

علوم زیستی ورزشی - بهار ۱۳۹۷  
دوره ۱۰، شماره ۱، ص: ۵۸ - ۳۹  
تاریخ دریافت: ۳۰ / ۱۱ / ۹۵  
تاریخ پذیرش: ۱۶ / ۰۸ / ۹۶

## تأثیر ۱۴ هفته فعالیت هوازی همزمان با مکمل‌دهی رزوراترول روی میزان پروتئین SIRT1 و UCP-1 و PGC-1 $\alpha$ در بافت کبدی، چربی زیرپوستی و چربی احشایی موش‌های صحرائی نر

هادی زاهدی<sup>۱\*</sup> - مقصود پیری<sup>۲</sup> - مهدی هدایتی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشگاه آزاد تهران مرکز تهران-ایران ۲. استاد دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه آزاد تهران مرکزی-تهران-ایران ۳. دانشیار پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران-تهران-ایران

### چکیده

تأثیر فعالیت بدنی مزمن و تغییرات فنوتیپ بافت چربی سفید از موضوعات جدید محسوب می‌شود که نتایج متناقض و سازوکارهای مولکولی پیشنهادی در مورد آن در حال بررسی است. مکمل رزوراترول نیز به‌عنوان عامل افزایش‌دهنده متابولیسم چربی در بافت چربی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر مکمل‌دهی رزوراترول و فعالیت هوازی بر میزان پروتئین SIRT-1، PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 بافت کبدی و بافت چربی شکمی-کشاله‌ای و احشایی در موش‌های صحرائی نر بود. در این پژوهش ۲۸ سر موش صحرائی نر (میانگین وزن  $10 \pm 260$  گرم، سن ۸ هفته)، به‌طور تصادفی به چهار گروه شاهد (C)، تمرین (T)، مکمل-تمرین (T-S) و مکمل (S) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت ۱۴ هفته (هفته‌ای ۵ جلسه، هر جلسه به مدت ۴۵ دقیقه) روی نوار گردان فعالیت کردند. گروه مکمل-تمرین روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدنشان مکمل رزوراترول دریافت کردند. برای اندازه‌گیری پروتئین بافتی UCP-1، SIRT1، PGC-1 $\alpha$  از روش الایزا (ساندویچ دوتایی) استفاده شد. آزمون تحلیل واریانس یکطرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده و سطح معناداری  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. میزان تغییرات پروتئین SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  در بافت کبدی و چربی سفید زیرپوستی و احشایی به ترتیب  $P \leq 0.05$  و  $P \leq 0.001$  بود. پروتئین UCP-1 نیز در بافت‌های مورد اندازه‌گیری در گروه مکمل-تمرین افزایش معناداری را پس از مصرف مکمل همراه با فعالیت هوازی از خود نشان داد ( $P \leq 0.001$ ). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده احتمالاً مکمل‌دهی موجب بهبود عملکرد بافت کبدی و تغییر فنوتیپ چربی سفید زیرپوستی به چربی بژ (بینابینی) می‌شود.

### واژه‌های کلیدی

تمرین هوازی، رزوراترول، UCP-1، SIRT1، PGC-1 $\alpha$ .

## مقدمه

چاقی و اضافه وزن، بیماری فراگیر در سطح جهان است و میزان شیوع و مرگومیر آن به طور چشمگیری رو به افزایش است. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی<sup>۱</sup> میزان جمعیت چاق یا دارای اضافه وزن جهان در سال ۲۰۱۶ به ۱/۶ میلیارد نفر افزایش یافته است (۱). زمانی که سلول‌های چربی سفید از نظر اندازه بزرگ می‌شوند (مانند چاقی)، سبب افزایش التهاب (افزایش پروتئین‌های اینترلوکین<sup>۶</sup> و سی آر پی<sup>۳</sup>)، آسیب شبکه میتوکندریایی و اختلال در متابولیسم بافت چربی خواهد شد (۲). افزایش توده بافت چربی سفید به خصوص در ناحیه شکمی با سندروم متابولیکی و مرگومیر ارتباط مستقیم دارد (۳). از راه‌های شایع درمان چاقی استفاده از روش غذا-داروها<sup>۴</sup> است. برخی پژوهشگران استفاده از این روش را برای درمان چاقی کافی نمی‌دانند و توأمان، انجام فعالیت بدنی را نیز پیشنهاد می‌کنند (۱). به‌تازگی ترکیبی طبیعی و قدرتمند به نام رزوراترول (۵،۴،۳) تیروکسی-ترانس-استیلین<sup>۶</sup> شناسایی و در موارد متعددی آزمایش شده است. پلی‌فنول خوراکی رزوراترول ترکیبی شناخته‌شده و عامل ضدچاقی، ضدالتهابی و ضدکسایشی قدرتمند محسوب می‌شود (۴،۶). این ترکیب تأثیرات مهمی روی بیوژنز و بیوسنتز میتوکندریایی و فرایند محدودیت کالری<sup>۷</sup> (CR) دارد (۵). رزوراترول شرایط متابولیکی از طریق تنظیم مسیرهای کنترل‌کننده هموستاز انرژی را بهبود می‌بخشد.

کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) از عوامل اصلی بیماری‌های مرتبط با چاقی و ناراحتی‌های کبدی به‌شمار می‌رود که نزدیک به یک میلیارد نفر را در جهان درگیر کرده است. متخصصان علل بیماری‌شناختی NAFLD عوامل چندگانه‌ای از جمله ژنتیک، محیط، اختلال در عملکرد ارگان‌های اصلی درگیر در متابولیسم (بافت چربی، عضلات) و سلول‌های دیگر (از جمله سلول‌های کویپر و سلول‌های ماهواره‌ای) نام برد (۲). NAFLD اغلب با چاقی، مقاومت با انسولین، افزایش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و مرگومیر در ارتباط مستقیم است (۷-۳). رژیم غذایی با کالری بالا (تعادل مثبت انرژی) و فعالیت بدنی ناچیز از عوامل اصلی در بروز NAFLD به‌شمار می‌روند. تا به امروز

1. World Health Organization
2. IL-6
3. C reactive protein
4. nutraceutical approach
5. Resveratrol
6. 3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbene
7. Caloric Restriction

روش‌های دارویی درمان NAFLD با عوارض زیادی همراه بوده، اما توصیه‌های تأییدشده برای کاهش عوارض NAFLD شامل تغییر سبک زندگی، کاهش وزن بدن از طریق محدودیت کالری (CR) و افزایش فعالیت بدنی است (۹،۸). همان‌طور که محدودیت متوسط CR به جلوگیری از بروز NAFLD منجر می‌شود، احتمالاً رزوراترول تأثیرات مفیدی روی بافت کبدی و شاخص‌های ژنی درگیر در روند متابولیسم می‌گذارد (۱۰).

شماری از مولکول‌ها مانند SIRT1<sup>۱</sup> مورد هدف رزوراترول قرار می‌گیرند که به فعال شدن چندین مسیر بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی منجر خواهد شد (۲۲). مکمل‌دهی رزوراترول در موش‌ها سبب کاهش عوامل خطرزای قلبی-عروقی از جمله کاهش چربی‌های خون شده است (۱۱). سین<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۵) در مقاله فراتحلیلی، شواهد مستدلی از تأثیرات رزوراترول را بر بهبود حساسیت انسولینی و تغییرات مثبت در روند تولید انرژی میتوکندریایی به دست آوردند (۱۲). از مکانیزم‌های احتمالی تأثیرات رزوراترول می‌توان به نقش مستقیم آن، روی فعالیت AMPK (۱۳) و جلوگیری از فعال شدن آدنوزین مونوفسفات حلقوی فسفودی‌استراز (cAMP PDE) (۱۴) اشاره کرد. فعال شدن AMPK به‌طور مستقیم روی تحریک فعالیت SIRT1 اثر می‌گذارد (۱۶،۱۵). SIRT1 در هسته قرار دارد و از اولین ژن‌های شناخته‌شده درگیر در پاسخ سلولی به استرس (۱۲) و فراخوانی اسیدهای چرب از سلول‌های چربی در بدن انسان (۱۲،۹) است. این عامل از فاکتورهای هسته‌ای مهم در فعال شدن (دی‌اسیتیل‌شدن) PGC-1 $\alpha$  محسوب می‌شود. در واقع افزایش فعالیت میتوکندری در حضور رزوراترول، نشان‌دهنده فعال شدن SIRT1 پروتئین دی‌اسیتلاز است. این آنزیم سبب القای PGC-1 $\alpha$  در هسته می‌شود (۱۷). محرک‌های فزاینده SIRT1 به فعال شدن PGC-1 $\alpha$ ، افزایش آنزیم‌های میتوکندریایی مرتبط با فرایند اکسیداسیون چربی‌ها و تغییر متابولیسم انرژی در سلول‌های کبدی (هیپاتوسیت) بافت کبدی و سلول‌های چربی سفید منجر می‌شود (۱۸). PGC-1 $\alpha$  از مهم‌ترین مولکول‌های متابولیسم است که در عضله اسکلتی و بافت چربی بیان می‌شود و نقش حیاتی در هموستاز گلوکز، چربی و انرژی دارد. PGC-1 $\alpha$  فعالیت میتوکندریایی را تنظیم می‌کند و میزان اکسیداسیون چربی را در میتوکندری افزایش می‌دهد. همچنین در بیوژنیز میتوکندریایی نقش اساسی ایفا می‌کند (۱۹). PGC-1 $\alpha$  بیان پروتئین‌های جفت‌نشده نوع

1. silent information regulator 1

2. Cin

3. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

یک (UCP-1)<sup>۱</sup> میتوکندریایی را تنظیم (فعال) می‌کند؛ بنابراین، نقش مهمی در گرم‌زایی عضله اسکلتی و بافت چربی دارد (۲۰).

UCP-1 در غشای داخلی میتوکندری سلول‌های چربی قهوه‌ای، شبه‌قهوه‌ای<sup>۲</sup> و زیرپوستی دیده شده است (۲۶، ۲۵). این پروتئین، کانالی را تشکیل می‌دهد که موجب نشت پروتون از غشای داخلی میتوکندری در چرخه انتقال اکسیژن می‌شود، در نتیجه به دفع انرژی به صورت گرما می‌انجامد (۲۷). از این رو محققان افزایش فعالیت آن را برای کاهش عوارض چاقی مفید ارزیابی می‌کنند (۲۶). فنوتیپ بافت چربی سفید (قهوه‌ای شدن)<sup>۳</sup> در اثر قرارگیری مزمن در هوای سرد و تحریک طولانی‌مدت گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک رخ می‌دهد. از مهم‌ترین تغییرات ژنی در فرایند قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید، افزایش میزان UCP-1 در سلول‌های چربی سفید است (۲۹). احتمالاً فعالیت بدنی و مکمل روزراترول از موارد اثرگذار در افزایش بیان UCP-1 هستند (۱۲، ۳۰). PPAR $\gamma$ <sup>۴</sup> یکی از گیرنده‌های هسته‌ای مهم است که به میزان زیاد به وسیله SIRT1 در بافت چربی و کبدی، بیان می‌شود (۳۱) و تنظیم‌کننده اصلی آدیپوژنز است (۲۷). جنونگ و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر مکمل‌دهی روزراترول و فعالیت بدنی روی متابولیسم کبدی پرداختند. در این مطالعه محققان از موش‌های تغذیه‌شده با غذای پرچرب استفاده کرده و تغییرات نفوذپذیری ماکروفاژی و تبدیل ایزوفرم‌های سلول‌های کوپفر M1 به M2 را بررسی کردند. نتایج حاکی از آن است که فعالیت منظم و متوسط از نفوذ ماکروفاژها به کبد جلوگیری می‌کند، همچنین به تنظیم مثبت CD163 در کبد منجر می‌شود (۲۶). چین هیوش‌لین<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۴) در زمینه تأثیرات مکمل‌دهی ترانس روزراترول و فعالیت بدنی روی بافت قلبی و فسفوریلاسیون فورهاید باکس سه (FOXO3<sup>۶</sup>) نشان دادند، مکمل‌دهی یک‌ماهه روزراترول و فعالیت بدنی روی موش‌های صحرایی ۱۸ ماهه به کاهش فعالیت TNF- $\alpha$  و افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt منجر شده است. همچنین تأثیر همزمان مکمل روزراترول و فعالیت بدنی، میزان FOXO3 را کاهش داده بود (۳۱). استنفورد<sup>۷</sup> و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای فراتحلیلی نشان دادند که در مدل‌های چوندگان، تمرینات ورزشی میزان فعالیت میتوکندری را در بافت چربی زیرپوستی

1. Uncoupling Protein 1
2. Brown-like Adipocyte
3. browning
4. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma
5. Chih-hsueh lin
6. Forkhead bOX class O
7. Kristin I. Stanford

و احشایی و همچنین بیان ژن UCP-1 در اثر سازگاری با تمرینات ورزشی سلول‌های چربی شبه‌قهوه‌ای را در بافت چربی زیرپوستی افزایش می‌دهد. علاوه بر این فعالیت بدنی تغییرات مهمی در بیان صدها ژن مرتبط با شاخص ادیپوکاینی در سلول‌های چربی احشایی و زیرپوستی ایجاد می‌کند (۲۸). بااسترم<sup>۱</sup> و همکاران تأثیرات ۱۲ هفته‌ای فعالیت بدنی روی افزایش UCP-1, PGC-1 $\alpha$ , آیریزین، بهبود روند تغییرات در بافت چربی را مثبت ارزیابی کردند و به این نتیجه رسیدند که تغییرات در UCP-1, PGC-1 $\alpha$  احتمالاً موجب بهبود عوارض چاقی و هموستاز گلوکز خواهد شد (۱۶). با توجه به تأثیر مستقیم فعالیت بدنی و مکمل رزوراترول روی کاهش وزن و افزایش گرمایی بافت چربی این فرضیه مطرح می‌شود که ارتباط دوسویه فعالیت بدنی هوازی و مکمل‌دهی رزوراترول به تأثیرات دوچندان در افزایش مقدار پروتئین UCP-1, SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  بافت‌های اصلی درگیر در هموستاز انرژی، یعنی بافت چربی سفید و عضلانی منجر می‌شود؟ از این رو در این تحقیق تأثیر همزمان مکمل‌دهی رزوراترول و ۱۴ هفته فعالیت هوازی بر میزان پروتئین‌های UCP-1, SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی زیرپوستی و عضلانی موش‌های صحرایی بررسی می‌شود.

## روش‌شناسی

### آزمودنی‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است. به همین منظور ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار<sup>۲</sup> از انستیتو پاستور ایران خریداری شد (میانگین وزن  $260 \pm 10$ ). تعداد نمونه‌ها براساس مطالعات قبلی در نظر گرفته شد (۳۲،۲۶). موش‌ها براساس دستورالعمل انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی برای اهداف علمی و آزمایشگاهی (پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی) نگهداری شدند. موش‌ها در طول مطالعه در شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، چرخه تاریکی و روشنایی ۱۲:۱۲ و بدون در نظر گرفتن محدودیت غذایی در قفس‌های پلی‌اتیلن نگهداری شدند. کلیه موش‌ها در سراسر پژوهش توسط یک نفر جابه‌جا شدند. پس از همسان‌سازی وزن، آزمودنی‌ها به‌طور تصادفی در چهار گروه مساوی هفت‌تایی شامل گروه‌های کنترل (C)، تمرین (T)، مکمل (S) و مکمل-تمرین (T-S) قرار گرفتند. گروه‌های مکمل و مکمل تمرین در طول ۱۲ هفته روزانه ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن

---

1. Boström P  
2. Vistar rat

بدنشان مکمل ترانس روزراترول (شرکت Enzo life سوئیس) به صورت گاوژ دریافت کردند. در پایان هفته چهاردهم، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با تزریق کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلوزین (۵ تا ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) بی هوش شدند. پس از تأیید بی هوشی از طریق عقب نکشیدن پا توسط لمس، نمونه برداری از بافت چربی زیرپوستی شکمی\_کشاله‌ای (۴) و بافت چربی احشایی (۲۹) و بافت کبدی (۲۶،۸) انجام گرفت. بلافاصله داخل لوله آزمایش قرار گرفت و در نیتروژن مایع قرار گذاشته شد و به منظور فریز در دمای ۸۰- درجه منتقل شد.

#### نحوه استخراج بافت

ابتدا نمونه‌های بافت چربی سفید زیرجلدی، احشایی و بافت کبدی (۱۰۰ میلی گرم بافت منجمد) با روش هاونکوبی پودر شد، سپس با یک میلی لیتر از بافر PBS حاوی آنتی پروتئاز (تهیه شده از شرکت گلدباو آمریکا) با دستگاه هموژنایزر Retsch (مدل MM400) ساخت آلمان، بسته به نوع بافت، با فرکانس و طول مدت مناسب هموژن شد. برای بافت چربی سفید زیرپوستی تعداد ۱۵ حرکت بر ثانیه و زمان ۱ دقیقه و برای بافت عضله تعداد ۳۰ حرکت بر ثانیه و زمان ۵ دقیقه در نظر گرفته شد. سپس بافت‌های هموژن شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتیگراد سوپرناتانت محصول جدا و در دمای ۸۰- نگهداری شد. همچنین برای تعیین غلظت پروتئین از روش بردفورد استفاده و با بهره‌گیری از منحنی استاندارد، غلظت تام پروتئین بافت محاسبه شد. غلظت پروتئین UCP-1، SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  در نمونه‌های بافتی به روش الایزای ساندویچی دوتایی<sup>۱</sup> و با استفاده از کیت‌های شرکت زل باو<sup>۲</sup> آلمان (PGC-1 $\alpha$ ; Cat No: ZB-11252-R9648) (UCP-1; Cat No: ZB-11252-R9648) و طبق دستورالعمل کارخانه سازنده (SIRT1; Cat No: ZB11214-R9648) (No: ZB-11342-R9648) کیت انجام گرفت (جدول ۱). حساسیت کیت‌ها در اندازه‌گیری 0.06 ng/ml بود. ضریب تغییرات intra assay، inter assay به ترتیب CV<10%، CV<12%، در هر سه کیت بود. به منظور یکسان‌سازی میزان پروتئین لودشده، هر چاهک غلظت‌های پروتئینی به دست آمده از هر نمونه بر غلظت پروتئین تام، که از روش بردفورد به دست آمده بود، تقسیم و به صورت ng/ml گزارش شد.

1. elisa double sandwich
2. Zell Bio

تأثیر ۱۴ هفته فعالیت هوازی همزمان با مکمل دهی رزوراترول روی میزان پروتئین SIRT1 و ...

۴۳

جدول ۱. روش آنالیز الایزای دوبل ساندویچی برای سنجش مقدار کمی پروتئین های UCP-1, SIRT1

و PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله و چربی زیربوستی

ردیف	اجرا
۱	آماده سازی نمونه ها (هموژناسیون (لیز بافتی) و استانداردها
۲	اضافه کردن (نمونه ۴۰ $\mu$ l (نمونه) + ۱۰ $\mu$ l آنتی بادی پروتئین (UCP-1) + محلول استاندارد ۵۰ $\mu$ l و ۵۰ $\mu$ l محلول استرپتاویدین-HRP
۳	قرار دادن در دمای ۳۷°C به مدت ۶۰ دقیقه جهت انجام واکنش
۴	شستن پلیت ها با ۳۰۰ $\mu$ l بافر شست و شو (پنج تکرار)
۵	اضافه کردن ۵۰ $\mu$ l کروموزن محلول A و ۵۰ $\mu$ l محلول B سپس انکوباسیون به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۷°C برای توسعه رنگ
۶	اضافه کردن ۵۰ $\mu$ l محلول توقف واکنش (stop solution)
۷	خواندن ارزش های عددی OD به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰nm
۸	نتیجه عددی نهایی ((ng/g tissue

#### پروتکل تمرینی

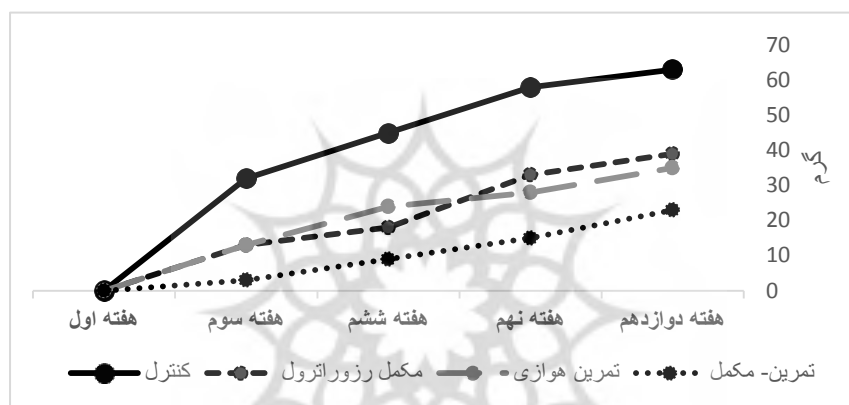
پروتکل تمرینی شامل دو هفته سازگاری با محیط و نوار گردان به منظور آشنایی حیوانات با شرایط تمرین و ۱۴ هفته تمرین (۵ روز در هفته) با شیب صفر درجه روی دستگاه نوار گردان بود. پروتکل تمرین هوازی: گروه تمرین و گروه مکمل تمرین، به مدت ۱۲ هفته (۵ روز در هفته) با رعایت اصل اضافه بار تحت تمرین استقامتی به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفتند. حجم پروتکل تمرین ورزشی نشان دهنده ۶۰-۷۵ درصد حداکثر مصرف اکسیژن جوانگان برای یک برنامه ورزش با شدت متوسط بود (۲۶). سرعت نوار گردان طی این ۱۲ هفته از ۱۰ متر بر دقیقه تا ۳۰ متر بر دقیقه افزایش داشت (۲۶) (جدول ۲).

جدول ۲. پروتکل تمرین هوازی با شیب صفر درجه

هفته ها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم	هفته یازدهم	هفته دوازدهم	هفته سیزدهم	هفته چهاردهم
سرعت (متر بر دقیقه)	۵	۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۲۰	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت (دقیقه)	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵	۴۰	۴۰	۴۵	۴۵

## روش آماری

به منظور آزمون فرضیه پژوهش برای بررسی پیش فرض‌های طبیعی بودن، از آزمون شایپرو ویلیک استفاده شد. از آزمون آنووا یکطرفه به منظور بررسی تفاوت گروه‌ها استفاده شد. سطح معناداری  $\alpha=0/05$  در نظر گرفته شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی شفه استفاده شد. نتایج: آزمون شایپرو ویلیک نشان می‌دهد توزیع داده‌ها طبیعی است، همچنین آزمون تی همبسته تفاوت معناداری را در وزن موش‌های تمام گروه‌ها گزارش کرد ( $P=0/001$ ) (شکل ۱)، اما درصد میانگین افزایش وزن گروه‌های تمرینی و مکمل نسبت به گروه کنترل کمتر بود (جدول ۳).



شکل ۱. میانگین تغییرات وزن موش‌های صحرایی نر در طول برنامه تمرینی (گرم). گروه کنترل ۶۳/۱ - گروه رزوراترول ۳۹/۷ - گروه تمرین ۳۴/۶ - گروه تمرین ۲۲/۸

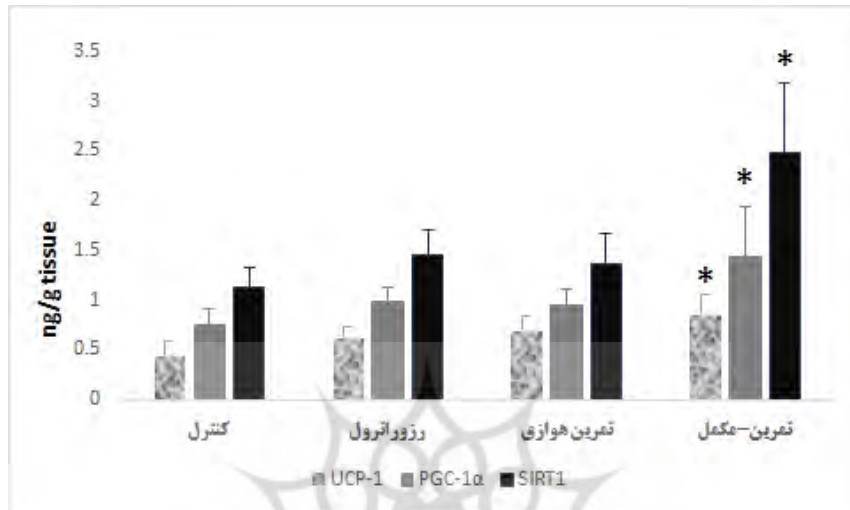
جدول ۳. میانگین تغییرات وزن موش‌های صحرایی نر (پیش و پس از برنامه تمرینی)

گروه / متغیر	وزن قبل (گرم)	وزن بعد (گرم)	مقدار تی	P value	درصد افزایش وزن
کنترل	۲۶۷/۴±۱۱	۳۲۲/۳±۱۴/۷	۹/۲۸۶	۰/۰۰۱	٪۲۰
مکمل زوراترول	۲۵۱/۱±۱۱/۲	۲۹۰/۴±۹/۵	۱۴/۰۵۸	۰/۰۰۱	٪۱۵
تمرین	۲۶۳/۱±۱۴/۴	۲۹۳/۳±۱۲/۷	۱۱/۹۰۱	۰/۰۰۱	٪۱۱
تمرین-مکمل	۲۷۱/۸±۱۳/۷	۲۹۷/۱±۱۱/۹	۳۱/۳۰۳	۰/۰۰۱	٪۹

شکل ۲ نشان می‌دهد که میزان پروتئین‌های SIRT-1، PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در بافت کبدی، به ترتیب ( $F=7.83, p\leq 0.001$ )، ( $F=6.89, p\leq 0.05$ )، ( $F=6.69, p\leq 0.05$ ) تفاوت معناداری داشتند. آزمون

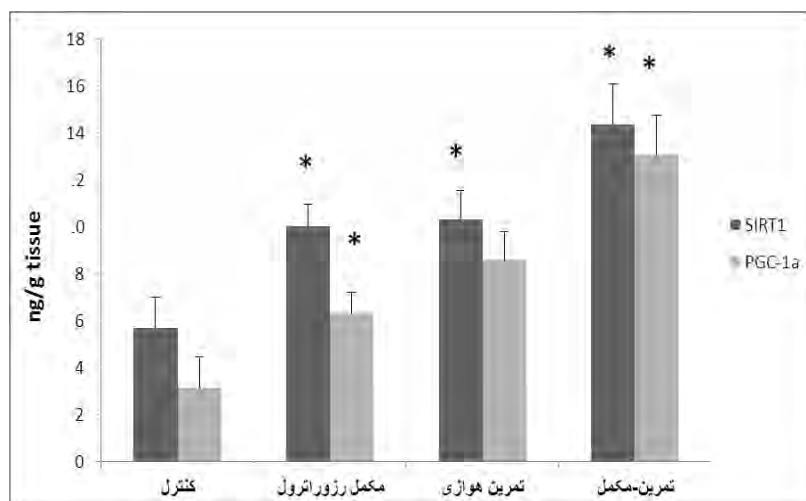


تعقیبی نشان داد که گروه تمرین-مکمل در مقایسه با سه گروه دیگر اختلاف معناداری در میزان پروتئین SIRT-1، PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 وجود داشت.

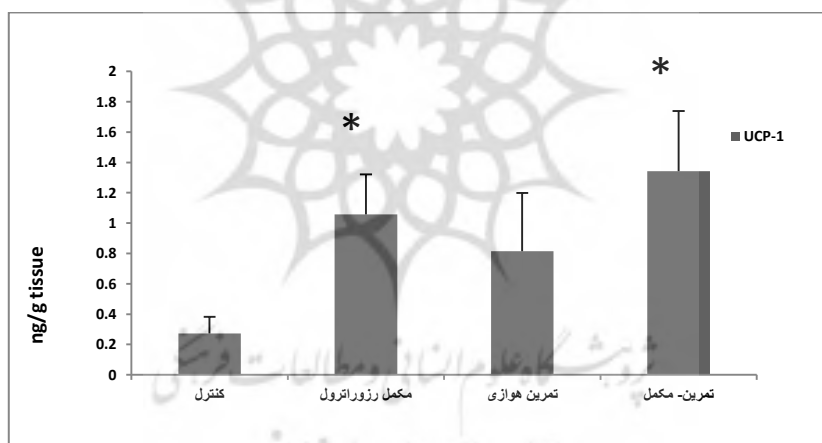


شکل ۲. میزان تغییرات پروتئین UCP-1، PGC-1 $\alpha$ ، SIRT-1 (ng/g tissue) بافت کبدی: در گروه مکمل-تمرین به ترتیب (۲/۴۷±۱/۰۳)، (۱/۴۲±۰/۵۱)، (۰/۸۴±۰/۲۲) (\* معناداری در سطح  $p \leq 0.05$ )

شکل ۳ نشان می‌دهد، میزان پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$ ، SIRT1 در بافت چربی سفید زیرجلدی در گروه T-S تفاوت معناداری داشتند، به ترتیب  $F=13.624, P \leq 0.001$ ،  $F=70.016, P \leq 0.001$  در بافت چربی سفید زیرپوستی میزان پروتئین UCP-1 در گروه T-S در مقایسه با سه گروه دیگر تفاوت معناداری داشت ( $F=14.98, P \leq 0.001$ ). همچنین گروه S و T در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب با  $P \leq 0.001$  و  $P \leq 0.029$  تفاوت معناداری داشت (شکل ۴).



شکل ۳. میزان تغییرات پروتئین SIRT1 و PGC-1α بافت چربی زیرپوستی در گروه مکمل-تمرین به ترتیب (۱۴/۳۵±۱/۹۹)، (۱۳/۰۵±۱/۷). (\* معناداری در سطح  $P \leq 0.05$ )

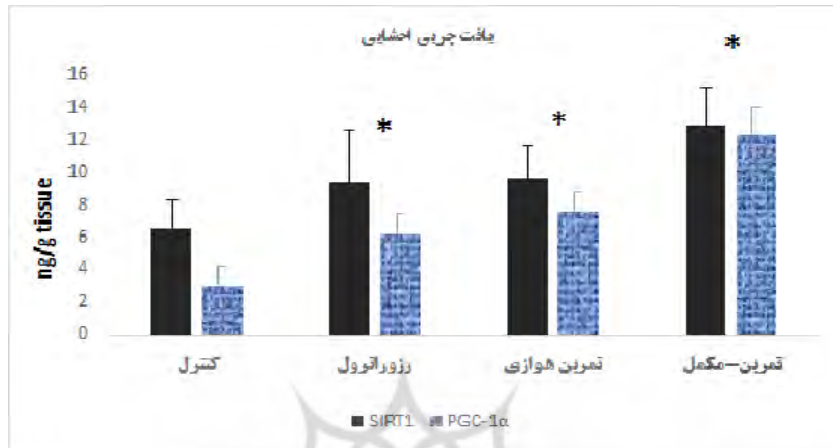


شکل ۴. میزان تغییرات پروتئین UCP-1 بافت چربی زیرپوستی در گروه مکمل-تمرین (۱/۳۴±۰/۳۹)، گروه مکمل (۱/۰۵±۰/۲۶) گروه تمرین (۰/۸۱±۰/۳۸). (\* معناداری در سطح  $P \leq 0.05$ )

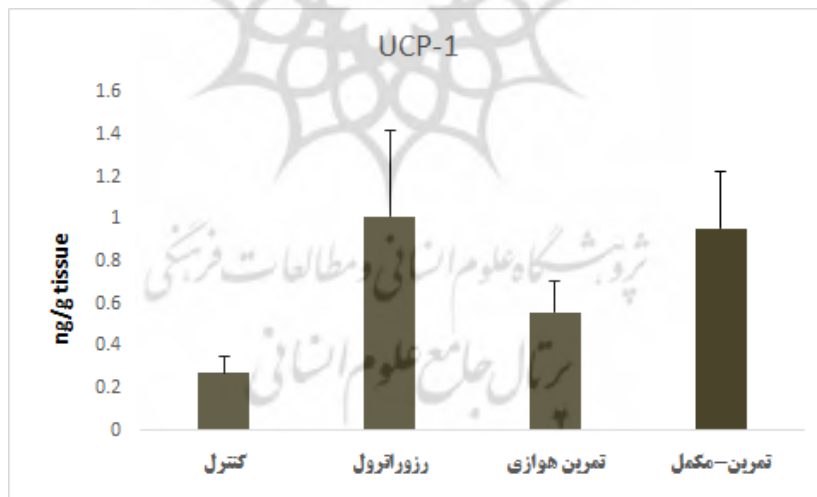
میزان پروتئین‌های SIRT1، PGC-1α و UCP-1 در بافت چربی سفید احشایی نیز در گروه T-S تفاوت معناداری داشتند، به ترتیب ( $F=8.411, P \leq 0.001$ )، ( $F=56.016, P \leq 0.001$ )، ( $F=12.937, P \leq 0.001$ )

تأثیر ۱۴ هفته فعالیت هوازی همزمان با مکمل‌دهی رزوراترول روی میزان پروتئین SIRT1 و ...

(شکل‌های ۵ و ۶). همچنین میزان PGC-1 $\alpha$  گروه S و T در بافت چربی احشایی در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب با  $P \leq 0.001$  و  $P \leq 0.001$  تفاوت معناداری داشت.



شکل ۵. میزان تغییرات پروتئین SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  (ng/g tissue) در بافت چربی احشایی در گروه مکمل-تمرین به ترتیب  $12/94 \pm 2/25$ ،  $12/34 \pm 1/63$  (\* معناداری در سطح  $P \leq 0.05$ )



شکل ۶. میزان تغییرات پروتئین UCP-1 (ng/g tissue) در بافت چربی احشایی در گروه مکمل-تمرین  $(0/95 \pm 0/26)$ ، گروه مکمل  $(1/01 \pm 0/4)$  (\* معناداری در سطح  $P \leq 0.05$ )

## بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان داد که در ارتباط با سازگاری با تمرین هوازی و مکمل‌دهی رزوراترول، افزایش معناداری پس از ۱۴ هفته در میزان پروتئین SIRT-1، PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در بافت چربی زیرپوستی و احشایی و بافت کبدی گروه تمرین-مکمل در مقایسه با سه گروه (مکمل، تمرین و کنترل) مشاهده شد. به نظر می‌رسد مصرف مکمل ترانس رزوراترول همراه با ۱۴ هفته فعالیت بدنی هوازی توانسته تغییراتی را فراتر از مصرف مجزای رزوراترول یا تمرین هوازی ایجاد کند. همسو با این نتایج تحقیقات متعددی افزایش بیان و افزایش غلظت پروتئین SIRT1 در تمرینات حاد و مزمن را گزارش کرده‌اند (SIRT1، ۳۳، ۱۲). نقش حیاتی در رشد، فعال شدن فاکتورهای مهم در روند متابولیسم انرژی، افزایش فعالیت پروتئین فعال شده به وسیله میتوزن (MAPK)<sup>۱</sup> و تنظیم مثبت PGC-1 $\alpha$  ایفا می‌کند (۳۴، ۱۳). همچنین SIRT1 نقش کلیدی در متابولیسم کربوهیدرات و چربی، سیگنالینگ انسولین و التهاب بازی می‌کند و احتمالاً از عوامل مهم بهبود شرایط NAFLD به‌شمار می‌رود (۳۵). همچنین نشان داده شده است که میزان بیان SIRT1 در شرایط NAFLD کاهش معناداری داشته است (۳۵). علاوه بر این مشاهده شده که در بیماران کبد چرب غیرالکلی میزان بیان SIRT1، SIRT3، SIRT5، and SIRT6 کاهش معناداری داشته است (۳۶). مصرف غذای حاوی چربی زیاد (high fat diet) به همراه رزوراترول به افزایش اکسیداسیون چربی و کاهش التهاب در سلول‌های کبدی منجر شده است (۳۷). علاوه بر این مسدود کردن فعالیت SIRT1 در سلول‌های کبدی به افزایش سطوح گلوکز و چربی منجر شده است (۳۸). SRT1720 (نوعی از مکمل رزوراترول) از کوفاکتورهای مهم فعال کردن SIRT1 محسوب می‌شود، که با  $10 \mu\text{mol/L}$  مکمل‌دهی به افزایش ۷۵٪ SIRT1، منجر شده است. پاکولک و همکاران (۱۵) با مکمل‌دهی رزوراترول یا SRT1720 نیز نتایج مشابهی به دست می‌آید، ولی در برخی مطالعات رزوراترول روی بیماران NAFLD تأثیر مفیدی از خود بر جای نگذاشت (۳۹). به هر حال مکمل‌دهی با SRT1720 به موش‌هایی با رژیم غذایی پرچرب، به وسیله افزایش اکسیداسیون سلولی در بافت‌های کبدی، بافت چربی و عضلانی، از چاقی و مقاومت انسولینی جلوگیری کرده است (۴۰-۴۲). همان‌طور که در این مطالعه نشان داده شد، میزان پروتئین SIRT-1، PGC-1 $\alpha$  در گروه‌های تمرینی و مکمل با افزایش همراه بود. SIRT1 نقش مهمی در بیوژنز میتوکندریایی از طریق دی اسیتیلیشن PGC-1 $\alpha$  در سلول‌های عضلانی و کبدی، ایفا

1. mitogen-activated protein kinase

می‌کند (۱۵). لینگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که فعالیت بدنی مزمن به‌طور همزمان به القای SIRT1، افزایش فعالیت AMPK و فعال شدن PGC-1 $\alpha$  منجر شده است و این تغییرات نقش مهمی در بیوژنز میتوکندریایی بازی می‌کند (۱۳). علاوه بر فعالیت بدنی، یکی از عوامل محرک بالقوه دیگر در فعال شدن SIRT1، رزوراترول است (۴۳،۱۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد مکمل‌دهی رزوراترول همراه با فعالیت بدنی هوازی در میزان بیان SIRT-1 و PGC-1 $\alpha$  و UCP-1، گروه تمرین-مکمل در مقایسه با گروه C در بافت کبدی ۸۴، ۶۶ و ۶۱ درصد در بافت چربی زیرجلدی نیز به ترتیب ۸۵، ۷۰ و ۱۲۲ درصد افزایش داشت. این نتایج، همسو با نتایج مطالعات لینگ (۲۰۱۱) (۱۳) و باستورم (۲۰۱۲) (۱۶) بود. البته مطالعاتی نیز با شک و تردید به اثرگذاری رزوراترول روی SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  نگریسته‌اند (۳۹،۱۵). از مکانیزم‌های احتمالی تأثیرات رزوراترول می‌توان به نقش مستقیم آن روی فعالیت AMPK (۱۳) و جلوگیری از فعال شدن آدنوزین مونو فسفات حلقوی فسفو دی‌استراز (cAMP PDE) (۱۴) اشاره کرد. فعال شدن AMPK به‌طور مستقیم روی تحریک فعالیت SIRT1 اثر می‌گذارد (۱۶،۱۵). علاوه بر این محققان مختلفی گزارش کرده‌اند که مصرف مقادیر بالای رزوراترول علاوه بر فعال کردن SIRT1، می‌تواند از مسیرهای مستقل دیگری به توسعه عملکرد میتوکندریایی منجر شود (۴۴). این مسیرها عبارت‌اند از: مسیرهای فعالیت کانال‌های یونی، مسیرهای سیگنالینگ درون‌سلولی مانند cAMP، نیتریک اکساید و واکنش‌های ضد اکسایشی (۴۵،۱۳). علاوه بر این با استفاده از مدل حذفی القایی، گروه سینکلر نشان دادند فرم غیرفعال SIRT1 برای فعالیت رزوراترول و فعال شدن AMPK در بهبود عملکرد بیوژنز میتوکندریایی مورد نیاز است (۴۶). افزایش معنادار میزان بیان SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  در بافت عضلانی در تحقیق حاضر، به اهمیت دی‌اسیتیل‌شدن (فعال شدن) (در اینجا) PGC-1 $\alpha$  توسط SIRT1 برمی‌گردد، به همین منظور گروه فینکل<sup>۲</sup> پیشنهاد کردند، شواهد قابل قبولی وجود دارد که SIRT1 به‌صورت فیزیکی و عملکردی با PGC-1 $\alpha$  در تعامل است (۴۷). علاوه بر این تحریکات هورمونی نقش مهمی در افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی سفید احشایی و زیرجلدی ایفا می‌کنند، به‌طوری‌که فعالیت بدنی مزمن میزان ترشح هورمون تیروئید را افزایش می‌دهد که احتمالاً در افزایش PGC-1 $\alpha$  و تحریک بیان UCP-1 نقش دارد (۴۸). دلیل معنادار بودن SIRT1 در گروه مکمل در مقایسه با گروه تمرین، احتمالاً تأثیر مکمل رزوراترول در فعال کردن SIRT1 از مسیرهای گوناگون است. این

1. Ling

2. Finkel

ترکیب علاوه بر تحریک بیان SIRT1 و تأثیرات مستقیم روی PGC-1 $\alpha$  به فعال شدن AMPK منجر می‌شود که این آنزیم خود موجب افزایش SIRT1 و دی‌استیله شدن PGC-1 $\alpha$  می‌شود (۴۵،۱۵،۱۳). از طرفی AMPK<sup>۱</sup> به عنوان هدف نهایی رزوراترول شناخته شده است، که اختلال در فعالیت این آنزیم به تجمع چربی در بافت چربی و کبدی خواهد انجامید (۵۰،۴۹).

در بافت چربی زیرپوستی ناحیه اینگوینال شکمی، میزان پروتئین سلول‌های چربی در گروه مکمل-تمرین با سه گروه دیگر نتایج معناداری به دست آمد، به طوری که بیان نسبی SIRT1 ۸۵٪ و بیان نسبی PGC-1 $\alpha$  ۱۲۷٪ افزایش داشتند. همچنین میزان بیان نسبی UCP-1 در این گروه ۱۲۳ درصد افزایش نسبت به گروه کنترل داشت. باستورم و همکاران نشان دادند که بافت چربی زیرپوستی مستعد تغییر فنوتایپ به سمت بافت چربی قهوه‌ای است. آنها میزان تغییرات UCP-1 را چندین برابر گزارش کرده بودند (۴۶). به نظر می‌رسد تحریک مکانیزم‌های بالادستی توسط رزوراترول به تحریک فعالیت SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  و افزایش فعالیت AMPK از یک طرف و فعالیت بدنی مزمن از طریق فعال شدن گیرنده‌های سطح سلولی توسط اپی‌نفرین منجر می‌شود. همچنین برخی هورمون‌های درگیر به القای مسیر پیام‌رسان، و بیان UCP-1 در چربی زیرپوستی و حتی بافت چربی قهوه‌ای منجر می‌شود (۴۶،۱۶،۱۳). هرچند در این پژوهش سطح پروتئین FNDC5 بررسی نشد، احتمال دارد که افزایش SIRT1 و PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله، به بیان FND5 منجر شده و موجب ترشح آیریزین از سلول عضلانی به درون خون می‌شود که به افزایش بیان UCP-1 ناشی از فعالیت بدنی در سلول‌های چربی خواهد انجامید (۲۸،۱۶). علاوه بر این در بافت چربی، افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  نقش اساسی در القای UCP-1 ناشی از تمرینات هوازی دارد (۲۸).

PPARs گیرنده‌های هسته‌ای مهمی‌اند که به میزان زیاد توسط SIRT1 در بافت چربی بیان می‌شوند (۴۴،۳۴). این نتایج با تغییرات معنادار میزان PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی در مطالعه حاضر همسو بود. با این حال آیا می‌توان با نتایج به دست آمده، تغییرات فنوتایپ چربی سفید را به چربی قهوه‌ای محتمل دانست؟ همان‌طور که مطالعات نشان داده‌اند، تفاوت در تعداد و نوع میتوکندری‌ها، وجه تمایز اصلی بافت چربی قهوه‌ای با چربی سفید است. علاوه بر این بیوژنز میتوکندریایی شامل فرایند پیچیده‌ای از همکاری هسته و ژن‌های کدشده میتوکندری در سلول است. حلقه اصلی این فرایند، PGC-1 $\alpha$  است، به طوری که افزایش بیان آن به افزایش بیوژنز میتوکندریایی در بافت چربی سفید (۲۷) منجر می‌شود.

1. AMP-activated protein kinase

مسدود کردن فعالیت این ژن به کاهش تعداد و اندازه میتوکندری در بافت چربی سفید و عضلانی انجامیده است (۲۷،۲۱). لینگ لی و همکاران نشان داد که فعالیت بدنی ۱۰ تا ۱۲ هفته‌ای موش‌ها روی نوار گردان به‌طور موازی به افزایش و فعال شدن SIRT1، PGC-1 $\alpha$  و افزایش فعالیت AMPK منجر شده است (۱۳). علاوه بر این افزایش PGC-1 $\alpha$  در تمرینات مزمن چه در میزان پروتئین و چه در میزان mRNA مشاهده شده است (۱۶). علی‌رغم این نتایج ایکدا<sup>۱</sup> (۲۰۰۶) گزارش کرد ۸ هفته تمرین اختیاری موش‌ها رو نوار گردان تغییراتی در مقدار بیان ژن PGC-1 $\alpha$  ایجاد نکرد، ولی تغییرات روی ژن‌های میتوکندری مشاهده شد (۱۷). احتمالاً دلایل عدم معناداری در پروتکل اختیاری بودن نحوه دودیدن موش‌ها یا میزان فعالیت آنها باشد. همچنین در مطالعه حاضر میزان پروتئین بافتی سنجیده شد، زیرا تخمینی دقیق‌تر از میزان فعالیت بیان ژن‌های مذکور ترسیم می‌کند، ولی در مطالعه ایکدا میزان بیان ژن سنجیده شده بود. با این حال مطالعات در این زمینه محدود به‌نظر می‌رسد (۳۳). فعالیت بدنی هوازی با توجه به ایجاد تغییرات (کاهش) در نسبت حامل‌های الکترونی (NADH/NAD+) احتمالاً تحریک‌کننده فعالیت SIRT1 در عضلات موش‌ها باشد (۵۲). با این حال هنوز مطالعات زیادی در زمینه تغییرات فیزیکی و بیوشیمیایی فنوتایپ چربی سفید شبه‌قهوه‌ای (بژ) مورد نیاز است.

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، در زمینه سازوکار احتمالی تأثیر توأمان تمرین هوازی و مکمل رزوراترول می‌توان نتیجه گرفت که موجب افزایش میزان پروتئین SIRT1، PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 (نشانگر کلیدی قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی)، چه در عضله و چه در بافت چربی زیرپوستی اینگوینال شده در مقایسه با تمرین مجزا یا مصرف مکمل رزوراترول شده است. سازوکارهای احتمالی این تغییرات بررسی شد. انجام تمرینات بلندمدت هوازی همراه با استفاده از مکمل رزوراترول احتمالاً به کاهش بیشتر وزن، در مدت زمان معین در مقایسه با انجام فعالیت بدنی منجر می‌شود. همچنین از فواید احتمالی این روش، می‌توان به تحریک بالادستی سازوکارهای تأثیرگذار در روند تولید میتوکندری و کاهش عوارض چاقی (از طریق افزایش گرمایی و افزایش هزینه انرژی) اشاره کرد.

پیشنهاد می‌شود با توجه با نتایج تحقیق مکمل رزوراترول و فعالیت بدنی روند کاهش وزن به‌طور همزمان، شرکت داده شوند تا به تأثیرات مفیدتری ختم شود. همچنین پیشنهاد می‌شود تحقیقی مشابه

روی نمونه‌های انسانی دارای اضافه‌وزن و با رژیم غذایی یکسان، در این زمینه انجام گیرد.

### تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل پروژه دکتری دانشگاه آزاد تهران مرکز است. بدین‌وسیله از همکاران بخش بیوشیمی پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخش بیوشیمی و تمام کسانی که در انجام این پژوهش همراهی کرده‌اند، کمال تشکر و امتنان را داریم.

### منابع و مأخذ

1. Shimizu, M., Kubota, M., Tanaka, T. & Moriwaki, H. Nutraceutical Approach for Preventing Obesity Related Colorectal and Liver Carcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* (2012) 13, 579–595.
2. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism* 2016; 65: 1038-1048 [PMID: 26823198]
3. Lomonaco R, Ortiz-Lopez C, Orsak B, Webb A, Hardies J, Darland C, Finch J, Gastaldelli A, Harrison S, Tio F, Cusi K. Effect of adipose tissue insulin resistance on metabolic parameters and liver histology in obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2012; 55: 1389-1397 [PMID: 22183689]
4. Misra VL, Khashab M, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 50-55 [PMID: 19166659]
5. Sanyal AJ. NASH: A global health problem. *Hepatol Res* 2011; 41: 670-674 [PMID: 21711426]
6. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005; 307: 384-387 [PMID: 15662004]
7. Perry RJ, Zhang D, Zhang XM, Boyer JL, Shulman GI. Controlled-release mitochondrial protonophore reverses diabetes and steatohepatitis in rats. *Science* 2015; 347: 1253-1256 [PMID: 25721504]
8. Golabi P, Locklear CT, Austin P, Afdhal S, Byrns M, Gerber L, Younossi ZM. Effectiveness of exercise in hepatic fat mobilization in non-alcoholic fatty liver disease: Systematic review. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6318-6327 [PMID: 27468220 DOI: 10.3748/wjg.v22.i27.6318]
9. Gariani K, Menzies KJ, Ryu D, Wegner CJ, Wang X, Ropelle ER, Moullan N, Zhang H, Perino A, Lemos V, Kim B, Park YK, Piersigilli A, Pham TX, Yang Y, Ku CS, Koo SI, Fomitchova A, Cantó C, Schoonjans K, Sauve AA, Lee JY, Auwerx J. Eliciting the mitochondrial unfolded protein response by nicotinamide adenine dinucleotide repletion reverses fatty liver disease in mice. *Hepatology* 2016; 63: 1190-1204 [PMID: 26404765]
10. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A. Resveratrol improves health and survival of mice on a highcalorie diet. *Nature* 2006; 444: 337–42.



11. Matos RS, Baroncini LAV, Précoma LB, Winter G, Lambach PH, Caron EY, Kaiber F & Précoma DB (2012). Resveratrol causes antiatherogenic effects in an animal model of atherosclerosis. *Arq Bras Cardiol* 98, 136–142.
12. Sin, T.K., Yung, B.Y., Siu, P.M., Modulation of SIRT1-Foxo1 signaling axis by resveratrol: Implications in skeletal muscle aging and insulin resistance. *Cell. Physiol. Biochem.* 2015, 35 (2), 541–552
13. Ling Li,1Ruping Pan,1Rong Li,1Bernd Niemann,2Anne-Cathleen Aurich,1Ying Chen,1and Susanne Rohrbach1,3 Mitochondrial Biogenesis and Peroxisome Proliferator–Activated Receptor-? Coactivator-1? (PGC-1?) Deacetylation by Physical Activity Intact Adipocytokine Signaling Is Required *Diabetes* 60:157–167, 2011
14. Wu J, Cohen P, Spiegelman B M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes and Development.* 2013;27 (3):234-50.
15. Pacholec, M., Bleasdale, J.E., Chrnyk, B., Cunningham, D., Flynn, D., Garofalo, R.S., Griffith, D., Griffor, M., Loulakis, P., Pabst, B., et al.. SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J. Biol. Chem.* (2010), 285, 8340– 8351
16. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, KordeA, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM: A PGC-1A- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 48 463–468.
17. Ikeda S, Kawamoto H, Kasaoka K, Hitomi Y, Kizaki T, Sankai Y, Ohno H, Haga S, Takemasa T. Muscle type-specific response of PGC-1  $\alpha$  and oxidative enzymes during voluntary wheel running in mouse skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;188:217–223
18. Um JH , Park SJ , Kang H , et al . AMP-activated protein kinase-deficient mice are resistant to the metabolic effect of resveratrol. *Diabetes.* 2010;59:554-563
19. Polyzos S A, Kountouras J, Shields K, Mantzoros C S. Irisin: A renaissance in metabolism? *Metabolism.* 2013; 62(8): 1037-44.
20. Chang JS, Fernand V, Zhang Y, Shin J, Jun HJ, Joshi Y, Gettys TW. NT-PGC-1 $\alpha$  protein is sufficient to link beta3-adrenergic receptor activation to transcriptional and physiological components of adaptive thermogenesis. *J Biol Chem.* 2012; 287:9100–9111. [PubMed: 22282499]
21. 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.
22. Perry RJ, Zhang D, Zhang XM, Boyer JL, Shulman GI. Controlled-release mitochondrial protonophore reverses diabetes and steatohepatitis in rats. *Science* 2015; 347: 1253-1256 [PMID: 25721504]
23. Alisi A, Manco M, Panera N, Nobili V. Association between type two diabetes and non-alcoholic fatty liver disease in youth. *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S44-S50 [PMID: 19381124]

24. Nobili V, Svegliati-Baroni G, Alisi A, Miele L, Valenti L, Vajro P. A 360-degree overview of paediatric NAFLD: recent insights. *J Hepatol* 2013; 58: 1218-1229 [PMID: 23238106]
25. Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J. Chronic Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) Activation of Epididymally Derived White Adipocyte Cultures Reveals a Population of Thermogenically Competent, UCP-1-containing Adipocytes Molecularly Distinct from Classic Brown Adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*.2010; 285:7153–7164. [PubMed: 20028987]
26. Jun Hyun Jeong, Young Ran Lee, Hee Geun Park, and Wang Lok Lee The effects of either resveratrol or exercise on macrophage infiltration and switching from M1 to M2 in high fat diet mice *J Exerc Nutrition Biochem*. 2015 Jun; 19 (2): 65–72.
27. Leone TC, Lehman JJ, Finck BN, Schaeffer PJ, Wende AR, Boudina S, Courtois M, Wozniak DF, Sambandam N, Bernal-Mizrachi C, Chen Z, Holloszy JO, Medeiros DM, Schmidt RE, Saffitz JE, Abel ED, Semenkovich CF & Kelly DP. PGC-1 $\alpha$  deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. *PLoS Biol* (2005) 3, e101.
28. Kristin I. Stanford, Roeland J.W. Middelbeek, Laurie J. Goodyear, Exercise Effects on White Adipose Tissue: Beiging and Metabolic Adaptations *Diabetes* 2015;64:2361–2368 | DOI: 10.2337/db15-0227
29. Granneman JG, Li P, Zhu Z, Lu Y. Metabolic and cellular plasticity in white adipose tissue I: effects of beta3-adrenergic receptor activation. *Am J PhysiolEndocrinolMetab*. 2005; 289:E608–616. [PubMed:15941787]
30. Li P, Zhu Z, Lu Y, Granneman JG. Metabolic and cellular plasticity in white adipose tissue II: role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ . *Am J of PhysiolEndocrinolMetab*. 2005; 289:E617–E626. [PubMed: 15941786]
31. Chih-Hsueh Lin & Cheng-Chieh Lin & Wei-Jen Ting & Pei-Ying Pai et al . Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age (Dordr)*. 2014;36 (5):9705
32. Pontus B, Jun W, Mark P J, Anisha K, Li Y, James C, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012; 463-81.
33. Lin, H., Lin, C., Ting, J., Pai, Y., Kuo, H., Ho, T.J., Kuo, W., Chang, C.H., Huang, C.Y., Lin, T.,. Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age (Dordr)* 2014, 36 (5), 9705
34. Lagouge, M. et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 alpha. *Cell* (2006) 127, 1109–1122
35. Fatiha Nassir, Jamal A Ibdah: Sirtuins and nonalcoholic fatty liver disease; *World J Gastroenterol* 2016 December 14; 22(46): 10084-10092 December 14, 2016 [Volume 22 | Issue 46

36. Wu T, Liu YH, Fu YC, Liu XM, Zhou XH. Direct evidence of sirtuin downregulation in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Clin Lab Sci* 2014; 44: 410-418 [PMID: 25361925]
37. Andrade JM, Paraíso AF, de Oliveira MV, Martins AM, Neto JF, Guimarães AL, de Paula AM, Qureshi M, Santos SH. Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice by decreasing lipogenesis and inflammation. *Nutrition* 2014; 30: 915-919 [PMID: 24985011]
38. Tobita T, Guzman-Lepe J, Takeishi K, Nakao T, Wang Y, Meng F, Deng CX, Collin de l'Hortet A, Soto-Gutierrez A. SIRT1 Disruption in Human Fetal Hepatocytes Leads to Increased Accumulation of Glucose and Lipids. *PLoS One* 2016; 11: e0149344 [PMID: 26890260]
39. Chachay VS, Macdonald GA, Martin JH, Whitehead JP, O' Moore-Sullivan TM, Lee P, Franklin M, Klein K, Taylor PJ, Ferguson M, Coombes JS, Thomas GP, Cowin GJ, Kirkpatrick CM, Prins JB, Hickman IJ. Resveratrol does not benefit patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 2092-2103.e1-6 [PMID: 24582567]
40. Smith JJ, Kenney RD, Gagne DJ, Frushour BP, Ladd W, Galonek HL, Israelian K, Song J, Razvadauskaite G, Lynch AV, Carney DP, Johnson RJ, Lavu S, Iffland A, Elliott PJ, Lambert PD, Elliston KO, Jirousek MR, Milne JC, Boss O. Small molecule activators of SIRT1 replicate signaling pathways triggered by calorie restriction in vivo. *BMC Syst Biol* 2009; 3: 31 [PMID: 19284563 DOI: 10.1186/1752-0509-3-31]
41. Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, Bemis JE, Xie R, Disch JS, Ng PY, Nunes JJ, Lynch AV, Yang H, Galonek H, Israelian K, Choy W, Iffland A, Lavu S, Medvedik O, Sinclair DA, Olefsky JM, Jirousek MR, Elliott PJ, Westphal CH. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature* 2007; 450: 712-716 [PMID: 18046409]
42. Feige JN, Lagouge M, Canto C, Strehle A, Houten SM, Milne JC, Lambert PD, Matakis C, Elliott PJ, Auwerx J. Specific SIRT1 activation mimics low energy levels and protects against diet-induced metabolic disorders by enhancing fat oxidation. *Cell Metab* 2008; 8: 347-358 [PMID: 19046567]
43. Baur, J.A., Biochemical effects of SIRT1 activators. *Biochim.Biophys.Acta* 2010, 1804(8), 1626–1634..
44. Lagouge M , Argmann C , Gerhart-Hines Z, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* .2006 ; 127 : 1109 – 1122 .
45. Rivera, L., Moron, R., Zarzuelo, A. &Galisteo, M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem.Pharmacol.* 2009.77, 1053–1063.
46. Oberdoerffer, P., Michan, S., McVay, M., Mostoslavsky, R., Vann, J., Park, S.K.,Hartlerode, A., Stegmuller, J., Hafner, A., Loerch, P., Wright, S.M., Mills,

- K.D., Bonni, A., Yankner, B.A., Scully, R., Prolla, T.A., Alt, F.W., Sinclair, D.A., SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell* 2008 135 (5), 907–918
47. Nemoto, S., Fergusson, M.M., and Finkel, T.. SIRT1 functionally interacts with the metabolic regulator and transcriptional coactivator PGC-1{alpha}. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 16456-16460.
48. Fortunato RS, Ignacio DL, Padron AS, Pecanha R, Marassi MP, Rosenthal D, Werneck-de-Castro JP & Carvalho DP. The effect of acute exercise session on thyroid hormone economy in rats. *J Endocrinol* (2008) 198, 347–353
49. Wang MY, Unger RH. Role of PP2C in cardiac lipid accumulation in obese rodents and its prevention by troglitazone. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E216–21.
50. Viollet B, Foretz M, Guigas B, Horman S, Dentin R, Bertrand L. Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders. *J Physiol* 2006; 574: 41–53.
51. Ikeda S, Kawamoto H, Kasaoka K, Hitomi Y, Kizaki T, Sankai Y, Ohno H, Haga S, Takemasa T. Muscle type-specific response of PGC-1 alpha and oxidative enzymes during voluntary wheel running in mouse skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)* 2006; 188: 217–223



---

**The Effect of 14 Weeks of Aerobic Training Together with Resveratrol Supplementation on Protein Levels of UCP-1, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  in Liver Tissue, Subcutaneous Fat and Visceral Fat in Male Rats**

**Hadi Zahedi<sup>\*1</sup> - Maghsoud Peeri<sup>2</sup> - Mehdi Hedayati<sup>3</sup>**

**1.PhD Student of Sport Biochemistry and Metabolism, Islamic Azad University, Central Tehran Branch 2.Professor, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch 3.Associate Professor of Endocrinology and Metabolism Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran**

**(Received: 2017/2/18; Accepted: 2017/11/7)**

**Abstract**

The effect of physical activity and changes in phenotype of white adipose tissue is a new issue and the controversial results and molecular mechanisms suggested for it are investigated. Resveratrol supplement has received attention as a factor which increases fat metabolism in adipose tissue. The aim of this study was to determine the effect of resveratrol supplementation and aerobic training on protein levels of SIRT-1, PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in liver tissue, abdominal-inguinal adipose tissue and subcutaneous adipose tissue in male rats. In this study, 28 male rats (mean weight: 260+10 gr, age: 8 weeks) were randomly divided into 4 groups: control (C), aerobic training (T), supplement-training (T-R) and supplement (S). Training groups exercised for 14 weeks (5 sessions a week, 45 minutes each session) on a treadmill. T-R group daily received resveratrol supplement (10mg/kg of body weight). The ELISA method (double-sandwich) was used to measure tissue proteins of UCP-1, SIRT1 and PGC-1 $\alpha$ . One-way ANOVA test was used for data analysis and statistical significance was considered as  $P \leq 0.05$ . SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  proteins changed in liver tissue and subcutaneous / visceral white adipose tissue as  $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.001$  respectively. UCP-1 protein significantly increased in the measured tissues in T-R group after supplement in combination with aerobic training ( $P \leq 0.001$ ). According to these results, supplementation may improve liver function and change phenotype of subcutaneous white adipose tissue to beige (intermediate) adipose tissue.

**Keywords**

Aerobic training, PGC-1 $\alpha$ , resveratrol, SIRT1, UCP-1.

---

\* Corresponding Author Email: h.zahedi2@gmail.com Tel: +98091990051202