های جمع آوری شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم آن ها جدا گردید و بلافاصله انتقال داده شد تا در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شوند. اندازه گیری میزان سرمی اوره و کراتینین به روش الایزا و هم چنین سطوح کلسترول تام، TG، LDL و HDL توسط کیت های مربوطه (زیست شیمی، تهران، ایران) و بر اساس دستور العمل کیت های مربوطه انجام شد.

بافت برداری کبد: برداشت بافت کبدی بلافاصله پس از بی هوشی و خونگیری انجام شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در میکروتیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای ۸۰- درجه فریز گردید. نمونه در آزمایشگاه تا زمان انجام آزمایشات ارزیابی مقدار تغییرات بیان ژن CD28 در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شد.

بررسی بیان ژن CD28 در کبد: بیان ژن CD28، با روش (Real-Time PCR (Applied Biosystems, Sequence Detection) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج RNA به صورت RNX-Pluse و به منظور بررسی کیفیت و کمیت آن از روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز بروی ژل آگارز استفاده شد. ابتدا توالی mRNA ی مربوط به ژن CD28 با استفاده از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها توسط نرم افزار کامپیوتری AllelID ساخته شد و سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد.

روش های تحلیل آماری: اطلاعات مورد نیاز پس از جمع آوری، از طریق نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ پردازش و تحلیل شدند و کلیه نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان گردیدند. ابتدا طبیعی بودن توزیع داده ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک مورد بررسی قرار گرفت؛ سپس جهت تعیین تفاوت بین گروهی (سالم با چاق) و بررسی پیش فرض، از آزمون آماری t مستقل استفاده شد و جهت بررسی تاثیر تعاملی مکمل بتائین با تمرین هوازی تناوبی بر سطوح CD28، اوره، کراتینین، کلسترول تام، TG، LDL و HDL از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده گردید.

یافته ها

یافته های توصیفی متغیرهای مورد مطالعه در پس آزمون نمونه های پژوهش حاضر در جدول ۲ نشان داده شده است.



علوم زیستی در ورزش

مطالعات کاربردی



چاق + مکمل + ورزش	چاق + مکمل	چاق + تمرین	چاق	سالم	گروه ها
۰/۲۴۹±۰/۰۳۱	۰/۵۰۲±۰/۰۵۷	۰/۵۴۲ ± ۰/۱۸۳	۱/۰۲ ± ۰/۱۲۹	۰/۲۵۲ ± ۰/۰۴۹	CD28 (mRNA)
۱۹/۷±۱/۰۹	۲۲/۱±۱/۵۱	۱۹/۱±۱/۵۹	۲۲/۸±۲/۵۸	۱۹±۱/۵۸	اوره (mg/dl)
۱/۰۹±۰/۷۷	۱/۵۱±۰/۸۸	۱/۵۹±۰/۱۶	۲/۵۸±۰/۲۵	۱/۵۸±۰/۱۹	کراتینین (mg/dl)
۱۵۹±۶/۵	۲۰۹/۲±۹/۸۸	۱۸۱/۶±۸/۱	۲۸۱/۶±۱۴/۴	۹۳±۶/۵	کلسترول (mg/dl)
۸۶/۶±۹/۳	۱۰۴/۴±۲/۴	۱۰۳/۸±۳/۱	۱۲۸/۶±۲/۷	۶۶/۴±۵/۳	TG (mg/dl)
۳۸/۴±۸/۰۱	۳۰±۴/۱	۲۴±۳/۸	۱۹/۸±۲/۲	۴۶/۲±۴/۰۸	HDL (mg/dl)
۱۰۱±۳/۴	۱۶۰/۶۴±۱۳/۸	۱۳۸/۷±۱۲/۳	۲۳۶/۱±۱۷/۶	۹۶/۹۰±۸/۱۰	LDL (mg/dl)

پیش فرض این مطالعه، تاثیر ابتلا به چاقی بر سطوح CD28، اوره، کراتینین، کلسترول تام، TG، LDL و HDL در موش‌های مدل بود. جهت بررسی این پیش فرض و تعیین تفاوت بین دو گروه سالم و چاق از روش آماری t-مستقل استفاده شد که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است:

جدول ۳. نتایج آزمون t مستقل در مورد بررسی تفاوت متغیرهای وابسته بین دو گروه سالم و چاق

متغیر	سطح معنی داری	درجه آزادی	آماره t
CD28 بیان نسبی (mRNA)	۰/۰۰۱*	۸	-۱۲/۵۲
اوره	۰/۰۲۳*	۸	-۲/۸
کراتینین	۰/۰۰۱*	۸	-۲۲/۳۶
کلسترول	۰/۰۰۱*	۸	-۲۶/۶
TG	۰/۰۰۱*	۸	-۲۳/۳۱
HDL	۰/۰۰۱*	۸	۱۲/۶۱
LDL	۰/۰۰۱*	۸	-۲۱/۸۷

* نشانه اختلاف معنی دار با گروه سالم در سطح $p < 0.05$.



نتایج آزمون t مستقل در بررسی تفاوت‌های بین گروهی نشان داد که سطوح CD28، کراتینین، کلسترول تام، TG، LDL، HDL (P=0/001) و اوره (P=0/023) در گروه چاق یا مدل در مقایسه با گروه سالم به طور معنی داری افزایش یافته است و سطح HDL (P=0/001) در گروه مدل در مقایسه با گروه سالم به طور معنی داری کاهش یافته است.

نتایج روش آماری تحلیل واریانس دو عاملی برای تعیین تغییرات بین گروهی متغیرهای مورد مطالعه، در جدول ۴ گزارش شده است.

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی در مورد مقایسه متغیرهای وابسته تحقیق

ضریب اتاء	سطح معنی داری	آماره F	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع	متغیرها
0/75	0/0001*	49/65	1	0/677	تمرین	بیان نسبی CD28 (mRNA)
0/79	0/0001**	61/11	1	0/833	مکمل	
0/23	0/043***	4/84	1	0/066	تمرین×مکمل	
			16	0/218	خطا	
0/47	0/002*	14/59	1	46/51	تمرین	اوره
0/00	0/951	0/004	1	0/013	مکمل	
0/04	0/428	0/663	1	2/11	تمرین×مکمل	
			16	51	خطا	
0/96	0/0001*	496/11	1	7/04	تمرین	کراتینین
0/65	0/0001**	30/22	1	0/429	مکمل	
0/75	0/0001***	48/46	1	0/688	تمرین×مکمل	
			16	0/227	خطا	
0/94	0/0001*	271/9	1	28200/05	تمرین	کلسترول
0/87	0/0001**	108/78	1	11281/2	مکمل	
0/65	0/0001***	29/89	1	3100/05	تمرین×مکمل	
			16	1659/2	خطا	
0/83	0/0001*	82/04	1	2268/4	تمرین	



همراه است که جریان کبدی اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد و منجر به افزایش تولید لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL) و اختلال در کاتابولیسم بقایای لیپوپروتئین‌های آتروژنیک می‌شود. مقاومت به انسولین همچنین منجر به هایپرکاتابولیسم HDL می‌شود که می‌تواند دیس لیپیدمی را تشدید نماید (۲۸). علاوه بر این، افزایش مقاومت انسولینی در چاقی را می‌توان از دلایل محوری افزایش اوره، کراتینین و بطور کلی التهاب مزمن دانست (۵). التهاب مزمن با درجه پایین ناشی از چاقی، با تحریک پاسخ‌های ایمنی و التهابی همراه است و CD28 نقش مهمی در تحریک التهاب درجه پایین در چاقی و در نتیجه تحریک سنتز سایتوکاین‌های التهابی و تقویت مقاومت انسولینی ناشی از آن دارد (۲۹).

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین هوازی تناوبی و مکمل بتائین هر کدام به تنهایی سطوح TG، کلسترول تام، LDL را کاهش و HDL را افزایش دادند. هم راستا با این یافته‌ها، محققان نشان دادند که یک دوره تمرین هوازی با شدت‌های مختلف در موش‌های مبتلا به NAFLD، منجر به بهبود معنی دار نیمرخ چربی خون (تری گلیسرید، کلسترول تام و LDL) و وضعیت مورفولوژیک کبد به ویژه در گروهی که با شدت متوسط تمرین کرده بودند، گردید (۱۱). در تحقیق دیگری در سال ۲۰۱۹ گزارش شد که یک دوره تمرین هوازی در موش‌های چاق، منجر به کاهش معنی دار کلسترول تام، LDL، TG، گلوکز، انسولین و همچنین افزایش HDL گردید (۳۰). بر خلاف این یافته‌ها، (۱۲) گزارش کرد که شدت‌های مختلف ورزش هوازی دوچرخه‌سواری منجر به تغییرات قابل توجهی در ترکیب بدن و نیمرخ چربی در زنان میانسال چاق نمی‌شود که این عدم تاثیر، احتمالاً به تفاوت نمونه‌های انسانی با حیوانی و کنترل کمتر عوامل مداخله‌گر در پژوهش‌های انسانی برمی‌گردد. در رابطه با مکانیزم اثر فعالیت ورزشی هوازی در تغییرات بیومارکرهای مذکور در چاقی، باید اذعان داشت که این بهبودها در درجه اول به افزایش متابولیسم چربی، تغییرات مثبت در عملکرد میتوکندری و کاهش مقاومت انسولینی نسبت داده می‌شود. تمرینات هوازی (به ویژه با شدت متوسط) استفاده از تری گلیسریدهای عضلانی را افزایش می‌دهد و منجر به بهبود اکسیداسیون چربی می‌شود. این نوع ورزش‌ها همچنین با افزایش لیپولیز بافت آدیپوز باعث افزایش دسترسی اسیدهای چرب خون به بافت عضلانی می‌شود که برای مصرف انرژی در ساعات پس از ورزش و کاهش کلی توده چربی بسیار مهم است. در واقع تمرینات هوازی با شدت متوسط، بیان همولوگ-۲ حامل میتوکندری (MTCH2) را افزایش می‌دهد که در تنظیم متابولیسم چربی در بافت چربی نقش دارد. افزایش تقاضای انرژی از ورزش و پس از آن، منجر به سازگاری در عملکرد میتوکندری می‌شود و از کاتابولیسم چربی بیشتر حمایت می‌کند (۳۱). از طرفی، کاهش توده چربی به واسطه ورزش، با کاهش مقاومت انسولینی، نیمرخ چربی خون و کاهش تجمع چربی در کبد همراه است (۳۰). همسو با اثرات مکمل بتائین در کاهش نیمرخ چربی در این مطالعه، نتایج پژوهش (۱۵) نشان داد که مکمل‌یاری با بتائین، از طریق کاهش سطوح تری گلیسرید کبدی و خون، تحریک لیپولیز و بتاکسایش کبدی می‌تواند تجمع چربی در کبد را در نمونه‌های چاق کاهش دهد (۱۵). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که بتائین بر بیان ژن‌ها از طریق مکانیسم‌های اپی ژنتیکی تأثیر می‌گذارد، به ویژه با تنظیم مثبت بتائین هموسیستئین S-متیل ترانسفراز (BHMT)؛ ژنی که بر متابولیسم چربی‌ها و التهاب تأثیر می‌گذارد. بتائین با تنظیم مثبت BHMT، افزایش NADPH و افزایش بیان ژن FTO، که بیان PGC1 α را هدف قرار می‌دهد، می‌تواند متابولیسم چربی کبدی را بهبود بخشد و شدت NAFLD را کاهش دهد (۳۲). در تناقض با این یافته‌ها، مطالعه‌ای نشان داد که مکمل‌یاری درازمدت با دوز بالایی از بتائین در آزمودنی‌های چاق، تغییر معنی داری در وزن، توده چربی و ترکیب بدنی ایجاد نکرد (۱۷) که با توجه به عدم کنترل دقیق رژیم غذایی آزمودنی‌ها در این مطالعه، این یافته‌ها تا حدی منطقی به نظر می‌رسند.

همچنین یافته‌های تحقیق حاضر حاکی از آن است که تمرین هوازی تناوبی و مکمل بتائین هر کدام به تنهایی سطوح CD28 را کاهش می‌دهند. هر چند که مطالعات انجام شده در این زمینه بسیار محدود هستند، اما همسو با یافته‌های این مطالعه و از آنجا که بیان CD28 به طور مستقیم با تنظیم سطوح TNF α و IL-6 در ارتباط است، (۳۳) در تحقیقی سیستماتیک گزارش کرد که تمرین هوازی اثر معنی داری در کاهش سطوح CRP، TNF α ، IL-6 و توده چربی در بزرگسالان مبتلا به چاقی و اضافه وزن دارد. در خصوص مکانیزم اثر فعالیت ورزشی، کاهش توده چربی به دنبال تمرین هوازی، ره‌ایش سایتوکاین‌های التهابی از جمله



TNF α از بافت آدیپوز را کاهش می‌دهد که این موضوع علاوه بر تاثیر مثبت بر کاهش مقاومت به انسولین، احتمالاً در کاهش CD28 التهابی که نقش محوری در فعالسازی التهاب مزمن ناشی از چاقی و سنتز سایتوکاین‌های التهابی دارد، نیز موثر باشد (۳۳). علاوه بر این، در مطالعه دیگری مشخص شد که دریافت غلظت‌های فیزیولوژیک مناسب بتائین، بیان آدیپوکاین‌های التهابی IL-6 و TNF α را در سلول‌های چربی انسانی قرار گرفته در معرض هاپوکسی کاهش می‌دهد (۳۴). علاوه بر این، مطالعات جدید، بتائین را به عنوان یک اهداکننده متیل و دارای خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی معرفی کرده‌اند (۱۸). به نظر می‌رسد مکانیزم اثر احتمالی بتائین در تغییرات شاخص‌های مورد مطالعه، به فواید ضد التهابی آن مرتبط باشد. این مکانیسم‌ها شامل تنظیم مسیرهای التهابی و تغییرات اپی‌ژنتیکی است که مجموعاً به اثرات ضد التهابی بتائین کمک می‌کند. شواهد موجود در این زمینه نشان می‌دهند که بتائین، فعال شدن مسیر التهابی فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-kB) را که در میانجیگری پاسخ‌های التهابی بسیار مهم است، مهار می‌کند؛ در واقع فعال شدن این مسیر التهابی که در چاقی و اضافه وزن گزارش شده است، نقش مهمی در تحریک سایتوکاین‌های پیش التهابی از جمله TNF α دارد. همچنین بتائین، فعال شدن اینفلامازوم NLRP3 را کاهش می‌دهد که یک بازیکن کلیدی در التهاب مزمن مرتبط با چاقی است (۳۵). برعکس، برخی از مطالعات نشان می‌دهند که شواهد برای اثرات ضد التهابی بتائین قطعی نیست و یک متاآنالیز فقط کاهش جزئی در نشانگرهای التهابی بدون تأثیر بالینی قابل توجه را نشان می‌دهند (۲۰). این امر پیچیدگی نقش بتائین در التهاب و نیاز به تحقیقات بیشتر را برجسته می‌کند.

دیگر یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرین هوازی تناوبی و مکمل بتائین هر کدام به تنهایی سطوح کراتینین را کاهش دادند ولی تنها اثر تمرین بر کاهش اوره معنی‌دار بود. همسو با این یافته‌ها، (۱۳) گزارش کرد که ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط در موش‌های چاق دیابتی، باعث کاهش معنی‌دار سطوح سرمی کراتینین، اوره، تری‌گلیسرید و فعالیت آنزیم‌های کبدی شد. همچنین (۳۶) نشان داد که ۱۲ هفته تمرین هوازی در کنار رژیم غذایی کاهش وزن در آزمودنی‌های میانسال چاق مبتلا به سندرم متابولیک، باعث کاهش معنی‌دار وزن و سطوح سرمی اوره و کراتینین شد. با این حال در تناقض با این نتایج، مطالعه‌ای که اثرات تمرین مقاومتی را بر نشانگرهای بیوشیمیایی در آزمودنی‌های چاق ساکن در ارتفاع بالا بررسی کرد، پس از ۱۲ هفته تمرین، تغییر معنی‌داری در سطوح اوره و کراتینین پلاسما نشان نداد اما در شاخص‌های التهابی و نیمرخ چربی بهبود معنی‌داری مشاهده شد (۳۷) که این عدم تأثیر بر اوره و کراتینین احتمالاً به دلیل سکونت در ارتفاع باشد؛ زیرا بر اساس شواهد، افراد ساکن در ارتفاعات بالا به خاطر تغییرات سازگاران در عملکرد کلیه و متابولیسم، میزان کراتینین و اوره کمتری نسبت به سطح دریا نشان می‌دهند (۳۸). ساز و کار احتمالی اثر ورزش بر کاهش این شاخص‌های التهابی با کاهش توده چربی مرتبط است. زیرا با کاهش توده چربی و به دنبال آن، کاهش رهایش سایتوکاین‌های التهابی از بافت آدیپوز، مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد که بطور کلی در کاهش التهاب مزمن ناشی از چاقی نقش دارد (۳۳). از سویی دیگر شواهد نشان می‌دهند که تعدیل التهاب مزمن ناشی از چاقی و توده چربی، با کاهش سطوح اوره و کراتینین در ارتباط است (۳۹). علاوه بر این، اخیراً نتایج تحقیق (۱۹) که تا حدی با نتایج پژوهش حاضر همسو می‌باشد، نشان داد که مکمل‌یاری با بتائین در موش‌های مدل سمیت کلیوی، منجر به کاهش معنی‌دار سطوح کراتینین، اوره، شاخص‌های اکسایشی و بیان پروتئین NF-kB التهابی شد. شواهد جدید نشان داده‌اند که بتائین با تنظیم مثبت بتائین هموسیستئین S-متیل ترانسفراز (BHMT)، متابولیسم چربی‌ها را بهبود بخشیده و التهاب را کاهش می‌دهد (۳۲).

بر اساس دیگر نتایج مطالعه‌ی حاضر، اثر تعاملی تمرین و مکمل در کاهش CD28، LDL، کلسترول تام و کراتینین معنی‌دار بود. در زمینه اثرات تعاملی بتائین و فعالیت ورزشی بر وضعیت التهابی و توده چربی در چاقی و اضافه وزن، پژوهش‌های معدودی در دسترس است. در همین راستا و همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، (۴۰) نشان دادند که ۱۰ هفته مکمل‌یاری با بتائین (۱/۵ درصد وزن بدن) به همراه تمرین استقامتی تدریجی با شدت متوسط در موش‌های چاق، توانست وزن بدن و توده چربی را بطور معنی‌داری کاهش داده و حساسیت انسولینی و تحمل گلوکز را بهبود بخشد (۴۰). ساز و کار احتمالی که توسط آن فعالیت ورزشی در تعامل با مکمل بتائین بر کاهش توده چربی و التهاب تأثیر می‌گذارد، به تنظیم متابولیسم چربی و کاهش مقاومت

انسولینی از طریق بهبود عملکرد میتوکندری برمی گردد. شواهد زیادی نشان می دهند که تمرین هوازی به طور قابل توجهی بر مکانیسم های درون سلولی به ویژه از طریق فعال شدن PGC-1 α که تنظیم کننده کلیدی بیوژنز و عملکرد میتوکندری و سازگاری متابولیک است، تأثیر می گذارد و نهایتاً منجر به کاهش استئاتوز کبدی، التهاب و فیبروز در کبد می شود (۴۱). ساز و کار احتمالی دیگر در تنظیم بیان PGC-1 α در ورزش، رهایش هپاتوکاین ها از جمله فاکتور رشد فیبروبلاست-1^{۲۱} (FGF21) در پاسخ به تمرینات ورزشی هوازی است که در مدل های چاقی، دیابت و NAFLD نیز گزارش شده است. شواهد حاکی از آن است که تجویز FGF21 باعث بهبود نیمرخ متابولیک و کاهش سطح تری گلیسیرید کبدی در این مدل ها می شود (۴۲). از طرفی شواهد موجود نشانگر اثرات بتائین بر بهبود عملکرد میتوکندری از طریق مکانیزم های مختلف به ویژه تأثیر بر PGC-1 α هستند؛ پژوهش هایی تنظیم افزایشی بیان PGC-1 α توسط بتائین را در موش های db/db و موش های دریافت کننده الکل نشان داده اند (۴۳؛ ۴۴). اخیراً پیشنهاد شده است که افزایش میتوژنز توسط بتائین از طریق فعالسازی مسیر SIRT1/PGC-1 α انجام می شود. مکملیاری بتائین، با افزایش مقدار پروتئین میتوکندری و محتوای ATP، افزایش mRNA، SIRT1، PGC-1 α ، NRF1، TFAM و AMPK فسفریله در سلول های C2C12 همراه بوده است (۴۵). در نتیجه به نظر می رسد تعامل تمرین هوازی تناوبی و مکمل یاری بتائین، توانایی کافی برای فعالسازی مسیرهای مرتبط با PGC-1 α و بهبود عملکرد میتوکندریایی را داشته باشد؛ شواهد در دسترس گزارش کرده اند که بهبود عملکرد میتوکندریایی در چاقی از طریق افزایش متابولیسم چربی، تنظیم برداشت سلولی گلوکز و تعدیل مقاومت انسولینی، می تواند نقش محوری در کاهش التهاب مزمن مرتبط با چاقی و نشانگرهای آن، کاهش تجمع چربی در بافت آدیپوز و کبد و بهبود نیمرخ چربی خون داشته باشد (۴۶).

نتیجه گیری : مداخلات تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط و مکمل یاری بتائین هر کدام به تنهایی و همچنین در کنار یکدیگر، از طریق تنظیم متابولیسم چربی احتمالاً نقش مهمی در کاهش التهاب کبدی ناشی از چاقی داشته باشد. همچنین با توجه به یافته های این مطالعه، به نظر می رسد که تعامل تمرین و مکمل، احتمالاً می تواند اثر پررنگ تری در کاهش التهاب مزمن مرتبط با چاقی از طریق تعدیل مسیرهای التهابی به واسطه کاهش بیان CD28 داشته باشد. 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 ناشی از شوک دستگاه ترمیم اشاره کرد.

تعارض منافع :

تداخل در منافع وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

هزینه های مطالعه بر عهده محقق بوده و نویسنده همچنین از آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه آزاد واحد کرج به خاطر همکاری صمیمانه تشکر می کند.

منابع

1) Arifah SN, Atho'llah MF, Lukiati B, Lestari SR. Herbal medicine from single clove garlic oil extract ameliorates hepatic steatosis and oxidative status in high fat diet mice. The Malaysian journal of medical sciences: MJMS. 2020 Feb 27;27(1):46. DOI: 10.21315/mjms2020.27.1.5.



- 2) Brunt EM, Wong VW, Nobili V, Day CP, Sookoian S, Maher JJ, Bugianesi E, Sirlin CB, Neuschwander-Tetri BA, Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nature reviews Disease primers*. 2015 Dec 17;1(1):1-22. DOI: 10.1186/s12916-017-0806-8.
- 3) Cigri E, ÇATAN İNAN FU, Er E, Yildiz E. The relationship between lipid profile and non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents with obesity. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 2022;32(5). DOI: 10.29271/jcpsp.2022.05.591.
- 4) van der Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC, Hommelberg PP, Kor D, Kloosterhuis NJ, Gruben N, Youssef SA, de Bruin A, Hofker MH, Kleemann R. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging (Albany NY)*. 2015 Apr 23;7(4):256. DOI: 10.18632/aging.100738.
- 5) Ude UA, Kalu ME, Ogbonna CL, Usanga VU, Azi SO. Evaluation of Urea, Creatinine Levels, and Proteinuria among Obese Individuals within Abakaliki Metropolis. *Nigerian Journal of Basic and Clinical Sciences*. 2022 Jul 1;19(2):120-5. DOI:10.4103/njbcsc.njbcsc_74_21.
- 6) Marinari B, Costanzo A, Marzano V, Piccolella E, Tuosto L. CD28 delivers a unique signal leading to the selective recruitment of RelA and p52 NF-κB subunits on IL-8 and Bcl-xL gene promoters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004 Apr 20;101(16):6098-103. DOI: 10.1073/pnas.0308688101.
- 7) Chew NW, Ng CH, Tan DJ, Kong G, Lin C, Chin YH, Lim WH, Huang DQ, Quek J, Fu CE, Xiao J. The global burden of metabolic disease: Data from 2000 to 2019. *Cell metabolism*. 2023 Mar 7;35(3):414-28. DOI: 10.1016/j.cmet.2023.02.003.
- 8) Singh S, Osna NA, Kharbanda KK. Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World journal of gastroenterology*. 2017 Sep 28;23(36):6549. DOI: 10.3748/wjg.v23.i36.6549.
- 9) Wong VW, Singal AK. Emerging medical therapies for non-alcoholic fatty liver disease and for alcoholic hepatitis. *Translational Gastroenterology and Hepatology*. 2019 Jul 19;4:53. DOI: 10.21037/tgh.2019.06.06.
- 10) Voudouris D, Horianopoulou M, Apostolopoulou Z, Chryssanthopoulos C, Bardopoulou M, Maridaki M, Vassilakopoulos T, Koutsilieris M, Philippou A. The effects of a short-term combined exercise program on liver steatosis indices and the lipidemic and glycemic profile in NAFLD individuals: A pilot study. *Metabolites*. 2023 Oct 13;13(10):1074. DOI: 10.3390/metabo13101074.
- 11) Ruan L, Wang G, Qing Lv Z, Li S, Liu Q, Ren Y, Zhang Q, Lv X, Wu R, Jin Z. The effect of varied exercise intensity on antioxidant function, aortic endothelial function, and serum lipids in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Investigación Clínica*. 2022 Dec;63(4):327-43. DOI: 10.54817/ic.v63n4a01.
- 12) Kim DS, An JH, Eo KT. The Effects of Body Composition, Blood Lipid & Lipid Metabolism on Bicycle Exercise of Various Intensities in Obesity Middle Aged Women. *Journal of Industrial Convergence*. 2021;19(1):137-46. DOI: 10.7570/jomes.2019.28.4.278.
- 13) Liu HW, Kao HH, Wu CH. Exercise training upregulates SIRT1 to attenuate inflammation and metabolic dysfunction in kidney and liver of diabetic db/db mice. *Nutrition & metabolism*. 2019 Dec;16:1-0. DOI: 10.1186/s12986-019-0349-4.
- 14) Eklund M, Bauer E, Wamatu J, Mosenthin R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition research reviews*. 2005 Jun;18(1):31-48. DOI: 10.1079/NRR200493.
- 15) Sivanesan S, Taylor A, Zhang J, Bakovic M. Betaine and choline improve lipid homeostasis in obesity by participation in mitochondrial oxidative demethylation. *Frontiers in Nutrition*. 2018 Jul 10;5:61. DOI: 10.3389/fnut.2018.00061.

- 16) Gao X, Zhang H, Guo XF, Li K, Li S, Li D. Effect of betaine on reducing body fat—a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2019 Oct 16;11(10):2480. DOI: 10.3390/nu11102480.
- 17) Schwab U, Törrönen A, Toppinen L, Alfthan G, Saarinen M, Aro A, Uusitupa M. Betaine supplementation decreases plasma homocysteine concentrations but does not affect body weight, body composition, or resting energy expenditure in human subjects^{1, 2, 3}. *The American journal of clinical nutrition*. 2002 Nov 1;76(5):961-7. DOI: 10.1093/ajcn/76.5.961.
- 18) Alvarenga L, Ferreira MS, Kemp JA, Mafra D. The role of betaine in patients with chronic kidney disease: a narrative review. *Current Nutrition Reports*. 2022 Sep;11(3):395-406. DOI: 10.1007/s13668-022-00426-z.
- 19) Norouzzadeh M, Kalantar H, Khorsandi L, Mohtadi S, Khodayar MJ. Betaine ameliorates arsenic-induced kidney injury in mice by mitigating oxidative stress-mediated inflammation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2024 Aug 1;758:110076. DOI: 10.1016/j.abb.2024.110076.
- 20) Xu J, Nie Z, Qiu X, Zhang J, Han S. Effects of betaine supplementation on inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2023 Oct 3;74(7):721-9. DOI: 10.1080/09637486.2023.2257906.
- 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 Aug 16;114(4):521-8. DOI: 10.1172/JCI16801.
- 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 May 7;603:35-40. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.03.008.
- 23) Chen W, Zhang X, Xu M, Jiang L, Zhou M, Liu W, Chen Z, Wang Y, Zou Q, Wang L. Betaine prevented high-fat diet-induced NAFLD by regulating the FGF10/AMPK signaling pathway in ApoE^{-/-} mice. *European journal of nutrition*. 2021 Apr;60:1655-68. DOI: 10.1007/s00394-020-02362-6.
- 24) Rasineni, K., Lee, S. M., McVicker, B. L., Osna, N. A., Casey, C. A., & Kharbanda, K. K. (2020). Susceptibility of asialoglycoprotein receptor-deficient mice to lps/galactosamine liver injury and protection by betaine administration. *Biology*, 10(1), 19.
- 25) Koroleva MY, Yurtov EV. Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. *Russian Chemical Reviews*. 2012 Jan 31;81(1):21. DOI: 10.1070/RC2012v081n01ABEH004219.
- 26) Pucek-Kaczmarek A, Celary D, Bazylińska U. Natural-Origin Betaine Surfactants as Promising Components for the Stabilization of Lipid Carriers. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 Jan 12;25(2):955. DOI: 10.3390/ijms25020955.
- 27) Trang K, Grant SF. Genetics and epigenetics in the obesity phenotyping scenario. *Reviews in endocrine and metabolic disorders*. 2023 Oct;24(5):775-93. DOI: 10.1007/s11154-023-09804-6.
- 28) Toh SA, Levin M, Rader DJ. Atherogenic lipid metabolism in obesity. In *Metabolic basis of obesity 2010* Oct 23 (pp. 293-309). New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4419-1607-5.
- 29) Esensten JH, Helou YA, Chopra G, Weiss A, Bluestone JA. CD28 costimulation: from mechanism to therapy. *Immunity*. 2016 May 17;44(5):973-88. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.04.020.
- 30) Abulfadle KA, Saied AA. Role of obestatin in improvement of obesity-induced metabolic and kidney function changes in exercised rats. *Am J Biomed Sci*. 2019;11(2):74-89. DOI: 10.1097/HJH.0b013e3283418875.



31) de Melo DG, da Cruz Rodrigues VC, de Sá Pereira GJ, de Campos TD, dos Santos Canciglieri R, Pauli JR, da Silva AS, da Costa Fernandes CJ, de Moura LP. Effects of aerobic exercise on the regulation of mitochondrial carrier homolog-2 and its influence on the catabolic and anabolic activity of lipids in the mesenteric adipose tissue of obese mice. *Life Sciences*. 2024 May 15;345:122567. DOI: 10.1016/j.lfs.2024.122567.

32) Liu J, Liu Y, Chen Y, Liu Y, Huang C, Luo Y, Wang X. Betaine alleviates nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) via a manner involving BHMT/FTO/m6A/PGC1 α signaling. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2024 Dec 1;134:109738. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2024.109738.

33) Gonzalo-Encabo P, Maldonado G, Valadés D, Ferragut C, Pérez-López A. The role of exercise training on low-grade systemic inflammation in adults with overweight and obesity: A systematic review. *International journal of environmental research and public health*. 2021 Dec 16;18(24):13258. DOI: 10.3390/ijerph182413258.

34) Olli K, Lahtinen S, Rautonen N, Tiihonen K. Betaine reduces the expression of inflammatory adipokines caused by hypoxia in human adipocytes. *British journal of nutrition*. 2013 Jan;109(1):43-9. DOI: 10.1017/S0007114512000888.

35) Zhao G, He F, Wu C, Li P, Li N, Deng J, Zhu G, Ren W, Peng Y. Betaine in inflammation: mechanistic aspects and applications. *Frontiers in immunology*. 2018 May 24;9:1070. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01070.

36) Straznicky NE, Grima MT, Lambert EA, Eikelis N, Dawood T, Lambert GW, Nestel PJ, Masuo K, Sari CI, Chopra R, Mariani JA. Exercise augments weight loss induced improvement in renal function in obese metabolic syndrome individuals. *Journal of hypertension*. 2011 Mar 1;29(3):553-64. DOI: 10.1097/HJH.0b013e3283418875.

37) Zaman GS, Abohashrh M, Ahmad I, Dera AA, Alshahrani MS, Ahmad I, Alam MM, Mahmood SE, Mansuri N, Irfan S, Zaman FA. The impact of body resistance training exercise on biomedical profile at high altitude: A randomized controlled trial. *BioMed Research International*. 2021;2021(1):6684167. DOI: 10.1155/2021/6684167.

38) Babu LK, Shaw S, Ghosh D. Bone mineral metabolism and different indices of skeletal health of Ladakhi women living at high altitude. *Osteoporosis and Sarcopenia*. 2023 Dec 1;9(4):131-6. DOI: 10.1016/j.afos.2023.11.001.

39) Morales E, Valero M, León M, Hernández E, Praga M. Beneficial effects of weight loss in overweight patients with chronic proteinuric nephropathies. *American Journal of Kidney Diseases*. 2003 Feb 1;41(2):319-27. DOI: 10.1053/ajkd.2003.50039.

40) Yu J, Laybutt DR, Youngson NA, Morris MJ. Concurrent betaine administration enhances exercise-induced improvements to glucose handling in obese mice. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2022 Oct 1;32(10):2439-49. DOI: 10.1016/j.numecd.2022.08.012.

41) 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 May;41:296-303. DOI:10.1134/S0362119715030123.

42) Takahashi H, Kotani K, Tanaka K, Eguchi Y, Anzai K. Therapeutic approaches to nonalcoholic fatty liver disease: exercise intervention and related mechanisms. *Frontiers in endocrinology*. 2018 Oct 15;9:588. DOI: 10.3389/fendo.2018.00588.

43) Jung GY, Won SB, Kim J, Jeon S, Han A, Kwon YH. Betaine alleviates hypertriglycemia and tau hyperphosphorylation in db/db mice. *Toxicological Research*. 2013 Mar;29:7-14. DOI: 10.5487/TR.2013.29.1.007.

44) Yang W, Huang L, Gao J, Wen S, Tai Y, Chen M, Huang Z, Liu R, Tang C, Li J. Betaine attenuates chronic alcohol-induced fatty liver by broadly regulating hepatic lipid metabolism. *Molecular medicine reports*. 2017 Oct 1;16(4):5225-34. DOI: 10.3892/mmr.2017.7295.

45) Ma J, Meng X, Kang SY, Zhang J, Jung HW, Park YK. Regulatory effects of the fruit extract of *Lycium chinense* and its active compound, betaine, on muscle differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019 Oct 1;118:109297. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109297.

46) Fromenty B, Roden M. Mitochondrial alterations in fatty liver diseases. *Journal of hepatology*. 2023 Feb 1;78(2):415-29. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.09.020.

نسخه پیش از انتشار ویدئو پیش نشده