مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۱۱-۱

اثر تمرین تناوبی همراه با مصرف بهارنارنج بر بیان ژن‌های AMPK و PI3K در کبد موش‌های صحرایی سالمند ماده

سپیده رضوی[۱]، پروانه نظرعلی[۲]، رستم علی زاده[۳]، نجمه رضایی نژاد[۴]

۱- کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء (س)، تهران، ایران
۲- نویسنده مسئول: استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه الزهراء (س)، تهران، ایران. پست الکترونیکی: p.nazarali@alzahra.ac.ir
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۴- دکتری فیزیولوژی ورزش، آموزش و پرورش منطقه یک تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۵

چکیده

سابقه و هدف: افزایش سن یک عامل خطر اصلی در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها، از جمله بیماری‌های متابولیک مرتبط با کبد است. هدف از این پژوهش بررسی اثر تمرین تناوبی همراه با مصرف بهارنارنج بر بیان ژن‌های AMPK و PI3K در کبد موش‌های صحرایی سالمند ماده بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی ماده سالمند (۱۶-۱۸ ماهه و وزن ۲۷۰-۳۲۰ گرم) در پنج گروه مساوی (۱) کنترل (۲) شم (نرمال سالین) (۳) بهارنارنج (۴) تمرین تناوبی هوازی (۵) تمرین تناوبی هوازی- بهارنارنج قرار گرفتند. تمرینات تناوبی با شدت ۸۵ درصد تا ۱۱۰ درصد VO_{2max} و سرعت ۲۵-۱۵ متر در دقیقه به مدت ۸ هفته اجرا شد. عصاره بهارنارنج (۳۰۰mg/kg/day) به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. بیان AMPK و PI3K بافت کبد به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان AMPK کبدی در گروه‌های بهارنارنج (P=۰/۰۱۴)، تمرین تناوبی هوازی (P=۰/۰۰۰۱) و تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج (P=۰/۰۰۰۱) نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. همچنین بین بیان PI3K کبدی در گروه تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج نسبت به گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱)، بهارنارنج (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی هوازی (P=۰/۰۱۳) بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف بهارنارنج به طور همزمان اثر مطلوبی بر بیان ژن‌های متابولیکی بافت کبد در شرایط سالمندی دارند؛ ولی با توجه به گستردگی مسیرهای متابولیکی پژوهش‌های بیشتری در ارتباط با اثر این دو مداخله نیاز است.

واژگان کلیدی: سالمندی، تمرین تناوبی شدید، بهارنارنج، کبد

• مقدمه

افزایش سن دوره‌ای از زندگی به شمار می‌رود که خطر بیماری‌های متابولیک مرتبط با کبد در آن افزایش می‌یابد. با توجه به نقش کبد در کنترل متابولیسم بدن شناختن عملکرد پروتئین‌هایی مانند پروتئین کیناز فعال‌شده توسط AMP (AMPactivated protein kinase) (AMPK) به عنوان یک محرک متابولیکی حائز اهمیت است (۱). علاوه بر این بررسی‌ها نشان می‌دهد که در سالمندی ریسک خطر ابتلا به بیماری‌های کبدی مرتبط با کبد در زنان بیشتر است (۲). افزایش سن، با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ROS (Reactive oxygen species)، اختلال در عملکرد پروتئین‌های متابولیکی مانند AMPK/Akt، گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ GSK-3β (Glycogen synthase kinase3) به سلول‌های بتای پانکراس آسیب وارد می‌کند که در انتها به نقص عملکرد انسولین منجر می‌شود (۳)، اما فعال سازی AMPK در کبد به تحریک اکسیداسیون اسیدهای چرب، مهار لیپوژنز، تولید گلوکز و سنتز پروتئین کمک می‌کند؛ بنابراین فعال‌سازی AMPK ممکن است از طریق سیگنالینگ و اثرات متابولیکی و بیان ژنی، یک استراتژی جدید برای مدیریت اختلالات متابولیک کبدی مرتبط با سالمندی فراهم کند (۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که فسفواینوزیتید-۳ کیناز PI3K

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

(Phosphoinositide 3-kinase - PI3K) خانواده‌ای از لیپیدها و پروتئین کینازها هستند که در سیگنال‌های درون‌سلولی منتقل می‌شوند و در تنظیم انواع گسترده‌ای از فرآیندهای بیولوژیکی ازجمله متابولیسم سلول نقش دارند (۵)، PI3K به‌عنوان پروتئین کلیدی در سیگنالینگ انسولین شناخته شده و با افزایش گلوکز مصرفی، سنتز گلیکوژن را به واسطه مهار GSK3β و فعال سازی Akt/PKB افزایش می‌دهد (۶).

از سویی با توجه به نیاز مبرم به ارائه راهکارهای غیر دارویی و غیر تهاجمی در پیشگیری و یا درمان بیماری‌های اختلال متابولیک در سالمندان، فعالیت‌های ورزشی به عنوان یکی از روش‌های مطلوب و کاربردی در سلامت سالمندان گزارش شده است (۷). فعالیت ورزشی یک عامل مهم در پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیک و اختلال کبدی است. کسب پرست و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که شش هفته تمرینات هوازی دویدن روی تریدمیل منجر به افزایش بیان AKT1/ PI3K و حساسیت انسولین در سلول‌های بافت کبدی موش‌های صحرایی نژاد ویستار چاق می‌شود (۸). همچنین Yi, و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تمرین مزمن موجب افزایش مقادیر AMPK کبدی در موش‌های صحرایی دیابتی گردید (۹). Bao و همکاران (۲۰۲۰) تنظیم افزایشی PI3K را پس از تمرین هوازی در موش‌های مسن را مشاهده کردند(۱۰). با این حال، نتایج Machrina و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که با توجه به نوع و شدت تمرین، بیان ژن mRNA AMPKα1 در گروه تمرین تداومی با شدت متوسط و ژن mRNA AMPKα2 در گروه تمرین شدید، بالاتر بود. انواع مختلف تمرینات هوازی با شدت متوسط تا شدید اثرات متفاوتی بر ژن های متابولیک کبد داشت (۱۱). همچنین تمرینات تناوبی روش نوینی از تمرینات ورزشی هستند که گزارش ها حاکی از اثرات مفید آن بر بهبود ترکیب بدنی در شرایط سالمندی (۷) و بهبود سیرتوئین‌ها به عنوان عاملی برای فعال‌سازی بیوژنز میتوکندریایی در کبد در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد (۱۲). با این حال مکانیسم سلولی مولکولی این نوع تمرین ورزشی در شدت‌های بالا بر محور AMPK و PI3K هنوز به خوبی شناخته نشده است.

همچنین علاوه بر تمرین‌های ورزشی، استفاده از برخی گیاهان دارویی به‌منظور ایجاد سازگاری‌های بهینه، می‌تواند در پیشگیری و کنترل بیماری در سالمندی نقش بسزایی ایفا کند. بهارنارنج ازجمله گیاهان دارویی می‌باشد که فلاونوئیدهای موجود در آن موجب بهبود شاخص‌های متابولیک می‌شود (۱۳). در این زمینه محققین نشان داده‌اند که مصرف بهار نارنج موجب بهبود متابولیسم چربی ها، کاهش میزان نکروز و آپوپتوز در بافت کبد متعاقب مسمومیت کبدی می‌گردد (۱۴). همچنین عصاره بهار نارنج و مواد مؤثره آن مانند p-Synephrine منجر به بهبود گلوکونئوژنز و کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کبد موش‌های صحرایی گردید (۱۵).

مطالعات نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی اثرات مطلوبی بر مسیرهای متابولیکی دارند و سازگاری‌های متفاوتی ایجاد می‌کنند؛ با این حال شرایط سالمندی به عنوان دوره‌ای پیش‌رونده بشمار می‌رود که اختلالات متابولیکی در این شرایط به طور روز شمار افراد را ناتوان می‌کند و کیفیت زندگی آنها را کاهش می‌دهد. علاوه بر این به نظر می‌رسد اخیراً توجه محققین حوزه تغذیه ورزشی به استفاده از گیاهان دارویی و آنتی اکسیدان‌های طبیعی برای اثر بخشی بیشتر در شرایط اختلالات متابولیکی جلب شده است. در این زمینه محققین اشاره نموده‌اند که تمرینات تداومی همراه با بهار نارنج اثر هم افزایی بر AMPK در بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند دارد (۱۶)؛ همچنین تمرینات استقامتی دارای اثر هم افزایی بر بهبود اتوفاژی و سنتز پروتئین در بافت عضله موش های صحرایی سالمند دارند (۱۷). همچنین ارجمندی و همکاران (۱۳۹۷) اثر مطلوب همزمان تمرینات ترکیبی و بهار نارنج را بر نیمرخ چربی زنان چاق را گزارش کرده‌اند.

با توجه به در دسترس بودن بهار نارنج به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و اطلاعات محدود در ارتباط اثر همزمان انواع تمرینات استقامتی همراه با این مکمل گیاهی بر ژن‌های حساسیت انسولینی، نتایج این مطالعه می‌تواند به کسب اطلاعات بیشتر و ارائه راهکارهای بالینی مطلوب‌تر در جامعه سالمندی منجر شود. از این رو تحقیق حاضر قصد دارد به بررسی اثر تمرین تناوبی همراه با مصرف بهارنارنج بر بیان ژن های AMPK و PI3K بافت کبد موش های صحرایی سالمند ماده بپردازد.

• مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه تجربی است که در آن امکان کنترل عوامل تأثیر گذار بر نتایج تحقیق بوده است. طرح تحقیق از نوع پس‌آزمون با گروه کنترل است. در این مطالعه تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده سالمند ۱۸-۱۶ ماه و میانگین وزن در محدوده ۲۷۰ الی ۳۲۰ گرم داشتند از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت خریداری و جهت سازگاری به مدت یک هفته در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی نگهداری

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

شـــدند. پس از طی دوره ســـازگاری موش‌های صـــحرایی به گروه‌های (۱) کنترل (C)، (۲) شـم/حلال بهار نارنج (Sh)، (۳) مصـــرف بهار نارنج (CA)، (۴) تمرین تناوبی هوازی (T) و (۵) تمرین تناوبی هوازی + بهار نارنج (T+CA) تق سیم شدند. این نکته قابل ذکر اســـت که گروه Sh به عنوان حلال بهار نارنج و همچنین تأثیر تزریق ع صاره به صورت درون صفاقی به مدت هشـــت هفته در نظر گرفته شـــد. همچنین براســـاس بیانیه ها سینکی در مطالعه بر روی حیوانات با توجه به حفظ زی ست و آسـایش حیوانات آزمایشـگاهی، در این مطالعه حداقل نمونه که جهت اجرا و نتیجه گیری صحیح مطالعه لازم بود، گزینش شـد. همچنین در طی مدت مطالعه شـرایط مناسـب تغذیه، چرخهٔ رو شنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی)، رطوبت ۵±۶۵ درصد و درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، دسـتر سـی آزادانه به آب و غذا رعایت شـد. علاوه بر رعایت شـرایط حمل و نقل، نگهداری و تغذیه مناسـب که ملزومات تحقیق ا ست، برای رعایت ا صول اخلاقی و به حداقل ر ساندن در حیوان ضمن رعایت دوز مناسب محلول کتامین و زایلازین، تزریق و جراحی توسط فرد متخصص صورت گرفت.

نحوه تهیه و مصرف بهارنارنج: جهت تهیه عصاره بهار نارنج، ابتدا مقدار ۵۰ گرم از نمونه پودر شـده گیاه مورد نظر توسـط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین و به بالن حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر متصل به کلونجر اضافه شد. عمل استخراج به مدت ۴ سـاعت انجام و اسـانس جمع‌آوری‌شـده، به‌وسـیله سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و ا سانس تهیه شده تا زمان اسـتفاده در فریزر ۲۰- درجه سـانتی‌گراد نگهداری شـد (۱۸). در این مطالعه، عصـاره بهار نارنج (۳۰۰mg/kg/day) به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۹، ۱۸).

پروتکل تمرین تناوبی هوازی: ابتدا برای آشـــنا ســـازی با نوارگردان موش‌های صـــحرایی به مدت یک هفته، ۵ دقیقه در روز با سرعت ۸ متر بر دقیقه، برای سه روز بر روی نوارگردان راه رفتند. در ادامه برای بدســـت آوردن ســـرعت بیشـــینه موش‌های صحرایی ابتدا برای مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه گرم کردند، سپس به ازای هر ۳ دقیقه دو متر به سرعت نوار گردان اضافه شد تا سرعت به ۱۸ متر بر دقیقه رسید، پس از آن به ازای هر ۲ دقیقه ۳ متر بر دقیقه به سـرعت موش‌های صحرایی افزوده شد تا موش‌های صحرایی به واماندگی بر سند. این نکته قابل ذکر است که واماندگی در موش‌های صحرایی به حالتی اطلاق گردید که موش‌های صـحرایی از فرط خسـتگی توان ادامه دویدن نداشته باشند و در فاصله یک دقیقه سه بار متوالی به انتهای نوارگردان برخورد نمایند، در ادامه پس از تعیین حداکثر سـرعت دویدن؛ گروه‌های تمرین تناوبی هوازی با شـدت ۸۵ تا ۱۱۰ درصـد VO_{2max} که معادل ۷ تلاش ۱ دقیقه ای و سـرعت ۳۱ متر بر دقیقه و اسـتراحت فعال بین اینتروال ها با ۶ تلاش و سـرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول انجام شد که تدریجا با افزایش متوسط ۲ متر بر دقیقه در هفته به ۱۰ تلاش ۱ دقیقه ای با سـرعت ۴۵ متر بر دقیقه و اسـتراحت فعال با ۹ تلاش ۱ دقیقه ای (بین اینتروال ها) با سرعت ۲۳ متر بر دقیقه در هفته ی هشتم رسید (۲۰).

روش نمو نه‌گیری با فت و ا ندازه‌گیری متغیر ها: پس از سازگار شدن نمونه‌ها با محیط آزمایشگاه و آ شنایی با نحوه راه رفتن و دو یدن روی نوار گردان و همچنین اع مال متغیر های م ستقل تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً م شابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جل سه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) پس از القای بیهوشی با تزریق داخل صـفاقی مخلوط کتامین ۱۰درصد و با دوز ۵۰ میلـی گـرم بـر کیلـوگرم و زایلازین ۲ درصـد و با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم (۲۱)، بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی توسط متخصصین از طریق بررسی تست‌های درد، حفره شکمی موش‌های صحرایی شکافته شد و بافت کبد به دقت جدا گردید، در ادامه بافت کبد به وسیله ترازوی کرن ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن گرد ید و برای بررســـی متغیر های بافتی م قدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کبد موش‌های صحرایی نمونه‌برداری شده و پس از ش ستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردیده و جهت انجام آزمایش های ژنتیک به آزمایشـــگاه انتقال داده شـــد. ا ندازه‌گیری بیان ژن AMPK و PI3K در بافت کبد به‌وســـیله تکنیک Real time–PCR ســـنجش و پس از کمی ســـازی مقادیر بیان ژن با اســـتفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ تجزیه و تحلیل شد.

پس از نمونه گیری از موش‌های صـحرایی بافت کبد آن‌ها خارج شد و تا زمان فرا ر سیدن انجام کار ا ستخراج RNA در فریزر منفی ۸۰ درجه نگه داری شـد. پس از آن برای بررسـی بیان ژن‌های اتوفاژی و التهابی ابتدا با ا ستفاده از کیت ستونی اسـتخراج RNA (FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit- Cat No: FATRK001) سـاخت کشـور هنگ‌کنگ، کل محتویات RNA سـلول (total RNA) اسـتخراج شـد. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول‌های حیوانی، از بین بردن دیواره‌ی سـلول ها با کمک یک بافر لیز کننده به نام RB Buffer می‌باشـد. 350µl از RB Buffer به نمونه (رسـوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد (از قبل به ازای هر ۱

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

میلی لیتر ۱۰ میکرولیتر β– mercaptoethanol به بافر ا ضافه شده ا ست) و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد Filter Column درون Collection Tube قرار گرفت و مخلوط نمونه به Filter Column انتقال داده شـد و با دور 14000 rpm به مدت ۲ دقیقه سـانتریفیوژگرد ید. بعد از سـانترفیوژ محلول روشـن از Collection Tube به یک تیوپ میکرو سانترفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم حجم آن یعنی 350µl اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید سپس به خوبی ورتکس شـد. ترکیب ابتدا به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ قرار گرفت. بعد از آن به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ قرار گرفت. در آخر به منظور از کار افتادن آنزیمRT ، تیوب‌های واکنش را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سـانتی گراد قرار دادیم. سـنتز cDNAطبق دسـتورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1621) تهیه گردید. جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR تمام پرایمرها توسـط نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی شـد و از ژن TBP (TATA box-binding protein) به عنوان کنترل داخلی اسـتفاده گردید (۲۳). تمام پرایمرها به‌صـورت اتصال اگزون- اگزون طراحی شد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به‌کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵ درصـد اسـتفاده شـد. تکثیر cDNA و مشـاهده باند مورد انتظار توسـط پرایمر اختصـاصـی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی می‌باشد. سپس برای هر یک از پرایمرها کارایی PCR اندازه‌گیری و منحنی استاندارد برای آن‌ها رسم گردید. توالی پرایمرهای مورداستفاده در جدول ۱ ذکر شده است.

روش آماری

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیر ها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات سطح بیان ژن گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای تغییرات درون‌گروهی و آزمون تعقیبی توکی برای بررسـی تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شـد. کلیه عملیات آماری و ترسـیم نمودار ها با نرم‌افزار های GraphPad Prism 8.3.2 به اجرا درآمد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای AMPK و PI3K به همراه ژن کنترل

Genes	Primer Sequences	Gene ID	Tm(°C)	Sizes (Bp)
TBP	Forward: 5'-GCGGGGTCATGAAATCCAGT -3' Reverse: 5'-AGTGATGTGGGGACAAAACGA -3'	117526	60	147
AMPK	Forward: 5'- ACTATCAAAGACATACGAGAGCA -3' Reverse: 5'- CTTGAGGGTCACCACTGTATAA -3'	78975	60	181
PI3K	Forward: 5'-AGAGTTTCCTGGGCATCAATAA -3' Reverse: 5'-CTAACGCAGACATCCTGGAAT-3'	298947	60	127

• یافته‌ها

ابتدا سـطوح وزن موش‌های صـحرایی در پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه‌ها در جدول ۲ ارائه‌شـده اسـت. در ادامه نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد بین میانگین تغییرات بیـان ژن AMPK (p=۰/۰۰۰۱ ؛ F=۱۴/۶۱۴)، PI3K (p=۰/۰۰۰۱؛ F=۱۴/۸۱) بافت کبدی در گروه های مختلف تمرین تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

نتایج آزمون تعقیبی توکی نشـان داد بیان AMPK بافت کبدی در گروه‌های بهارنارنج (p=۰/۰۱۴)، گروه تمرین تناوبی هوازی (p=۰/۰۰۱) و گروه تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج (p=۰/۰۰۱) نسـبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشـت. تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن AMPK بافت کبدی بین گروه های بهارنارنج، تمرین تناوبی هوازی و تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج مشاهده نشد (شکل ۱).

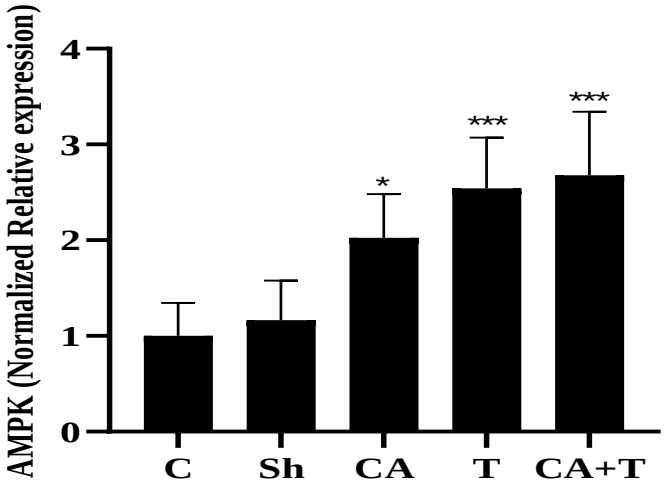
بیان PI3K بافت کبدی در گروه تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج نسـبت به گروه‌های کنترل (p=۰/۰۰۰۱)، بهارنارنج (p=۰/۰۰۰۱) و تمرین تنـاوبی هوازی (p=۰/۰۱۳) افزایش معنی‌داری داشـت. تفاوت معنی‌داری در میزان بیان ژن AMPK بافت کبدی بین سایر گروه‌ها مشاهده نشد (شکل ۲).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

جدول ۲. سطوح وزن موش‌های صحرایی در پیش آزمون و پس آزمون گروه‌ها

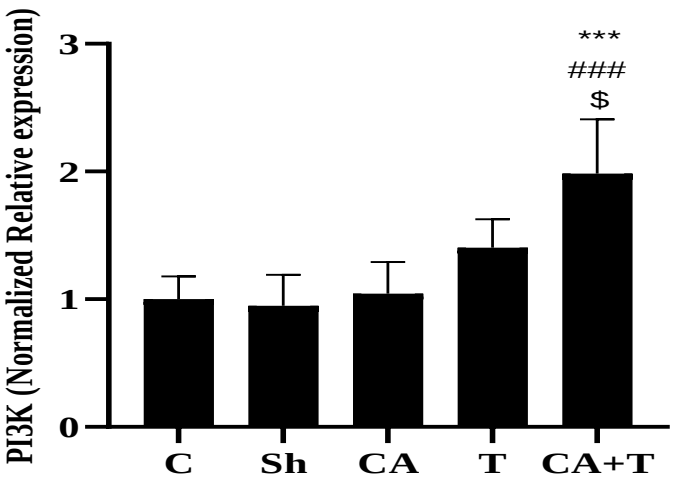
متغیر / گروه	وزن (گرم)		وزن کبد (گرم)
	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	
کنترل	۲۵۲/۷۴ ± ۲۶/۱۷	۲۸۱/۱۷ ± ۳۱/۷۷	۱۰/۲۰۴ ± ۰/۸۹
شم	۲۶۵/۴۵ ± ۱۷/۶۷	۲۶۱/۴۵ ± ۱۷/۶۷	۸/۵۴۷ ± ۲/۲۰
بهارنارنج	۲۸۸/۴۸ ± ۲۰/۸۵	۲۹۸/۵۲ ± ۲۰/۲۰	۸/۶۴۴ ± ۰/۹۶
تمرین تناوبی هوازی	۲۶۲/۸۷ ± ۱۳/۸۵	۲۳۸/۷۸ ± ۲۷/۰۸	۸/۸۳۴ ± ۱/۰۶
تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج	۲۸۶/۳۶ ± ۲۷/۵۴	۲۶۵/۴۸ ± ۳۵/۴۴	۸/۷۱۰ ± ۱/۱۲



شکل ۱. میانگین تغییرات بیان ژن AMPK بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند ماده در گروه‌های مختلف

C: گروه کنترل، Sh: گروه شم، CA: گروه بهار نارنج، T: تمرین تناوبی هوازی، CA+T: تمرین تناوبی هوازی+بهار نارنج

*(P≤۰/۰۵) و ***(P≤۰/۰۰۱) تفاوت معنی دار نسبت به گروه C و Sh



شکل ۲. میانگین تغییرات بیان ژن PI3K بافت کبد موش‌های صحرایی سالمند ماده در گروه‌های مختلف

C: گروه کنترل، Sh: گروه شم، CA: گروه بهار نارنج، T: تمرین تناوبی هوازی، CA+T: تمرین تناوبی هوازی+بهار نارنج

***(P≤۰/۰۰۱) تفاوت معنی دار نسبت به گروه C و Sh

(P≤۰/۰۰۱) تفاوت معنی دار نسبت به گروه CA

$ (P≤۰/۰۵) تفاوت معنی دار نسبت به گروه T

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

• بحث

یافته‌های پژوهش ما نشـــان می‌دهد بیان AMPK بافت کبدی در گروه های بهارنارنج، تمرین تناوبی هوازی و تمرین تناوبی هوازی - بهار نارنج نســـبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشـــت. بیان PI3K بافت کبدی در گروه تمرین تناوبی هوازی - بهارنارنج نســـبت به ســـایر گروه ها افزایش معنی‌داری نشـــان داد. یافته‌های مطالعه اخیر با نتایج برخی تحقیقات قبلی همخوان می‌باشـــد (۲۲، ۱۰-۸). از آنجایی که مطالعات قبلی بر روی نمونه‌های با اختلالات متابولیک همچون چاقی و دیابتی نوع ۲ انجام شده است، به نظر می‌رسد تمرین می‌تواند به بهبود شـاخص‌های متابولیک در نمونه‌های مبتلا به بیمارهای متابولیک کمک کند که این نتایج در مطالعه اخیر بر روی نمونه‌های سالمند نیز حاصل شده است. در این زمینه، نزدیکترین مطالعه با مطالعه حاضر نشان داد که تمرین تداومی و مصـــرف بهار نارنج موجب بهبود افزایش AMPK گردید؛ همچنین PI3K تنها در گروه تمرین تداومی و مصـــرف بهار نارنج مشـاهده گردید (۱۶)؛ اما در مقایســه اندازه اثر و ســطح معنی داری می‌توان مشاهده نمود که تمرین تناوبی هوازی اثر بخشی بیشتری داشته است. لذا نوع تمرین تناوبی و برتری آن نسبت به تمرین تداومی در مقایسه تحقیق ما با تحقیق شیخ الاسلامی و همکاران مشهود است. علاوه بر این تمرین هوازی بلنـد مـدت نیز موجـب کـاهش TNF-α، IL-1β، NF-κB و افزایش SIRT-1، PGC-1α و AMPK عضـــله اســـکلتی در موش‌های صحرایی میانسال گردید (۲۳). از این رو با توجه به تأثیر سالمندی بر اختلال متابولیکی بر اهمیت ورزش در طول زندگی برای تأمین سـلامتی در سـالمندان تأکید شـده اسـت (۲۴) با افزایش ســـن، تمرین می‌تواند از طریق فعال شـــدن AMPK، بهبود متابولیســـم را افزایش دهد (۲۶، ۲۵). فعالیت ورزشـی منظم باعث افزایش فعالیت AMPK شـده و به بیوژنز میتوکندری، هموستاز انرژی، تنظیم مجدد و متابولیسم گلوکز کمک می‌کند. AMPK باعث افزایش بیان mRNA PPARα می‌شـود و منجر به تنظیم مولکولی اکسـیداسـیون اسـیدهای چرب می‌شـود (۲۷). در ســـنین بالاتر معمولاً میزان ترشـــح انســـولین، آتروفی عضـــلات و تغییرات همودینامیکی کاهش می‌یابد که همه این‌ها پیامدهایی در روند گلوکز مصـــرفی از طریق سیگنالینگ انسولین دارد. (۲۸) خانواده‌ای از پروتئین‌ها به نامsestrins به اســـترس پاســـخ می‌دهند و ممکن اســـت مکانیســـمی باشـد که تأثیرات ورزش را بر فسـفوریلاسـیون AMPK واسطه می‌کند. (۲۹) هماهنگی کافی این مکانیسم‌ها توسـط AMPK برخی از جنبه‌های پیری مانند تخریب بافت و رشـد تومور در سـنین بالا را کاهش می‌دهد. (۳۰) مکانیسـم دیگری که در افزایش میزان AMPK با ورزش دخیل اســـت، افزایش محتوای کلســـیم درون ســـلولی (+ Ca2) از طریق دپلاریزاسیون غشا، القای فسفوریلاسیون پروتئین کیناز وابسته به کلسیم/ کالمودولین (CaMKK) است که می‌تواند AMPK را فسـفوریله و فعال کند. (۳۱) علاوه بر این، اسـترس شـبکه آندوپلاسـمی در پاسـخ به انقباض ناشـی از تمرین، گونه‌های اکســـیژن فعال (ROS) را افزایش می‌دهد که منجر به فعال شدنCaMKK می‌شود. (۳۲) افزایش دما نیز ممکن است در فعال‌سازی AMPK در حین تمرین نقش داشـته باشـد. (۳۳) میزان AMPK در پاسـخ به ورزش به میزان AMP مسـتقل از مدت و شـدت تمرین نیز بسـتگی دارد. افزایش میزان AMP هنگامی که ورزش تا خســتگی انجام می‌شـود احتمالاً بیشـتر است (۳۴). در تحقیق حاضر تمرین تناوبی با شدت بالا انجام شد بنابراین افزایش بیان AMPK بافت کبد توجیه‌پذیر است. اگرچه بحث بر روی اثرات تمرین بر بیان ژن AMPK در کبد موش‌های سـالمند متمرکز اسـت، اما همبسـتگی با AMPK و نتایج مثبت در سایر بافت‌های متابولیکی مانند عضله اسکلتی، بافت چربی، اندوتلیوم و هیپوکامپ وجود دارد. علاوه بر این، AMPK همچنین به مداخلات تمرین در این بافت‌ها پاســـخ می‌دهد (۳۷-۳۵). بنابراین مسیر AMPK از طریق نقش مثبت آن در گلوکز مصرفی، واسطه مهمی در هموستاز گلوکز است و بر مکانیسم‌های وابسته به انسولین، مستقل از انسولین تأثیر می‌گذارد. مخالف با یافته‌های مطالعه اخیر، در یک مطالعه Coffey و همکـاران (۲۰۰۶) افراد تمرین کرده قـدرتی و استقامتی را بررسی کردند و نشان دادند که فسفوریلاسیون AMPKپس از دوچرخه‌ســـواری در گروه تمرین کرده قدرتی، افزایش یافت، اما در گروه تمرین کرده اســـتقامتی تغییر معنی‌داری رخ نداد (۳۸). در تحقیق فوق آزمودنی‌های تمرین کرده موردبررســـی قرار گرفتند که ممکن اســـت علت تناقض نتایج باشـــد. PI3K نقش مهمی در تنظیم متابولیســـم در بافت‌های مختلف بدن دارد. در خصوص مکانیسم‌های مؤثر بر تغییرات PI3K گزارش شده که بیان بالای گیرنده‌های IGF-1 یا IGF، PI3K (p110α) را فعال می‌کند. هنگامی‌که گیرنده‌های انسولین فعال می شوند، سوبسترای گیرنده انسولین (IRS) را فسفوریله می‌کنند سپس به پروتئین PI3K متصل می‌شوند و باعث فعال شدن PKC، Akt و مولکول سیگنال پایین‌دستی AS160می‌شـود. این عمل باعث جابجایی ناقل گلوکز نوع ۴ (GLUT4) می شود و به سلول‌های عضلانی اجازه می‌دهد تا

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

گلوکز بیشتری جذب کنند ازاین‌رو متابولیسم گلوکز را تنظیم می‌کند؛ بنابراین، تغییرات در مسیر سیگنالینگ PI3K ارتباط نزدیک با مقاومت به انسولین (IR) ، دیابت و بیماری‌های متابولیکی دارد (۳۹). برخی مطالعات قبلی روی آزمودنی‌های حیوانی افزایش PI3K متعاقب تمرینات هوازی را گزارش کرده‌اند. در همین زمینه نتایج کسب پرست و همکاران (۱۳۹۹) نشان داد که ۶ هفته تمرین هوازی روی نوارگردان منجر به افزایش بیان PI3K و حساسیت انسولین در سلول‌های بافت کبد موش‌های صحرایی نژاد ویستار چاق شد (۸) . احتمالا عدم همخوانی نتایج این تحقیق با یافته فوق را بتوان به شرایط بیماری نمونه‌های مورد بررسی نسبت داد.

در مطالعه حاضر، مصرف بهارنارنج به‌تنهایی و تمرین تناوبی به همراه مصرف بهارنارنج با افزایش معنی‌دار بیان ژن AMPK بافت کبدی در موش‌های سالمند همراه بود با این‌حال افزایش معنی‌دار بیان ژن PI3K تنها در گروه تمرین تناوبی به همراه مصرف بهارنارنج مشاهده شد. این نتایج حاکی از آن است که احتمالاً مداخله تمرین تناوبی و مصرف بهارنارنج می‌تواند به بهبود تغییرات بیان ژن شاخص‌های متابولیک بافت کبد در موش‌های سالمند کمک کند. مکانیسمی که بهارنارنج یا فرآورده‌های بهارنارنج به‌وسیله آن باعث بهبود شرایط متابولیک می‌شود به‌طور کامل موردتحقیق قرار نگرفته است. به نظر می‌رسد اثرات متابولیک بهارنارنج ناشی از ترکیبات فعال آن ازجمله هسپریدین، نارینجین و نئوهسپریدین است که جزء دسته فلاوانون می‌باشند که منجر به تغییر بیان ژن‌های شاخص‌های متابولیک و در نتیجه منجر به بهبود شرایط متابولیک بافت کبد می‌شوند (۴۰). همان‌طور که ذکر شد یکی از فلاونوئیدهای موجود در بهارنارنج هسپرین (۴′-متیوکسی-۳، ۵،۷-تری هیدروکسی فلاونون) و نارنژین (۴ ′، ۵،۷-تری هیدروکسی فلاونون) می‌باشد. همخوان با نتایج مطالعه ما فلاونوئیدهای موجود در بهارنارنج موجب افزایش بیان شاخص‌های متابولیک می‌شود. گزارش شده است که هسپرین باعث افزایش فسفوریلاسیون AMPK می شود(۱۳). مهم‌ترین یافته تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تعامل تمرین تناوبی و مصرف بهارنارنج می‌تواند مزایای بیشتری نسبت به اعمال هر یک از آن‌ها به‌تنهایی داشته باشد. همسو با مطالعه حاضر Choi و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند روزانه ۵ گرم بر کیلوگرم از وزن بدن بهار نارنج موجب بهبود آسیب‌های کبدی و بهبود مسیر AMPK و NRF-2 در بافت کبد موش های آزمایشگاهی در معرض پر نوشی الکل گردید (۴۰). همچنین مصرف بهار نارنج موجب بهبود مسیر متابولیکی مرتبط با AMPKα، PPARγ گردید (۴۱). از این رو مطالعات نشان می‌دهند که بهار نارنج نیز از مسیرهای فعال سازی آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP موجب فسفریلاسیون AMPK می‌گردند و این امر با بهبود مسیرهای متابولیکی مرتبط همراه است (۴۱).

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد اثرات مفید بهارنارنج به همراه تمرین تناوبی بر بیان ژن‌های بهبود بخش حساسیت انسولینی در بافت کبد باعث هم‌افزایی نتایج می‌شود. به طوری که مطالعه شیخ الاسلامی نیز همانند مطالعه ما اثر هم افزایی تمرین و بهار نارنج را نشان داد (۱۶)؛ همچنین در مطالعه ای نیز محققین نشان دادند که تمرین استقامتی و مصرف بهار نارنج اثر هم افزایی در فعال سازی اتوفاژی و بهبود سنتر پروتئین در بافت عضله موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۷). علاوه بر این در توجیه بالاتر بودن وزن کبد در گروه کنترل نسبت به سایر گروه ها به نظر می‌رسد استئاتوز کبدی موجب افزایش وزن کبد می‌گردد (۴۲)؛ اما در شرایط سالمندی و مصرف بهار نارنج وزن کاهش یافته است. ولی بررسی پاتولوژی و بافت شناسی دقیق‌تری در این زمینه مورد نیاز می‌باشد. درمجموع، مطالعات بیشتری برای شناسایی سازوکارهای تأثیر مکمل‌گیری بهارنارنج بر میزان بیان ژن‌های شاخص‌های متابولیک در بافت کبد طی سالمندی موردنیاز است. از این رو عدم بررسی پاتولوژی و بافت شناسی کبد در این تحقیق از محدودیت‌های مطالعه حاضر است و پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی توسط محققین مورد ارزیابی قرار گیرد. تمرین هوازی از نقاط قوت تحقیق حاضر بود؛ چرا که این نوع تمرین پاسخ‌ها و سازگاری‌های متفاوتی نسبت به برنامه‌های تمرینی داشت. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که ازجمله می‌توان به عدم اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های عملکرد کبدی و نشانگرهای متابولیسم انسولین اشاره کرد. با توجه به ارتباط استرس متابولیک بافت کبد با شرایط اکسیداتیو پیشنهاد می‌شود در تحقیقی مشابه شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد آزمودنی‌های سالمند نیز بررسی شود. همچنین با تغییر دوز مصرفی بهارنارنج نیز ممکن است بتوان به نتایج روشن‌تری دست‌یافت. به‌هرحال تحقیقات بیشتری در این زمینه موردنیاز می‌باشد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه نتایج تحقیق ما نشان می‌دهد که تمرین تناوبی هوازی و مصرف بهارنارنج هم به تنهایی و هم به طور همزمان موجب افزایش بیان ژن های متابولیک بافت کبد در موش‌های سالمند شد. این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً مداخله حاضر می‌تواند مزایایی برای بافت کبد طی سالمندی به همراه داشته باشد؛ بنابراین تمرین تناوبی هوازی به همراه مصرف بهارنارنج می‌تواند به عنوان راهکار مناسبی برای بهبود شرایط متابولیک بافت کبد طی سالمندی مورد توجه قرار گیرد.

سپاس گزاری

این تحقیق با تائید کمیته اخلاق با شماره IR.IAU.M.REC.1399.032 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت اجرا گردید. بدین‌وسیله از کلیه‌ی افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود. هیچ‌گونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است. پژوهش حاضر بدون بهره‌گیری از منابع مالی سازمان و نهادی به انجام رسیده است.

References

1. Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. Nature reviews Molecular cell biology. 2007;8(10):774-85.
2. Guy J, Peters MG. Liver disease in women: the influence of gender on epidemiology, natural history, and patient outcomes. Gastroenterology & hepatology. 2013;9(10):633.
3. Entezari M, Hashemi D, Taheriazam A, Zabolian A, Mohammadi S, Fakhri F, et al. AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: A pre-clinical and clinical investigation. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2022;146:112563.
4. Mulligan JD, Gonzalez AA, Kumar R, Davis AJ, Saupe KW. Aging elevates basal adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) activity and eliminates hypoxic activation of AMPK in mouse liver. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences. 2005;60(1):21-7.
5. Ghigo A, Laffargue M, Li M, Hirsch E. PI3K and calcium signaling in cardiovascular disease. Circulation research. 2017;121(3):282-92.
6. Oudit GY, Sun H, Kerfant B-G, Crackower MA, Penninger JM, Backx PH. The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. Journal of molecular and cellular cardiology. 2004;37(2):449-71.
7. Hosseini SA, Salehi O, Keikhosravi F, Hassanpour G, Ardakani HD, Farkhaie F, et al. Mental health benefits of exercise and genistein in elderly rats. Experimental aging research. 2021:1-16.
8. Kasb Parast M AS, Sohaili SH, Banaeifar AA. The Effect of Aerobic Exercises on AKT1/ PI3K Expression and Insulin Sensitivity in liver Hepatocyte of Obese Vistar Rats. Sports Science Quarterly. 2021;14(39):105-18.
9. Yi X, Cao S, Chang B, Zhao D, Gao H, Wan Y, et al. Effects of acute exercise and chronic exercise on the liver leptin-AMPK-ACC signaling pathway in rats with type 2 diabetes. Journal of diabetes research. 2013;2013.
10. Bao C, Yang Z, Li Q, Cai Q, Li H, Shu B. Aerobic endurance exercise ameliorates renal vascular sclerosis in aged mice by regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. DNA and cell biology. 2020;39(2):310-20.
11. Machrina Y, Pane YS, Lindarto D. The Expression of Liver Metabolic Enzymes AMPKα1, AMPKα2, and PGC-1α due to Exercise in Type-2 Diabetes Mellitus Rat Model. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. 2020;8(A):629-32.
12. Davari F, Alimanesh Z, Alimanesh Z, Salehi O, Hosseini SA. Effect of training and crocin supplementation on mitochondrial biogenesis and redox-sensitive transcription factors in liver tissue of type 2 diabetic rats. Archives of physiology and biochemistry. 2020:1-6.
13. Afra HS, Zangooei M, Meshkani R, Ghahremani MH, Ilbeigi D, Khedri A, et al. Hesperetin is a potent bioactivator that activates SIRT1-AMPK signaling pathway in HepG2 cells. Journal of physiology and biochemistry. 2019;75(2):125-33.
14. Shu Y, He D, Li W, Wang M, Zhao S, Liu L, et al. Hepatoprotective effect of Citrus aurantium L. against APAP-induced liver injury by regulating liver lipid metabolism and apoptosis. International journal of biological sciences. 2020;16(5):752.
15. Peixoto JS, Comar JF, Moreira CT, Soares AA, De Oliveira AL, Bracht A, et al. Effects of Citrus aurantium (bitter orange) fruit extracts and p-synephrine on metabolic fluxes in the rat liver. Molecules. 2012;17(5):5854-69.
16. Shykholeslami Z, Abdi A, Hosseini SA, Barari A. Effect of Continuous Aerobic Training with Citrus Aurantium L. on Mitogen-Activated Protein Kinase and Phosphatidylinositol 3-Kinases Gene Expression in the Liver Tissue of the Elderly Rats. Journal of Ilam University of Medical Sciences: Volume. 2022;29(6).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

17. Hosseinpour Delavar S, Safikhani H, Azizi M. The Effect of Eight Weeks of Continuous and Interval Training with Citrus Aurantium Consumption on Autophagy Markers and MyoD Activation in the Muscle Tissue of Elderly Rats. Elderly Health Journal. 2021;7(2):71-8.

18. He W, Li Y, Liu M, Yu H, Chen Q, Chen Y, et al. Citrus aurantium L. and its flavonoids regulate TNBS-induced inflammatory bowel disease through anti-inflammation and suppressing isolated jejunum contraction. International journal of molecular sciences. 2018;19(10):3057.

19. Azadbakht M, Khoori V, Nayeb Pour S, Pourabook M, Fazelinejad S. The role of adrenoceptors in the electrophysiological effects of hydroalcoholic extract of Citrus bigaradia in experimental model of atrial fibrilation of isolated atrioventricular node of rabbits. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2009;18(68):1-10.

20. Yazdanparast Chaharmahali B, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi Arkhazloo P. The Effect of Moderate and High Intensity Interval Trainings on Cardiac Apoptosis in the Old Female Rats. Report of Health Care. 2018;4(1):26-35.

21. Asadbegy M, Mirazi N, Vatanchian M. Comparative study of Lotus corniculatus L. hydroethanolic extract and phenytoin ointment effects on rat skin wound healing: Morphometrical and histopathological studies. 2011.

22. Azarbayjani MA, Banaeifar A, Arshadi S. Effects of Aerobic Interval Training and Adenosine on the Expression of AMPK, PPARγ and A2B Receptor in the Liver of Rats Fed a High-Fat Diet. Journal of Fasa University of Medical Sciences. 2020;10(3):2655-64.

23. Oliveira NR, Marques SO, Luciano TF, Pauli JR, Moura LP, Caperuto E, et al. Treadmill training increases SIRT-1 and PGC-1α protein levels and AMPK phosphorylation in quadriceps of middle-aged rats in an intensity-dependent manner. Mediators of inflammation. 2014;2014.

24. Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. Cell metabolism. 2016;23(6):1034-47.

25. Wang H, Sharma N, Arias EB, Cartee GD. Insulin signaling and glucose uptake in the soleus muscle of 30-month-old rats after calorie restriction with or without acute exercise. Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences. 2016;71(3):323-32.

26. da Silva Coqueiro R, de Jesus Soares T, Pereira R, Correia TML, Coqueiro DSO, Oliveira MV, et al. Therapeutic and preventive effects of exercise on cardiometabolic parameters in aging and obese rats. Clinical nutrition ESPEN. 2019;29:203-12.

27. Lee WJ, Kim M, Park H-S, Kim HS, Jeon MJ, Oh KS, et al. AMPK activation increases fatty acid oxidation in skeletal muscle by activating PPARα and PGC-1. Biochemical and biophysical research communications. 2006;340(1):291-5.

28. Basu R, Breda E, Oberg AL, Powell CC, Dalla Man C, Basu A, et al. Mechanisms of the age-associated deterioration in glucose tolerance: contribution of alterations in insulin secretion, action, and clearance. Diabetes. 2003;52(7):1738-48.

29. Lee JH, Budanov AV, Karin M. Sestrins orchestrate cellular metabolism to attenuate aging. Cell metabolism. 2013;18(6):792-801.

30. Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. Ageing research reviews. 2012;11(2):230-41.

31. Jeon S-M. Regulation and function of AMPK in physiology and diseases. Experimental & molecular medicine. 2016;48(7):e245-e.

32. Feng N, Wang B, Cai P, Zheng W, Zou H, Gu J, et al. ZEA-induced autophagy in TM4 cells was mediated by the release of Ca2+ activates CaMKKβ-AMPK signaling pathway in the endoplasmic reticulum. Toxicology letters. 2020;323:1-9.

33. Koshinaka K, Kawamoto E, Abe N, Toshinai K, Nakazato M, Kawanaka K. Elevation of muscle temperature stimulates muscle glucose uptake in vivo and in vitro. The Journal of Physiological Sciences. 2013;63(6):409-18.

34. Morales-Alamo D, Calbet JA. AMPK signaling in skeletal muscle during exercise: Role of reactive oxygen and nitrogen species. Free Radical Biology and Medicine. 2016;98:68-77.

35. Chen Z, Yu J, Fu M, Dong R, Yang Y, Luo J, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition improves endothelial senescence by activating AMPK/SIRT1/Nrf2 signaling pathway. Biochemical pharmacology. 2020;177:113951.

36. Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. PLoS One. 2012;7(12):e51709.

37. Lin J-Y, Kuo W-W, Baskaran R, Kuo C-H, Chen Y-A, Chen WS-T, et al. Swimming exercise stimulates IGF1/PI3K/Akt and AMPK/SIRT1/PGC1α survival signaling to suppress apoptosis and inflammation in aging hippocampus. Aging (Albany NY). 2020;12(8):6852.

38. Coffey VG, Zhong Z, Shield A, Canny BJ, Chibalin AV, Zierath JR, et al. Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. The FASEB journal. 2006;20(1):190-2.

39. Hoeger KM, editor. Exercise therapy in polycystic ovary syndrome. Seminars in reproductive medicine; 2008: © Thieme Medical Publishers.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

40. Choi BK, Kim TW, Lee DR, Jung WH, Lim JH, Jung JY, et al. A polymethoxy flavonoids-rich Citrus aurantium extract ameliorates ethanol-induced liver injury through modulation of AMPK and Nrf2-related signals in a binge drinking mouse model. Phytotherapy Research. 2015;29(10):1577-84.

41. Park J, Kim H-L, Jung Y, Ahn KS, Kwak HJ, Um J-Y. Bitter orange (Citrus aurantium Linné) improves obesity by regulating adipogenesis and thermogenesis through AMPK activation. Nutrients. 2019;11(9):1988.

42. Simon G, Heckmann V, Tóth D, Pauka D, Petrus K, Molnár TF. The effect of hepatic steatosis and fibrosis on liver weight and dimensions. Legal Medicine. 2020;47:101781.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]

Effects of Aerobic Interval Training with *Citrus aurantium* Consumption on Gene Expression of AMPK and PI3K in Liver Tissues of Elderly Rats

*Razavi S[1], Nazarali P[*2], Alizadeh R[3], Rezaeinezhad N[4]*

1- *M.Sc. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran*
2- **Corresponding author: Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran. Email: p.nazarali@alzahra.ac.ir*
3- *Associate professor, Department of Sports Science, School of Literature and Humanities, Ilam University, Ilam, Iran*
4- *PhD of Exercise Physiology, Tehran Education Office, Tehran, Iran*

Received 10 Apr, 2022 **Accepted 27 Jul, 2022**

Background and Objectives: Aging is a major risk factor for several diseases, including liver-related metabolic disorders. The aim of this study was to assess effects of aerobic interval training with *Citrus aurantium* consumption on gene expression of AMPK and PI3K in liver tissues of elderly rats.

Materials & Methods: In this experimental study, 30 elderly female rats (16–18 months old) were divided to five equal groups of (1) control, (2) sham (normal saline), (3) *Citrus aurantium*, (4) aerobic interval training and (5) aerobic interval training and *Citrus aurantium*. Aerobic interval training was carried out for eight weeks with the intensity of 85–110% VO_2max and speed of 25–15 m per min. *Citrus aurantium* extract (300 mg/kg/day) was injected to the animals intraperitoneally. Expression of AMPK and PI3K genes in liver tissues were assessed using real-time PCR. For data analysis, one-way analysis of variance followed by Bonferroni post-hoc test was used at $p < 0.05$.

Results: Results showed significant differences between the groups in expression of AMPK in liver tissues ($F = 14.614$, $p = 0.0001$); significant increases in *Citrus aurantium* group ($p = 0.014$), aerobic interval training group ($p = 0.0001$) and aerobic interval training and *Citrus aurantium* group ($p = 0.0001$) were seen, compared to the control group. Similarly, expressions of PI3K in liver tissues of different groups were significantly different with ($F = 18.151$, $p = .0001$). Specifically, significant increases were seen in the aerobic interval training and *Citrus aurantium* group, compared to the control group ($p = 0.001$), *Citrus aurantium* group ($p = 0.001$) and aerobic interval training group ($p = 0.013$).

Conclusion: It seems that aerobic interval training with *Citrus aurantium* consumption could help improve gene expression of the metabolic markers in liver tissues during the elderly.

Keywords: Aging, High-intensity interval training, *Citrus aurantium*, Liver

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.3.10.4]