

## تأثیر تمرین استقامتی و رژیم غذایی پرچرب بر مسیر PGC-1a/FNDC5/Irisin

## موش‌های نر C57BL/6

فاطمه کاظمی‌نسب<sup>۱</sup>، سیدمحمد مرندی<sup>۲</sup>، کامران قائدی<sup>۳</sup>، فهیمه اسفراجانی<sup>۴</sup>،محمدحسین نصر اصفهانی<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان

۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان\*

۳. استاد زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه اصفهان

۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان

۵. استاد جنین‌شناسی، پژوهشگاه رویان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۱۸

## چکیده

هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی و رژیم غذایی پرچرب بر مسیر PGC-1a/FNDC5/Irisin در بافت عضله دوقلو و بافت چربی احشایی در موش‌های نر C57BL/6 بود. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: رژیم غذایی پرچرب-تمرین (HF-E)، رژیم غذایی پرچرب-بی‌تحرك (HF-S)، رژیم غذایی کم‌چرب-تمرین (LF-E) و رژیم غذایی کم‌چرب-بی‌تحرك (LF-S). موش‌های گروه تمرینی به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته با سرعت متوسط ۱۹ متر بر دقیقه و به مدت ۴۵ دقیقه، تحت تمرین روی تردمیل قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها قربانی شدند و برای اندازه‌گیری ایریزین پلاسما، خون‌گیری از موش‌ها انجام شد. بافت عضله دوقلو و چربی احشایی جدا شد و برای اندازه‌گیری بیان PGC-1a mRNA و FNDC5 mRNA در نیتروژن مایع فریز شد. از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه در سطح معناداری  $P < 0.05$  استفاده شد. نتایج نشان داد که سطوح FNDC5 عضلانی در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب بیشتر از موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب بودند ( $P = 0.001$ ). به‌طور قابل‌توجهی، بیان FNDC5 عضلانی همبستگی مثبت با چربی بدن موش‌های C57BL/6 داشت ( $P = 0.001, r = 0.8$ ). همچنین، نتایج نشان می‌دهد که تمرین بدنی و رژیم غذایی بر میزان ایریزین پلاسما تأثیری نداشتند ( $P > 0.05$ ). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش بیان FNDC5 در بافت عضله دوقلو می‌شود. همچنین، احتمالاً ارتباطی متقابل بین بیان FNDC5 عضلانی و توده چربی بدن وجود دارد که انجام مطالعاتی در آینده برای بررسی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی آن لازم به‌نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: رژیم غذایی پرچرب، تمرین استقامتی، ژن PGC-1a، ژن FNDC5، ایریزین

## مقدمه

تغییر شیوه زندگی، نبود فعالیت بدنی و رژیم‌های غذایی پرچرب باعث شده‌اند که اضافه‌وزن و چاقی در کشورهای درحال توسعه، از مشکلات عمده سلامتی به‌شمار روند. چاقی در نتیجه نبود تعادل بین مصرف انرژی و دریافت انرژی است که عمدتاً مصرف زیاد سطوح غذای پرچرب و فقدان فعالیت بدنی موجب این نبود تعادل خواهد شد. عضله اسکلتی و بافت چربی دو ارگان درون‌ریزی هستند که به ترتیب موجب ترشح مایوکاین‌ها<sup>۱</sup> و ادیپوکاین‌ها<sup>۲</sup> می‌شوند و تعامل این دو بافت با یکدیگر برای متابولیسم بدن حیاتی و ضروری است (۱).

بوستروم<sup>۳</sup> و همکاران (۲) در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که پس از تمرین بدنی بیان PGC-1 $\alpha$ <sup>۴</sup> افزایش پیدا می‌کند؛ به دنبال آن، بیان FNDC5<sup>۵</sup> عضلانی افزایش می‌یابد؛ پروتئین FNDC5 شکسته می‌شود و یک هورمون یا مایوکاین به نام ایریزین<sup>۶</sup> ترشح می‌شود. ایریزین موجب افزایش سطوح پروتئین جفت‌نشده<sup>۱</sup> (UCP-1)<sup>۷</sup> در بافت چربی سفید می‌شود که به‌طور اختصاصی بافت چربی سفید (WAT) را<sup>۸</sup> به بافت چربی قهوه‌ای (BAT)<sup>۹</sup> تبدیل می‌کند (۲-۵). بافت چربی قهوه‌ای از طریق ترموژنز غیرلرزشی<sup>۱۰</sup> گرما تولید می‌کند و دمای بدن را تنظیم می‌کند (۶)؛ بنابراین، فرض بر این است که قهوه‌ای شدن بافت چربی اضافه‌وزن را کاهش می‌دهد (۱). در مطالعات مختلف گزارش کرده‌اند که FNDC5 عضلانی در متابولیسم انرژی از جمله بیوژنز میتوکندریایی و متابولیسم اکسیداتیو نقش‌های متعددی دارد و نقش FNDC5 یا ایریزین در درمان چاقی و بیماری‌های متابولیک مرتبط با آن از جمله دیابت نوع دو را بررسی کرده‌اند (۷، ۲).

نتایج مطالعات اخیر در زمینه اثر فعالیت بدنی بر بیان FNDC5 و ایریزین پلاسما ضدونقیض است. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سطوح FNDC5 و ایریزین به‌طور معناداری پس از تمرین حاد افزایش پیدا می‌کنند و موجب افزایش مصرف انرژی و قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید می‌شوند (۳، ۴)؛ باین‌حال، برخی از مطالعات اثرهای متفاوت تمرین بر سطوح FNDC5 و ایریزین را گزارش کرده‌اند؛ برای مثال، یک مطالعه تأثیر فعالیت بدنی مزمن در انسان‌ها بر پاسخ به تمرین مقاومتی را

1. Myokines
2. Adipokines
3. Bostrom
4. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR)  $\gamma$  Coactivator 1 $\alpha$
5. Fibronectin Type III Domain-Containing Protein 5
6. Irisin
7. Uncoupling Protein 1
8. White Adipose Tissue
9. Brown Adipose Tissue
10. Non-Shivering Thermogenesis

گزارش کرده است که سطوح ایریزین هیچ تغییر معناداری نکرده است (۸)؛ درحالی که در مطالعه‌ای دیگر، پس از تمرین استقامتی حاد و مزمن، سطوح ایریزین انسانی و بیان ژن FNDC5 و PGC-1a افزایش پیدا کرد (۹). به همین دلیل، بررسی نقش ایریزین در پاسخ به تمرین بدنی در مطالعات آینده لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

از طرف دیگر، فاکتورهای دیگری به جز تمرین بدنی می‌توانند بر میزان ایریزین پلاسما تأثیرگذار باشند. یکی از این فاکتورها شاخص توده بدنی (BMI)<sup>۱</sup> و چربی بدن است. برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که ایریزین با میزان چربی بدن و BMI ارتباطی منفی دارد (۱۱، ۱۰) و مطالعات دیگر نشان داده‌اند که ارتباطی مثبت بین ایریزین و BMI وجود دارد (۱۲-۱۵) و در پژوهش دیگر، هیچ ارتباطی مشاهده نشده است (۱۶). پژوهشگران پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً ایریزین به‌عنوان یک ادیپوکاین، نقشی جبرانی در متابولیسم چربی‌ها دارد و با افزایش میزان چربی بدن، ایریزین ترشح و آزاد می‌شود تا میزان مصرف انرژی در سلول‌ها از طریق افزایش بیان UCP-1 افزایش پیدا کند (۱۸، ۱۷)؛ برای مثال، ایریزین سرمی در پاسخ به رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها و انسان‌ها افزایش می‌یابد (۲۰، ۱۹). در این مطالعات، بیشترین میزان ایریزین سرمی در گروه‌های تمرین‌نکرده چاق تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروه‌های غیرچاق تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب مشاهده شده است (۲۱). ایریزین علاوه بر نقش ادیپوکاینی خود، ممکن است به‌عنوان یک مایوکاین تنظیمی عمل کند و احتمالاً در درمان بیماری‌های متابولیک مرتبط با چاقی نقش مهمی ایفا کند (۲)؛ بنابراین، هدف مطالعه حاضر، بررسی اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی پرچرب بر مسیر PGC-1a/FNDC5/Irisin در عضله دوقلو و بافت چربی احشایی در موش‌های C57BL/6 است.

## روش پژوهش

تعداد ۲۴ موش نر C57BL/6 با وزن تقریبی (۲۵-۲۲ گرم) و رده سنی (۱۸-۱۶ هفته) در شرایط کنترل‌شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما ( $23 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ( $50 \pm 5$  درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. در این پژوهش، به دلیل کنترل تغییرات هورمونی که در موش‌های ماده اتفاق می‌افتد، از موش‌های نر استفاده شد. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. پس از دو هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه و دستکاری توسط انسان، موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: ۱- موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی

### 1. Body Mass Index

پرچرب- تمرین کرده (HF-E)<sup>۱</sup> (تعداد = شش)؛ ۲- موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب- بی‌تحرك (HF-S)<sup>۲</sup> (تعداد = شش)؛ ۳- موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب-تمرین‌کرده (LF-E)<sup>۳</sup> (تعداد = شش)؛ ۴- موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب- بی‌تحرك (LF-S)<sup>۴</sup> (تعداد = شش). رژیم غذایی کم‌چرب شامل ۱۰ درصد کیلوکالری از چربی، ۷۰ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات، ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین و رژیم غذایی پرچرب (۲۲) شامل ۴۵ درصد کیلوکالری از چربی، ۳۵ درصد کیلوکالری از کربوهیدرات، ۲۰ درصد کیلوکالری از پروتئین بود. موش‌های گروه تمرینی تمرین بدنی را با شدت ۱۲ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در روز روی تردمیل مخصوص موش‌ها (ساخت ایران، پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان) آغاز کردند و به مدت یک هفته، به تدریج زمان فعالیت به ۴۵ دقیقه در روز و شدت فعالیت به ۱۷ متر در دقیقه افزایش یافت. این هفته تمرین بدین‌منظور طراحی شد تا موش‌های گروه تمرینی در شروع پروتکل فزاینده<sup>۵</sup> بتوانند هر هفته پنج روز متوالی، هر روز یک جلسه و هر جلسه ۴۵ دقیقه روی نوارگردان بدونند. پروتکل تمرینی این پژوهش بدین‌صورت بود که موش‌ها در هفته‌های اول و دوم با شدت ۱۷ متر در دقیقه، هفته‌های سوم و چهارم با شدت ۱۹ متر در دقیقه، هفته‌های پنجم و ششم با شدت ۲۱ متر در دقیقه و هفته‌های هفتم و هشتم با شدت ۲۳ متر در دقیقه و شیب صفر درجه تمرین کردند. شایان ذکر است که این تمرین یک تمرین استقامتی با شدت ۷۵-۵۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی برآورد می‌شود (۲۳).

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها در حالتی که یک شب کامل ناشتا بودند (۱۴ ساعت ناشتایی)، از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بی‌هوشی کتامین و زایلازین بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی از طریق عقب‌نکشیدن پا، خون از بطن راست هر موش توسط سرنگ گرفته شد و بلافاصله درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. موش‌ها با رعایت موازین اخلاقی قربانی شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند و سپس، سرم خون هر نمونه جدا شد و برای اندازه‌گیری در آینده، در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از خون‌گیری، بافت عضله دوقلو، بافت چربی سفید شکمی، بافت چربی زیرپوستی کشاله رانی<sup>۶</sup> و بافت چربی اپی‌دیدیمال<sup>۷</sup> بلافاصله جدا شدند و مجموع وزن بافت چربی سفید اندازه‌گیری شد (۲۴). بافت‌ها به داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدند و در نیتروژن مایع قرار گرفتند. سپس، بافت منجمد برای استخراج RNA و

- 
1. High Fat-Exercise
  2. High Fat-Sedentary
  3. Low Fat-Exercise
  4. Low Fat-Sedentary
  5. Progressive
  6. Inguinal
  7. Epididymal

اندازه‌گیری بیان ژن‌های PGC-1a و FNDC5 در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. لازم است ذکر شود که با توجه به مطالعات پیشین، وزن بافت چربی سفید به وزن بدن (درصد) به‌عنوان معیاری برای توده چربی بدن محاسبه شد (۲۶، ۲۵).

استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط تکنیک Real time PCR: برای جداسازی RNA از بافت عضله اسکلتی و چربی سفید احشایی از تریزول<sup>۱</sup> (شرکت Thermo Scientific)، از دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. سپس، RNA استخراج‌شده با استفاده از کیت DNaseI (شرکت Thermo Scientific)، از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA پاک‌سازی شد. از هر کدام از نمونه‌ها، دو میکروگرم mRNA<sup>۲</sup> برای سنتز اولین رشته cDNA به‌کار گرفته شد. در این پژوهش، برای سنتز cDNA از کیت cDNA synthesis (شرکت TaKaRa) استفاده شد؛ بدین‌صورت که برای ساخت cDNA از آغازگر (پرایمر)<sup>۳</sup> رندوم هگزامر<sup>۴</sup> استفاده شد. سطح بیان ژن FNDC5 عضلانی و چربی سفید احشایی با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. این روش به کمک پرایمر اختصاصی PGC-1a و FNDC5 انجام شد (جدول شماره یک). برای کنترل تکثیر ژن‌ها از پرایمر اختصاصی GAPDH<sup>۵</sup> استفاده شد. GAPDH ژن خانه‌گردان<sup>۶</sup> نامیده می‌شود که همیشه در بافت بیان می‌شود و می‌تواند شاهد خوبی برای بررسی بیان ژن باشد (جدول شماره یک).

جدول ۱- توالی پرایمرها

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Product size (bp)
FNDC5	GACAGTAGAGAATGCGAGAGG	CCGATGATAGGAGAAGATGGAG	99
PGC-1a	CCCTGCCATTGTAAAGACC	TGCTGCTGTCCGTTTTTC	161
GAPDH	TGCCGCCTGGAGAAACC	TGAAGTCGCAGGAGACAACC	121

1. TRIzol Reagent
2. Messenger RNA
3. Primer
4. Random Hexamer
5. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase
6. Housekeeping

برای انجام Real time PCR، باید بهترین غلظت cDNA برآورد شود. بدین منظور، غلظت‌های مختلف cDNA بررسی شدند و درنهایت، غلظت مناسب (2<sup>-1</sup>) برای Real time PCR در نظر گرفته شد. واکنش Real time PCR برای همه نمونه‌ها با استفاده از کیت SYBR Green PCR Master Mix (شرکت TaKaRa) و دستگاه ABI Applied Biosystems ساخت کشور آمریکا، سه بار تکرار شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش 2<sup>-Ct</sup> ( $\Delta\Delta CT$ ) سطح بیان ژن PGC-1a و FNDC5 عضلانی و چربی سفید احشایی نسبت به بیان GAPDH محاسبه شد.

برای سنجش ایریزین پلاسما، از کیت الایزا (Irisin Eliza Phoenix Pharmaceuticals) (شماره کاتالوگ EK-067-29) ساخت کشور آمریکا، با بازه شناسایی (0.1-1000 ng/mL) استفاده شد. درصد ضریب تغییرات بین آزمونی این کیت کمتر از هشت درصد و درصد ضریب تغییرات درون آزمونی کمتر از ۱۰ درصد است. آنتی‌بادی موجود این کیت با استفاده از روش وسترن بلات<sup>۱</sup> و طیف‌سنجی جرمی<sup>۲</sup> اعتبارسنجی شده است.

داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین<sup>۳</sup>  $\pm$  میانگین گزارش شدند. برای تعیین میزان تفاوت بین گروه‌ها، اثر تمرین هوازی، رژیم غذایی و اثرهای متقابل تمرین هوازی و رژیم غذایی از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه<sup>۴</sup> در سطح معناداری پنج درصد استفاده شد. برای همبستگی فاکتورهای ژن FNDC5 و چربی بدن از روش همبستگی جزئی<sup>۵</sup> استفاده شد و ژن PGC-1a عضلانی به عنوان متغیر کنترل در نظر گرفته شد. اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس.<sup>۶</sup> نسخه ۱۹ تجزیه و تحلیل شدند و از نرم‌افزار GraphPad Prism 6 برای رسم نمودار استفاده شد.

## نتایج

اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی پرچرب بر وزن بدن و توده چربی: در شکل شماره یک، وزن بدن موش‌ها نمایش داده شده است. تغییرات وزن بدن در گروه HF-E بیشتر از گروه HF-S بود (شکل 1.A) ( $P = 0.01$ ). همچنین، نسبت وزن بافت چربی سفید به وزن بدن (درصد) در موش‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه ارزیابی شد. داده‌ها نشان داد که

1. Western Blotting
2. Mass Spectrometry
3. Standard Error of Mean
4. Two Way ANOVA
5. Partial Correlation
6. SPSS

نسبت چربی بدن در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب در مقایسه با گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد (اثر رژیم غذایی، شکل شماره 1.B، جدول شماره 2،  $P = 0.001$ ). همچنین، نسبت چربی بدن در موش‌های تمرین‌کرده در مقایسه با موش‌های تمرین‌نکرده به‌طور معناداری کاهش یافت (اثر تمرین استقامتی، شکل شماره 1.B، جدول شماره 2،  $P = 0.04$ ).

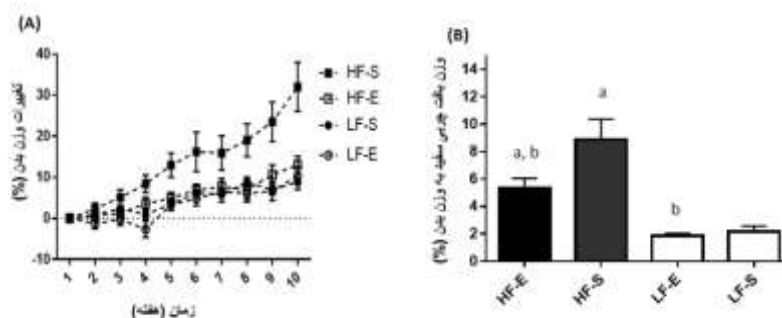
جدول ۲- آنالیز واریانس دو طرفه برای وزن بافت چربی سفید/ وزن بدن (درصد)، بیان RNA و ایریزین پلاسما

متغیر	گروه				اثرهای اصلی		
	LF-S	HF-S	LF-E	HF-E	تمرین	رژیم غذایی	اثر متقابل تمرین * رژیم غذایی
نسبت وزن بافت چربی سفید به وزن بدن (درصد)	2/18±0/38	8/88±1/55	1/85±0/19	5/36±0/71	P=0.04*	P=0.001*	P=0.08 F=3.26
بیان ژن PGC-1α عضلانی	1±0/0	0/17±0/04	0/2±0/11	0/52±0/13	P=0.03*	P=0.01*	P=0.001* F=40.18
بیان ژن FNDC5 عضلانی	1±0/0	11/57±2/52	2/86±0/76	2/92±0/27	P=0.02*	P=0.001*	P=0.001* F=15.73
بیان ژن PGC-1α چربی احتسابی	1±0/0	0/72±0/26	0/31±0/1	0/99±0/27	P=0.4	P=0.4	P=0.04* F=4.91
بیان ژن FNDC5 چربی احتسابی	1±0/0	0/88±0/14	0/52±0/08	0/07±0/24	P=0.2	P=0.7	P=0.09 F=3.08
ایریزین (نانوگرم در هر میلی لیتر)	2/34±0/09	2/5±0/05	2/45±0/05	2/34±0/09	P=0.7	P=0.8	P=0.1 F=2.8

تفاوت بین وزن بافت چربی سفید به وزن بدن (درصد)، بیان RNA و ایریزین در تمام گروه‌ها (LF-S؛ رژیم غذایی کم‌چرب، بی‌تحرك، HF-S؛ رژیم غذایی پرچرب، بی‌تحرك، LF-E؛ رژیم غذایی کم‌چرب، تمرین، HF-E؛ رژیم غذایی پرچرب، تمرین).

داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین ± میانگین گزارش شده‌اند.

\* تفاوت معناداری بین گروه‌ها در سطح  $P < 0.05$



شکل ۱- تغییرات وزن بدن و اثرهای رژیم غذایی و تمرین استقامتی بر وزن چربی سفید به وزن بدن (درصد) در تمام گروه ها.

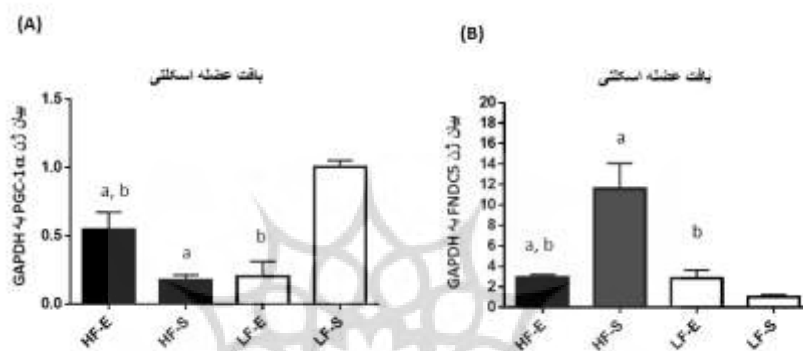
(A) تغییرات وزن بدن در تمام گروه‌ها. (B) اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر وزن چربی سفید به وزن بدن (درصد) در موش‌های C57BL/6. داده‌ها براساس (خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین) گزارش شده‌اند. در هر گروه، تعداد موش‌ها برابر با شش سر است. (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچربی و گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب (اثر رژیم غذایی) را نشان می‌دهد و (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین‌کرده و تمرین‌نکرده (اثر تمرین استقامتی) را نشان می‌دهد. اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه بررسی شدند.

نتایج نشان داد که ژن PGC-1a عضلانی در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب، به‌طور معناداری بیشتر از گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب بود (اثر رژیم غذایی، شکل 2.A، جدول شماره دو،  $P = 0.01$ ). همچنین، ژن PGC-1a عضلانی در موش‌های تمرین‌کرده به‌طور معناداری کمتر از موش‌های تمرین‌نکرده بود (اثر تمرین استقامتی، شکل 2.A، جدول شماره دو،  $P = 0.03$ ). همچنین، بیان FNDC5 در سطح mRNA در عضله دوقلو در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب، به‌طور معناداری بیشتر از موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب بود (اثر رژیم غذایی، شکل 2.B، جدول شماره دو،  $P = 0.001$ ). همچنین، سطوح رونویسی ژن FNDC5 در گروه‌های تمرین‌کرده به‌طور معناداری کمتر از گروه تمرین‌نکرده بود (اثر تمرین استقامتی، شکل 2.B، جدول شماره دو،  $p = 0.02$ ). همچنین، اثر متقابل معناداری بین تمرین و رژیم غذایی برای بیان ژن FNDC5 وجود داشت (جدول شماره دو،  $P = 0.001$ ). نتایج آزمون تعقیبی Tukey برای بیان ژن FNDC5 نشان می‌دهد که بین گروه‌های HF-E، HF-S، LF-E و HF-S، و گروه‌های LF-S، HF-S تفاوت معناداری در سطح  $0.001$  وجود داشت. همچنین، نتایج آزمون تعقیبی برای بیان ژن PGC-1a نشان داد که بین گروه‌های HF-E، LF-S، HF-E و HF-S، تفاوت معناداری در



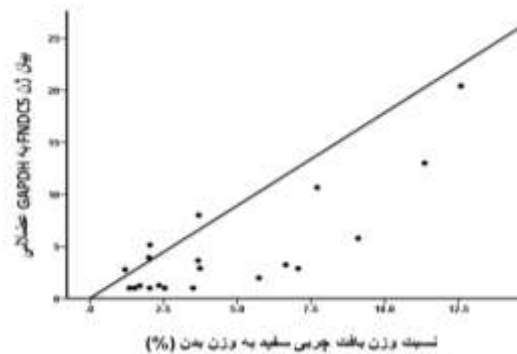
سطح ۰/۰۵ وجود داشت و بین گروه‌های LF-S، LF-E و گروه‌های LF-S، HF-S تفاوت معناداری در سطح ۰/۰۰۱ وجود داشت.

نکته قابل توجه این است که براساس نتایج، ارتباط مثبت معناداری بین بیان FNDC5 عضلانی و توده چربی بدن در موش‌ها، با در نظر گرفتن ژن PGC-1a به عنوان ژن کنترل وجود دارد (همبستگی جزئی، شکل شماره سه،  $r = 0.8$ ،  $P = 0.001$ ).



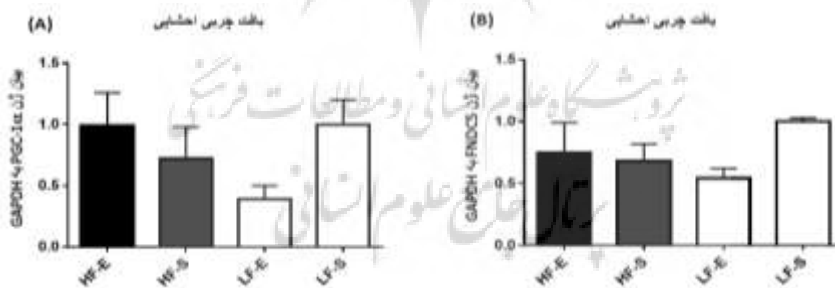
شکل ۲- اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن PGC-1a و FNDC5 در بافت عضله دوقلو در تمام گروه‌ها

(A) اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن PGC-1a در بافت عضله دوقلو در موش‌های C57BL/6. (B) اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن FNDC5 در بافت عضله دوقلو در موش‌های C57BL/6. داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین گزارش شده‌اند. در هر گروه، تعداد موش‌ها برابر با شش سر است. (a) تفاوت معنادار بین گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچربی و گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب (اثر رژیم غذایی) را نشان می‌دهد و (b) تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین‌کرده و تمرین‌کرده (اثر تمرین استقامتی) را نشان می‌دهد. اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه بررسی شدند.



شکل ۳- ارتباط بین بیان ژن FNDC5 در عضله دوقلو و وزن چربی سفید به وزن بدن (درصد) در تمام گروه‌ها داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین گزارش شده‌اند. در هر گروه، تعداد موش‌ها برابر با شش سر است.

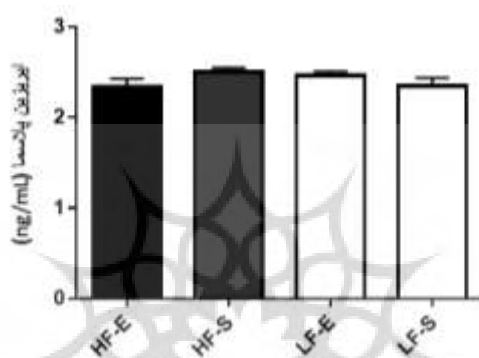
اثر تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر میزان بیان ژن PGC-1a در سطح mRNA در بافت چربی سفید احشایی معنادار نبود (اثر تمرین استقامتی و رژیم غذایی، شکل 4.A، جدول شماره دو). همچنین، تفاوت معناداری در بیان FNDC5 چربی احشایی بین موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب و کم‌چرب و بین گروه‌های تمرین کرده و تمرین نکرده مشاهده نشد (اثر تمرین استقامتی و رژیم غذایی، شکل 4.B، جدول شماره دو). همچنین، اثر متقابل معناداری بین تمرین و رژیم غذایی برای بیان PGC-1a در بافت چربی سفید احشایی وجود داشت (جدول شماره دو،  $P = 0.04$ ). نتایج آزمون تعقیبی Tukey نشان داد که بین هیچ‌کدام از گروه‌ها تفاوت معناداری در سطح  $0.05$  وجود نداشت.



شکل ۴- اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن PGC-1a و FNDC5 در بافت چربی احشایی در تمام گروه‌ها

(A) اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن PGC-1a در بافت چربی احشایی در موش‌های C57BL/6. (B) اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر بیان ژن FNDC5 در بافت عضله چربی احشایی در موش‌های C57BL/6 داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین گزارش شده‌اند. در هر گروه، تعداد موش‌ها برابر با شش سر است. اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه بررسی شدند.

نتایج نشان داد که بیشترین میزان غلظت ایریزین پلاسما در گروه HF-S مشاهده شد ( $2/50 \pm 12$ )؛ اما تفاوت معناداری در میزان ایریزین پلاسما در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب مشاهده نشد (اثر رژیم غذایی، شکل شماره پنج، جدول شماره دو). همچنین، هیچ تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرین کرده و بی‌تحرک مشاهده نشد (اثر تمرین استقامتی، شکل شماره پنج، جدول شماره دو).



شکل ۵- اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر غلظت ایریزین پلاسما در موش‌های C57BL/6

داده‌ها براساس خطای استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین گزارش شده‌اند. در هر گروه، تعداد موش‌ها برابر با شش سر است. اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی با استفاده از روش آنالیز واریانس دوطرفه بررسی شدند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، اثرهای تمرین استقامتی و رژیم غذایی بر مسیر PGC-1a/FNDC5/Irisin را در عضله دوقلو و چربی سفید احشایی در موش‌های نر C57BL/6 بررسی کردیم. نتایج نشان داد که سطح رونویسی ژن FNDC5 در عضله اسکلتی موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب افزایش یافت. نکته قابل توجه این است که ارتباط مثبت معناداری بین بیان FNDC5 در عضله اسکلتی و چربی بدن در موش‌های نر C57BL/6 مشاهده شد؛ اما تفاوت معناداری در میزان ایریزین پلاسما در میان گروه‌ها مشاهده نشد.

در مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که ایریزین، مایوکاین القاشده توسط تمرین بدنی است که وابسته به ژن FNDC5 است و موجب قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید می‌شود و از این طریق ترموزن را افزایش می‌دهد (۲). این مایوکاین اثرهای مفیدی بر متابولیسم ایفا می‌کند و قهوه‌ای شدن ادیپوسیت-

های سفید زیرپوستی را القا می‌کند و در ارتباط متقابل بافت‌های متابولیک از جمله عضله اسکلتی و بافت چربی نقش مهمی ایفا می‌کند (۲۸، ۲۷). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که بعد از هشت هفته تمرین استقامتی مزمن، هیچ تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرین کرده و بی‌تحرک وجود نداشت. پیشنهاد می‌کنیم که احتمالاً اثرهای تمرین بدنی بر بیان ژن FNDC5 موقتی و ناپایدار است. نتایج مطالعات اخیر (۲-۴، ۲۹) حاکی از آن است که سطوح FNDC5 چند ساعت پس از تمرین استقامتی به نقطه اوج خود می‌رسد و ۲۴ ساعت پس از تمرین به وضعیت پایدار خود برمی‌گردد (۴). احتمالاً افزایش ناپایدار در بیان FNDC5 موجب شده است که تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرین کرده و بی‌تحرک مشاهده نشود. از طرف دیگر، ما افزایش در سطوح FNDC5 در عضله اسکلتی موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب را در مقایسه با موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی کم‌چرب مشاهده کردیم که این یافته با مطالعه قبلی همسو است (۳۰). این نتیجه ممکن است ناشی از این موضوع باشد که در موش‌های بی‌تحرک و تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب به مصرف انرژی بیشتری برای جبران شرایط متابولیک غیرعادی نیاز است. درحقیقت، افزایش FNDC5 که به دنبال رژیم غذایی پرچرب رخ می‌دهد، می‌تواند نقش ایریزین را به‌عنوان یک مایوکاین یا یک ادیوکاین توجیه کند که برخلاف پیشرفت و توسعه چاقی عمل می‌کند. مطالعات زیادی نیز نشان داده‌اند که چاقی القاشده از طریق رژیم غذایی پرچرب، بیان FNDC5 عضلانی را افزایش می‌دهد (۳۲، ۳۱، ۲۱، ۲۰، ۱۲، ۵). نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر همسو است.

از طرف دیگر، در مطالعه حاضر، هیچ ارتباطی بین بیان ژن FNDC5 و ایریزین در گردش مشاهده نشد. مطالعات نشان داده‌اند که حداکثر غلظت ایریزین در گردش پس از یک ساعت تمرین بدنی اتفاق می‌افتد که این مطلب نشان می‌دهد احتمالاً ایریزین به‌عنوان یک مایوکاین القاشده توسط تمرین عمل می‌کند (۱۷، ۱۲) و افزایش آن موقتی است (۳۳، ۱۷، ۳). مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که سطح ایریزین پلاسما پس از تمرین استقامتی افزایش پیدا می‌کند و دو تا چهار ساعت پس از تمرین به حالت پایدار خود برمی‌گردد. پیشنهاد می‌شود که غلظت ایریزین در خون وابسته به بیان ژن FNDC5 در عضله اسکلتی نیست (۳۳-۳۵). در مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند که ایریزین به‌عنوان یک ادیوکاین جبرانی از بافت چربی آزاد می‌شود و در اختلالات متابولیک مانند چاقی و مقاومت انسولینی ترشح می‌شود (۳۲، ۳۱، ۱۸). به‌هرحال، در مطالعه حاضر، هیچ تفاوت معناداری در سطوح بیان ژن FNDC5 در بافت چربی احشایی مشاهده نشد.

از طرف دیگر، نتایج نشان داد که ارتباط مثبت معناداری بین بیان ژن FNDC5 و چربی بدن در موش‌های نر C57BL/6 وجود دارد. احتمالاً موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب به مصرف انرژی بیشتری نیاز دارند. مطالعات متعددی ارتباط بین ایریزین سرمی و BMI را در انسان‌ها بررسی کرده‌اند

که نتایج ضدونقیضی در این زمینه وجود دارد (۳۵، ۲۱، ۱۲، ۱۰). نتایج برخی مطالعات حاکی از آن است که ارتباط مثبت معناداری بین سطوح ایریزین سرمی و BMI وجود دارد (۱۴) که احتمالاً اثر ضدچاقی ایریزین را نشان می‌دهد. برخی از مطالعات دیگر، ارتباط منفی بین غلظت ایریزین در گردش و BMI را گزارش کرده‌اند (۳۶، ۱۰).

نکته قابل توجه این است که افزایش معنادار در بیان ژن PGC-1a عضلانی در موش‌های تمرین‌نکرده نسبت به موش‌های تمرین‌کرده مشاهده شد. بوستروم و همکاران (۲) در سال ۲۰۱۲ نشان داد که ارتباط مثبت بین PGC-1a و FNDC5 وجود دارد و در پاسخ به تمرین‌های ورزشی بیان PGC-1a افزایش پیدا می‌کند که موجب افزایش بیان FNDC5 می‌شود و ایریزین به خون آزاد می‌شود (۲)؛ اما نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان PGC-1a در گروه‌های تمرین‌کرده نسبت به گروه‌های تمرین‌نکرده کاهش پیدا می‌کند. یکی از دلایل احتمالی این است که اثرهای تمرین بدنی بر بیان ژن PGC-1a موقتی است و چند ساعت پس از ورزش به حالت پایه خود برمی‌گردد؛ در حالی که هدف پژوهش حاضر، بررسی بیان این ژن در پاسخ به سازگاری‌های تمرین استقامتی بود. بدین منظور، بیان PGC-1a در ۲۴ ساعت پس از تمرین بدنی اندازه‌گیری شد. از یک طرف، در برخی از مطالعات گزارش شده است که تأثیرات تمرین‌های مقاومتی بر بیان PGC-1a بیشتر از تمرین‌های استقامتی است. علت اینکه ارتباط معناداری بین PGC-1a و FNDC5 در پاسخ به تمرین بدنی مشاهده نشد، هنوز نامشخص است. از طرف دیگر، داده‌ها نشان دادند که بیان PGC-1a در گروه‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با رژیم غذایی کم‌چرب کاهش پیدا می‌کند. این نتایج با پژوهش اسپارک<sup>۱</sup> و همکاران (۳۷) همسو است. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که رژیم غذایی پرچرب موجب کاهش بیان PGC-1a در عضله اسکلتی می‌شود. در پژوهشی بیان شده است که اسیدهای چرب آزاد<sup>۲</sup> از جمله اسید چرب بلندزنجیر اشباع‌شده پالمیتات<sup>۳</sup> موجود در رژیم غذایی پرچرب موجب کاهش بیان PGC-1a در عضله اسکلتی و ژن‌های بیوژنز میتوکندریایی می‌شود؛ اما اسید چرب کوتاه‌زنجیر غیراشباع امگا-۳ تأثیری بر بیان این ژن‌ها نخواهد داشت (۳۸). با توجه به اینکه خوراک پرچرب استفاده‌شده در این پژوهش به میزان زیادی حاوی اسید چرب بلندزنجیر پالمیتات است، احتمال دارد که اسیدهای چرب آزاد در پلاسما موجب کاهش بیان PGC-1a در عضله دوقلوی موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب شده باشند.

- 
1. Sparks
  2. Free Fatty Acids
  3. Palmitate

به‌طور خلاصه، در مطالعه حاضر مشاهده شد که رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش بیان ژن FNDC5 در عضله دوقلو می‌شود؛ ولی تمرین بدنی و رژیم غذایی تأثیری بر بیان این ژن در بافت چربی سفید احشایی ندارد. این نتیجه نشان می‌دهد که این ژن در بافت‌های مختلف در شرایط متابولیک متفاوت نقش‌های متفاوتی ایفا می‌کند. در این پژوهش، ارتباط مثبت بین FNDC5 عضلانی و چربی بدن مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش بیان FNDC5 در بافت عضله دوقلو می‌شود. همچنین، احتمالاً ارتباطی متقابل بین بیان FNDC5 عضلانی و توده چربی بدن وجود دارد؛ البته انجام مطالعاتی در آینده برای شناسایی گیرنده ایریزین و مسیر سیگنالینگ آن لازم و ضروری به‌نظر می‌رسد تا بهتر بتوان ارتباط متقابل بین عضله اسکلتی و بافت چربی را توجیه کرد. همچنین، در این پژوهش، میزان ایریزین پلاسما اندازه‌گیری شده است؛ اما میزان پروتئین ژن‌ها در بافت عضله دوقلو و بافت چربی اندازه‌گیری نشده است و نتایج نمی‌تواند به‌صورت کامل نشان‌دهنده تغییرات این فاکتورها باشد.

**پیام مقاله:** نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که رژیم غذایی پرچرب، موجب افزایش بیان FNDC5 در بافت عضله دوقلو می‌شود که احتمالاً یک ارتباط متقابل بین بیان FNDC5 عضلانی و توده چربی بدن وجود دارد. نکته قابل توجه این است که در مطالعات قبلی نشان داده شده است که بیان FNDC5 تحت تأثیر بیان ژن PGC-1 $\alpha$  است، اما در پژوهش حاضر مشاهده شد که توده چربی بدن موجب افزایش بیان FNDC5 می‌شود. در نتیجه مطالعات آینده لازم و ضروری است تا مکانیسم‌های سلولی و مولکولی آن شناسایی شود و مایوکاین‌ها و ادیپوکاین‌ها که در ارتباط متقابل عضله اسکلتی و بافت چربی هستند، مشخص شوند. همچنین در پژوهش حاضر مشاهده شد که تمرین بدنی و رژیم غذایی تأثیری بر بیان ژن FNDC5 در چربی سفید احشایی ندارد که نشان می‌دهد این ژن در بافت‌های مختلف در شرایط متابولیکی متفاوت نقش‌های متفاوتی ایفا می‌کند.

### تشکر و قدردانی

در پایان، از همه کسانی که پژوهشگران را در انجام این طرح حمایت کردند، به‌ویژه پژوهشگران پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

1. Al-Daghri NM, Mohammed AK, Al-Attas OS, Amer OE, Clerici M, Alenad A, et al. SNPs in FNDC5 (irisin) are associated with obesity and modulation of glucose and lipid metabolism in Saudi subjects. *Lipids Health Dis.* 2016;15:54. 1-8.
2. 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.
3. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* 2014;281(3):739-49.
4. Nygaard H, Slettalokken G, Vegge G, Hollan I, Whist JE, Strand T, et al. Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PLoS One.* 2015;10(3):e0121367.
5. 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.
6. Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: Does irisin play a role in humans? *J Endocrinol.* 2014;222(1):R25-38.
7. Seale P, Kajimura S, Yang W, Chin S, Rohas LM, Uldry M, et al. Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16. *Cell Metab.* 2007;6(1):38-54.
8. Ellefsen S, Vikmoen O, Slettalokken G, Whist JE, Nygaard H, Hollan I, et al. Irisin and FNDC5: Effects of 12-week strength training, and relations to muscle phenotype and body mass composition in untrained women. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(9):1875-88.
9. Bang HS, Seo DY, Chung YM, Oh KM, Park JJ, Arturo F, et al. Ursolic Acid-induced elevation of serum irisin augments muscle strength during resistance training in men. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014;18(5):441-6.
10. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):e769-78.
11. Sanchis-Gomar F, Alis R, Pareja-Galeano H, Sola E, Victor VM, Rocha M, et al. Circulating irisin levels are not correlated with BMI, age, and other biological parameters in obese and diabetic patients. *Endocrine.* 2014;46(3):674-7.
12. 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.
13. Park KH, Zaichenko L, Peter P, Davis CR, Crowell JA, Mantzoros CS. Diet quality is associated with circulating C-reactive protein but not irisin levels in humans. *Metabolism.* 2014;63(2):233-41.

14. Pardo M, Crujeiras AB, Amil M, Aguera Z, Jimenez-Murcia S, Banos R, et al. Association of irisin with fat mass, resting energy expenditure ,and daily activity in conditions of extreme body mass index. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:857270.
15. Crujeiras AB, Zulet MA, Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Pardo M, Carreira MC, et al. Association between circulating irisin levels and the promotion of insulin resistance during the weight maintenance period after a dietary weight-lowering program in obese patients. *Metabolism*. 2014;63(4):520-31.
16. Barja-Fernandez S, Folgueira C, Castela C, Al-Massadi O, Bravo SB, Garcia-Caballero T, et al. FNDC5 is produced in the stomach and associated to body composition. *Sci Rep*. 2016;6:23067.
17. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos, II, et al. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(11):e2154-61.
18. Crujeiras AB, Pardo M, Casanueva FF. Irisin: 'fat' or artefact. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(4):467-74.
19. Huerta AE, Prieto-Hontoria PL, Fernandez-Galilea M, Sainz N, Cuervo M, Martinez JA, et al. Circulating irisin and glucose metabolism in overweight/obese women: effects of alpha-lipoic acid and eicosapentaenoic acid. *J Physiol Biochem*. 2015;71(3):547-58.
20. Schlogl M, Piaggi P, Votruba SB, Walter M, Krakoff J, Thearle MS. Increased 24-hour ad libitum food intake is associated with lower plasma irisin concentrations the following morning in adult humans. *Appetite*. 2015;90:154-9.
21. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbel U, Kobelt P, Klapp BF. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity-correlation with body mass index. *Peptides*. 2013;39:125-30.
22. Bagnol D, Al-Shamma HA, Behan D, Whelan K, Grottick AJ. Diet-induced models of obesity (DIO) in rodents. *Curr Protoc Neurosci*. 2012;Chapter 9:Unit 9. 38. 1-13.
23. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol*. 1993;265(6 Pt 2):H2094-8.
24. Bargut TC, Silva-e-Silva AC, Souza-Mello V, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Mice fed fish oil diet and upregulation of brown adipose tissue thermogenic markers. *Eur J Nutr*. 2016;55(1):159-69.
25. Meakin PJ, Harper AJ, Hamilton DL, Gallagher J, McNeilly AD, Burgess LA, et al. Reduction in BACE1 decreases body weight, protects against diet-induced obesity and enhances insulin sensitivity in mice. *Biochem J*. 2012;441(1):285-96.
26. Dali-Youcef N, Matakı C, Coste A, Messaddeq N, Giroud S, Blanc S, et al. Adipose tissue-specific inactivation of the retinoblastoma protein protects against diabetes because of increased energy expenditure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(25):10703-8.
27. Sesti G, Androzzi F, Fiorentino TV, Mannino GC, Sciacqua A, Marini MA, et al. High circulating irisin levels are associated with insulin resistance and vascular atherosclerosis in a cohort of nondiabetic adult subjects. *Acta Diabetol*. 2014;51(5):705-13.



28. Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Rahman S, Amer OE, Vinodson B, Sabico S, et al. Irisin as a predictor of glucose metabolism in children: sexually dimorphic effects. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(2):119-24.
29. Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K, Schering L, Langhammer M, Hoeflich A, et al. Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci*. 2014;10(3):338-49.
30. Guilford BL, Parson JC, Grote CW, Vick SN, Ryals JM, Wright DE. Increased FNDC5 is associated with insulin resistance in high fat-fed mice. *Physiol Rep*. 2017;5(13). 1-10.
31. Keuper M, Jastroch M, Yi CX, Fischer-Posovszky P, Wabitsch M, Tschop MH, et al. Spare mitochondrial respiratory capacity permits human adipocytes to maintain ATP homeostasis under hypoglycemic conditions. *FASEB J*. 2014;28(2):761-70.
32. Roca-Rivada A, Castela 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.
33. Kraemer RR, Shockett P, Webb ND, Shah U, Castracane VD. A transient elevated irisin blood concentration in response to prolonged, moderate aerobic exercise in young men and women. *Horm Metab Res*. 2014;46(2):150-4.
34. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pollanen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol*. 2013;591(21):5393-400.
35. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature*. 2012;488(7413):E9-10; discussion E-1.
36. Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013;100(1):96-101.
37. Sparks LM, Xie H, Koza RA, Mynatt R, Hulver MW, Bray GA, et al. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes*. 2005;54(7):1926-33.
38. Crunkhorn S, Dearie F, Mantzoros C, Gami H, da Silva WS, Espinoza D, et al. Peroxisome proliferator activator receptor gamma coactivator-1 expression is reduced in obesity: potential pathogenic role of saturated fatty acids and p38 mitogen-activated protein kinase activation. *J Biol Chem*. 2007;282(21):15439-50.

## ارجاع دهی

کاظمی نسب فاطمه، مرندی سیدمحمد، قائدی کامران، اسفرجانی فهیمه، نصر اصفهانی محمدحسین. تأثیر تمرین استقامتی و رژیم غذایی پرچرب بر مسیر PGC-1a/FNDC5/Irisin در موش‌های نر C57BL/6. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۳۹۸؛ ۱۱(۴۱): ۶۳-۸۰. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2017.4295.1573

Kazemi Nasab F, Marandi S. M, Ghaedi K, Esfarjani F, Nasr-Esfahani M. H. The Effect of Endurance Training and High-Fat Diet on PGC-1a/FNDC5/Irisin Pathway in Male C57BL/6 Mice. Spring 2019; 11(41): 63-80. (In Persian). DOI: 10.22089/SPJ.2017.4295.1573

## **The Effect of Endurance Training and High-Fat Diet on PGC-1a/FNDC5/Irisin Pathway in Male C57BL/6 Mice**

**F. Kazemi Nasab<sup>1</sup>, S.M. Marandi<sup>2</sup>, K. Ghaedi<sup>3</sup>, F. Esfarjani<sup>4</sup>,  
M. H. Nasr-Esfahani<sup>5</sup>**

1. Ph.D. Student of Exercise Physiology, University of Isfahan
2. Professor of Exercise Physiology, University of Isfahan\*
3. Professor of Biology, University of Isfahan
4. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Isfahan
5. Professor of Embryology, Royan Institute for Biotechnology

**Received: 2017/06/08**

**Accepted: 2017/09/17**

---

### **Abstract**

The purpose of this study was to investigate the effect of endurance training and high fat diet on PGC-1a/FNDC5/Irisin pathway in Gastrocnemius muscle and visceral adipose tissue in male C57BL/6 mice. Male C57BL/6 mice were divided to 4 groups: High fat-Exercise (HF-E), High fat-Sedentary (HF-S), Low fat-Exercise (LF-E) and Low fat-Sedentary (LF-S). Exercise groups received exercise on a motor-driven treadmill at 21m/min, 45 min/day, 5 days/week for 8 weeks. 24 hours after final exercise session, mice were sacrificed and blood samples were taken from the mice to measure plasma irisin. Gastrocnemius skeletal muscle and visceral adipose tissue were excised and frozen in liquid nitrogen for assessment of PGC-1a and FNDC5 mRNA levels. Data was analyzed by a two-way ANOVA at  $P < 0.05$ . Data indicated that FNDC5 mRNA levels increased in muscle tissue of HFD groups vs LFD groups ( $P = 0.001$ ). Interestingly, FNDC5 mRNA expression levels were significantly correlated with body fat mass ( $r = 0.8$ ,  $P = 0.001$ ). Also, data indicated that exercise and diet did not affect the plasma irisin level ( $P > 0.05$ ). The results of this study indicate that high fat diet increases the expression of FNDC5 in the Gastrocnemius muscle tissue. Also, there is a potential correlation between the expression of muscular FNDC5 and body fat mass, which requires further studies to investigate its cellular and molecular mechanisms.

**Keywords:** High-Fat Diet; Endurance Training; PGC-1a mRNA; FNDC5 mRNA; Irisin

---

---

\*Corresponding Author

Email: s.m.marandi@spr.ui.ac.ir