

تأثیر توأم تغذیه طولانی مدت غذای پرچرب و تمرین منظم هوازی بر بیان ژن UCP1 در چربی قهوه‌ای و ژن سارکولیپین در عضله اسکلتی موش‌های سوری: یک مطالعه تجربی

سعید دانش‌یار*^۱، فاطمه امیدعلی^۲، سیدعلا فیضی‌پور^۳

تاریخ دریافت ۱۳۹۹/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش ۱۴۰۰/۰۳/۰۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: پروتئین غیر جفت کننده یک (UCP1) و سارکولیپین، پروتئین‌های تنظیم‌کننده‌ی گرمزایی غیرلرزشی به ترتیب در بافت چربی قهوه‌ای و عضلات اسکلتی هستند. هدف از این پژوهش، مطالعه‌ی اثر توأم تغذیه طولانی مدت غذای پرچرب و تمرین منظم هوازی بر بیان این ژن‌ها در موش‌های سوری بود.

مواد و روش کار: ۲۸ سر موش سوری در چهار گروه (۱) کنترل (۷ سر)، (۲) غذای پرچرب (۷ سر)، (۳) تمرین هوازی (۷ سر)، (۴) غذای پرچرب-تمرین (۷ سر) قرار گرفتند. موش‌های گروه‌های غذای پرچرب به مدت ۱۲ هفته غذای پرچرب (۴۵ درصد) مصرف کردند. موش‌های گروه‌های تمرینی به مدت شش هفته، تحت تمرین هوازی روی نوارگردان قرار گرفتند. موش‌های گروه غذای پرچرب-تمرین، علاوه بر داشتن رژیم غذای پرچرب، تحت تمرین هوازی قرار داشتند. برای اندازه‌گیری بیان نسبی ژن UCP1 و سارکولیپین از روش Real Time-PCR استفاده شد.

یافته‌ها: داده‌های این پژوهش نشان داد، تمرین هوازی، تأثیر معنی‌داری در بیان ژن‌های UCP1 و سارکولیپین نداشت ($P=0/17$; $P=0/87$). با این حال، تغذیه غذای پرچرب موجب افزایش (در حدود سه برابر) در بیان UCP1 و سارکولیپین شد ($P=0/006$; $P=0/009$). یافته مهم این که، تمرین هوازی از افزایش بیان UCP1 و سارکولیپین ناشی از تغذیه پرچرب جلوگیری کرد ($P=0/29$; $P=0/49$).

بحث و نتیجه‌گیری: این یافته‌ها دلالت بر این دارند که تمرین منظم هوازی می‌تواند تأثیر افزایشی غذای پرچرب بر عوامل گرمازا یعنی UCP1 و سارکولیپین را محدود کند. بر این اساس، تصور می‌شود، تمرین هوازی از طریق این سازوکار تنظیمی می‌تواند گرمزایی ناشی از تغذیه پرچرب را تعدیل کند.

کلیدواژه‌ها: تغذیه، تمرین ورزشی، گرمزایی ناشی از تغذیه، پروتئین غیر جفت کننده، سارکولیپین

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و دوم، شماره چهارم، ص ۳۰۲-۲۹۰، تیر ۱۴۰۰

آدرس مکاتبه: لرستان، بروجرد، دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره)، کد پستی: ۶۹۷۳۷-۶۹۱۹۹، تلفن: ۰۹۰۳۷۳۲۴۷۹۳

Email: s.daneshyar@abru.ac.ir and s.daneshyar@yahoo.com

مقدمه

فرایند گوارشی در هضم و جذب غذا می‌شود که گرمزایی ضروری ناشی از تغذیه^۵ و یا اثر حرارتی ناشی از غذا^۴ نامیده می‌شود (۳). نوع دیگر از گرمزایی ناشی از تغذیه به صورت مزمن رخ می‌دهد. به عبارت بهتر، در نتیجه‌ی پرخوری طولانی مدت، انرژی مصرفی بدن رو به افزایش می‌گذارد. این انرژی مصرفی، یک مکانیسم سازشی^۷ برای حفظ هموستاز انرژی در برابر تعادل انرژی

چاقی نتیجه بی‌تعادلی بین دریافت و مصرف انرژی است. یک از مؤلفه‌های مربوط به مصرف انرژی، گرمزایی ناشی از تغذیه^۴ است (۱). پس از خوردن یک وعده غذایی (از دقایق اول تا ۴۸ ساعت)، انرژی مصرفی بدن به صورت موقتی افزایش می‌یابد که معادل ۱۰ درصد از کل انرژی مصرفی است (۲). این انرژی صرف

^۱ استادیار، تربیت بدنی (فیزیولوژی بالینی ورزش)، دانشگاه آیت اله بروجردی، لرستان، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ مربی، دانشجوی دکتری، تربیت بدنی (فیزیولوژی ورزش)، دانشگاه آیت اله بروجردی، لرستان، ایران

^۳ دانشجوی دکتری، تربیت بدنی (فیزیولوژی ورزش)، دانشگاه شهید رجائی، تهران، ایران

^۴ Diet-induced thermogenesis

^۵ Obligatory diet-induced thermogenesis

^۶ Thermic effect of food

^۷ Adaptive

مطالعات اثبات کرده‌اند، با حذف ژن سارکولپین، موش‌ها مستعد چاقی می‌شوند (۲۰، ۲۶) و در مقابل، افزایش بیان این ژن به‌صورت تراریخته، از چاقی ناشی از غذای پرچرب جلوگیری می‌کند. این یافته‌ها دلالت بر نقش سازشی و محافظتی سارکولپین در مقابل تجمع اضافی انرژی دارد (۳۰-۲۸).

مهم‌تر این‌که، مطالعات نشان داده‌اند، مقدار پروتئین سارکولپین در عضله نعلی^۵ موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب افزایش می‌یابد (۲۸، ۲۰، ۱۶). این یافته‌ها پیشنهاد می‌دهند که افزایش بیان سارکولپین که بر اثر مصرف غذای پرچرب حاصل می‌شود، مکانیسم مسئول گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه در سطح عضلات اسکلتی است (۲۰).

در طرف مقابل تغذیه پرچرب، تمرینات ورزشی به‌ویژه تمرینات استقامتی یا هوازی، از طریق سازوکار انقباضات متوالی تارهای عضلانی، انرژی زیادی را مصرف می‌کنند، و به‌این ترتیب می‌توانند تعادل منفی انرژی ایجاد کنند (۳۱). از این حیث، مطالعه‌ی سازوکارهای کشمکش انرژی ناشی از این دو عامل یعنی تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی، می‌تواند ارزشمند باشد.

اثر تمرینات هوازی بر بیان UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای ضدونقیض است. برخی مطالعات، افزایش (۳۲، ۱۳) و برخی کاهش (۱۲) بیان این ژن را گزارش کرده‌اند. جالب‌تر این‌که، مشاهده شده است، تمرین هوازی موجب مهار افزایش بیان UCP1 ناشی از تغذیه پرکالری (با شکر زیاد) شد (۱۳). باین‌حال، هنوز تأثیر تمرینات هوازی بر افزایش بیان UCP1 ناشی از غذای پرچرب در بافت چربی قهوه‌ای مشخص نشده است.

همچنین، مطالعات در زمینه اثر تمرین هوازی بر بیان سارکولپین عضله اسکلتی محدود است. دی اسنو^۸ (۲۰۰۹) در پژوهشی، افزایش بیان سارکولپین به‌دنبال چند هفته تمرین هوازی در عضله نعلی موش را گزارش کرد (۳۳). در مطالعه ذکرشده (دی اسنو)، اثر تغذیه پرچرب به‌تنهایی و همراه با تمرین ورزشی بررسی نشده است. از آنجاکه مصرف طولانی غذای پرچرب موجب افزایش بیان سارکولپین می‌شود (که در پاراگراف‌های قبل اشاره شد)، این سؤال مطرح است که آیا تمرین هوازی در شرایط توأم با مصرف غذای پرچرب می‌تواند بیان این ژن‌ها یعنی UCP1 و سارکولپین را متأثر سازد؟

در این پژوهش، اثر ترکیبی تغذیه طولانی‌مدت پرچرب و تمرین منظم هوازی بر بیان ژن‌های UCP1 و سارکولپین به

مثبت است که گرمزایی سازشی ناشی از تغذیه، گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه و یا گرمزایی غیرضروری^۱ ناشی از تغذیه نامیده می‌شود (۴، ۵). در این پژوهش، (از این پس) به‌جای ذکر کامل اصطلاح‌های ذکرشده در گرمزایی نوع دو، به ذکر «گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه» بسنده می‌شود.

بخشی از انرژی که در فرایند گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه مصرف می‌شود، توسط بافت چربی قهوه‌ای تولید می‌شود. در انسان‌ها، بافت چربی قهوه‌ای به میزان کمی در بخش ترقوه، گردن و ستون فقرات وجود دارد. این بافت در شرایط سرما و پرخوری از طریق عامل غیر جفت‌کننده یک (UCP1)^۲، گرما تولید می‌کند (۶، ۷). مطالعات نشان داده‌اند که بیان ژن UCP1 (که نشان‌گر مهم گرمزایی در بافت چربی قهوه‌ای است) به دنبال مصرف طولانی غذای پرچرب در بافت چربی قهوه‌ای افزایش می‌یابد (۱۵-۸) که دلالت بر گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه پرچرب دارد.

علاوه بر بافت چربی قهوه‌ای، عضلات اسکلتی که بخش بزرگی از ساختار بدن انسان را شکل می‌دهند، می‌توانند در گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه، نقش قابل‌توجهی داشته باشند. این نوع گرما به‌صورت غیرلرزشی^۳ یعنی مستقل از انقباضات تارهای عضلانی و فعالیت لرزشی^۴ (که در شرایط سرما بروز می‌یابد) ایجاد می‌شود (۲۰-۱۶). نتایج تحقیقات اخیر نشان داده‌اند، میزان گرمایی که در عضلات اسکلتی بر پایه مکانیسم غیرلرزشی تولید می‌شود، معادل با ۴۰ الی ۵۰ درصد از انرژی مصرفی ناشی از نرخ متابولیسم استراحتی بدن است (۲۱).

گرمزایی غیرلرزشی در عضلات اسکلتی از طریق مکانیسم چرخه‌ی بیپه‌ده کلسیم در شبکه ساروپلاسمی ایجاد می‌شود (۲۳، ۲۲). در سال‌های اخیر، محققان عامل کلیدی به نام سارکولپین^۵ را در سلول‌های عضلانی شناسایی کرده‌اند که می‌تواند این چرخه (کلسیم) را کنترل کند و به‌این ترتیب نقش محوری در گرمزایی غیرلرزشی در عضلات اسکلتی ایفا کند (۲۷-۲۴). درواقع، سارکولپین، پروتئین تنظیم‌کننده‌ای است که با اتصال فیزیکی به پمپ کلسیم سارکوپلاسمی (SERCA)^۶ موجب غیر جفت شدن پمپ کلسیم از هیدرولیز ATP می‌شود. به‌این ترتیب، بدون آن‌که کلسیمی از سمیتوزول به شبکه ساروپلاسمی پمپ شود، ATP تجزیه‌شده و به شکل گرما آزاد می‌شود (۲۸، ۲۷).

¹ Adaptive, chronic or facultative diet-induced thermogenesis

² Uncoupling protein 1 (UCP1)

³ Non-shivering

⁴ Contraction-dependent thermogenesis (shivering mechanism)

⁵ Sarcolipin

⁶ Sarcoendoplasmic Reticulum ATPases

⁷ Soleus

⁸ De Snoo

تجویز شده در این پژوهش دربرگیرنده‌ی دویدن تناوبی بر روی نوارگردان ویژه موش (شرکت پیشرو اندیشه صنعت، مدل SDR148 ساخت ایران) با شیب صفر درجه، به مدت شش هفته و هفته‌ای پنج جلسه بود که به تمرین استقامتی تناوبی نیز معروف است. این پروتکل تمرینی بر اساس افزایش تدریجی بار تمرینی شامل شدت (سرعت) و حجم (مدت) تمرین طراحی شد که در جدول ۳ نشان داده شده است. به‌طور خلاصه، موش‌ها در هفته اول با سرعت ۱۴ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دویدند و هفته ششم با سرعت ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه (۳۶،۳۷).

دمای خنثی (Thermoneutrality): بر اساس منابع (۴۰-۳۸)، به‌منظور حذف اثر مداخله‌ی دمای معمول نگهداری موش‌ها (یعنی ۲۲ درجه سانتی‌گراد) بر نتایج اصلی پژوهش یعنی اثر تمرینات ورزشی بر فاکتورهای گرمایی، دمای نگهداری موش‌ها تا 26 ± 2 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت (۳۹).

اندازه‌گیری وزن: وزن موش‌ها به‌صورت هفتگی در طول دوره‌ی پژوهش از طریق ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ ENTRIS (3202-IS S, Artorius, Germany) اندازه‌گیری شدند و در سه نقطه زمانی ذیل گزارش شدند:

۱) قبل از شروع مداخله‌ها (در سن پنج هفته)؛ ۲) قبل از شروع برنامه تمرینی (سن ۱۱ هفته)؛ ۳) پس از پایان مداخله (سن ۱۷ هفته).

جراحی و استخراج بافت: ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از یک شب ناشتایی، حیوانات از طریق تزریق درون صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند (۴۱) بافت چربی قهوه‌ای منطقه بین کتفی و عضله نعلی موش‌ها با جراحی برداشته و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک توسط ازت مایع فریز و به یخچال ۸۰- سانتی‌گراد (HAIER refrigerator-freezer; USA) منتقل شدند.

طراحی و سنتز پرایمر: ابتدا توالی پرایمر ژن‌های UCP1، سارکولپین (SLN) و ژن GAPDH به‌عنوان ژن خانه گردان (یا ژن کنترل)، از مطالعات گذشته به دست آمد (42-44). سپس ویژگی و کیفیت پرایمر توسط سایت بلس پرایمر (primer-blast/NCBI) و امکان تشکیل ساختارهای دایمر و سنجاق سر توسط نرم‌افزار اولیگوآنالیزور (Oligo Analyzer - 1.0.2) بررسی و مورد تأیید قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناکلون سنتز شدند. مشخصات پرایمرهای سنتز شده در جدول ۱ ذکر شده است.

استخراج RNA: RNA ی بافت چربی طبق دستورالعمل کیت ترایزول (TRIzol™ Reagent, Thermo fisher)

ترتیب در بافت چربی قهوه‌ای و عضله اسکلتی بررسی شد تا بتوان پاسخ‌های ذیل را دریافت: یک) اثر تغذیه پرچرب و تمرین هوازی بر سازوکار گرمایی غیر لرزشی ناشی از UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای و ناشی از سارکولپین در بافت عضلانی چگونه است؟ و دو) تأثیر تمرین هوازی بر سازوکار گرمایی ناشی تغذیه پرچرب در سطح چربی قهوه‌ای و عضله اسکلتی به ترتیب از طریق عوامل UCP1 و سارکولپین چگونه است؟

مواد و روش کار

آزمودنی‌ها: این مطالعه به‌صورت تجربی با اعمال مداخله‌ها بر موش‌های آزمایشگاهی انجام شد. تعدادی موش سوری نر نژاد C57BL/6 در سن ۴ هفته و با وزن تقریبی ۱۲ گرم از مرکز مطالعات تجربی و مقایسه‌ای دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری شدند. روش نگهداری و اعمال مداخله بر روی موش‌ها بر اساس آئین‌نامه اجرایی اصول اخلاقی در پژوهش‌های علوم پزشکی (راهنمای اخلاق پژوهش بر حیوانات) برای انجام اهداف علمی و آزمایشگاهی با تأییدیه کمیته اخلاق دانشگاه آیت اله بروجردی با شناسه ABRU.AC.IR/15664-96.44 انجام شد. حیوانات در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی لرستان، تحت چرخه خواب‌ویداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. در طول نگهداری حیوانات، آب و غذای استاندارد موش (شرکت خوراک دام به‌پرور کرج) به میزان دلخواه در اختیار آن‌ها گذاشته شد.

غذای پرچرب: موش‌های گروه غذای پرچرب و گروه غذای پرچرب-تمرینی از سن پنج هفته تا انتهای پروتکل پژوهش (سن ۱۷ هفته) یعنی به مدت ۱۲ هفته، با غذای پرچرب تغذیه شدند. غذای پرچرب شامل ۴۵ درصد چربی (کیلوکالری)، ۳۵ درصد کربوهیدرات (کیلوکالری) و ۲۰ درصد پروتئین (کیلوکالری) بود؛ معادل با ۴/۶۰ کیلوکالری در گرم (۳۴). به دلیل نبود پلت‌های آماده غذای پرچرب، قرص‌های غذایی توسط شرکت دام طیور ساخته شد. ترکیب غذای پرچرب در جدول ۲ ارائه شده است (۱۵).

موش‌های گروه کنترل و گروه تمرینی با غذای استاندارد موش‌ها تغذیه شدند که شامل ۱۵ درصد چربی (کیلوکالری)، ۶۵ درصد کربوهیدرات (کیلوکالری) و ۲۰ درصد پروتئین (کیلوکالری) بود؛ معادل با ۳/۴۰ کیلوکالری در گرم (۳۵).

تمرین هوازی: موش‌های گروه تمرینی و گروه غذای پرچرب-تمرینی از سن ۱۱ تا انتهای پروتکل پژوهش (سن ۱۷ هفته) یعنی به مدت شش هفته تحت تمرین هوازی قرار گرفتند. تمرین هوازی

تکثیر و پایش از طریق دستگاه کوربت (RG-6000, Corbett, Australia)، با برنامه زمانی ذیل صورت گرفت (۴۲).

▪ مرحله اول: واسرشت سازی اولیه: ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد

▪ مرحله دوم: واسرشت-اتصال-گسترش؛ ۴۰ چرخه: (۱) ۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد؛ (۲) ۵۵ ثانیه در دمای ۵۹ درجه قطعه ژنی UCP1؛ ۴۰ ثانیه در دمای ۵۷ درجه سانتی گراد برای قطعه ژنی SLN؛ به مدت ۳۵ ثانیه در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد برای قطعه ژن GAPDH

▪ مرحله سوم: به منظور ترسیم دمای ذوب، در انتها یک مرحله واکنشی شامل ۴۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی گراد اضافه گردید.

کمی سازی بیان ژن: به منظور کمی سازی میزان بیان ژن، در ابتدا کارایی پرایمرها و PCR (PCR Efficiency) توسط نرم افزار LinRegPCR به صورت مجزا محاسبه شد. منحنی ذوب مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌هایی که نمودار آن‌ها منطبق با الگو نبود، کنار گذاشته شدند. از طریق مدل Pfaffl که در ذیل ذکر شده است، بیان نسبی ژن به صورت چندبرابر (Fold Change) محاسبه شد (Genex16.1) (۴۵).

$$\text{Fold Change} = \frac{E_{\text{Tar}}^{\Delta C_p(\text{Con-treat})}}{E_{\text{Ref}}^{\Delta C_p(\text{Con-treat})}}$$

- E_{Tar} : کارایی PCR مربوط به تکثیر قطعات ژن هدف
- E_{Ref} : کارایی PCR مربوط به تکثیر قطعات ژن کنترل
- $\Delta C_p(\text{con-treat})$: اختلاف نقطه تقاطع (یا ct) بین ژن هدف در گروه تحت مداخله و گروه کنترل
- $\Delta C_p(\text{con-treat})$: اختلاف نقطه تقاطع (یا ct) بین ژن مرجع در گروه تحت مداخله و گروه کنترل

استخراج شد. به طور خلاصه: ۵۰ میلی گرم از نمونه بافت چربی، پس از افزودن یک میلی لیتر محلول تریزول، از طریق دستگاه همزن هموزن شد (Overhead stirrers, AT-analogica, FALC, Italy) متفاوت سانتریفوژ شد (Centrifuge, MIKRO 200R, Hettich, Germany) که محصول آن تشکیل رسوب حاوی RNA بود که پس از اضافه کردن آب دیس (DEPC-treated Water-Thermo Scientific-US) به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه ترموبلاک (Thermoblock, TD 200 PI, FALC, Italy) در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد آنکوبه شد. پس از استخراج، خلوص (در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و غلظت (در طول موج ۲۶۰ نانومتر) RNA استخراج شده توسط دستگاه طیف سنجی نور (Ultraspec 3000, Pharmacia biotech, Sweden) از طریق فرایند جذب نوری (OD) تعیین شد. خلوص بیشتر از ۱/۶ مورد قبول واقع شد.

سنتر cDNA: RNA استخراج شده، به روش رونویسی معکوس، توسط دستورالعمل کیت سنتر cDNA (RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit, Thermo fisher Scientific, US) به DNA ی مکمل تبدیل شد. در طی این مرحله، مواد ذیل به کار گرفته شد: ردم هگزامر (Random Hexamer)، مهارکننده RNAase، آنزیم رونویس معکوس (Revert Aid)، بافر و بازهای سازنده DNA (dNTPs) استفاده شد. برای انجام Real Time-PCR از کیت سایبر پریمکس (SYBR qPCR Mix, TOYOBO, Japan) استفاده شد. واکنش‌ها به صورت دوتایی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در پلیت‌های ۹۶ چاهکی انجام شدند. مخلوط واکنش شامل سه میکرولیتر cDNA (۱۰ درصد)، نیم میکرولیتر پرایمر رفت (غلظت ۱۰ پیکومول) و نیم میکرولیتر پرایمر معکوس (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۱۰ میکرولیتر سایبرپریمیکس، نیم میکرولیتر رنگ مرجع روکس و آب مقطر بود.

جدول (۱): مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

منبع	طول قطعه	پرایمر معکوس (Forward primer) 5'→3'	پرایمر رفت (Reverse primer) 5'→3'	شماره دستیابی code Accession
(۴۲)	۱۸۲	TGGCCCTCAGTATTGGTAGG	GCTCCTCTCAGGAAGTGAAG	NM_025540.2
		دمای ذوب: ۶۰/۹	دمای ذوب: ۵۸/۰	سارکولپین
(۴۳)	۸۴	TAAGCCGGCTGAGATCTTGT	GGCCTCTACGACTCAGTCCA	NM_009463.3
		دمای ذوب: ۵۸/۸	دمای ذوب: ۶۰/۶	UCP1
(۴۴)	۱۱۳	GTGGGTGCAGCGAACTTTAT	AACACTGAGCATCTCCCTCA	NM_001289726.1
		دمای ذوب: ۵۸/۸	دمای ذوب: ۵۸/۳	GAPDH

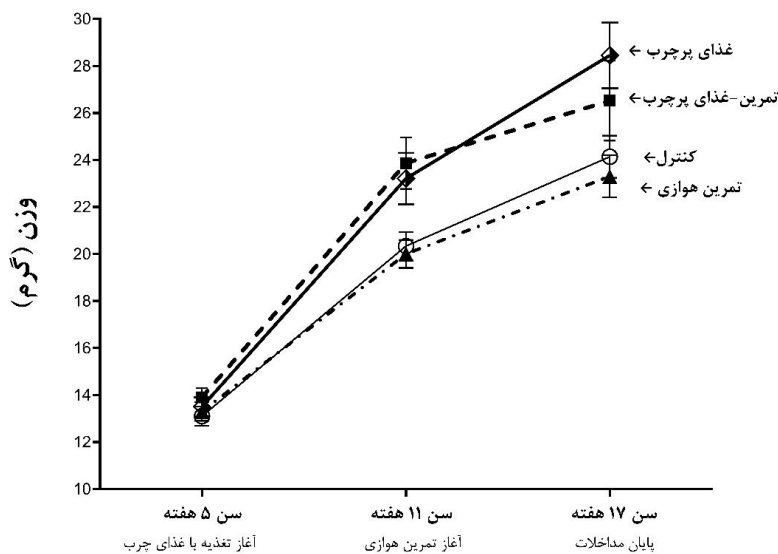
یافته‌ها

بر اساس آزمون شاپیرو-ویلک مشخص گردید که داده‌های مربوط به متغیرهای اندازه‌گیری شده در گروه‌های مورد پژوهش، دارای توزیع نرمالی هستند ($P > 0/100$). همچنین، نتایج آزمون برون نشان داد که متغیرها در گروه‌های مورد پژوهش دارای تساوی واریانس هستند ($P > 0/100$). شکل ۱ افزایش وزن گروه‌های مورد پژوهش را طی پروتکل مداخله یعنی غذای پرچرب و تمرین هوازی نشان می‌دهد. در شکل ۲، مقدار وزن گروه‌ها پس از پایان پروتکل مداخله با یکدیگر مقایسه شده است. بر اساس این مقایسه، وزن گروه غذای پرچرب در قیاس با وزن گروه کنترل و در قیاس با گروه تمرین هوازی بیشتر و معنادار بود ($P = 0/003$; $P = 0/001$).

روش‌های آماری: به منظور تحلیل آماری داده‌های پژوهش و ترسیم نمودار از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸،۴،۳ استفاده شد. از آزمون شاپیرو-ویلک (*Shapiro-Wilk*)، برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. تساوی واریانس گروه‌ها از طریق آزمون برون (*Brown-Forsythe test*) مورد بررسی قرار گرفت. از تحلیل واریانس یک‌طرفه (*One Way ANOVA*) برای تحلیل داده‌های مربوط به وزن در گروه‌های مورد پژوهش و از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه (*Two Way ANOVA*) برای تحلیل اثر غذای پرچرب و تمرین هوازی بر بیان ژن‌های UCPI و سارکولپین استفاده شد. سطح معنی‌داری برای آزمون‌های آماری کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول (۲): ترکیب غذای پرچرب

مقدار (گرم)	مواد
۲۵	شیر خشک
۱۶۸	پودر گوشت
۶۰	روغن سویا
۶۰	کره حیوانی
۱۵۰	کنجیده سویا
۲۳۵	گندم
۱۴۰	جو
۴۲	ذرت
۲۰	سیوس
۲۰	پودر یونجه
۸	نمک
۱۱	ویتامین
۱	مواد معدنی

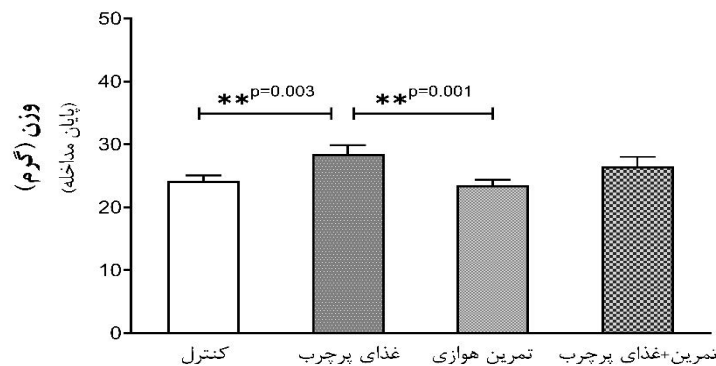


شکل (۱): تغییرات وزن گروه‌های مورد پژوهش طی دوره مداخله تحقیق داده‌های نمودار به صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند.

جدول (۳): پروتکل تمرین هوازی

مدت (دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)	
۱۵	۱۳	هفته‌ی اول
۲۰	۱۵	هفته‌ی دو
۲۳	۱۶	هفته‌ی سوم
۲۵	۱۷	هفته‌ی چهارم
۲۷	۱۸	هفته‌ی پنجم
۳۰	۲۰	هفته‌ی ششم

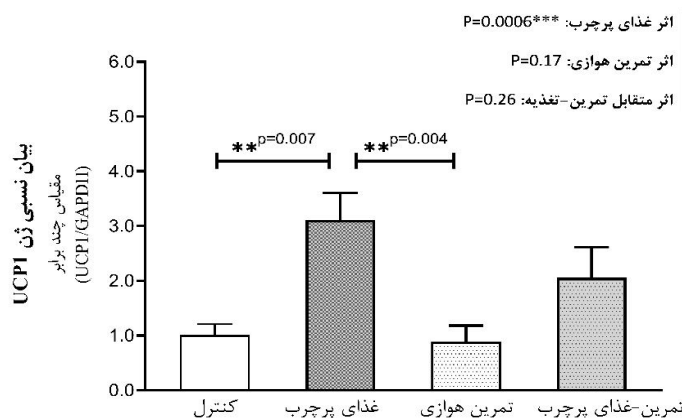
شیب نوارگردان صفر درجه است.



شکل (۲): مقایسه وزن گروه‌های مورد پژوهش پس از پایان مداخله تحقیق داده‌های نمودار به صورت «میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (آزمون تعقیبی توکی) در بالای ستون‌ها نشان داده شده است.

آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان UCP1 در گروه غذای پرچرب در قیاس با گروه کنترل، سه برابر بیشتر بود ($P=0/007$). با این حال، تغییر بیان UCP1 در گروه تمرین هوازی ($P=0/91$) و گروه غذای پرچرب-تمرین هوازی ($P=0/29$)، در قیاس با گروه کنترل معنی‌دار نبود (شکل ۳).

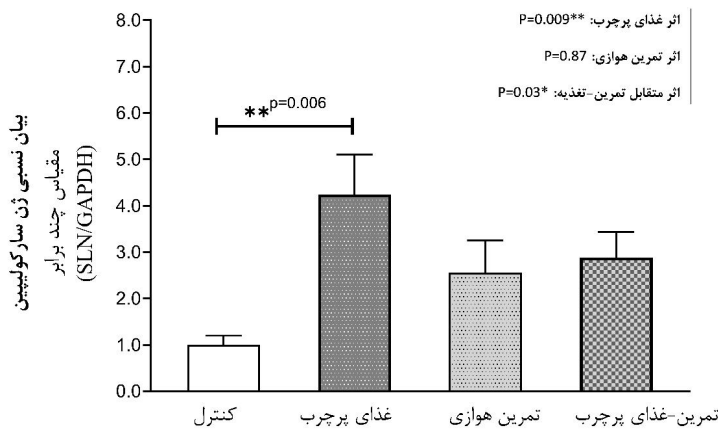
بر اساس آزمون تحلیل واریانس دوطرفه مشخص شد که اثر غذای پرچرب بر بیان UCP1 معنی‌دار بود ($P=0/006$). با این حال، اثر تمرین هوازی ($P=0/17$) و اثر متقابل غذای پرچرب و تمرین هوازی ($P=0/26$) بر بیان این ژن معنی‌دار نبود (شکل ۳). همچنین،



شکل (۳): بیان نسبی ژن UCP1 در چربی قهوه‌ای گروه‌های مورد پژوهش داده‌های نمودار به صورت «میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین» نمایش داده شده‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در بالای نمودار ارائه شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی در بالای ستون‌ها نشان داده شده است.

گروهی که غذای پرچرب مصرف کرده بود در قیاس با گروه کنترل، چهار برابر بیشتر بود ($P=0/006$). با این حال، تغییر بیان سارکولیپین در گروه تمرین هوازی ($P=0/31$) و گروه غذای پرچرب-تمرین هوازی ($P=0/49$) در قیاس با گروه کنترل معنی‌دار نبود (شکل ۴).

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که اثر غذای پرچرب ($P=0/009$) و اثر متقابل غذای پرچرب و تمرین هوازی ($P=0/31$) بر بیان سارکولیپین معنی‌دار بود. با این حال، اثر تمرین هوازی بر بیان این ژن معنی‌دار نبود ($P=0/87$) (شکل ۴). همچنین، آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان سارکولیپین در



شکل ۴): بیان نسبی ژن سارکولیپین در عضله اسکلتی گروه‌های مورد پژوهش داده‌های نمودار به صورت «میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین» نمایش داده شده‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در بالای نمودار ارائه شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی در بالای ستون‌ها نشان داده شده است.

در شرایط تعادل انرژی مثبت است. اهمیت این یافته، از آنجایی افزایش می‌یابد که در سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۹، وجود بافت چربی قهوه‌ای (هرچند کم) در بدن انسان‌های بزرگسال کشف شد (۴۶،۴۷). بر اساس این یافته‌ها، به نظر می‌رسد، این سازوکار گرمایی در چربی قهوه‌ای موجود در بدن انسان‌ها می‌تواند در تعادل انرژی ایفای نقش کند.

در این پژوهش، تمرین هوازی، تغییر معنی‌داری در بیان UCPI1 ایجاد نکرد. یافته‌های مطالعات گذشته در این زمینه ضدونقیض است. وو^۱ و همکاران (۲۰۱۴) کاهش مقدار پروتئین UCPI1 (۱۲) و در مقابل دی‌کوییز^۲ و همکاران (۲۰۱۲) (۱۴) و آلدیس^۳ و همکاران (۲۰۲۰) (۳۲) افزایش رونویسی UCPI1 را در بافت چربی قهوه‌ای موش‌ها گزارش کرده‌اند.

اگرچه به صورت دقیق نمی‌توان دلیل این اختلاف‌ها را بیان کرد، با این حال، تصور می‌شود، این سه مورد دخیل باشند: (۱) نوع اندازه‌گیری UCPI1 یعنی سنجش مقدار پروتئین در مقابل میزان رونویسی. در مطالعه وو، میزان پروتئین UCPI1 سنجیده شد،

بحث و نتیجه‌گیری

داده‌های این پژوهش نشان داد، غذای پرچرب موجب افزایش سه برابر در بیان UCPI1 در بافت چربی قهوه‌ای و افزایش چهار برابر در بیان سارکولیپین عضله اسکلتی شد. تمرین هوازی به‌تنهایی تأثیر معنی‌داری در بیان ژن‌های UCPI1 و سارکولیپین نداشت، اما زمانی که با تغذیه پرچرب توأم شد، از افزایش بیان این ژن‌ها به‌ویژه سارکولیپین ممانعت کرد.

مطالعات گذشته به‌وضوح نشان داده‌اند که بیان UCPI1 در سطح رونویسی و پروتئین در بافت چربی قهوه‌ای موش‌های سوری و موش‌های صحرایی تنظیم افزایشی می‌یابد (۸-۱۵). در این پژوهش، مطابق با یافته‌های مطالعات گذشته، تأثیر افزایشی غذای پرچرب بر بیان ژن UCPI1 مشاهده شد. به‌طوری‌که بیان UCPI1 در موش‌هایی که غذای پرچرب مصرف کرده بودند، در قیاس با گروه کنترل، سه برابر افزایش یافت. این یافته‌ها، دلالت بر بروز گرمایی مزمن ناشی از تغذیه پرچرب در سطح بافت چربی قهوه‌ای دارند. تصور می‌شود، این یک مکانیسم سازشی برای حفظ هموستاز انرژی

³ Aldiss

¹ Wu

² de Queiroz

گرمزایی ناشی از تغذیه است (۵۱، ۵۲). باین حال، پاسخ این سؤال که تمرین هوازی تجویز شده با چه مکانیسمی این تنظیم افزایشی را تنزل می‌دهد، مشخص نیست.

مطالعات اخیراً نشان داده‌اند، میزان پروتئین سارکولپین در عضله نعلی موش‌هایی که دارای رژیم غذای پرچرب هستند، افزایش می‌یابد (۱۶، ۲۰، ۲۸). همچنین، در این پژوهش، مطابق با مطالعات گذشته، مشاهده شد، غذای پرچرب، موجب افزایش بیان ژن سارکولپین شد. به طوری که بیان آن در موش‌هایی که غذای پرچرب مصرف کرده بود، در قیاس با گروه کنترل، چهار برابر افزایش یافت. یافته‌ی این پژوهش در کنار یافته‌های مطالعات گذشته می‌تواند دلالت بر این داشته باشد که دریافت غذای پرچرب در طولانی مدت، موجب تقویت گرمزایی سازشی (گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه) در سطح عضلات اسکلتی می‌شود. از آنجاکه عضلات اسکلتی بیش از ۴۰ درصد از بدن را تشکیل می‌دهند، از این رو کوچک‌ترین افزایش در فعالیت گرمزایی این بافت موجب اثرات متابولیکی قوی در بدن خواهد شد (۱۷، ۱۹، ۵۳). بنابراین، گمان می‌رود، افزایش بیان سارکولپین ناشی از غذای پرچرب، سهم مهمی در گرمزایی سازشی ناشی از تغذیه دارد.

یافته‌ی دیگر این پژوهش این بود که تمرین هوازی، تأثیر معنی‌داری در بیان سارکولپین نگذاشت. به طوری که بیان سارکولپین در گروهی که تمرین هوازی داشتند، در قیاس با گروه کنترل افزایش معناداری نیافت. برخلاف یافته‌ی این پژوهش، دی اسنو^۶ (۲۰۰۹) (۳۳) گزارش کرده است که تمرین هوازی به صورت دوییدن روی چرخ گردان^۷ موجب افزایش بیان سارکولپین در عضله نعلی موش می‌شود. دلیل این اختلاف، احتمالاً مربوط به دمای نگهداری موش‌ها و مدل تمرین تجویز شده باشد. همان طور که در پاراگراف‌های قبلی ذکر شد، در این پژوهش، موش‌ها در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد (نزدیک به شرایط دمای خنثی) نگهداری شدند، در حالی که در مطالعات گذشته، موش‌ها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همان طور که پیش‌تر اشاره شد، دمای معمول نگهداری موش‌ها اخیراً به عنوان متغیر مداخله‌گر در مطالعات مربوط به گرمزایی شناخته شده است (۵۴). به علاوه، ناهم‌سو با یافته این پژوهش، در مطالعاتی که از تمرینات مقاومتی به صورت اضافه‌بار^۸ استفاده شده بود، افزایش بیان سارکولپین مشاهده شد (۵۵، ۵۶). تصور می‌شود، مکانیسم‌های تأثیر تمرین مقاومتی و تمرین هوازی بر بیان سارکولپین متفاوت از هم هستند؛ چراکه ثابت شده است که تمرین مقاومتی و تمرین

در حالی که در مطالعه حاضر و دیگر مطالعات میزان رونویسی (بیان mRNA) سنجیده شد. گمان می‌رود که تغییرات رونویسی، ترجمه و پس ترجمه ژن UCP1 در الگوی منطقی رخ نمی‌دهند. (۲) دمای نگهداری موش‌ها. در این مطالعه موش‌ها در دمای نزدیک به خنثی^۴ یعنی ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، در حالی که در مطالعه‌ی دی کوپیز، موش‌ها در دمای معمول نگهداری شدند (یعنی ۲۲ درجه سانتی‌گراد). مطالعات اخیراً نشان داده‌اند، دمای معمول نگهداری موش‌ها یعنی ۲۲ درجه سانتی‌گراد، موجب استرس دمایی (سرما) مزمن در موش‌ها می‌شود که همین امر موجب افزایش بیان ژن‌های گرمازا همچون UCP1 می‌شود که نتیجه آن اختلال در یافته‌های مطالعات مشابه است (۳۸-۴۰). (۳) نوع تمرین ورزشی، در این مطالعه موش‌ها بر روی نوارگردان تمرین کردند، در حالی که در مطالعه‌ی آلدیس، موش‌ها به صورت شنا تمرین داشتند. اگرچه، هر دو مدل تمرین (یعنی بروی نوارگردان و شنا) تمرین هوازی محسوب می‌شوند، باین حال، تحقیقات نشان داده‌اند، سازگاری‌های ناشی از این دو تمرین، الزاماً یکسان نیست (۴۸، ۴۹). احتمال دارد که تمرین ورزشی به صورت شنا موجب تحریک متفاوت سازوکارهای بیان ژن UCP1 شده است.

در این پژوهش مشاهده شد، غذای پرچرب و تمرین هوازی، اثر متقابلی در بیان UCP1 نداشتند. همچنین مشاهده شد، میزان بیان گروه غذای پرچرب-تمرین هوازی در قیاس با گروه کنترل معنی‌دار نبود. این یافته به صورت غیرمستقیم دلالت بر این دارد که احتمالاً تمرین هوازی تجویز شده، از افزایش بیان UCP1 ناشی از غذای پرچرب مانع کرده است. مطابق با این یافته، دی کوپیز و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تمرینات استقامتی موجب مهار تنظیم افزایشی بیان UCP1 ناشی از غذای پرکالری (غذای با قند بالا) شد (۱۳). بر اساس این یافته‌ها، می‌توان استدلال کرد که تمرین هوازی تجویز شده، احتمالاً گرمزایی مزمن ناشی از تغذیه پرچرب را در سطح بافت چربی قهوه‌ای تعدیل کرده است. به نظر می‌رسد، این یک مکانیسم سازشی برای پیشگیری از هدر رفت بیش‌ازحد انرژی باشد.

مهم‌ترین مکانیسم مسئول بیان ژن UCP1 در چربی قهوه‌ای، مسیر پیام‌رسانی بتا آدرنژیک^۵ است (۵۰). این مسیر پیام‌رسانی موجب تحریک رونویسی ژن UCP1 می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که تغذیه پرکالری از طریق تحریک سیستم عصب سمپاتیک، موجب رهائش نوراپی‌نفرین و تحریک مسیر پیام‌رسانی بتا آدرنژیک می‌شود که نتیجه آن افزایش بیان ژن UCP1 و القاء

⁷ Wheel running

⁸ Overload

⁴ Thermoneutrality

⁵ β -adrenergic

⁶ de Snoo

مشاهده شد، تمرین منظم هوازی از افزایش (ناشی از غذای پرچرب) این ژن‌ها پیشگیری کرد.

بر اساس این یافته‌ها، می‌توان استدلال کرد که توأم شدن تغذیه طولانی پرچرب و تمرین منظم هوازی، موجب بروز کشمکش‌های تنظیم‌کننده انرژی و گرم‌زایی می‌شوند. به عبارت بهتر، در شرایطی که دریافت انرژی به صورت تغذیه پرچرب افزایش می‌یابد، سازوکار مصرف‌کننده انرژی یعنی گرم‌زایی ناشی از تغذیه پرچرب فعال می‌شود تا از تجمع بیش‌ازحد انرژی جلوگیری شود و تعادل انرژی برقرار شود. اما در شرایطی که علاوه بر تغذیه غذای پرچرب، تمرین هوازی که ذاتاً خاصیت مصرف‌کنندگی انرژی دارد، تجویز می‌شود، ضرورت به‌کارگیری سازوکار مصرف‌کنندگی انرژی مربوط به تغذیه (یعنی گرم‌زایی ناشی از تغذیه پرچرب) کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد، این تنظیم کاهشی، به‌منظور پیشگیری از مصرف بیش‌ازحد انرژی و برقراری موازنه انرژی باشد. پیشنهاد این است که در این زمینه، مطالعات بیشتر و دقیق‌تری صورت بگیرد تا بر اساس آن بتوان برنامه غذایی-ورزشی مناسبی به‌منظور کنترل وزن طراحی و تجویز شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از طرح پژوهشی (۱۳۷۲۹-۱۵۶۶۴) با حمایت مالی دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی (ره) انجام شده است. از این حیث، از مسئولین پژوهشی دانشگاه به جهت همکاری‌های صورت گرفته، کمال تشکر به عمل می‌آید. از سرکار خانم دکتر فاطمه جلالی به جهت همکاری در اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی و دکتر یویا امینی به جهت ارائه مشاوره‌های ارزشمند در مورد آنالیز آماری تشکر می‌شود.

References

1. Joosen AM, Westerterp KR. Energy expenditure during overfeeding. *Nutr Metab* 2006; 3(1): 25
2. Calcagno M, Kahleova H, Alwarith J, Burgess NN, Flores RA, Busta ML, et al. The Thermic Effect of Food: A Review. *J Am Coll Nutr* 2011; 38(6): 547-51.
3. Westerterp KR. Diet induced thermogenesis. *Nutr Metab (Lond)* 2004; 1(1): 1-5.
4. Rosenbaum M, Leibel RL. Adaptive thermogenesis in humans. *Int J Obes* 2010; 34(1): S47-55.

استقامتی از طریق مکانیسم‌های متفاوت، سازگاری‌های بدن به‌ویژه سازگاری عضلانی را بنا می‌گذارند (۵۷).

یافته‌ی اصلی این پژوهش این بود که تمرین هوازی همراه غذای پرچرب، اثر متقابل در بیان سارکولپین عضله داشتند. برخلاف گروه غذای پرچرب که در آن افزایش بیان سارکولپین مشاهده شد (در پاراگراف‌های قبل ذکر شد)، میزان بیان سارکولپین در گروه غذای پرچرب-تمرین هوازی در قیاس با گروه کنترل افزایش نیافت. این یافته به‌طور غیرمستقیم بر این دلالت دارد که احتمالاً تمرین هوازی، اثر افزایشی ناشی از غذای پرچرب در بیان سارکولپین را محدود کرده است. بر اساس این یافته می‌توان استدلال کرد که تمرین هوازی، احتمالاً گرم‌زایی مزمن ناشی از تغذیه پرچرب را در سطح عضلات اسکلتی تعدیل می‌کند. مکانیسم‌های مسئول در بیان ژن سارکولپین تاکنون مشخص نشده است. اما برخی از پژوهشگران، نقش احتمالی مسیبر سیگنالینگ لپتین^۹ و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید را در القاء بیان این ژن را مطرح کرده‌اند (۵۸). همچنین مطالعاتی وجود دارد که نشان داده‌اند، هورمون‌های تیروئیدی (T3/T4) می‌توانند بیان سارکولپین را در سطح عضله قلب کاهش دهند (۵۹). باوجوداین، تأثیر میانجی‌کننده این هورمون‌ها در سطح عضله اسکلتی، تاکنون مشخص نشده است. بنابراین، تعیین سازوکار القاء این ژن نیاز به مطالعات دقیق دارد.

نتیجه‌گیری

به‌صورت کلی، یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف طولانی غذای پرچرب، موجب افزایش بیان UCP1 و سارکولپین به ترتیب در بافت چربی قهوه‌ای و بافت عضلانی شد. از طرف دیگر،

5. Dulloo AG, Jacquet J, Montani JP, Schutz Y. Adaptive thermogenesis in human body weight regulation: more of a concept than a measurable entity? *Obes Rev* 2012; 13(2):105-21.
6. von Essen G, Lindsund E, Cannon B, Nedergaard J. Adaptive facultative diet-induced thermogenesis in wild-type but not in UCP1-ablated mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2017; 313(5): E515-27.
7. Saito M, Matsushita M, Yoneshiro T, Okamatsu-Ogura Y. Brown Adipose Tissue, Diet-Induced

⁹ Leptin

- Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men. *Front Endocrinol* 2020;11:222.
8. García-Ruiz E, Reynés B, Díaz-Rúa R, Ceresi E, Oliver P, Palou A. The intake of high-fat diets induces the acquisition of brown adipocyte gene expression features in white adipose tissue. *Int J Obes* 2015; 39(11):1619-29.
 9. Hansen IR, Jansson KM, Cannon B, Nedergaard J. Contrasting effects of cold acclimation versus obesogenic diets on chemerin gene expression in brown and white adipose tissues. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2014; 1841(12):1691-9.
 10. Weiner J, Rohde K, Krause K, Zieger K, Klötting N, Kralisch S, et al. Brown adipose tissue (BAT) specific vaspin expression is increased after obesogenic diets and cold exposure and linked to acute changes in DNA-methylation. *Mol Metab* 2017; 6 (6): 482-93.
 11. Da Eira DP. High-Fat Diet Enhances Triglyceride Recycling, Impairs UCP1-Mediated Thermogenic Activity, and Causes Insulin Resistance in Rat Brown Adipocytes. *yorkspace.library.yorku.ca*. 2019.
 12. Wu MV, Bikopoulos G, Hung S, Ceddia RB. Thermogenic capacity is antagonistically regulated in classical brown and white subcutaneous fat depots by high fat diet and endurance training in rats impact on whole-body energy expenditure. *J Biol Chem* 2014; 289 (49): 34129-40.
 13. de Queiroz KB, Rodovalho GV, Guimaraes JB, de Lima DC, Coimbra CC, Evangelista EA, et al. Endurance training blocks uncoupling protein 1 up-regulation in brown adipose tissue while increasing uncoupling protein 3 in the muscle tissue of rats fed with a high-sugar diet. *Nutr Res* 2012; 32 (9): 709-717.
 14. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300 (5): R1115-25.
 15. Shirkhani S, Marandi SM, Kazeminasab F, Esmaeili M, Ghaedi K, Esfarjani F, et al. Comparative studies on the effects of high-fat diet, endurance training and obesity on Ucp1 expression in male C57BL/6 mice. *Gene* 2018; 676: 16-21.
 16. Bombardier E, Smith IC, Gamu D, Fajardo VA, Vigna C, Sayer RA, et al. Sarcolipin trumps β -adrenergic receptor signaling as the favored mechanism for muscle-based diet-induced thermogenesis. *FASEB J* 2013; 27 (9): 3871-8.
 17. Periasamy M, Herrera JL, Reis FC. Skeletal muscle thermogenesis and its role in whole body energy metabolism. *Diabetes Metab J* 2017; 41 (5): 327-36.
 18. Rowland LA, Bal NC, Periasamy M. The role of skeletal - muscle - based thermogenic mechanisms in vertebrate endothermy. *Biol Rev* 2015; 90 (4): 1279-97.
 19. Bal NC, Maurya SK, Singh S, Wehrens XH, Periasamy M. Increased reliance on muscle-based thermogenesis upon acute minimization of brown adipose tissue function. *J Biol Chem* 2016; 291 (33): 17247-57.
 20. Rowland LA, Maurya SK, Bal NC, Kozak L, Periasamy M. Sarcolipin and uncoupling protein 1 play distinct roles in diet - induced thermogenesis and do not compensate for one another. *Obesity* 2016; 24 (7): 1430-3.
 21. Smith IC, Bombardier E, Vigna C, Tupling AR. ATP consumption by sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps accounts for 40-50 %of resting metabolic rate in mouse fast and slow twitch skeletal muscle. *PloS one* 2013; 8(7): e68924.
 22. Periasamy M, Maurya SK, Sahoo SK, Singh S, Reis FC, Bal NC. Role of SERCA pump in muscle thermogenesis and metabolism. *Compr Physiol* 2011; 7(3): 879-90.
 23. Pant M, Bal NC, Periasamy M. Sarcolipin: a key thermogenic and metabolic regulator in skeletal muscle. *Trends Endocrinol Metab* 2016; 27 (12): 881-92.

24. Campbell KL, Dicke AA. Sarcolipin makes heat, but is it adaptive thermogenesis? *Front Physiol* 2018; 9: 714.
25. Gamu D, Juracic ES, Hall KJ, Tupling AR. The sarcoplasmic reticulum and SERCA: a nexus for muscular adaptive thermogenesis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2020;45(1):1-10.
26. Gamu D, Bombardier E, Smith IC, Fajardo VA, Tupling AR. Sarcolipin provides a novel muscle-based mechanism for adaptive thermogenesis. *Exerc Sport Sci Rev* 2014; 42 (3): 136-42.
27. Bal NC, Periasamy M. Uncoupling of sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase pump activity by sarcolipin as the basis for muscle non-shivering thermogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2020; 375 (1793): 20190135.
28. Bal NC, Maurya SK, Sopariwala DH, Sahoo SK, Gupta SC, Shaikh SA, et al. Sarcolipin is a newly identified regulator of muscle-based thermogenesis in mammals. *Nat Med* 2012; 18 (10): 1575.
29. Maurya SK, Bal NC, Sopariwala DH, Pant M, Rowland LA, Shaikh SA, et al. Sarcolipin is a key determinant of the basal metabolic rate, and its overexpression enhances energy expenditure and resistance against diet-induced obesity. *J Biol Chem* 2015; 290 (17): 10840-9.
30. Maurya SK, Herrera JL, Sahoo SK, Reis FC, Vega RB, Kelly DP, et al. Sarcolipin signaling promotes mitochondrial biogenesis and oxidative metabolism in skeletal muscle. *Cell Rep* 2018; 24 (11): 2919-31.
31. Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. *Prog Cardiovasc Dis* 2014; 56 (4): 441-7.
32. Aldiss P, Lewis JE, Lupini I, Bloor I, Chavoshinejad R, Boocock DJ, et al. Exercise training in obese rats does not induce browning at thermoneutrality and induces a muscle-like signature in brown adipose tissue. *Front Endocrinol* 2020; 11: 97.
33. de Snoo M, Responses of mouse skeletal muscle to endurance exercise. Functional, metabolic, and genomic adaptations. (dissertation). Utrecht University; 2009.
34. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev* 2010; 23 (2): 270-99.
35. Benoit B, Plaisancie P, Awada M, Gélœn A, Estienne M, Capel F, et al. High-fat diet action on adiposity, inflammation, and insulin sensitivity depends on the control low-fat diet. *Nutr Res* 2013; 33 (11): 952-60.
36. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur Heart J* 2007; 14 (6): 753-60.
37. Wang Y, Wisloff U, Kemi OJ. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. *Physiol Res* 2010; 59 (5): 633.
38. David JM, Chatziioannou AF, Taschereau R, Wang H, Stout DB. The hidden cost of housing practices: using noninvasive imaging to quantify the metabolic demands of chronic cold stress of laboratory mice. *Comp Med* 2013; 63 (5): 386-91.
39. Fischer AW, Cannon B, Nedergaard J. Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans: An experimental study. *Mol Metab* 2018; 7 161-70.
40. Bastías-Pérez M, Zagmutt S, Soler-Vázquez MC, Serra D, Mera P, Herrero L. Impact of adaptive thermogenesis in mice on the treatment of obesity. *Cells* 2020; 9 (2): 316.
41. Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, Rüllicke T. Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. *Comp Med* 2001; 51(5):443-56
42. Pant M, Bal NC, Periasamy M. Cold adaptation overrides developmental regulation of sarcolipin expression in mice skeletal muscle: SOS for muscle-based thermogenesis? *J Exp Bio* 2015; 218 (15): 2321-5.

43. Kalinovich AV, de Jong JM, Cannon B, Nedergaard J. UCP1 in adipose tissues: two steps to full browning. *Biochimie* 2017; 134: 127-37.
44. Parousis A, Carter HN, Tran C, Erlich AT, Mesbah Moosavi ZS, Pauly M, et al. Contractile activity attenuates autophagy suppression and reverses mitochondrial defects in skeletal muscle cells. *Autophagy* 2018; 14 (11): 1886-97.
45. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. *BioTechniques* 2005; 39 (1): 75-85.
46. Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293 (2): E444-52.
47. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med* 2009; 360 (15): 1509-17.
48. Moura EdOCd, Tanaka K, Gomes MFP, Nogueira E, Gomes R, Estadella D, et al. Comparison between the effects of swimming and treadmill-based aerobic training protocols in diabetic rats. *Int J Cardiovasc Sci* 2018; 31 (6): 610-8.
49. Baptista S, Piloto N, Reis F, Teixeira-de-Lemos E, Garrido A, Dias A, et al. Treadmill running and swimming imposes distinct cardiovascular physiological adaptations in the rat: focus on serotonergic and sympathetic nervous systems modulation. *Acta Physiol Hung* 2008; 95 (4): 365-81.
50. Wankhade UD, Shen M, Yadav H, Thakali KM. Novel Browning Agents, Mechanisms, and Therapeutic Potentials of Brown Adipose Tissue. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 2365609.
51. Bachman ES, Dhillon H, Zhang C-Y, Cinti S, Bianco AC, Kobilka BK, et al. β AR signaling required for diet-induced thermogenesis and obesity resistance. *Science* 2002; 297 (5582): 843-5.
52. Lowell BB, Bachman ES. β -Adrenergic receptors, diet-induced thermogenesis, and obesity. *J Biol Chem* 2003; 278 (32): 29385-8.
53. Fuller-Jackson J-P, Henry BA. Adipose and skeletal muscle thermogenesis: studies from large animals. *Endocrinology* 2018; 237 (3): R99-115.
54. Raun SH, Henriquez-Olguin C, Karavaeva I, Ali M, Møller LLV, Kot W, et al. Housing temperature influences exercise training adaptations in mice. *Nat Commun* 2020; 11 (1): 1560.
55. Riedl I, Osler ME, Björnholm M, Egan B, Nader GA, Chibalin AV, et al. AMPK γ 3 is dispensable for skeletal muscle hypertrophy induced by functional overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2016; 310 (6): E461-72.
56. Fajardo VA, Rietze BA, Chambers PJ, Bellissimo C, Bombardier E, Quadrilatero J, et al. Effects of sarcolipin deletion on skeletal muscle adaptive responses to functional overload and unload. *Am J Physiol Cell Physiol* 2017; 313 (2): C154-61.
57. Hughes DC, Ellefsen S, Baar K. Adaptations to Endurance and Strength Training. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8 (6): a029769.
58. Ukropec J, Anunciado RV, Ravussin Y, Kozak LP. Leptin is required for uncoupling protein-1-independent thermogenesis during cold stress. *Endocrinology* 2006; 147 (5): 2468-80.
59. Minamisawa S, Uemura N, Sato Y, Yokoyama U, Yamaguchi T, Inoue K, et al. Post-transcriptional downregulation of sarcolipin mRNA by triiodothyronine in the atrial myocardium. *FEBS letters* 2006; 580 (9): 2247-52.

THE COMBINED EFFECT OF LONG-TERM FEEDING OF HIGH-FAT DIET AND REGULAR AEROBIC TRAINING ON GENE EXPRESSION OF UNCOUPLING PROTEIN 1 (UCP1) IN BROWN ADIPOSE TISSUE AND SARCOLIPIN (SLN) IN SOLEUS MUSCLE OF MICE: AN EXPERIMENTAL STUDY

Saeed Daneshyar^{1*}, Fatemeh OmidAli², SeydAla Feizipour³

Received: 09 March, 2021; Accepted: 08 December, 2021

Abstract

Background & Aims: Uncoupling protein 1 (UCP1) and Sarcolipin (SLN) are regulator proteins in non-shivering thermogenesis in brown adipose tissue and skeletal muscle (SM), respectively. This study aimed to investigate the combined effects of long-term feeding of a high-fat diet and regular aerobic training on its gene expression in mice.

Materials & Methods: 28 mice were assigned into four groups including; 1) control (n=7), 2) High Fat Diet (HFD), 3) Aerobic Training (AT) (n=7), and 4) High Fat Diet- Aerobic Training (HFD-AT) (n=7). The subjects of the HFD group were fed with a high-fat diet (fat= 45%) for 12 weeks. The mice of AT group underwent aerobic training on a treadmill for six weeks. HFD-AT group underwent the aerobic training in addition to a high fat diet. The Real-Time-PCR method was used to measure the gene expression of UCP1 and SLN.

Results: Data showed that the aerobic training did not significantly affect the expressions of UCP1 and SLN ($p=0.17$; $p=0.87$). However, a high-fat diet caused an increase (approximately three-fold) in the expression of UCP1 and SLN ($p=0.0006$; $p=0.009$). Basically, the aerobic training prevented the HFD-induced increase of UCP1 and SLN ($p=0.29$; $p=0.49$).

Conclusion: These results indicated that regular aerobic training could limit the increasing effect of the high-fat diet on thermogenic factors, i.e., UCP1 and SLN. Based on this, it seems that aerobic training could modulate diet-induced thermogenesis by these regulating mechanisms.

Keywords: Nutrition, Exercise training, Diet-induced thermogenesis, UCP1, Sarcolipin

Address: Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Aozma Boroujerdi University, Boroujerd, Lorestan, Iran

Tel: +989037324793

Email: s.daneshyar@abru.ac.ir and s.daneshyar@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2021: 32(4): 302 ISSN: 2717-008X

¹ Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Aozma Boroujerdi University, Lorestan, Lorestan, Iran (Corresponding Author)

² Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Ayatollah Aozma Boroujerdi University, Lorestan, Iran

³ Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Shahid Rajaei University, Tehran, Iran