Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن UCP-1 در بافت چربی سفید احشائی منطقه خلف صفاق موش‌های صحرایی نر

سعید دانش‌یار: دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، ایران. s.daneshyar@ut.ac.ir
* **محمدرضا کردی**: دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، ایران (*نویسنده مسئول). mrkordi@ut.ac.ir
عباسعلی گائینی: استاد، دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، ایران.aagaeini@ut.ac.ir
مهدی کدیور: استادیار، دکتری تخصصی فراورده‌های بیولوژیک، گروه بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، ایران.kadivar@pasteur.ac.ir
سمانه افشاری: کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، ایران. s_afshari86@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات در زمینه‌ی اثر تمرینات ورزشی بر بیان ژن پروتئین غیر جفت کننده‌ی یک (UCP-1) در ذخایر مختلف چربی بدن اندک است، بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، مطالعه‌ی اثر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان این ژن در بافت چربی سفید احشائی منطقه‌ی خلف صفاق نمونه‌های موش بود.

روش کار: این پژوهش، تجربی با طرح دو گروهی بود. تعداد ۲۰ موش خریداری شدند و به‌صورت تصادفی به دو گروه؛ کنترل (تعداد:۱۰) و تمرین استقامتی (تعداد:۱۰) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرینی پس از دو هفته آشنایی با محیط و نوار گردان، به مدت هشت هفته، تحت تمرین استقامتی تداومی بر روی نوار گردان قرار گرفتند. پس از اتمام برنامه تمرین، موش‌ها از طریق تزریق درون صفاقی زایلازین-کتامین بی‌هوش شدند و بافت چربی خلف صفاق آن‌ها به‌سرعت برداشته و فریز شدند. برای اندازه‌گیری بیان نسبی ژن UCP-1 از روش Real Time (RT) –PCR با نمایان‌سازی سایبر گرین استفاده شد.

یافته‌ها: داده‌های این تحقیق نشان دادند که بیان نسبی ژن UCP-1 در گروه تمرین کرده در قیاس با گروه کنترل به‌صورت معنادار بیشتر بود (۳/۱±۱/۲۸ در مقابل ۱/۰۰؛ p=۰/۰۰۵) و مقادیر وزن (۲۹۰±۶/۶۰ در مقابل ۳۱۰±۵/۰۵؛ p=۰/۰۳۱) و همچنین شاخص توده‌ی بدن (۰/۵±۰/۰۱ در مقابل ۰/۶±۰/۰۱؛ p=۰/۰۲۴) در گروه تمرین کرده در قیاس با گروه کنترل به شکل معنادار کمتر بود.

نتیجه‌گیری: تمرینات استقامتی در مدت طولانی، منجر به کاهش اندک وزن و شاخص توده بدن و افزایش بیان ژن پروتئین گرمازایِ UCP-1 در بافت چربی سفید احشائی منطقه‌ی خلف صفاق می‌شود. از این حیث، تمرینات ورزشی اثر مضاعف و متفاوتی را در افزایش مصرف انرژی و احتمالاً کاهش وزن از طریق تغییر الگوی بیان ژن اعمال می‌کنند.

کلیدواژه‌ها: تمرین استقامتی، UCP-1، بافت چربی سفید

مقدمه

در دهه‌های گذشته اضافه وزن و چاقی به‌صورت همه‌گیر در حال گسترش است (۱ و ۲). چاقی اختلال هموستازی است که در آن تعادل بین دریافت انرژی و مصرف انرژی مختل می‌شود. در اثر این بی‌تعادلی مصرف انرژی بدن در قیاس با دریافت انرژی کاهش می‌یابد که حاصل آن، تجمع لیپید و افزایش وزن است (۳). به نظر می‌رسد، بافت چربی در اثر محرک مناسب دو ویژگی متمایز را بروز می‌دهد: ۱) مخزن اصلی انرژی و ۲) مصرف‌کننده‌ی جزئی انرژی. در شرایطی که دریافت انرژی زیاد باشد، ویژگی ذخیره‌ی انرژی بافت چربی سفید برای ذخیره بیشتر لیپید نمود می‌یابد (۴)، درحالی‌که با قرارگیری در سرمای مزمن و محرک بتا آدرنرژیک و دیگر عوامل، بافت چربی سفید تغییر ویژگی می‌دهد و از جایگاه ذخیره‌ی انرژی به جایگاه ضعیف مصرف‌کننده‌ی انرژی (همانند آنچه در بافت چربی قهوه‌ای مشاهده می‌شود) متمایل می‌شود (۹-۵). این تغییر فنوتیپ که قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید نامیده می‌شود (۱۰)، هرچند به میزان اندکی رخ می‌دهد، با وجود این می‌تواند نقش ارزشمندی در

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

تغییر هموستاز انرژی و کنترل تعادل انرژی داشته باشد (۷).

سازوکار ناشی از این تغییر فنوتیپ ریشه در پروتئین گرمازا (Thermogenin) به نام UCP-1 یا پروتئین غیر جفت کننده‌ی یک (Uncoupling Protein 1) دارد (۵). UCP-1 در غشای داخلی میتوکندری سلول‌های چربی قهوه‌ای در بافت چربی قهوه‌ای (۱۱) و همچنین، سلول‌های شبه قهوه‌ای (Brown-like Adipocyte) (یا سلول‌های چربی بریت (Brite) یا بِژ (Beige)، قرار دارد (۸ و ۱۲). این پروتئین، کانالی را تشکیل می‌دهد که موجب نشت پروتون می‌شود، در نتیجه، انرژی که می‌باید صرف سنتز ATP شود، به‌صورت حرارت دفع می‌شود (۱۳ و ۱۴). از این رو، این پروتئین از طریق تولید گرما به‌صورت غیر لرزشی (Non shivering thermogenesis) در بافت چربی قهوه‌ای (۱۵) و همچنین بافت چربی سفید که تظاهر به قهوه‌ای یافته است، موجب افزایش مصرف انرژی، ناکارایی متابولیکی (Metabolic inefficiency) و دفع انرژی می‌شود (۱۵). بر همین اساس، سنتز پروتئین UCP-1 در بافت چربی، نقش مهمی در ایجاد مقاومت و پیشگیری در برابر تجمع لیپید، افزایش وزن و چاقی دارد (۱۶ و ۱۷). در مطالعه‌ای، موش‌های تراریخته که UCP-1 در بافت چربی سفید آن‌ها بیش بیان شده بود، در برابر چاقی ناشی از غذای چرب و دیابت مقاوم شدند (۱۸). در مطالعه‌ی دیگر توسط فلدمان (Feldmann) و همکاران در سال ۲۰۰۹، حذف(Ablation) UCP-1 در نمونه‌های موش، موجب چاقی، کاهش کارایی انرژی و کاهش گرمازایی ناشی از تغذیه شد (۱۹). بر اساس همین تحقیقات، القاء بیان UCP-1 در بافت چربی سفید به عنوان هدف درمانی مهم برای مقابله با افزایش وزن و چاقی منظور شده است (۲۰).

عوامل دارویی و تغذیه‌ای زیادی در القاء بیان UCP-1 در بافت چربی سفید نقش دارند که از مهم ترین آن‌ها می‌توان به مواجه طولانی مدت با سرما و تاثیر هورمون‌های کاتاکولامینی، تیروئید (تری‌یدوترونین) و شبه هورمون آیرزین (Irisin) اشاره کرد (۵ و ۶). اخیراً، فعالیت و تمرین ورزشی به عنوان محرک مناسب برای بیان UCP-1 در بافت چربی سفید مطرح شده است؛ به‌گونه‌ای‌که برخی از مطالعات، افزایش بارز بیان UCP-1 را به دنبال یک جلسه (۲۱)، سه هفته (۲۲)، پنج هفته (۲۱) و هشت هفته (۲۳) تمرین استقامتی در بافت چربی سفید زیرپوستی منطقه‌ی ران (Inguinal) و بافت چربی سفید احشائی ناحیه‌ی اپیدیدیمال (Epididymal) نمونه‌های موش نشان داده‌اند. با این حال، تحقیقاتی نیز وجود دارند که عدم تغییر معنادار در بیان UCP-1 را پس از ۱۰ روز تمرین ترکیبی استقامتی تداومی و تناوبی شدید (۲۴) و شش هفته تمرین استقامتی (۲۵)، به‌ترتیب در بافت چربی سفید زیرپوستی انسان و احشائی (منطقه‌ی اپیدیدیمال) آزمودنی‌های موش گزارش کرده‌اند. از این رو، هنوز نمی‌توان به‌صورت قاطع اظهار داشت که آیا تمرینات ورزشی می‌توانند بیان UCP-1 را در مناطق مختلف بافت چربی سفید افزایش دهند.

بافت چربی سفید احشائی ناحیه‌ی خلف صفاق (Retroperitoneal) در قسمت خلفی حفره شکمی قرار دارد و کلیه‌ها را احاطه کرده است. اخیراً والدن (Walden) و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان داده اند که این ناحیه از بافت چربی، همانند بافت چربی زیرپوستی، دارای ویژگی بیان ژنی مشابه بافت چربی قهوه‌ای (یا ویژگی بافت چربی شبه قهوه‌ای) است، به‌گونه‌ای‌که بیان UCP-1 و دیگر ژن‌های مربوط به چربی قهوه‌ای در این ناحیه، به میزان بیشتری بیان می‌شود (۸ و ۱۲). بر همین اساس، این ناحیه از بافت چربی به عنوان بافت شبه قهوه‌ای نیز شناخته می‌شود. اگرچه، مطالعاتی که پیش تر ذکر شد، اثر تمرین ورزشی را در بافت چربی زیرپوستی و منطقه گنادی (یا اپیدیدیمال)، بررسی نموده‌اند، با وجود این، هنوز مطالعه‌ای به طور خاص اثر تمرین ورزشی را بر بیان ژن UCP-1 در منطقه‌ی خلف صفاق چربی احشائی بررسی نکرده است. تصور می‌شود، بر اثر تمرین ورزشی بیان ژن مورد نظر در این منطقه از چربی سفید، همانند دیگر مناطق چربی بدن، دچار تغییر شود؛ بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان تغییر بیان

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

پروتئین گرمازای UCP-1 در بافت چربی سفید احشائی منطقه خلف صفاق موش‌های صحرایی نر ویستار است؛ تا به این ترتیب اثر محرک تمرین ورزشی بر بیان این پروتئین گرمازا، بیشتر مشخص گردد.

روش کار

آزمودنی‌های تحقیق: تعداد ۲۰ سَر موش نر نژاد ویستار (در سن هشت هفته و با میانگین وزنی ۲۵ ±۲۱۰ گرم)، از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش ها بر اساس دستورالعمل انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی برای انجام اهداف علمی و آزمایشگاهی نگهداری شدند؛ نمونه‌ها تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری می‌شدند. در طول نگهداری حیوانات، آب و غذا به میزان دلخواه در اختیار آن‌ها گذاشته می‌شد. پس از همسان سازی وزن آزمودنی‌ها به‌صورت تصادفی به دو گروه کنترل (تعداد=۱۰) و تمرین استقامتی (تعداد=۱۰) تقسیم شدند. نمونه‌های گروه تمرینی، پس از دو هفته آشناسازی با محیط و نوارگردان، در سن ۱۰ هفتگی به مدت ۸ هفته تحت تمرین استقامتی قرار گرفتند.

پروتکل تمرین استقامتی: تمرین استقامتی تجویز شده در این پژوهش در برگیرنده‌ی دویدن بر روی نوارگردان با شیب صفر درجه، به مدت هشت هفته و هفته‌ای پنج جلسه بود. این پروتکل تمرینی بر اساس افزایش تدریجی بارکاری شامل شدت (سرعت) و حجم (مدت) تمرین طراحی شده بود که جزئیات بیشتر آن در جدول ۱ نشان ارائه شده است.

اندازه‌گیری‌های آنتروپومتری: وزن بدن حیوانات از طریق ترازوی دیجیتالی با حساسیت یک دهم (۰/۰۱) سنجیده شد. طول بدن موش ها (فاصله پوزه تا قائده‌ی دم موش) با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شد (۲۶). شاخص توده بدن(Body Mass Index-BMI) نمونه‌ها با تقسیم وزن بدن (بر حسب گرم) بر طول بدن (بر حسب سانتی‌متر) محاسبه شد (۲۶). مقادیر وزن و شاخص توده بدنی در حالت پیش و پس از ارائه تمرین استقامتی، مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

استخراج بافت: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از یک شب ناشتایی، حیوانات از طریق تزریق درون صفاقی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند و چربی ناحیه‌ی خلف صفاق آن‌ها به سرعت برداشته و از طریق مایع نیتروژن در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند.

اندازه‌گیری آزمایشگاهی: به منظور اندازه‌گیری بیان ژنِ UCP-1 از روش Syber Green Real Time Quantitative (RT)-PCR استفاده شد که مراحل آن بدین صورت بود: طراحی و سنتز پرایمر، استخراج RNA، سنتز cDNA، تکثیر (Amplification) ژن و پایش آن توسط دستگاه Real Time PCR.

طراحی و سنتز پرایمر: پرایمر ژن UCP-1 (ژن هدف) و ژن GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) به عنوان ژن کنترل(Housekeeping) ، توسط شرکت تکاپو زیست سنتز شد که توالی آن بدین صورت است:

UCP-1:
Forward:5′-CAAAGTCCGCCTCAGATC-3′
Reverse: 5′-TGGTGATGGTCCCTAAGAC-3′
GAPDH:
Forward, 5′-ATGGGGAAGGTGAAGGTCG-3′
Reverse, 5′- GGGGTCATTGATGGCAACA-3′

استخراج RNA: RNAی بافت چربی طبق دستورالعمل [Fermentase, RNX-pluse German] استخراج شد: ۵۰ میلی‌گرم از نمونه بافت چربی، پس از افزودن یک میلی لیتر محلول RNX، از طریق دستگاه همزن هموژن شد. بافت هموژن شده در سه مرحله در دوره‌های متفاوتی

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

سانتریفوژ شد که محصول آن تشکیل رسوب حاوی RNA بود که پس از اضافه کردن آب دپس (DEPC-treated Water) [Thermo, Fermentase, USA]، به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه ترموبلاک (Thermoblock) [Kiagen Tech, USA] در دمای ۶۰- درجه سانتی‌گراد آنکوبه شد. در مرحله آخر، کمیت و کیفیت RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ (NanoDrop fluorospectrometry) [Thermo, USA]تعیین شد.

سنتز cDNA: RNA استخراج شده در مرحله قبل، به روش رونویسی معکوس، توسط دستورالعمل کیت سنتز cDNA [ViVANTis, Malaysia] به DNA ی مکمل تبدیل شد که در طی آن مواد زیر به کار گرفته شد: آنزیم رونویس معکوس(Reverse Transcriptase)، رَندم هگزامر (Rondom Hexamer)، بازهای سازنده‌ی DNA (D Nucleotide Three Phosphate s :dNTPs)، بافر ۱۰ ایکس (10x Buffer) و ریبونوکئاز (Ribonuclease H :RNase H).

به منظور اطمینان از تخلیص cDNA، نمونه‌های cDNA، توسط کیت رِد مسترمیکس (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix Red) [Ampliqon, Denmark] و پرایمر GAPDH، از طریق واکنش PCR با دستگاه چرخه دمایی(ThermoCycler) [PeQLab, German] مورد تکثیر قرار گرفتند. سپس محصولات PCR از طریق روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز (یک درصد) و رنگ آمیزی با اتیدیوم پرومایدِ، نمایان شدند.

Real Time (RT)-PCR: در این مرحله از cDNA ساخته شده، آغازگر پایین دست و بالادست ژن‌های GAPGH و UCP-1، کیت مسترمیکس سایبرگرین (SYBR®Premix Ex Tag TM) [Ampliqon, Denmark] که حاوی آنزیم DNAپلیمراز و نمایان‌گر سایبرگرین بود، استفاده شد. پس از آماده سازی اولیه، از طریق دستگاه Real-time PCR [RG-6000, Corbett, Australia]، با برنامه زمانی ذیل، تکثیر mRNA تحت چرخه‌هایی دمایی مورد پایش قرار گرفت: ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشت سازی اولیه)، ۴۵ چرخه‌ی ۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ ثانیه‌ای در دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد (به منظور واسرشت سازی، جفت کردن بازها با DNA و طویل کردن رشته) استفاده شد. پس از انجام واکنش تکثیر با واکنش Real-time PCR، داده های خام به‌صورت ct (Threshold cycle)، استخراج شدند.

روش‌های آماری: از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و توصیف داده‌ها استفاده شد($EXCEL_{2010}$). از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون t مستقل برای مقایسه میانگین شاخص توده‌ی بدن در دو گروه کنترل و تجربی و از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه با اندازه‌گیری مکرر برای مقایسه تغییرات وزن در دو گروه کنترل و تجربی در حالت های پیش و پس از آزمون استفاده شد ($SPSS_{18}$). برای تعیین بیان نسبی ژن هدف، از نرم افزار رِست (Relative Expression Software Tool (REST) 2009) استفاده شد. سطح معنی‌داری برای آزمون‌های آماری $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بر اساس کولموگروف اسمیرنوف (K-S) مشخص گردید که داده‌های تمامی متغیرهای در هر گروه، توزیع طبیعی دارا هستند.

در جدول ۲، داده‌های وزن و شاخص توده بدنی مربوط گروه تجربی و کنترل ارائه شده است. همان‌طورکه در این جدول قابل مشاهده است، اختلاف شاخص توده‌ی بدن بین دو گروه کنترل و تجربی معنادار است (p=۰/۰۲۴)، بدین صورت که شاخص توده‌ی بدن در گروه تمرین کرده استقامتی کاهش یافته است. همچنین، نتایج آزمون آنالیز واریانس دو طرفه با اندازه گیری مکرر نشان داد که اثر زمان و اثر تمرین در تغییرات وزن معنادار بود (p=۰/۰۳۲)؛ بدین معنا که وزن بدن بر اثر هشت هفته تمرین ورزشی در گروه تمرین کرده کمتر از گروه کنترل، افزایش یافته بود.

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

جدول ۱- پروتکل تمرین استقامتی بر روی تردمیل با شیب صفر درجه

	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)
هفته‌ی اول	۱۵	۲۰
هفته‌ی دو	۲۰	۲۰
هفته‌ی سوم	۲۰	۲۵
هفته‌ی چهارم	۲۵	۲۵
هفته‌ی پنجم	۲۵	۲۵
هفته‌ی ششم	۲۵	۳۰
هفته‌ی هفتم	۳۰	۳۰
هفته‌ی هشتم	۳۰	۳۵

جدول ۲- میانگین وزن، شاخص توده بدنی در گروه تجربی و کنترل

		گروه کنترل (تعداد: ۱۰)	گروه استقامتی (تعداد:۱۰)
وزن بدن (گرم)	قبل از تمرین	۲۵۴± ۵/۳۸	۶/۴۳±۲۴۶
	پس از تمرین	۳۱۰± ۵/۰۵	۲۹۰± ۶/۶۰ ⁑
شاخص توده بدن	پس از تمرین	۰/۶۰ ±۰/۰۱۰	۰/۵۴ ±۰/۰۱۲ *

داده‌ها به صورت؛ میانگین ± خطای استاندارد از میانگین [Mean± S.E.M] ارائه شده‌اند.

⁑ بیان‌گر اثر معنادار تمرین است (p=۰/۰۳۲). * بیان‌گر اختلاف معنادار با گروه کنترل است (p=۰/۰۲۴).

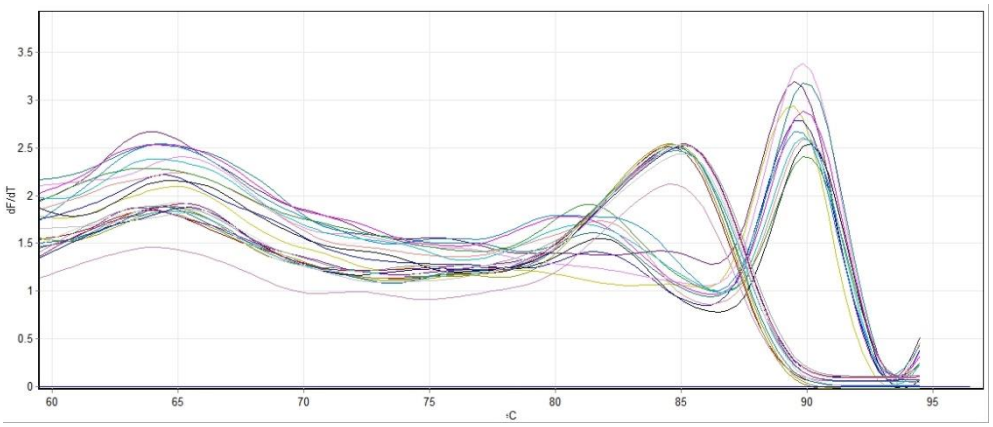
نتایج کمیت و کیفیت RNA استخراج شده توسط دستگاه طیف سنج نانودراپ، نشان از خلوص بالا و عدم وجود آلودگی بود. همچنین، نتایج الکتروفورز بر روی ژل آگارز، نشان از خلوص cDAN بود.

نتایج حاصل از دستگاه کوربت، شامل منحنی ذوب (شکل ۱) و منحنی تکثیر (شکل ۲) بیان‌گر این بود که هر دو جفت آغازگر به‌صورت اختصاصی عمل نموده و فاقد قطعات غیر اختصاصی و ساختارهای ثانویه بودند و فرآیند تکثیر به خوبی و بدون پارازیت انجام شده است.

بر اساس نرم افزار REST نیز مشخص گردید؛ که بیان نسبی ژن UCP-1 در گروه استقامتی در قیاس با گروه کنترل به‌صورت معنادار بالا بود (۳/۱±۱/۲۸ در مقابل ۱/۰۰؛ p=۰/۰۰۵) (شکل ۳).

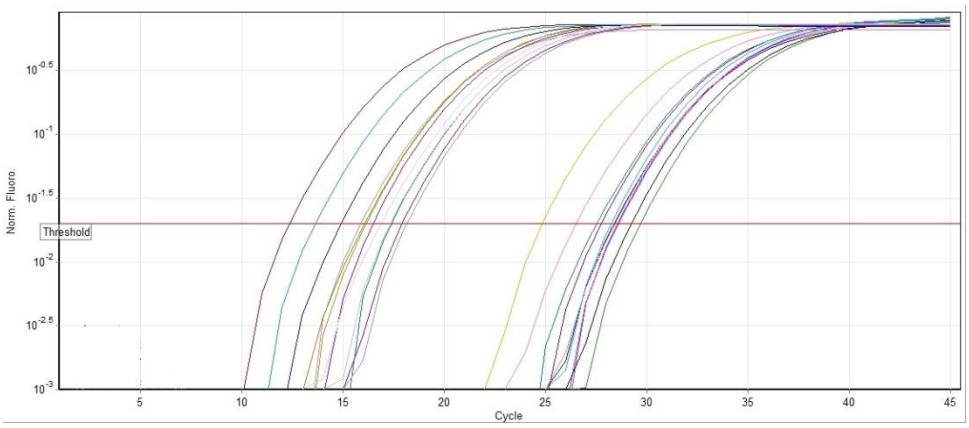
بحث و نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که بیان نسبی ژن UCP-1 به‌دنبال هشت هفته تمرین

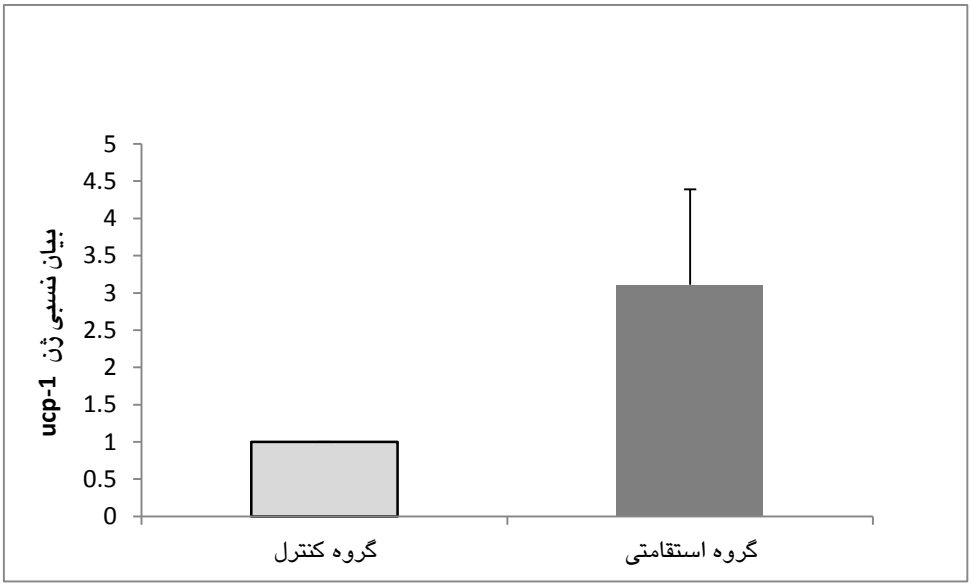


شکل ۱- منحنی ذوب تکثیر ژن UCP-1 و GAPDH در واکنش Real Time PCR (قله‌ی سمت راست مربوط بـه UCP-1 و قله‌ی سمت چپ مربوط به GAPDH است).

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018



شکل ۲- منحنی تکثیر ژن UCP-1 و GAPDH در در واکنش Real Time PCR (منحنی‌های سمت راست مربوط به UCP-1 و منحنی‌های سمت چپ مربوط به GAPDH است).



شکل ۳- بیان نسبی ژن UCP-1 در گروه تمرین کرده و کنترل

داده‌های نمودار به صورت میانگین ± خطای استاندارد از میانگین ارائه شده‌اند. *: بیان‌گر معنادار بودن اختلاف نسبت به گروه کنترل است (p=۰/۰۰۵).

استقامتی، افزایش معناداری (سه برابر) در بافت چربی سفید ناحیه‌ی خلف صفاق یافت. این یافته از پژوهش بر خلاف یافته‌های مطالعاتی است که نشان می‌دهند، بر اثر تمرین ورزشی، UCP-1 در بافت چربی سفید تغییری نمی‌کند (۲۴) و حتی در بافت چربی قهوه‌ای کاهش می‌یابد (۲۷ و ۳۰). از یک منظر، یافته‌های پژوهش‌های گذشته پذیرفتنی هستند، چراکه بر اثر تمرین ورزشی به سبب افزایش متابولیسم، گرمای زیادی از عضلات تولید می‌شود. از این رو، بدن نیازی به تأمین گرما از طریق گرمازایی غیر لرزشی بافت چربی قهوه‌ای ناشی از پروتئین‌های گرمازا (UCPS) ندارد؛ بنابراین، بر اثر تمرین ورزشی، سازوکارهای مسئول کاهش بیان ژن UCPs در بافت چربی قهوه‌ای القأ می‌یابند و در پی آن کارایی انرژی نیز بهبود می‌یابد (۲۴،۲۷ و ۲۸). با وجود این، یافته‌های دیگر مطالعات، مطابق با یافته‌ی این پژوهش نشان می‌دهند که بر اثر تمرینات ورزشی، بیان UCP-1 در بافت چربی سفید به میزان قابل توجه‌ای افزایش می‌یابد؛ ایکسو(Xu) و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که پروتکل تمرینی مشابه همین پژوهش (هشت هفته تمرین استقامتی تداومی بروی تردمیل، پنج جلسه در هفته، به مدت ۴۰ دقیقه در هر جلسه تمرین)، موجب افزایش دو برابری در بیان UCP-1 بافت چربی سفید احشائی (ناحیه‌ی اپیدیدمال)

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

موش‌های B6 (C57BL/6 mice) می‌شود(۲۳). همچنین، بوستروم(Bostrom) و همکاران، در سال ۲۰۱۲، پس از سه هفته تمرین بر روی چرخ گردان، افزایش ۲۵ برابری در بیان UCP-1 را در چربی سفید منطقه‌ی زیرپوستی گزارش نمودند (۲۲). بر اساس یافته‌ی پژوهش حاضر و یافته‌ی دو پژوهش ذکر شده، می‌توان بیان کرد که ذخایر متفاوت بافت چربی سفید، الگوی متفاوتی در بیان ژن UCP-1 در پاسخ به تحریک تمرین ورزشی نشان می‌دهند؛ به گونه‌ای‌که بر اثر محرک ورزشی، بافت چربی سفید منطقه‌ی زیرپوستی پاسخ‌دهی نسبتاً قوی (۲۲)، بافت چربی سفید منطقه‌ی خلف صفاق پاسخ‌دهی نسبتاً متوسط و بافت چربی احشائی منطقه‌ی اپیدیدیمال پاسخ‌دهی نسبتاً کمتری در بیان ژن UCP-1 نشان می‌دهند (۲۳). موافق با این نظریه، والدِن و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز گزارش نموده‌اند؛ در پاسخ به محرک سرمای مزمن، بیان ژن UCP-1 و دیگر ژن‌های مربوط به چربی قهوه‌ای در ذخایر مختلف بافت چربی سفید، الگوی مشابه با محرک تمرین ورزشی دارند؛ به شکلی‌که بیان این ژن‌ها در پاسخ به محرک سرما مزمن در بافت چربی سفید منطقه‌ی قلبی و رانی افزایش قابل توجه، در بافت چربی سفید منطقه‌ی خلف صفاقی افزایش متوسط و در بافت چربی سفید منطقه‌ی مزنتریک و اپیدیدیمال، افزایش اندکی نشان می‌دهند (۸).

به نظر می‌رسد، تمرین ورزشی از طریق چندین سازوکار درون ریز مهم در افزایش بیان UCP-1 ایفای نقش می‌کند: ۱) در پاسخ به فعالیت ورزشی، فعالیت سمپاتیک و میزان نوراپی‌نفرین گردش خون افزایش بارزی می‌یابد (۳۳-۳۱). نوراپی نفرین، با اتصال به گیرنده بتا آدرنرژیک سه، موجب القاء مسیر پیام‌رسانی منتج به بیان UCP-1 در چربی زیرپوستی و بافت چربی قهوه‌ای می‌شوند (۵،۲۸،۳۴ و ۳۵) که در دراز مدت باعث افزایش تجمعی میزان این پروتئین در بافت چربی سفید می‌گردد. ۲) در پاسخ به فعالیت ورزشی، سطوح هورمون‌های تیروئیدی گردش خون (۳۶) و فعالیت و میزان آنزیم DIO2 (Type II Iodothyronine 5′-Deiodinase) در بافت چربی سفید (۲۳ و ۳۷) افزایش می‌یابد که احتمالاً در درازمدت موجب القاء بیان ژن UCP-1 می‌گردد (۵، ۳۸ و ۳۰) در پاسخ به فعالیت ورزشی و تمرین ورزشی، ترشح آیرزین از عضله و بافت چربی به میزان قابل توجه‌ای افزایش می‌یابد(۲۲،۳۷ و ۳۹) که می‌تواند از طریق سازوکاری نامشخص، بیان UCP-1 را در بافت چربی سفید القأ نماید (۵). به نظر می‌رسد، از بین سه سازوکار درون ریز، نقش شبه هورمون آیرزین، قوی‌تر باشد چراکه میزان ترشح آن با فعالیت و تمرین افزایش برجسته‌ای می‌یابد و از طرف دیگر، افزایش متوسطی (سه برابر) آیرزین گردش خون، قادر است، بیان UCP-1 بافت چربی سفید را به میزان ۱۰ تا ۲۰ برابر افزایش دهد (۲۲). غیر از عوامل درون ریز، عوامل تنظیم‌گر درون سلولی (۵،۶،۹ و ۴۰) همچون PGC-1α نیز نقش ضروری در القاء بیان UCP-1 ناشی از تمرین ورزشی دارد (۲۱)؛ به‌طوری‌که گفته می‌شود، القاء بیان UCP-1 ناشی از فعالیت و تمرین ورزشی تنها در صورت افزایش تنظیمی PGC-1α میسر می‌شود (۲۱).

انرژی مصرفی کلی بدن تحت تاثیر سه عامل است: ۱) سوخت ساز استراحتی Rest Metabolic Rate (RMR)، ۲) گرمازایی تطبیقی ناشی از تغذیه و سرما و ۳) گرمازایی ناشی از فعالیت فیزیکی (۲۰). مطالعات نشان داده‌اند، فعالیت UCP-1 در بافت چربی قهوه‌ای، مسئول بخشی از مصرف انرژی ناشی از گرمازایی تطبیقی (سرما و تغذیه) و سوخت و ساز استراحتی است (۱۶). همچنین، شواهد اخیر نشان می‌دهند، فعالیت UCP-1 در بافت چربی سفید شبه قهوه‌ای که دلالت بر قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید دارد، به میزان اندکی در گرمازایی استراحتی و گرمازایی تطبیقی (سرما و تغذیه) نقش دارد (۶ و ۱۶). تصور بر این است که افزایش بیان UCP-1 در بافت چربی سفید که بر اثر فعالیت ورزشی رخ می‌دهد (۲۱)، بیان‌گر نقش این پروتئین در گرمازایی ناشی از فعالیت است. مهم‌تر اینکه، یافته‌های این مطالعه هم سو با یافته‌های مطالعات گذشته (۲۳-۲۱ و ۲۵) بیان‌گر این مطلب است که افزایش بیان UCP-1 که در طی تمرین ورزشی طولانی مدت

در بافت چربی سفید بروز می‌یابد و دلالت بر تغییر جزئی فنوتیپ بافت چربی سفید از جایگاه ذخیره‌ی انرژی به جایگاه نسبتاً ضعیف مصرف‌کننده‌ی انرژی دارد، احتمالاً انرژی مصرفی استراحتی را از طریق گرمازایی غیرلرزشی، به مقدار اندکی افزایش می‌دهد. با این حال، پاسخ به این سوال که این مقدار افزایش بیان UCP-1 به چه میزان انرژی مصرفی استراحتی را افزایش می‌دهد، نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

به عنوان محدودیت‌های تحقیق، سه مورد ذیل را می‌بایست در نظر داشت: ۱) در این پژوهش، تغییرات پروتئین UCP-1 اندازه گیری نشد، در حالی‌که افزایش بیان در ژن UCP-1 بیان‌گر قطعی در افزایش محتوای پروتئینی در بدن نیست، چراکه که امکان دارد، mRNA های افزایش یافته ناشی از تمرین، ترجمه نشوند و یا پس از ترجمه تجزیه شوند. ۲) در این پژوهش، ارزیابی تغییرات در بیان ژنUCP-1 در همه‌ی مناطق بافت چربی سفید ممکن نبود، در حالی‌که بافت چربی سفید خلف صفاق تنها بخش کمی از چربی بدن را شامل می‌شود. به‌علاوه، تغییرات بیان ژن در بافت چربی سفید خلف صفاق را نمی‌توان به تمامی بافت چربی سفید اعم از منطقه‌ی زیرپوستی و دیگر مناطق چربی احشائی بدن، تعمیم داد. ۳) در این پژوهش، امکان سنجش میزان افزایش مصرفی انرژی که بر اثر افزایش بیان UCP-1 حاصل می‌شود و میزان سهم آن در افت وزن و شاخص توده بدنی میسر نبود.

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تمرین استقامتی در مدت زمان طولانی (هشت هفته) موجب کاهش اندک وزن بدن و شاخص توده‌ی بدن در نمونه‌های موش می‌شود و مهم‌تر این‌که این تمرینات اثر نسبتاً قوی را در افزایش بیان ژنِ پروتئین گرمازای UCP-1 (نشان‌گر کلیدی قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید) در بافت چربی سفید احشائی منطقه‌ی خلف صفاق برجای می‌گذارد.

تقدیر و تشکر

از مسئولین بخش بیوشیمی انستیتو پاستور ایران در فراهم نمودن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی قدردانی می‌شود. همچنین از جناب آقای دکتر رضا مهدیان (بخش پزشکی مولکولی انستیتو پاستور) به خاطر ارائه تجربیات ارزشمند در افزایش کیفیت فرایندهای آزمایشگاهی قدردانی می‌شود.

منابع

1. Canoy D, Buchan I. Challenges in obesity epidemiology. Obesity reviews. 2007;8(s1):1-11.
2. Misra A, Khurana L. Obesity and the metabolic syndrome in developing countries. J Clin Endocr Metab. 2008;93(11):9-30.
3. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. Cell. 2001;104(4):531-43.
4. Rong J X, Qiu Y, Hansen M K, Zhu L, Zhang V, Xie M, et al. Adipose mitochondrial biogenesis is suppressed in db/db and high-fat diet–fed mice and improved by rosiglitazone. Diabetes. 2007;56(7):1751-60.
5. Bonet M L, Oliver P, Palou A. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). 2013;1831(5):969-85.
6. Wu J, Cohen P, Spiegelman B M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? Genes and Development. 2013;27(3):234-50.
7. Tiraby C, Langin D. Conversion from white to brown adipocytes: a strategy for the control of fat mass? Trends Endocrinol Metab. 2003;14(10):439-41.
8. Walden T B, Hansen I R, Timmons J A, Cannon B, and Nedergaard J. Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown,"brite," and white adipose tissues. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2012;302(1):19-31.
9. Wu J, Bostrom P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. Cell. 2012;150(2):366-76.
10. Lee YH, Mottillo EP, Granneman JG. Adipose tissue plasticity from WAT to BAT and in between. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. 2014;1842(3):358-69.
11. Ricquier D. Uncoupling protein 1 of brown adipocytes, the only uncoupler: a historical perspective. Front Endocrinol (Lausanne). 2011;2(85):1-7.
12. Waldén TB. Regulatory factors that reveal three distinct adipocytes : the brown, the white and the brite. The Wenner-Gren Institute, Stockholm University; 2010. p. 89.

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

13. Sluse FE, Jarmuszkiewicz W, Navet R, Douette P, Mathy G, Sluse-Goffart CM. Mitochondrial UCPs: new insights into regulation and impact. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics. 2006;1757(5-6):480-5.

14. Palou A, Picó C, Bonet M L, Oliver P. The uncoupling protein, thermogenin. Int J Biochem Cell B. 1998;30(1):7-11.

15. Nedergaard J, Golozoubova V, Matthias A, Asadi A, Jacobsson A, Cannon B. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. 2001;1504(1):82-106.

16. Dalgaard L, Pedersen O. Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and Type II diabetes. Diabetologia. 2001;44(8):946-65.

17. Schrauwen P, Walder K, Ravussin E. Human uncoupling proteins and obesity. Obesity Research. 1999;7(1):97-105.

18. Kopecky J, Clarke G, Enerbäck S, Spiegelman B, Kozak L. Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the aP2 gene promoter prevents genetic obesity. J Clin Invest. 1995;96(6):291-23.

19. Feldmann HM, Golozoubova V, Cannon B, Nedergaard J. UCP1 ablation induces obesity and abolishes diet-induced thermogenesis in mice exempt from thermal stress by living at thermoneutrality. Cell Metabolism. 2009;9(2):203-09.

20. Brondani LA, Assmann TS, Duarte GC, Gross JL, Canani LH, Crispim D. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. 2012;56(4):215-25.

21. Ringholm S, Grunnet Knudsen J, Leick L, Lundgaard A, Munk Nielsen M, Pilegaard H. PGC-1alpha is required for exercise- and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. PLoS One. 2013;8(5):e64123:1-6.

22. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature. 2012;481(7382):463-8.

23. 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):1115-25.

24. Camera DM, Anderson MJ, Hawley JA, and Carey AL. Short-term endurance training does not alter the oxidative capacity of human subcutaneous adipose tissue. Eur J Appl Physiol. 2010;109(2):307-16.

25. De Matteis R, Lucertini F, Guescini M, Polidori E, Zeppa S, Stocchi V, et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2013;23(6):582-90.

26. Novelli E, Diniz Y, Galhardi C, Ebaid G, Rodrigues H, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Lab anim. 2007;41(1):111-19.

27. Segawa M, Oh-Ishi S, Kizaki T, Ookawara T, Sakurai T, Izawa T, et al. Effect of running training on brown adipose tissue activity in rats :a reevaluation. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. 1998;100(1):77-82.

28. 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): 709-17.

29. Yamashita H, Yamamoto M, Sato Y, Izawa T, Komabayashi T, Saito D, et al. Effect of running training on uncoupling protein mRNA expression in rat brown adipose tissue. Int J Biometeorol. 1993;37(1):61-4.

30. Scarpace PJ, Yenice S, Tümer N. Influence of exercise training and age on uncoupling protein mRNA expression in brown adipose tissue. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1994; 49(4): 1057-59.

31. Kraemer WJ, Rogol AD. The Endocrine System in Sports and Exercise. Blackwell Publishing Ltd; 2006.

32. Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas-Delamarche A. Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. Sports Medicine. 2008;38(5):401-23.

33. Cousineau D, De Champlain J, and Nadeau R. Plasma norepinephrine response to exercise before and after training in humans. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol. 1981;51(4):812-15.

34. Collins S, Cao W, Daniel KW, Dixon TM, Medvedev AV, Onuma H, et al. Adrenoceptors, uncoupling proteins, and energy expenditure. Exp Biol Med (Maywood). 2001;226(11):982-90.

35. Seydoux J, Girardier L. Control of brown fat thermogenesis by the sympathetic nervous system, in effectors of thermogenesis. Springer; 1978. p. 153-167.

36. Viru A, Viru M. Biochemical monitoring of sport training. City: Human Kinetics Publishers; 2001.

37. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belen Crujeiras A, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. PLoS One. 2013;8(4):e60563:1-10.

38. Obregon MJ. Thyroid hormone and adipocyte

differentiation. Thyroid. 2008;18(2):185-95.
39. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. Metabolism. 2012;61(12):1725-38.
40. Lo KA, Sun L. Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. Bioscience Reports. 2013; 33(5):711-19.

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

Downloaded from rjms.iums.ac.ir at 15:26 IRDT on Friday May 25th 2018

The effect of endurance training on gene expression of uncoupling protein 1(UCP-1) in white visceral adipose tissue of retroperitoneal depot of male Wistar rats

Saeed Daneshyar, PhD of Exercise Physiology .Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Tehran University, Tehran, Iran. s.daneshyar@ut.ac.ir
***Mohammad Reza Kordi,** Associate Professor, PhD of Exercise Physiology. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Tehran University, Tehran, Iran (*Corresponding author). mrkordi@ut.ac.ir
Abbas Ali Gaeini, Professor, PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Tehran University, Tehran, Iran. aagaeini@ut.ac.ir
Mehdi Kadivar, Assistant Professor, PhD of Biological products, Department of Biochemistry, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. kadivar@pasteur.ac.ir
Samane Afshari, MSc of Exercise Physiology. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Tehran University, Tehran, Iran. s_afshari86@yahoo.com

Abstract

Background: The studies about the effect of exercise training on expression of Uncoupling Protein 1 (UCP-1) in different adipose depots were few. Thus, the purpose of this study was to investigate the effect of eight weeks endurance training on expression of this gene in white visceral adipose tissue of retroperitoneal depot of wistar rats.

Methods: 20 rats were purchased, and were divided randomly into two groups included: 1) Control (n=10) and 2) Endurance Training (n=10). After two weeks of acclimatization with environment, the subjects of training group underwent continues endurance training on treadmill for eight weeks. After training program, rats were euthanized under an intraperitoneal injection of xylazin-ketamine and retroperitoneal adipose tissue were quickly dissected out and frozen. The Syber Green Real Time (RT) –PCR method were used to measure the gene expression of UCP-1.

Results: Data showed that the gene expression of UCP-1 was significantly higher in trained group than control (3.11±1.28 v.s 1.00; p=0.005), and both body weight (290±6.60 v.s 310±5.05; p=0.031) and body mass index (0.54±0.02 v.s 0.60±0.01; p=0.024) were significantly lower in trained group than control.

Conclusion: Long term endurance exercise training slightly lead to decrease of weight loss and body mass index, to increase of expression of thermogenin protein namely UCP-1 (a main marker of browning of white adipose tissue) in white visceral adipose tissue of retroperitoneal depot. In this regard, exercise training has additional and different effect in increasing energy expenditure and probably plays a role in weight loss through the changing of gene expression pattern.

Keywords: Endurance training, UCP-1, White adipose tissue