

The Effect of High-Intensity Interval Training and Ginger Supplementation on AMPK/SREBP-1c/ACC Pathway Markers in Male Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease

Received:

2025/11/26

Accepted:

2026/02/11

Online ISSN

3060-7078

Yaser Fakhrai

PhD candidate in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Sadegh Cheragh Birjandi

Assistant Professo at Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Ali Yaghoubi

Assistant Professo at Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Najmeh Rezaeian

Assistant Professo at Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

Vahid Rezaei

Assistant Professo at Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

***Correspondence:**

Sadegh Cheragh Birjandi

Email:

s_birjandi2001@yahoo.com[https://orcid.org/0000-0001-](https://orcid.org/0000-0001-6898-6804)[6898-6804](https://orcid.org/0000-0001-6898-6804)**ABSTRACT****Introduction:**

The AMPK/SREBP-1c/ACC signaling pathway plays a key role in regulating lipid metabolism and reducing lipid accumulation. The present study aimed to investigate the effects of high-intensity interval training (HIIT) and ginger supplementation on markers of the AMPK/SREBP-1c/ACC signaling pathway in male rats with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Materials and Methods:

Twenty-five six-week-old male Wistar rats, weighing 156.98 ± 7.82 g, were randomly selected for this study. Following an acclimatization period, 20 rats were fed a high-fat diet for 12 weeks to induce nonalcoholic fatty liver disease, while five rats served as the healthy control group and were maintained on a standard diet. After confirmation of NAFLD induction, the animals were divided into five groups: healthy control, disease control, HIIT, ginger supplementation, and combined HIIT plus ginger supplementation.

The intervention protocol was conducted for eight weeks. Ginger supplementation was administered daily, while the HIIT protocol was performed five days per week. Serum levels of liver enzymes, including alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), were measured to confirm disease induction. Real-time PCR was used to assess the gene expression levels of AMP-activated protein kinase (AMPK), sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c), and acetyl-CoA carboxylase (ACC). One-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's post hoc test, was used to determine differences among groups. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results:

The expression level of the AMPK gene was significantly lower in the disease control group than in the healthy control group ($p = 0.001$). In contrast, AMPK gene expression was significantly increased in all intervention groups compared with the disease control group ($p = 0.001$).

Similarly, the expression levels of the SREBP-1c and ACC genes were significantly higher in the disease control group than in the healthy control group ($p = 0.001$). However, the expression of both genes was significantly reduced in all intervention groups compared with the disease control group ($p = 0.001$). Comparisons among the three intervention groups revealed no statistically significant differences in the expression changes of any of the genes examined ($p > 0.05$).

Conclusion:

Based on the findings of this study, high-intensity interval training and ginger supplementation may help reduce hepatic lipid accumulation in rats with nonalcoholic fatty liver disease by regulating the AMPK/SREBP-1c/ACC signaling pathway. These findings suggest that HIIT and ginger supplementation may represent potential nonpharmacological strategies for improving lipid metabolism and managing NAFLD.

Keywords:

AMP-activated protein kinase; sterol regulatory element-binding protein-1c; acetyl-CoA carboxylase; high-intensity interval training; ginger; nonalcoholic fatty liver disease

Extended Abstract

Introduction:

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), recently redefined as metabolic dysfunction–associated steatotic liver disease (MASLD), is one of the most common liver diseases worldwide. It is characterized by fat accumulation in the liver, inflammation, fibrosis, and, in advanced cases, cirrhosis and potential progression to liver cancer (Liu & Park, 2024).

AMPK is a key regulator of cellular energy homeostasis. One of its major mechanisms involves the inhibition of SREBP processing, including SREBP-1c, which plays a central role in regulating lipid synthesis (Zhai et al., 2023). Several studies have suggested that activation of AMPK, along with inhibition of the transcription factor SREBP-1 and the enzyme acetyl-CoA carboxylase (ACC), may effectively improve hyperlipidemia. AMPK inactivates ACC through phosphorylation (J. Bai et al., 2022). Studies also indicate that activated AMPK inhibits ACC activity and reduces SREBP-1c expression. This process decreases the synthesis of fatty acids and cholesterol and ultimately ameliorates hepatic steatosis by suppressing hepatic lipogenesis (Yan, Li, Li, Yao, & Zhao, 2024).

High-intensity interval training (HIIT), characterized by short, repeated bouts of intense exercise interspersed with recovery periods, is an efficient and attractive alternative to continuous moderate-intensity exercise. It can produce benefits comparable to those of aerobic exercise in less time and has been shown to effectively reduce hepatic steatosis (Fu et al., 2025).

Ginger is a medicinal plant widely recognized for its use in traditional medicine. It has been used to manage digestive disorders and excess body weight and has demonstrated antidiabetic and hepatoprotective properties (P. S. Ghoreishi et al., 2024).

Given the increasing prevalence of NAFLD and the limitations of current therapeutic approaches, there is an urgent need to identify effective and low-cost management strategies. Therefore, this study aimed to investigate the combined effects of high-intensity interval training and ginger supplementation on the AMPK/SREBP-1c/ACC pathway and to explore their potential as a novel, evidence-based therapeutic approach.

Methodology:

This experimental study was conducted using an animal model. Twenty-five six-week-old male Wistar rats, weighing 156.98 ± 7.82 g, were obtained from the Razi Vaccine and Serum Research Institute in Mashhad. The animals were housed under standard laboratory conditions (22 ± 3 °C with a 12-hour light/dark cycle) and were provided with ad libitum access to food and water in accordance with ethical guidelines for the care of laboratory animals.

Following a one-week acclimatization period, five rats were randomly assigned to the healthy control group and maintained on a standard diet throughout the study. NAFLD was induced in the remaining rats by administering a high-fat diet consisting of 60% fat, 20% carbohydrate, and 20% protein for 12 weeks. Successful disease induction was confirmed by measuring liver enzyme levels, with a significant increase serving as an inclusion criterion.

Furthermore, because the study aimed to investigate the independent and combined effects of exercise training and ginger supplementation, the intervention groups continued to receive the high-fat diet until the end of the experimental period (Fatemi, Cheragh, & Kheyrandish, 2025). Following successful induction of NAFLD, the rats were randomly assigned to one of four experimental groups ($n = 5$): (1) HFD-Control, which remained on a high-fat diet without intervention; (2) HFD-Exercise, which underwent an eight-week high-intensity interval training (HIIT) program; (3) HFD-Ginger, which received ginger supplementation; and (4) HFD-Combination, which received both HIIT and ginger supplementation.

The HIIT protocol was performed five days per week for eight weeks, while the HFD-Control and

HFD-Ginger groups remained sedentary. All experimental procedures were approved and conducted in accordance with the ethical guidelines established by the Vice Chancellor for Research of Islamic Azad University, Bojnourd Branch (Ethics Code: IR.IAU.BOJNOURD.REC.1404.013).

Results:

The results demonstrated a significant upregulation of AMPK gene expression in all intervention groups compared with the disease control group ($p = 0.001$). The disease control group, in turn, exhibited significantly lower AMPK expression than the healthy control group ($p = 0.001$).

Consistent with this pattern, the expression levels of the SREBP-1c and ACC genes were significantly downregulated in all treatment groups compared with the disease control group ($p = 0.001$). In contrast, the disease control group showed significantly higher expression of these genes than the healthy control group ($p = 0.001$).

Notably, comparisons among the three intervention groups revealed no statistically significant differences in the expression changes of any of the genes examined ($p > 0.05$).

Discussion:

Disruptions in lipid metabolism play a fundamental role in the pathogenesis and progression of liver diseases, including nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcoholic fatty liver disease (AFLD). The AMPK signaling pathway, as a central regulator of lipid metabolism, represents a promising therapeutic target for these conditions.

Activation of AMPK inhibits the expression of key lipogenic factors, such as SREBP-1c and ACC, thereby reducing the synthesis of fatty acids and cholesterol. Experimental studies have shown that enhanced AMPK activity can alleviate the severity of fatty liver disease in animal models of obesity, type 2 diabetes, and insulin resistance. Furthermore, natural AMPK agonists have demonstrated potential benefits in ameliorating fatty liver disease by regulating lipid metabolism, reducing inflammation, and mitigating oxidative stress in hepatocytes.

Consequently, targeting the AMPK signaling pathway may represent a promising therapeutic strategy for the prevention and treatment of fatty liver and other related liver disorders (Fang et al., 2022).

تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل‌سازی زنجبیل بر شاخص‌های مسیر AMPK/SREBP-1c/ACC در موش‌های نر صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی

چکیده

تاریخ ارسال:

۱۴۰۴/۰۹/۰۵

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۱۱/۲۲

شاپا الکترونیکی

۳۰۶۰-۷۰۷۸

مقدمه:

مسیر سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c/ACC با مهار سنتز چربی، نقش کلیدی در کاهش تجمع لیپیدهای کبدی ایفا می‌کند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل‌سازی زنجبیل بر شاخص‌های مسیر AMPK/SREBP-1c/ACC در موش‌های نر صحرایی مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود.

روش تحقیق:

۲۵ سر موش نر صحرایی بالغ نژاد ویستار با سن شش هفته و با دامنه وزنی $182 \pm 98/156$ گرم، به طور تصادفی انتخاب شدند، و ۲۰ سر از آن‌ها برای القای کبدچرب غیرالکلی، به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند، سپس به پنج گروه کنترل سالم، کنترل بیمار، تمرین، مکمل زنجبیل و تمرین+مکمل زنجبیل تقسیم شدند. پس از تأیید تشخیص ابتلا به کبد چرب غیرالکلی، پروتکل مداخله‌ای (شامل مصرف روزانه مکمل زنجبیل و انجام تمرین تناوبی شدید به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته) اعمال گردید. برای ارزیابی اثر این مداخله، سطح سرمی آنزیم‌های کبدی (ALT, AST)، قبل و پس از دوره مورد سنجش قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK)، عنصر تنظیمی استرول- C۱ (SREBP-1c) و آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز (ACC) از روش Real Time-PCR استفاده شد. از روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی جهت تعیین اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری $p \leq 0/05$ استفاده شد.

یافته‌ها:

بر اساس نتایج، سطح بیان ژن AMPK در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش چشمگیری نشان داد ($p=0/001$). همچنین، بیان این ژن در تمام گروه‌های تحت مداخله، نسبت به گروه کنترل بیمار، به‌طور معناداری افزایش یافت ($p=0/001$). به‌طور همسو، سطح بیان ژن‌های SREBP-1c و ACC در گروه کنترل بیمار نسبت به گروه کنترل سالم افزایش واضحی نشان داد ($p=0/001$). همچنین، در تمام گروه‌های درمانی، بیان این ژن‌ها در مقایسه با گروه کنترل بیمار کاهش معناداری یافت ($p=0/001$). با این وجود، مقایسه بین سه گروه مداخله تفاوت معناداری را از نظر تغییرات بیان هیچ یک از ژن‌های مورد مطالعه نشان نداد ($p>0/05$).

نتیجه‌گیری:

بر اساس یافته‌های این پژوهش، ترکیب تمرینات تناوبی شدید و مکمل زنجبیل از طریق تنظیم مسیر سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c/ACC، به نظر می‌رسد که می‌تواند از تجمع چربی کبدی و عوارض سمی بیماری کبد چرب غیرالکلی پیشگیری کند.

واژگان کلیدی:

پروتئین کیناز فعال شده با AMP، عنصر تنظیمی استرول- C۱، آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز

یاسر فخرایی

دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

صادق چراغ بیرجندی

استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

علی یعقوبی

استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

نجمه رضائیان

استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

وحید رضایی

استادیار حرکات اصلاحی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

* نویسنده مسئول:

صادق چراغ بیرجندی

ایمیل:

s_birjandi2001@yahoo.com
<https://orcid.org/0000-0001-6898-6804>

مقدمه:

بیماری کبد چرب غیرالکلی^۱ (NAFLD) که اخیراً تحت عنوان بیماری کبد چرب غیرالکلی مرتبط با اختلال عملکرد متابولیک^۲ (MASLD) بازتعریف شده است، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های کبدی در سطح جهان محسوب می‌شود (۱). این بیماری با تجمع چربی در کبد، التهاب، فیبروز و در موارد پیشرفته با سیروز و احتمال پیشرفت به سرطان کبد همراه است، هدف از تغییر نام این بیماری به MASLD، انعکاس بهتر ماهیت چندعاملی آن و دربرگیری طیف وسیع‌تری از اختلالات متابولیک کبدی بوده است (۱). اگرچه NAFLD و MASLD از نظر تظاهرات بالینی و عوامل خطر مشترک زیادی برخوردارند، تفاوت‌های جزئی بین آن‌ها وجود دارد. در این مطالعه، ما از تعریف و اصطلاحات رایج‌تر NAFLD استفاده کرده‌ایم. بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، NAFLD تقریباً ۱۵ تا ۳۰ درصد از جمعیت بزرگسال جهان را تحت تأثیر قرار داده است و تأثیر قابل توجهی بر سلامت عمومی دارد (۱). درک عوامل ژنتیکی و محیطی مؤثر در بروز NAFLD، برای پیشگیری و درمان مؤثر این بیماری از طریق مداخلات هدفمند در جمعیت‌های پرخطر، از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی از جنبه‌های حیاتی در تعامل بین این عوامل، نقش پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP^۳ (AMPK) است (۱). این آنزیم به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی مسیرهای متابولیکی عمل می‌کند که از یک سو، سنتز لیپید در کبد را مهار می‌کند و از سوی دیگر، اکسیداسیون لیپیدها را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب به‌طور مؤثری توازن متابولیسم لیپیدی را برقرار می‌سازد (۱). AMPK نقش حیاتی در حفظ هموستاز انرژی سلولی و تنظیم سنتز لیپیدها از طریق مهار پردازش پروتئین‌های متصل‌شونده به عنصر تنظیمی استرول^۴ (SREBPs) از جمله زیرگونه SREBP-1c ایفا می‌کند. SREBP-1c به عنوان اصلی‌ترین زیرگونه SREBPs در کبد، فاکتور رونویسی کلیدی در فرآیند لیپوژنز محسوب می‌شود. اهمیت مسیر AMPK/SREBP-1c در بهبود استئاتوز کبدی به خوبی مورد تأیید قرار گرفته است. از سوی دیگر، استرس اکسیداتیو که حاصل عدم تعادل بین سیستم‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی است، با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل مهار می‌باشد (۲). بر اساس مطالعات متعدد، فعال‌سازی AMPK و مهار هر دو فاکتور رونویسی SREBP-1c و آنزیم استیل-کوآ کربوکسیلاز^۵ (ACC) می‌توانند در درمان هیپرلیپیدمی مؤثر باشند. AMPK از طریق فسفریله کردن ACC، موجب غیرفعال‌سازی این آنزیم می‌شود. ACC که مسئول کاتالیز تبدیل استیل-کوآ آنزیم^۶ A^۶ (استیل-کوآ) به مالونیل-کوآ^۷ است، که به عنوان آنزیم کلیدی و محدودکننده سرعت در سنتز چربی شناخته می‌شود. این آنزیم نقش حیاتی در متابولیسم اسیدهای چرب ایفا می‌کند و فعال یا غیرفعال شدن آن تأثیر مستقیمی بر تنظیم سنتز اسیدهای چرب دارد (۳). مطابق مطالعات، AMPK در حالت فعال می‌تواند از طریق کاهش بیان فاکتور رونویسی SREBP-1c، آنزیم ACC را مهار کند. این فرآیند به کاهش سنتز کلسترول و اسیدهای چرب منجر می‌شود و در نهایت با مهار لیپوژنز کبدی، استئاتوز کبدی را بهبود می‌بخشد (۴).

یان^۸ و همکاران (۲۰۲۴) در مطالعه‌ای نشان دادند که ایزوستریکتینین^۹ (محافظ کبدی) می‌تواند موجب بهبود قابل توجه وضعیت موش‌های مبتلا به بیماری MASLD شود. به باور این محققان، مکانیسم این بهبود ممکن است با تنظیم مسیر سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c/ACC مرتبط باشد (۴). بر اساس پژوهش بای^{۱۰} و همکاران (۲۰۲۲)، اکتاکوسانول^{۱۱} (کاهنده چربی)

¹ Nonalcoholic fatty liver disease

² Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease

³ AMP-activated protein kinase

⁴ Sterol regulatory element binding proteins

⁵ Acetyl-CoA carboxylase

⁶ Acetyl-coenzyme A

⁷ Malonyl-CoA

⁸ Yan

⁹ Isostrictinin

¹⁰ Bai

¹¹ Octacosanol

قادر است هیپرلیپیدمی ناشی از رژیم پرچرب^۱ (HFD) را در مدل حیوانی بهبود بخشد. به نظر می‌رسد مکانیسم کاهش چربی توسط این ترکیب از طریق تنظیم مسیر سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c/ACC صورت می‌پذیرد (۳).

در بیماران مبتلا به NAFLD، تمرینات ورزشی هوازی به عنوان بخش اصلی و تثبیت‌شده مدیریت بیماری شناخته می‌شود. این تمرینات با بهبود متابولیسم سوپستراها، کاهش استئاتوز کبدی و پایین آوردن سطح آلانین آمینوترانسفراز^۲ (ALT)، از اضافه‌بار مواد مغذی در کبد جلوگیری می‌کنند. تمرینات تناوبی شدید^۳ (HIIT) که شامل دوره‌های کوتاه و مکرر فعالیت بی‌هوازی شدید به همراه استراحت‌های با شدت پایین است، می‌تواند با کاهش زمان مورد نیاز برای دستیابی به اثرات مشابه ورزش هوازی، یک جایگزین جذاب باشد. این رویکرد کارآمد در کاهش استئاتوز کبدی مؤثر است و به سرعت به عنوان گزینه‌ای محبوب، جایگزین ورزش مداوم با شدت متوسط شده است. شواهد فزاینده حاکی از مزایای متعدد HIIT برای سلامت است. این نوع تمرین می‌تواند به سرعت گلیکوژن عضلات اسکلتی را تخلیه کند و با افزایش تعداد و فعالیت میتوکندری‌ها در این عضلات، نیازهای انرژی حین ورزش را تأمین نموده و در نتیجه سلامت و عملکرد متابولیک را ارتقا بخشد (۵). پون^۴ و همکاران (۲۰۲۴) نشان داده‌اند که، الگوهای ورزشی با شدت بالا، سلامت قلبی-متابولیکی را در افراد مبتلا به سندرم متابولیک بهبود می‌بخشد (۶). همچنین پترسن^۵ و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کرده‌اند که HIIT به طور مؤثر حساسیت به انسولین، حداکثر اکسیژن مصرفی (VO₂max) و ترکیب بدن را بدون تغییر پاسخ‌های متابولیک در افراد مبتلا به چاقی و دیابت نوع دو بهبود می‌بخشد (۷). با این حال، اثربخشی HIIT در درمان NAFLD هنوز به طور کامل مشخص نشده است (۵).

زنجبیل^۶ به عنوان یک گیاه دارویی با سابقه طولانی در طب سنتی، برای مدیریت اضافه‌وزن و اختلالات گوارشی به کار رفته و دارای خواص ضد دیابت و محافظت‌کننده از کبد شناخته می‌شود. مطالعات متعدد، اثرات مفید مکمل‌سازی زنجبیل را در درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله کبد چرب، دیس‌لیپیدمی، پرفشاری خون، چاقی و دیابت شیرین نشان داده‌اند. بر اساس پژوهش‌های پیشین، زنجبیل تأثیر مثبتی بر سطح گلوکز سرم و ذخیره گلیکوژن بافتی در مدل‌های حیوانی دیابت دارد. این اثرات از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک، بهبود مصرف گلوکز در بافت‌های محیطی و مهار گلوکونئوزنز اعمال می‌شود. همچنین با توجه به غنای زنجبیل از ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب، این گیاه به عنوان یک گزینه درمانی امیدوارکننده برای NAFLD مطرح است (۸). بر اساس مطالعه کشاورز و همکاران (۲۰۲۵)، هشت هفته تمرین عملکردی با شدت بالا (HIFT) - چه همراه با مکمل‌زنی زنجبیل و چه بدون آن - می‌تواند به افزایش معنادار سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص فشار اکسیداتیو در مردان مبتلا به NAFLD منجر شود (۹). در مقابل، زندی و عابدی (۲۰۲۲) گزارش کردند که مکمل زنجبیل به تنهایی و نیز همراه با هشت هفته تمرین هوازی، تأثیر معناداری بر آدیپوکاین گلیپیکان-۴^۷ و هپاتوکاین فتوئین-A^۸ موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD نداشته است (۱۰).

بررسی مطالعات پیشین حاکی از آن است که پژوهش‌های کمتری اثر ترکیبی HIIT و زنجبیل را بر نشانگرهای کبدی بررسی کرده‌اند و بیشتر مطالعات به تأثیر جداگانه‌ی این دو عامل پرداخته‌اند. همچنین، نتایج موجود در برخی موارد ناهمگون هستند (۱۱). بنابراین با توجه به شیوع روزافزون NAFLD و محدودیت‌های درمانی موجود، این مطالعه با بررسی همزمان تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل زنجبیل بر مسیر مولکولی AMPK/SREBP-1c/ACC، درصدد ارائه یک رویکرد درمانی کم‌هزینه

¹ High-fat diet² Alanine aminotransferase³ High-intensity interval training⁴ Poon⁵ Petersen⁶ Ginger (Zingiber officinale Roscoe)⁷ Glypican-4⁸ Fetuin-A

و مبتنی بر شواهد برای کنترل این بیماری می‌باشد.

روش تحقیق:

پژوهش حاضر از نوع تجربی و با استفاده از نمونه‌های حیوانی انجام شد. ۲۵ سر موش نر صحرایی نژاد ویستار شش هفته‌ای با وزن $182 \pm 7/98$ گرم از انستیتو سرم‌سازی رازی مشهد خریداری شدند. موش‌ها در شرایط استاندارد (دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا و مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. پس از یک هفته دوره آشناسازی و سازگاری با محیط، پنج موش به‌عنوان گروه کنترل سالم انتخاب شدند و در طول دوره پژوهش با رژیم غذایی استاندارد نگهداری شدند. برای القای NAFLD، موش‌های باقی‌مانده به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب (شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین) قرار گرفتند. برای اطمینان از ایجاد بیماری، سطح آنزیم‌های کبدی موش‌ها اندازه‌گیری شد و افزایش معنادار این آنزیم‌ها به‌عنوان معیار ورود به پژوهش در نظر گرفته شد (۱۲). آنزیم‌های کبدی، عمدتاً ALT و آسپاراتات آمینوترانسفراز^۱ (AST)، نشانگرهای زیستی غیرتهاجمی و ارزان قیمتی هستند که معمولاً برای غربالگری NAFLD استفاده می‌شوند (۱۳). همچنین، با توجه به هدف پژوهش که بررسی اثر مستقل تمرین ورزشی و مکمل زنجبیل بود، گروه‌های بیمار تا پایان دوره پژوهش تحت رژیم غذایی پرچرب باقی ماندند (۱۲).

موش‌های مبتلا به NAFLD به‌طور تصادفی در چهار گروه پنج‌تایی تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل بیمار ۲- گروه تمرین ۳- گروه مکمل زنجبیل ۴- گروه ترکیبی (تمرین + مکمل زنجبیل). موش‌های گروه‌های تمرین و ترکیبی، یک برنامه هشت‌هفته‌ای HIIT را پنج روز در هفته انجام دادند، در حالی که سایر گروه‌ها در هیچ برنامه ورزشی شرکت داده نشدند. کلیه مراحل کار با حیوانات مطابق با شیوه‌نامه اخلاقی و مجوز معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد، با کد اخلاق IR.IAU.BOJNOURD.REC.1404.013 انجام شد.

برنامه تمرین تناوبی شدید:

در هفته اول، موش‌های صحرایی به مدت پنج جلسه (هر جلسه ۱۰ تا ۱۵ دقیقه) و با سرعت ۱۰-۶ متر بر دقیقه روی نوارگردان دویدند تا با شرایط تمرین آشنا شوند. برای تعیین شدت تمرین، آزمون حداکثر سرعت دویدن به روش غیرمستقیم روی نوارگردان انجام شد. پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه سه صدم متر بر ثانیه افزایش یافت تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به ادامه دویدن نباشند. این سرعت به عنوان سرعت بیشینه ثبت شد. با توجه به همبستگی بالا بین سرعت دویدن روی نوارگردان و VO_{2max} در موش‌ها، برنامه تمرین بر اساس درصدی از سرعت بیشینه طراحی شد. برنامه HIIT به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته با دو روز استراحت در وسط و پایان هفته اجرا شد. در هفته اول، تمرین شامل هفت تکرار یک‌دقیقه‌ای با شدت ۷۵ درصد سرعت بیشینه (معادل ۳۰ متر در دقیقه) و استراحت فعال با سرعت ۱۵ متر در دقیقه بود. شدت تمرین به تدریج افزایش یافت و در هفته‌های دوم، سوم و چهارم به ترتیب به ۸۰ درصد، ۸۵ درصد و ۹۰ درصد سرعت بیشینه رسید و این شدت تا پایان هفته هشتم حفظ شد (جدول ۱). هر جلسه تمرین با گرم کردن (۳ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه + دو دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه) آغاز و با سرد کردن (یک دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه + دو دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه) به پایان رسید (۱۴).

¹ Aspartate aminotransferase

جدول ۱. پروتکل تمرینات تناوبی شدید

Table 1. High-intensity interval training protocol

هفته Week 8	هفته Week 7	هفته Week 6	هفته Week 5	هفته Week 4	هفته Week 3	هفته Week 2	هفته Week 1		
9	9	9	9	9	8	8	7	Number of intervals	
1	1	1	1	1	1	1	1	Interval duration (minutes)	تناوب شدید High-frequency
38	38	38	38	38	34	32	30	Speed (m/min)	
1	1	1	1	1	1	1	1	مدت زمان (دقیقه) Duration (minutes)	استراحت فعال
21	21	21	21	21	19	17	15	سرعت (متر بر دقیقه) Speed (m/min)	Active Rest between intervals

ریزوم تازه گیاه زنجبیل با شماره هرباریوم ۲۴۹۹۹ پس از خریداری شسته شد و به قطعات کوچک خرد گردید. قطعات خردشده پس از خشک شدن در محیط مناسب، آسیاب شده و به پودر تبدیل گردید. سپس پودر به دست آمده در اتانول ۷۰ درصد ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. پس از این مدت، محلول از طریق کاغذ صافی فیلتر شد. پس از تبخیر حلال اتانول و خشک شدن باقیمانده توسط دستگاه روتاری اواپراتور، عصاره نهایی در شیشه‌های تیره و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت، عصاره زنجبیل با روش گاواژ به موش‌های صحرایی مورد مطالعه خورانده شد (۱۵). مکمل زنجبیل بلافاصله پس از تمرین ورزشی مصرف شد، چرا که این مکمل از جمله موادی است که در فرآیند بازیابی و بازسازی بدن پس از تمرین نقش دارد (۱۶).

پس از اعمال متغیرهای مستقل، تمامی نمونه‌ها تحت شرایط کاملاً یکسان و استاندارد (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) به منظور حذف اثرات حاد تمرین و مکمل، با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بافت کبد بلافاصله پس از جداسازی، وزن‌کشی و شست‌وشو با سالین، به سرعت در نیتروژن مایع قرار داده شد و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری گردید (۱۷). برای جمع‌آوری نمونه‌های خونی، سطوح آنزیم‌های ALT، AST و گلوکز با استفاده از کیت‌های تجاری و به روش کالریمتریک توسط دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شد. همچنین، مقادیر انسولین با روش الایزا و با استفاده از کیت سنجش بیولوژیکی با حساسیت ng/ml 0/023 اندازه‌گیری گردید. در نهایت، برای ارزیابی مقاومت به انسولین از مدل HOMA-IR و بر اساس فرمول استاندارد آن استفاده شد (۱۲).

$$\text{HOMA-IR} = (\text{glucose in mmol/L} \times \text{insulin in mIU/mL}) / 22.5$$

ابتدا طراحی پرایمرها انجام شد، سپس RNA کل از بافت‌ها با روش تیزاول استخراج و خالص‌سازی گردید. برای این منظور، ۲۰ میلی گرم از بافت با اسکالپر استریل خرد شده و در میکروتیوب حاوی محلول تیزاول قرار داده شد RNA استخراج‌شده به کمک کیت سنتز cDNA به DNA مکمل (cDNA) تبدیل شد. سپس، cDNA سنتز شده با استفاده از مخلوط واکنش SYBR Green (شرکت Thermo Scientific, USA) و پرایمرهای ویژه (جدول ۲) در واکنش Real-time PCR تکثیر گردید. واکنش‌های Real-time PCR در دستگاه مربوطه با پروتکل حرارتی زیر انجام شد: مرحله اول: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه (فعالیت آنزیم)، به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل: دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال پرایمر در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه.

برای محاسبه سطح بیان ژن‌های مورد مطالعه از روش مقایسه چرخه آستانه (CT) و برای نرمال‌سازی از ژن مرجع β -actin استفاده شد. مقادیر ΔCt از رابطه $\Delta Ct = Ct - (Ct \text{ مرجع})$ محاسبه گردید. سپس تغییرات بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه و بین گروه‌ها مقایسه شد (۱۷). روش محاسبه و استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ادامه بیان شده است (۱۸).

میزان تغییرات ژن هدف در گروه تمرین ورزشی نسبت به گروه کنترل $\Delta\Delta Ct =$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{گروه تمرین ورزشی}} - \Delta Ct_{\text{گروه کنترل}}$$

$$\Delta Ct_{\text{گروه تمرین ورزشی}} = (Ct_{\text{ژن هدف}} - Ct_{\text{مرجع}})$$

$$\Delta Ct_{\text{گروه کنترل}} = (Ct_{\text{ژن هدف}} - Ct_{\text{مرجع}})$$

جدول ۲. مشخصات پرایمرهای ژن

Table 2. Characteristics of gene primers

نام ژن	پرایمر پیش رو	پرایمر معکوس
Gene Names	Forward primer	Reverse primer
β -actin	TGCACCACCAACTGCTTAGC	GGATGCAGGGATGATGTTCT
AMPK	GACCATTGGCTGCGCTAACCC	GGGAAGGGTAGTCATGCTAAGTGCC
SREBP-1c	AGTCAGCTTGCGAAGGCAGATCCCCG	GTGACCAGCACAGCCCAGAAGAGG
ACC	CGCGAGTACAACCTTCTTGC	ATACCCACCATCACACCCTG

در آمار توصیفی، میانگین و انحراف استاندارد متغیرها گزارش شد و به منظور بررسی مفروضات نرمال بودن و همگنی واریانس‌ها، به ترتیب از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و لون استفاده شد. در آمار استنباطی نیز برای بررسی و تجزیه و تحلیل فرضیه‌های تحقیق، از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون فرضیه‌ها با سطح معنی‌داری $p < 0/05$ انجام گرفت. پس از جمع‌آوری داده‌ها و ورود اطلاعات به نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۷، داده‌های خام مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها:

وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف در جدول ۳ و مقادیر انسولین، گلوکز، مقاومت به انسولین و آنزیم‌های کبدی در جدول ۴ ارائه شده است.

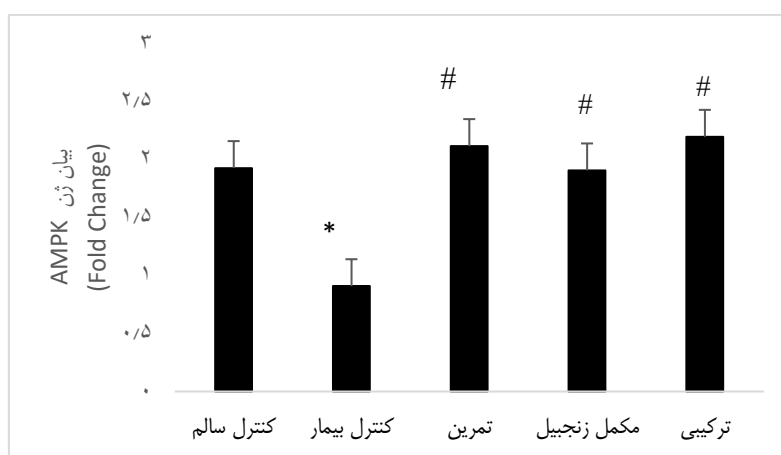
Table 3. Mean weight of rats (grams) in different groups at three stages: before and after NAFLD induction, and at the end of the protocol

انتهای پروتکل End of Protocol	NAFLD After NAFLD Induction	NAFLD Before NAFLD Induction	Groups
275.50 ± 13.43	222.63 ± 15.711	158.88 ± 19.49	Healthy Control
314.87 ± 12.24	254.50 ± 15.09	153.63 ± 15.87	Disease Control
283.50 ± 18.37	260.38 ± 18.02	157.00 ± 18.12	Exercise
298.00 ± 16.86	267.50 ± 18.71	154.75 ± 17.00	Ginger Supplement
265.38 ± 12.27	251.13 ± 17.32	160.63 ± 17.94	Combination (Exercise + Ginger Supplement)

جدول ۴. مقادیر انسولین، گلوکز، مقاومت به انسولین و آنزیم‌های کبدی
Table 4. Values of Insulin, Glucose, Insulin Resistance and Liver Enzymes

انسولین (ng/ml) Insulin (ng/ml)	گلوکز (mg/dl) Glucose (mg/dl)	ALT (U/ml)	AST (U/ml)	مقاومت به انسولین (IR) Insulin Resistance (IR)	انسولین (ng/ml) Insulin (ng/ml)	گلوکز (mg/dl) Glucose (mg/dl)	ALT (U/ml)	AST (U/ml)
0.72 ± 0.37	115.04 ± 5.41	92.81 ± 8.75	145.28 ± 20.12	5.00 ± 0.95	1.28 ± 0.96	133.06 ± 11.48	93.55 ± 13.41	132.12 ± 17.06
1.76 ± 0.25	117.37 ± 9.93	87.51 ± 9.45	113.45 ± 12.41	4.00 ± 0.70	0.98 ± 0.25	130.79 ± 8.84	95.16 ± 14.18	142.23 ± 19.15
3.68 ± 1.81	167.01 ± 18.05	220.82 ± 27.80	341.10 ± 35.21	7.00 ± 4.31	3.68 ± 1.81	167.01 ± 18.05	220.82 ± 27.80	341.10 ± 35.21
5.00 ± 0.70	130.79 ± 8.84	95.16 ± 14.18	142.23 ± 19.15	5.00 ± 0.70	0.98 ± 0.25	130.79 ± 8.84	95.16 ± 14.18	142.23 ± 19.15
5.10 ± 1.23	133.06 ± 11.48	93.55 ± 13.41	132.12 ± 17.06	5.10 ± 1.23	1.28 ± 0.96	133.06 ± 11.48	93.55 ± 13.41	132.12 ± 17.06
5.00 ± 0.95	115.04 ± 5.41	92.81 ± 8.75	145.28 ± 20.12	5.00 ± 0.95	0.72 ± 0.37	115.04 ± 5.41	92.81 ± 8.75	145.28 ± 20.12

نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن AMPK پس از هشت هفته HIIT و مصرف مکمل زنجبیل، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0/001$). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، سطح بیان ژن AMPK در گروه کنترل بیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل سالم بود ($p=0/001$). همچنین، سطح بیان این ژن در گروه‌های تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی (تمرین + مکمل زنجبیل) به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بیمار مشاهده شد ($p=0/001$). علاوه بر این، بین گروه‌های کنترل سالم، تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی از نظر سطح بیان ژن AMPK تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/09$).



نمودار ۱. بیان ژن AMPK (Fold Change) در گروه‌های مورد بررسی

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل بیمار؛ سطح معنی‌داری $p \leq 0/05$

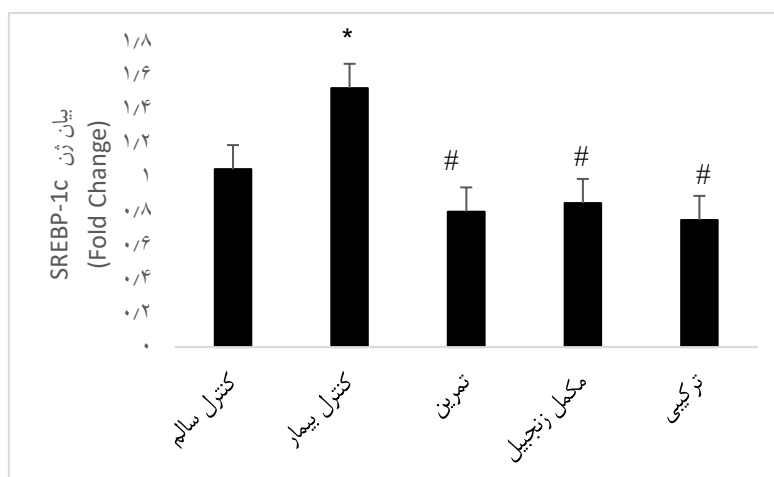
Figure 1. Gene expression of AMPK (Fold Change) in the studied groups .

*Significant difference compared to the healthy control group ;

#Significant difference compared to the diseased control group ;

Significance level $p \leq 0.05$

همچنین، نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن SREBP-1c پس از هشت هفته HIIT و مصرف مکمل زنجبیل، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0/001$). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، سطح بیان ژن SREBP-1c در گروه کنترل بیمار به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود ($p=0/001$). همچنین، سطح بیان این ژن در هر سه گروه تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی (تمرین + مکمل زنجبیل) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بیمار مشاهده شد ($p=0/001$). علاوه بر این، بین سطوح بیان ژن SREBP-1c در گروه کنترل سالم با گروه‌های تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/12$).



نمودار ۲. بیان ژن SREBP-1c (Fold Change) در گروه‌های مورد بررسی

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل بیمار؛ سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$

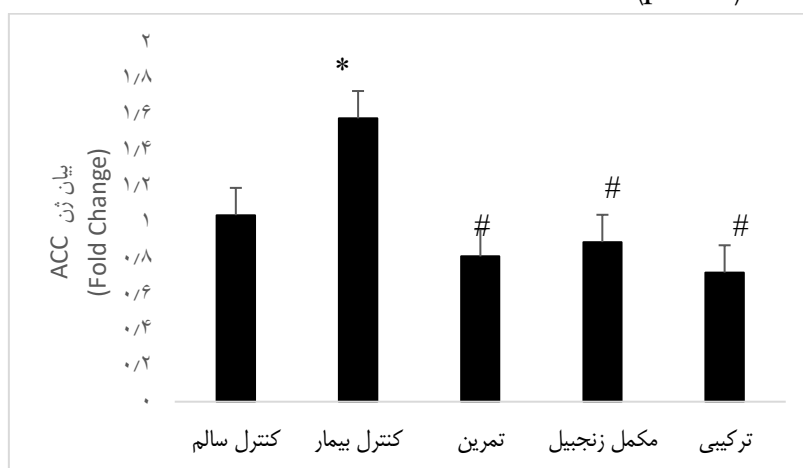
Figure 2. Gene expression of SREBP-1c (Fold Change) in the studied groups .

*Significant difference compared to the healthy control group ;

#Significant difference compared to the diseased control group ;

Significance level $p \leq 0.05$

در انتها، نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد که بین گروه‌های پژوهش حاضر در مورد بیان ژن ACC پس از هشت هفته HIIT و مصرف مکمل زنجبیل، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=0.001$). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، سطح بیان ژن ACC در گروه کنترل بیمار به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم بود ($p=0.001$). همچنین، سطح بیان ژن ACC در هر سه گروه تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی (تمرین + مکمل زنجبیل) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بیمار مشاهده شد ($p=0.001$). علاوه بر این، بین سطوح بیان ژن ACC در گروه کنترل سالم با گروه‌های تمرین، مکمل زنجبیل و ترکیبی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0.08$).



نمودار ۳. بیان ژن ACC (Fold Change) در گروه‌های مورد بررسی

* تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم؛ # تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل بیمار؛ سطح معنی‌داری $p \leq 0.05$

Figure 3. Gene expression of ACC (Fold Change) in the studied groups .

*Significant difference compared to the healthy control group ;

#Significant difference compared to the diseased control group ;

Significance level $p \leq 0.05$

بحث:

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل‌سازی زنجبیل بر شاخص‌های مسیر AMPK/SREBP-1c/ACC در موش‌های صحرایی نر مبتلا به کبد چرب غیرالکلی بود، که نتایج آماری نشان داد در گروه کنترل بیمار نسبت به کنترل سالم، بیان ژن AMPK کاهش و بیان ژن‌های SREBP-1c و ACC افزایش معناداری داشت. تمامی مداخلات (درمانی) توانستند این الگو را به‌طور معکوس و معناداری اصلاح کنند.

اختلالات متابولیسم لیپید از عوامل اصلی بروز و پیشرفت بیماری‌های کبدی از جمله NAFLD و کبد چرب الکلی^۱ (AFLD) هستند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که مسیر سیگنالینگ AMPK با نقش کلیدی که در تنظیم متابولیسم لیپید ایفا می‌کند، می‌تواند به بهبود این بیماری‌ها منجر شود. افزایش فعالیت AMPK از طریق مهار بیان ژن‌های کلیدی آدیپوژن مانند SREBP-1c و ACC، سنتز اسیدهای چرب و کلسترول را کاهش می‌دهد. همچنین آگونیست‌های طبیعی AMPK با تنظیم متابولیسم لیپید، کاهش التهاب و تعدیل استرس اکسیداتیو در سلول‌های کبدی، موجب بهبود بیماری کبد چرب (FLD) در مدل‌های حیوانی شده‌اند. مطالعات تجربی نیز تأیید کرده‌اند که افزایش بیان AMPK می‌تواند شدت بیماری کبد چرب را در موش‌های مبتلا به چاقی، دیابت نوع دو یا مقاومت به انسولین کاهش دهد. با توجه به پتانسیل درمانی اثبات‌شده‌ی تعدادی از فعال‌کننده‌های AMPK، امروزه فعال‌سازی این مسیر سیگنالینگ به عنوان یک هدف درمانی نویدبخش برای اختلالات کبدی در نظر گرفته می‌شود (۱۹). بر اساس تحقیقات، محور سیگنالینگ AMPK-SREBP-1c نقش کلیدی در تنظیم اختلالات متابولیسم لیپید ناشی از مصرف اتانول ایفا می‌کند، به‌طوری‌که عنوان شده است فعال‌سازی AMPK موجب مهار افزایش بیان پروتئین SREBP-1c در هر دو حالت استئاتوز کبدی حاد و مزمن ناشی از الکل می‌شود و در ادامه این فعال‌سازی همچنین منجر به بازیابی فسفوریلاسیون ACC و در نهایت، کاهش فعالیت و بیان ژن‌های درگیر در آدیپوژن^۲ می‌گردد (۲۰). بای^۳ و همکاران (۲۰۲۳) نشان داده‌اند که، هم ورزش هوازی (E) و هم مکمل ویتامین E (VE) به‌طور مؤثری موجب بهبود NAFLD در موش‌ها شدند که این بهبودی با کاهش تجمع چربی کبدی، کاهش تورم هپاتوسیت‌ها و کاهش سطح تری‌گلیسیرید همراه بود. بیشترین اثر درمانی در گروه دریافت‌کننده درمان ترکیبی مشاهده شد. از نظر مکانیسم عمل، هر دو مداخله موجب فعال‌سازی مسیر AMPK و در نتیجه فسفوریلاسیون ACC شدند که به کاهش سنتز اسیدهای چرب منجر گردید. همچنین، بیان پروتئین SREBP-1 در تمام گروه‌های درمانی به‌ویژه در گروه ترکیبی (E+VE+HFD) کاهش معنی‌داری یافت (۲۱). بر اساس یافته‌ها، سطح بیان ژن AMPK در گروه کنترل بیمار کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان داد. همچنین، سطوح بیان این ژن در گروه‌های تحت مداخله شامل تمرین، مکمل زنجبیل و گروه ترکیبی، به‌طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل بیمار افزایش یافت.

همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، یو^۴ و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که ورزش با کاهش نسبت پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین^۵ (IGFBP5) به فاکتور رشد شبه انسولین^۶ (IGF-1) و فعال کردن مسیر AMPK، به بهبود

¹ Alcoholic fatty liver disease

² Adipogenesis

³ Bai

⁴ Yu

⁵ Insulin-like growth factor-binding protein 5

⁶ Insulin-like Growth Factor 1

NAFLD کمک می‌کند (۲۲). زو^۱ و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که، عصاره سیلفیوم پرفولیاتوم ^۲L (گیاه دارویی مؤثر بر کبد و تقویت جسمانی) از طریق فعال‌سازی مسیر AMPK، موجب کاهش تجمع لیپیدها در کبد موش‌های مبتلا به NAFLD می‌شود (۲۳). بر اساس یافته‌های لی و همکاران (۲۰۲۱)، ورزش با فعال‌سازی مسیر AMPK و تحریک لیپوفاژی، اختلالات متابولیک مرتبط با تجمع قطرات چربی را در NAFLD بهبود می‌بخشد (۲۴). بین^۳ و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان دادند که تتراهیدروپالماتین^۴ (ضداستاتوز) با تعدیل متابولیسم لیپیدها از طریق تنظیم محور سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c، استاتوز کبدی مرتبط با NAFLD را بهبود می‌بخشد (۲۵).

نتایج مطالعه استارگن و همکاران (۲۰۱۵) با یافته‌های پژوهش حاضر ناهمسو است. در مطالعه مذکور، تأثیر دو ماه تمرین تدریجی دویدن روی تردمیل (به مدت ۶۰ دقیقه در روز و پنج روز در هفته) بر سطح AMPK بافت قلب موش‌های صحرایی ماده بررسی شد و هیچ تغییر معناداری در میزان این شاخص پس از دوره تمرینی با شدت متوسط مشاهده نگردید (۲۶). این تفاوت نشان‌دهنده آن است که پارامترهای تمرین از قبیل شدت، مدت، نوع، تناوب و دوره بازیافت می‌توانند بر نتایج مطالعات تأثیر بگذارند. تمامی این فاکتورها قادرند سطوح انرژی و متابولیسم بدن را به طور معناداری تحت تأثیر قرار دهند (۲۷).

دیگر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطح بیان ژن SREBP-1c در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشته است. علاوه بر این، در تمام گروه‌های تحت مداخله (شامل گروه تمرین، گروه مکمل زنجبیل و گروه ترکیبی)، سطوح بیان این ژن کاهش قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل بیمار نشان داد.

همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، مملشی و همکاران (۲۰۲۴) در پژوهشی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی و مکمل‌دهی عصاره دارچین را بر بیان ژن SREBP-1c در بافت کبد موش‌های تغذیه‌شده با رژیم فروکتوزی بررسی کردند، و نتایج آن‌ها نشان داد که هر سه گروه مداخله (تمرین، عصاره دارچین و ترکیب تمرین با عصاره) در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری در سطح بیان این فاکتور رونویسی داشتند (۲۸). قریشی و همکاران (۲۰۲۴) نیز در مطالعه‌ای تأثیر تمرین هوازی و مکمل‌دهی کپسایسین^۵ را بر بیان ژن‌های لیپوژنیک در بافت کبد موش‌های صحرایی چاق بررسی کردند، و یافته‌های آنان حاکی از آن بود که ترکیب تمرین هوازی با مصرف کپسایسین منجر به کاهش معنادار بیان ژن SREBP-1c در گروه‌های مداخله در مقایسه با گروه کنترل چاق گردید (۲۹). مطالعه یو و همکاران (۲۰۲۵) تأیید می‌کنند که عصاره گل داوودی^۶ با مهار مسیر SREBP-1c/ACC α موجب کاهش سنتز لیپید می‌شود، که این همپوشانی یافته‌ها، مسیر مذکور را به عنوان هدفی امیدوارکننده برای توسعه راهبردهای درمانی جدید در MASLD معرفی می‌کند (۳۰). مسیر SREBP-1c/ACC α نقش محوری در تنظیم لیپوژنز نو^۷ (DNL) کبدی ایفا می‌کند، به‌طوری‌که در MASLD، افزایش بیان SREBP1c - که تحت تأثیر انسولین و گیرنده X کبدی α (LXR α)^۸ فعال می‌شود، منجر به افزایش بیان ACC1 به عنوان یکی از آنزیم‌های کلیدی پایین‌دست این مسیر می‌گردد، و این رویدادهای مولکولی در نهایت به تجمع چربی کبدی و بروز استاتوز منجر می‌شوند، بنابراین، فعال‌سازی بیش از حد مسیر SREBP-1c/ACC α از مکانیسم‌های مرکزی در پاتوژنز MASLD محسوب می‌شود (۳۰).

¹ Xu

² Silphium perfoliatum L

³ Yin

⁴ Tetrahydropalmatine

⁵ Capsaicin

⁶ Chrysanthemum morifolium extract

⁷ De novo lipogenesis

⁸ Liver X receptor α

بر خلاف نتایج پژوهش حاضر، یافته‌های مطالعه افتخارزاده و همکاران (۲۰۲۳) حاکی از آن بود که تمرینات هوازی منجر به افزایش معنادار بیان ژن SREBP-1c در عضله چهارسر ران موش‌های چاق ماده شده است (۳۱). به نظر می‌رسد تفاوت در محل اندازه‌گیری شاخص‌های لیپوژنیک و/یا نوع مدل حیوانی مورد استفاده، عامل این ناهمخوانی در نتایج باشد (۲۸). نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که سطح بیان ژن ACC در گروه کنترل بیمار در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش معنی‌داری داشته است. علاوه بر این، در تمام گروه‌های تحت مداخله (شامل گروه تمرین، گروه مکمل زنجبیل و گروه ترکیبی)، سطوح بیان این ژن کاهش قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل بیمار نشان داد.

دو ایزوform ACC با کاتالیز تبدیل استیل کوآ به مالونیل کوآ عمل می‌کنند. ACC1 در سیتوزول، سوبسترای مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب را تولید می‌کند، در حالی که ACC2 واقع در غشای میتوکندریایی، با تولید مالونیل کوآ، به صورت آلوستریک آنزیم کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز ۱ (CPT-1) را مهار نموده و در نتیجه ورود اسیدهای چرب به میتوکندری و بتا-اکسیداسیون آن‌ها را کاهش می‌دهد. این مکانیسم‌های متمایز، نقش محوری ACC را در تنظیم متابولیسم اسیدهای چرب (هم سنتز و هم تجزیه) نشان می‌دهند (۳۲). مطالعات پیش‌بالینی نشان می‌دهند که مهارکننده‌های دوگانه ACC1/2 به‌طور همزمان با کاهش التهاب کبدی، معکوس کردن روند فیروز و بهبود عملکرد کبد در مدل‌های NAFLD، اثرات درمانی قابل توجهی دارند (۳۲). همسو با یافته‌های حاضر، مطالعه خلیلی و همکاران (۲۰۲۰) هم افزایش معنادار بیان ژن ACC را در بافت چربی احشایی افراد چاق در مقایسه با افراد سالم ثبت کرده است (۳۳). مطابق بررسی‌های مطالعه برتا^۲ و همکاران (۲۰۲۵)، مهار کامل فعالیت ACC کبدی برای درمان بیماری کبد چرب و فیروز ضروری تشخیص داده شده است. با این حال، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مهار ACC1 به‌عنوان عامل اصلی بروز اختلالات ناخواسته متابولیک عمل می‌کند. در همین راستا، به نظر می‌رسد مهار انتخابی ACC2 همراه با مهار نسبی ACC1 می‌تواند در آینده به عنوان یک رویکرد درمانی اصلاح‌شده، همزمان با معکوس کردن روند بیماری کبد چرب، اختلالات متابولیک را نیز به حداقل برساند (۳۴). در ادامه، یافته‌های مطالعه ملکی و همکاران (۲۰۲۴) که با نتایج حاضر متفاوت است، نشان می‌دهد هر دو مداخله (ورزش هوازی و مکمل سبوس برنج)، چه به‌صورت جداگانه و چه ترکیبی، منجر به افزایش بیان ژن ACC در کبد موش‌های تحت رژیم پرچرب شده‌اند (۳۵).

همسو با یافته‌های پژوهش حاضر، نایی‌فر و قاسمی (۲۰۲۱) اثرات ضد اکسیدانی مصرف زنجبیل را در کنار تمرینات تناوبی شدید در مردان میانسال گزارش کرده‌اند (۱۱). همچنین، سلیمی صفار و اسمعیلی (۲۰۲۴) نشان دادند که مصرف مکمل زنجبیل طی تمرینات تناوبی شدید می‌تواند در کاهش آسیب و کوفتگی عضلانی ناشی از تمرینات HIIT در تکنوکاران زن جوان مؤثر باشد (۳۶). برخلاف یافته‌های حاضر، زندی و عابدی (۲۰۲۲) گزارش کردند که هیچ‌یک از مداخلات، اعم از مصرف مکمل زنجبیل به‌تنهایی یا هشت هفته تمرین هوازی (و حتی ترکیب آن دو)، تأثیر معناداری بر وضعیت کبد چرب غیرالکلی در مدل حیوانی نداشته است (۱۰). از جمله دلایل احتمالی این ناهمسوئی می‌توان به تفاوت در طول دوره مکمل‌گیری، زمان‌بندی مصرف مکمل نسبت به فعالیت، دوز مصرفی، نوع، میزان و کیفیت ترکیبات زنجبیل مورد استفاده، سطح آمادگی بدنی آزمودنی‌ها، جنس و گونه آن‌ها، و نیز عدم کنترل دقیق وضعیت تغذیه‌ای اشاره نمود (۳۷).

نتیجه‌گیری:

بر اساس داده‌های مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد ترکیب تمرینات تناوبی شدید (HIIT) و مکمل‌سازی زنجبیل می‌تواند با تعدیل

¹ Carnitine palmitoyltransferase 1

² Beretta

مسیر سیگنالینگ AMPK/SREBP-1c/ACC، از تجمع چربی کبدی و سمیت مرتبط با بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) پیشگیری کند. این یافته‌ها می‌تواند مبنای علمی مناسبی برای توسعه راهکارهای پیشگیرانه و درمانی NAFLD با استفاده از این دو مداخله فراهم نماید.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی در ارتباط با این مقاله ندارند.

تشکر و قدردانی

از تمامی همکاران و عزیزانی که در انجام این پژوهش، ما را یاری رساندند، صمیمانه سپاسگزاریم.

منابع:

1. Liu M, Park S. The role of PNPLA3 _rs738409 gene variant, lifestyle factors, and bioactive compounds in nonalcoholic fatty liver disease: a population-based and molecular approach towards healthy nutrition. *Nutrients*. 2024;16(8):1239.
2. Zhai M, Zhang C, Cui J, Liu J, Li Y, Xie K, et al. Electromagnetic fields ameliorate hepatic lipid accumulation and oxidative stress: potential role of CaMKK β /AMPK/SREBP-1c and Nrf2 pathways. *BioMedical Engineering OnLine*. 2023;22(1):51.
3. Bai J, Yang T, Zhou Y, Xu W, Han S, Guo T, et al. Octacosanol modifies obesity, expression profile and inflammation response of hepatic tissues in high-fat diet mice. *Foods*. 2022;11(11):1606.
4. Yan Q, Li C, Li J, Yao Y, Zhao J. Protective Effects of Isostrictiniin Against High-Fat, High-Sugar Diet-Induced Steatosis in MASLD Mice via Regulation of the AMPK/SREBP-1c/ACC Pathway. *Nutrients*. 2024;16(22):3876.
5. Fu J, Liu C, Yang L, Zhang B, Zhou R, Deng C, et al. Effect of high-intensity interval training on clinical parameters in patients with metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2025;37(7):789-98.
6. Poon ET-C, Wongpipit W, Li H-Y, Wong SH-S, Siu PM, Kong AP-S, et al. High-intensity interval training for cardiometabolic health in adults with metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Sports Medicine*. 2024;58(21):1267-84.
7. Petersen MH, de Almeida ME, Wentorf EK, Jensen K, Ørtenblad N, Højlund K. High-intensity interval training combining rowing and cycling efficiently improves insulin sensitivity, body composition and VO₂max in men with obesity and type 2 diabetes. *Frontiers in endocrinology*. 2022;13:1032235.
8. Ghoreishi PS, Shams M, Nimrouzi M, Zarshenas MM, Lankarani KB, Fallahzadeh Abarghoeei E, et al. The effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on non-alcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blinded placebo-controlled clinical trial. *Journal of Dietary Supplements*. 2024;21(3):294-312.
9. Keshavarz F, Anoushirvani S, Arazi H, Afroundeh R, Golpasandi H. The effect of HIFT with ginger extract supplementation on the levels of some antioxidant enzymes in men with non-alcoholic fatty liver. *Research in Exercise Nutrition*. 2025;3(3):12-1.
10. Zandi B, Abedi B. Effects of Aerobic Training with Ginger Consumption on Plasma Levels of Adipokine Glipican-4 and Hepatokine Fetuin- A in Rats with Non-alcoholic Fatty Livers. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2022;16(4):9-18.
11. Nayeibi far s, Ghasemi E. The Assessment of Changes in Liver Aminotransferases and Insulin Resistance Following 4 Weeks of High Intensity Interval Training and Ginger Supplementation in Active Middle Aged Men. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2021;28(1):106-14.
12. Fatemi MS, Cheragh BS, Kheyrandish A. The effect of High-intensity interval training with *Portulaca Oleracea* Extract Supplementation on sirtuin 6 and insulin resistance in rats with non-alcoholic fatty liver disease. 2025.
13. Abassi W, Ouerghi N, Hammami MB, Jebabli N, Feki M, Bouassida A, et al. High-intensity interval training reduces liver enzyme levels and improves MASLD-Related biomarkers in overweight/obese girls. *Nutrients*. 2025;17(1):164.

14. Farahnia M, Hosseinabadi MR, Zarei M, Soltani M. The effect of high intensity interval training with *Portulaca Oleracea* supplementation on FXR and SREBP-1c in the liver tissue of rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024;11(1):124-38.
15. Tavakoli P, Jafary H, Yaghmaei P. The effect of ginger extract and vitamin K on serum levels of liver enzymes in NMRI mice with non-alcoholic fatty liver. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2019;23(1):20-6.
16. Ramezani Vavdare F, Nazarali P, Shakibae A, Kazemi F. Effects of a period of moderate-intensity interval training (MIIT) with ginger supplementation on PGC-1 α and ATPIF1 gene expression in gastrocnemius muscle of aged male rats. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2023;7:240-9.
17. Kazemi M, Abdi A, Barari A, Mehrabani J. The effect of interval training and omega-3 on endoplasmic reticulum stress in the liver tissue of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. *Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch*. 2025;34(1):25-36.
18. Khalesi M. Effect of a period of swimming exercise on Sirt1 and FoxO3a genes expression in lung tissue of wistar rats. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2018;25(2):251-8.
19. Fang C, Pan J, Qu N, Lei Y, Han J, Zhang J, et al. The AMPK pathway in fatty liver disease. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:970292.
20. Li X, Zhang Y, Jin Q, Xia KL, Jiang M, Cui BW, et al. Liver kinase B1/AMP-activated protein kinase-mediated regulation by gentiopicroside ameliorates P2X7 receptor-dependent alcoholic hepatosteatosis. *British Journal of Pharmacology*. 2018;175(9):1451-70.
21. Bai Y, Li T, Liu J, Wang Y, Wang C, Ju S, et al. Aerobic exercise and vitamin E improve high-fat diet-induced NAFLD in rats by regulating the AMPK pathway and oxidative stress. *European Journal of Nutrition*. 2023;62(6):2621-32.
22. Yu Y, Zhu G, Zhang Z, Wang H, Zeng L, Xia J, et al. Exercise ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by reducing the IGFBP5 to IGF1 ratio to activate AMPK pathway. *Scientific Reports*. 2025;15(1):23083.
23. Xu J, Jia W, Zhang G, Liu L, Wang L, Wu D, et al. Extract of *Silphium perfoliatum* L. improve lipid accumulation in NAFLD mice by regulating AMPK/FXR signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology*. 2024;327:118054.
24. Li H, Dun Y, Zhang W, You B, Liu Y, Fu S, et al. Exercise improves lipid droplet metabolism disorder through activation of AMPK-mediated lipophagy in NAFLD. *Life sciences*. 2021;273:119314.
25. Yin X, Liu Z, Wang J. Tetrahydropalmitine ameliorates hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease by switching lipid metabolism via AMPK-SREBP-1c-Sirt1 signaling axis. *Phytomedicine*. 2023;119:155005.
26. Sturgeon K, Muthukumaran G, Ding D, Bajulaiye A, Ferrari V, Libonati JR. Moderate-intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte cross-sectional area. *Physiological reports*. 2015;3(5):e12406.
27. Aghaei Bahmanbeglou N, Sherafati Moghadam M, Amirahmadi M. The Effect of Ampk and P53 Proteins On Tor Pathway Following Endurance Training In The Left Ventricle Of The Heart Of Diabetic Rats By Streptozotocin And Nicotinamide. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2021;21(1):13-23.
28. Mamashli F, Farajtabar Behrestaq S, Askari B, taghipour A, Askari A. Effects of Eight Weeks of Intense Aerobic Training and Cinnamon Extract on Gene Expression of SREBP-1c and LXR α

- in the Liver Tissue of Rats Fed with Fructose Diets. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2024;19(3):11-20.
29. Ghoreishi F, Farajtabar Behrestaq S, Taghipoor asrami A, Habibian M. Effect of aerobic training and capsaicin on the expression of lipogenic genes SREBP-1c and FASN in liver tissue of obese rats. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(2):44-54.
 30. Yu W, Qiu J, Chen Y, Che X, Li X. Chrysanthemum morifolium extract improves metabolic dysfunction-associated fatty liver disease by regulating lipid metabolism. *Scientific Reports*. 2025;15(1):40069.
 31. Eftekharzadeh M, Atashak S, Azarbayjani MA, Moradi L, Rahmati-Ahmadabad S. The Effect of Aerobic Exercise on SREBP-1c Gene Expression in Skeletal Muscle in Obese Female Rats. *Thrita*. 2023;12(1):e138382.
 32. Hasanatuludhhiyah N, Mustika A, Kalanjati VP, Miftahussurur M, Uemura N. Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Pharmaceuticals*. 2025;18(9):1276.
 33. khalili E, Janat Alipour N, Meshkani R, Tolabi K, Emamgholipour S. FAS and ACC dysfunction in visceral Adipose Tissue. *Payavard Salamat*. 2020;14(2):96-107.
 34. Beretta M, Vancuylenburg CS, Shrestha R, Olzomer EM, Osborne B, Zhou M, et al. Isotype-selective roles of hepatic acetyl-CoA carboxylases in a mouse model of fatty liver disease. *Molecular Metabolism*. 2025:102264.
 35. Maleki S, Azarbayjani MA, Riyahi MS, Peeri M, Rahmati AS. The Effect of Aerobic Exercise and Ethanolic Extract of Rice Bran on The Expression of Acetyl-CoA Carboxylase and HMGCR Genes in the Liver Tissue of Rats Fed with a High-Fat Diet. *Health*. 2024;2(3):89-100.
 36. Salimi safar Z, Esmaeili M. The effect of 8 weeks HIIT training with ginger supplementation on IL-6 and PGE serum in young female taekwondo athletes. *Research in Sport Sciences Education (RISSE)*. 2024;2(2):43-50.
 37. abbaspour f, Mousavi sadati Sk, Behdari R. Effect of Endurance Training with Ginger Supplementation on CRP and TNF-a in Young Girls Aged 20 to 30. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2020;27(2):219-26.