

## Research Paper

# Effect of Eight Weeks of Aerobic Progressive Training with Capsaicin on Changes in PGC-1 $\alpha$ and UPC-1 Expression in Visceral Adipose Tissue of Obese Rats With Diet



Maryam Mostafavian<sup>1</sup>, \*Ahmad Abdi<sup>1</sup>, Javad Mehrabani<sup>1</sup>, Alireza Barari<sup>2</sup>

1- Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Guilan University, Rasht, Iran



**Citation:** Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari AR. [Effect of Eight Weeks of Aerobic Progressive Training with Capsaicin on changes in PGC-1 $\alpha$  and UPC-1 Expression in Visceral Adipose Tissue of Obese Rats With Diet (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2020; 10(2):106-117. <https://doi.org/10.32598/cmja.10.2.627.4>

**doi** <https://doi.org/10.32598/cmja.10.2.627.4>



### Article Info:

Received: 25 Feb 2020

Accepted: 02 Jun 2020

Available Online: 01 Jul 2020

### Key words:

Exercise, Capsaicin, Diet, High-fat, Brown adipose tissue

## ABSTRACT

**Objective** Decreased physical activity coupled with increased High-Fat Diet (HFD) intake prompts obesity. Current research suggests that changing White Adipose Tissue (WAT) to brown promotes energy expenditure to counter obesity. The purpose of this study was to investigate the effects of aerobic Progressive training and Capsaicin (Cap) on Peroxisome proliferator-activated receptor Gamma Coactivator 1- $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) and Uncoupling protein-1 (UCP-1) gene expression in rat fed a high-fat diet.

**Methods** 40 male Wistar rats aged 8-12 weeks, were fed a Normal Diet (ND) (n=8) or HFD (n=32) for 8 weeks. After 8 weeks, rats were divided into 5 groups: ND, HFD, High-Fat Diet-Training (HFDT), High-Fat Diet-Capsaicin (HFDCap), High-Fat Diet-Training-Capsaicin (HFDTCap). Training groups have performed a progressive aerobic running program on a motor-driven treadmill for eight weeks. Capsaicin (4 mg/kg/day) were administered orally, by gavage, once a day. PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 gene expression levels in the VAT were measured by Real-time PCR method.

**Results** The results of this study showed that PGC-1 $\alpha$  and UCP-expression was decreased in HFD group compared to ND group. Also, the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in HFDT, HFDCap and HFDTCap groups was significantly increased compared to HFD. The expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in HFDTCap was also significantly increased compared to HFDT and HFDCap groups.

**Conclusion** Possibly, eight weeks of progressive training combined with capsaicin administration has an effect on the browning of visceral adipose tissue in HFD rats by increasing expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1.

## Extended Abstract

### 1. Introduction



Obesity is caused by an imbalance between energy intake as a result of overeating or reduced levels of physical activity. White and brown fat cells are two different types of fat cells with opposite functions. White

fat is a storehouse of extra energy, while brown fat increases the oxidation of fatty acids and their production by heat through Unpaired Protein-1 (UCP-1) into the mitochondria, thereby reducing the substrate for storage in WAT [5]. The role of PGC-1 $\alpha$  in the conversion of WAT to brown has been confirmed [8]. Increased expression of PGC-1 $\alpha$  increases FNDC5, which breaks down from the cell membrane and is secreted into the bloodstream called irisin [8]. PGC-1 $\alpha$ -induced irisin promotes UCP-1 protein expression

### \* Corresponding Author:

Ahmad Abdi, PhD.

Address: Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Tel: +98 (911) 3001960

E-mail: a.abdi58@gmail.com



and increases mitochondrial contents. UCP-1 is an important protein involved in the regulation of brown fat thermogenesis and the ability to convert WAT to brown adipose tissue [8]. The researchers showed that training on a treadmill increased the expression of PGC-1 $\alpha$  [11] and UCP-1 [13]. In addition to exercise, studies have shown that the activity of brown adipose tissue with various nutrients, such as capsaicin in red pepper, increases [19]. Despite the physiological effects of capsaicin and adaptations due to long-term exercise, the simultaneous effect of exercise and capsaicin on fat phenotype change indices in the obese rat model has been less studied. Therefore, this study intends to investigate the effect of aerobic exercise with capsaicin on the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 gene in visceral adipose tissue in obese model mice.

## 2. Materials and Methods

Fourty male rats (5 weeks old, weight 147.68  $\pm$  9.41) after adaptation to environmental conditions were divided into two groups: normal diet (n=8, ND) and high fat diet (n=32, HFD). HFD rats were fed a high-fat diet for eight weeks. After eight weeks, all mice were divided into 5 groups: Normal Diet (ND), High-Fat (HFD), High-Fat-Training (HFDT), High-Fat-Capsaicin (HFDCap) and High-Fat-Training-Capsaicin (HFDTCap). Training groups have performed a progressive aerobic running program (at 15-25 m/min, 30-60 min/day, and 5 days/week) on a motor-driven treadmill for eight weeks. Capsaicin (4 mg/kg/day) were administered orally, by gavage, once a day. PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 gene expression levels in the VAT were measured by Real-time PCR method. For statistical analysis, ANOVA were used with a significance level set at  $P < 0.05$ .

## 3. Results

The results of this study showed that PGC-1 $\alpha$  ( $P=0.000$ ) and UCP-1 ( $P=0.000$ ) expression was decreased in HFD group compared to ND group. Also, the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in HFDT (Respectively  $P=0.032$ ,  $P=0.000$ ), HFDCap (Respectively  $P=0.027$ ,  $P=0.048$ ) and HFDTCap (Respectively  $P=0.000$ ,  $P=0.000$ ) groups was significantly increased compared to HFD. The expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in HFDTCap was also significantly increased compared to HFDT (Respectively  $P=0.039$ ,  $P=0.017$ ) and HFDCap (Respectively  $P=0.046$ ,  $P=0.001$ ) groups (Table 1).

## 4. Discussion

In the present study, it was shown that HFD significantly reduced the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in visceral adipose tissue. In this regard, Kwon et al. (2020) showed that HFD reduces the expression of UCP-1 and irisin in visceral adipose tissue and PGC-1 $\alpha$  in skeletal muscle of obese mice [26]. Disorders of metabolism due to consumption of high-fat diet appear to reduce the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in visceral adipose tissue. However, in the present study, eight weeks of progressive exercise was able to offset the negative effect of obesity on PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 expression. In line with this study, Ziegler et al. (2019) in a study showed that both aerobic and resistance training increase the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 visceral adipose tissue in rats [34]. Aerobic exercise activates adenosine monophosphate and calmodulin-dependent kinase enzymes using calcium and phosphate-dependent pathways, thereby activating PGC-1 $\alpha$  [38]. Exercise has also been reported to increase PGC-1 $\alpha$  expression [37], which stimulates UCP-1 expression [43]. Another result of the present study was the increased expression of PGC-

**Table 1.** Results related to research variables

Variables	Relative Expression PGC-1 $\alpha$	Relative Expression UCP-1
ND	2.852 $\pm$ 0.60	9.06 $\pm$ 2.08
HFD	1 $\pm$ 0.1 <sup>#</sup>	1 $\pm$ 0.16 <sup>§</sup>
HFDT	1.878 $\pm$ 0.061 <sup>#§±</sup>	4.142 $\pm$ 1.25 <sup>#§±</sup>
HFDCap	1.897 $\pm$ 0.66 <sup>#§±</sup>	3.390 $\pm$ 1.63 <sup>#§±</sup>
HFDTCap	2.732 $\pm$ 0.83 <sup>§</sup>	6.873 $\pm$ 2.62 <sup>§</sup>
SIG between groups	0.000	0.000



\* Group bin difference; <sup>#</sup> Difference with ND; <sup>§</sup> Difference with HFD group; <sup>±</sup> Difference with HFDTCap group

1 $\alpha$  and UCP-1 visceral adipose tissue in HFD mice after capsaicin. The findings of the present study are consistent with the finding that capsaicin is able to increase the expression of PGC-1 $\alpha$  [20]. In addition, capsaicin is capable of enhancing several metabolic exothermic genes, including UCP-1, BMP8b, SIRT1, PGC-1 $\alpha$ , and PRDM-16 [47]. In the present study, the additive effect of the combination of exercise and capsaicin on the expression of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 was greater than the effect of each alone. Aerobic exercise and capsaicin appear to increase irisin by affecting the SIRT1/AMPK/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway, and increasing irisin increases UCP-1 expression in visceral adipose tissue, thereby altering WAT to brown adipose tissue.

## 5. Conclusion

In summary, exercise and capsaicin affected the browning of visceral adipose tissue in rats, in part due to increased expression of GC-1 $\alpha$  and UCP-1. Therefore, the use of capsaicin and other biologically active compounds along with aerobic physical activity is an interesting effective strategy to neutralize high-fat diets.

## Ethical Considerations

### Compliance with ethical guidelines

This research has been carried out according to the policies related to animal protection (based on the policies of the Helsinki Convention) and with the approval of the Ethics committee in the research of the Institute of Physical Education and Sport Sciences (Code: IR.SSRC.REC.1398.125).

### Funding

The present paper was extracted from the PhD. thesis of the first author, Department of Sport Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol.

### Authors' contributions

All authors contributed equally in all areas.

### Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Acknowledgements

The authors hereby express their gratitude to the Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch.

## تاثیر هشت هفته تمرین هوازی فزاینده همراه با مصرف کپسایسین بر تغییرات بیان ژن PGC-1 $\alpha$ و UCP-1 بافت چربی احشایی رت‌های ویستار چاق شده با رژیم

مریم مصطفویان<sup>۱</sup>، \*احمد عبدی<sup>۲</sup>، جواد مهربانی<sup>۱</sup>، علیرضا براری<sup>۲</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

### چکیده

**هدف:** کاهش فعالیت بدنی همراه با رژیم‌های غذایی پرچرب (HFD) باعث چاقی می‌شود. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که تغییر بافت چربی سفید (WAT) به قهوه‌ای باعث افزایش هزینه انرژی برای مقابله با چاقی می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی فزاینده و کپسایسین بر بیان ژن گیرنده فعال کننده تکثیر پراکسیزوم-آلفا (PGC-1 $\alpha$ ) و پروتئین جفت نشده-۱ (UCP-1) در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب است.

**روش‌ها:** ۴۰ سر موش صحرایی نر ویستار ۵ هفته‌ای به مدت ۸ هفته با رژیم غذایی نرمال (ND) (n=۸) و HFD (n=۳۲) تغذیه شدند. بعد از هشت هفته موش‌ها به ۵ گروه: ND، HFD، رژیم غذایی پرچرب-تمرین (HFDT)، رژیم غذایی پرچرب-کپسایسین (HFDcap) و رژیم غذایی پرچرب-تمرین-کپسایسین (HFDTcap) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین به مدت هشت هفته برنامه دویدن هوازی فزاینده را روی تردمیل انجام دادند. کپسایسین (۴ mg/kg/day) یک بار در روز به صورت محلول با سالین با گاوآذ خورانده شد. سطوح بیان ژنی PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در VAT به روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده کاهش بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در گروه HFD نسبت به گروه ND بود. همچنین میزان بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در گروه‌های HFDcap، HFDT، و HFDTcap نسبت به HFD افزایش معنی‌داری داشت. میزان بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در HFDTcap نیز نسبت به گروه‌های HFDT و HFDcap افزایش معنی‌داری داشت.

**نتیجه‌گیری:** احتمالاً هشت هفته تمرین فزاینده همراه با مصرف کپسایسین با افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 بر مسیر قهوه‌ای شدن بافت چربی احشایی موش‌های HFD مؤثر است.

### اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۰۶ اسفند ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۱۳ خرداد ۱۳۹۹

تاریخ انتشار: ۱۱ تیر ۱۳۹۹

### کلیدواژه‌ها:

فعالیت ورزشی، کپسایسین، رژیم غذایی، پر چرب، قهوه‌ای شدن بافت چربی

### مقدمه

(WAT) محل ذخیره چربی‌هایی است که روزانه از طریق رژیم غذایی دریافت می‌شود. باوجوداین، اختلال در عملکرد WAT ناشی از چاقی می‌تواند به تجمع چربی مضر در دیگر بافت‌ها نیز منجر شود که با بیماری‌های متابولیکی مرتبط با چاقی همراه است [۴]. سلول‌های چربی سفید و قهوه‌ای دو نوع سلول چربی متفاوت با عملکردهای متضاد هستند. چربی سفید محل ذخیره انرژی اضافه است، درحالی‌که چربی قهوه‌ای باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و تولید آن به گرما از طریق پروتئین جفت‌نشده-۱ (UCP-1) [۲] به میتوکندری شده و در نتیجه باعث کاهش سوپستری برای ذخیره در WAT می‌شود. علاوه‌براین،

شیوع اضافه وزن و چاقی طی سه دهه اخیر افزایش یافته و به بیش از دو میلیارد نفر در سراسر جهان افزایش رسیده است [۱]. نتیجه مطالعاتی نشان داد که ۵۱ درصد مردم جهان در سال ۲۰۳۰ چاق خواهند بود [۲]. بیماری همه‌گیر چاقی تأثیر عمده‌ای بر سلامت عمومی دارد و مشکلات بهداشتی مرتبط با چاقی توسط عوامل محیطی و ژنتیکی تعدیل می‌شود [۳]. اگرچه عوامل ژنتیکی در چاقی نقش دارند، در بیشتر موارد چاقی ناشی از عدم تعادل بین انرژی مصرفی در نتیجه مصرف زیاد مواد غذایی یا کاهش سطح فعالیت بدنی است. بافت چربی سفید<sup>۱</sup>

2. uncoupling protein-1 (UCP1)

1. White adipose tissue

\* نویسنده مسئول:

دکتر احمد عبدی

نشانی: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: ۳۰۰۱۹۶۰ (۹۱۱) +۹۸

پست الکترونیکی: a.abdi58@gmail.com

برابری در بافت چربی زیرجلدی شکمی می‌شود [۱۳]. در بخش دیگری از این پژوهش، سه هفته تمرین شنا منجر به افزایش ۶۵ برابری در بیان mRNA ژن UCP-1 در بافت چربی شکمی گردید [۸]. باوجوداین، برخی مطالعات عدم تغییر PGC-1α [۱۴] و حتی کاهش بیان PGC-1α [۱۵] و UCP-1 [۱۶، ۱۷] را به دنبال فعالیت ورزشی نشان دادند. علاوه بر فعالیت‌های ورزشی، مطالعات نشان داده که فعالیت بافت چربی قهوه‌ای با ترکیبات مختلف غذایی مانند کپسایسین موجود در فلفل قرمز افزایش می‌یابد. تحقیقات، اثر ترموژنیک کپسایسین را در حیوانات و انسان‌ها نشان داده است [۱۸]. تنظیم افزایشی در SIRT1 و PGC-1α با مصرف کپسایسین با بهبود بیان پروتئین‌های ترموژنیک UCP-1 و BMP8b<sup>۱۳</sup> در بافت چربی سفید همراه بود [۱۹]. فان<sup>۱۴</sup> و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی نشان دادند که ترکیبی از کپسایسین و کپسیتات<sup>۱۵</sup> می‌تواند با فعال کردن مسیر سیگنالینگ PPARγ/β۳-AR در سلول‌های چربی سفید 3T3-L1 باعث قهوه‌ای شدن آن شود و به عنوان یک روش درمانی بالقوه برای چاقی باشد. در این پژوهش، میزان بیان PGC-1α، UCP-1، AMPK، SIRT1 و TRPV1<sup>۱۶</sup> افزایش معنی‌داری داشت [۲۰]. پانچل<sup>۱۷</sup> و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که کپسایسین، فرایند قهوه‌ای شدن را از طریق تعدیل کننده‌های متابولیک مثل UCP-1، AMPK، PGC-1α و GLP-۱ فراهم می‌کند [۲۱]. باوجوداین، تأثیرات فیزیولوژیکی کپسایسین و سازگاری‌های ناشی از فعالیت ورزشی طولانی‌مدت، اثر هم‌زمان فعالیت ورزشی و کپسایسین بر شاخص‌های تغییر فنوتیپ چربی در مدل موش‌های چاق کمتر بررسی شده است. بنابراین، این پژوهش در نظر دارد تا به بررسی اثر تمرین هوازی همراه با مصرف کپسایسین بر بیان ژن PGC-1α و UCP-1 بافت چربی احشایی در موش‌های مدل چاق بپردازد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی بوده و همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شده و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. حجم نمونه مطالعه حاضر بر اساس نتایج تحقیقات پیشین، در سطح معنی‌داری ۵ درصد (خطای نوع اول) و توان آماری ۹۵٪ (خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار Medcalc ۱۸/۲/۱ (۸ سر در هر گروه) تعیین شد. معیار ورود

دو نوع چربی قهوه‌ای با خواص ترموژن<sup>۳</sup> به نام چربی قهوه‌ای کلاسیک و بژ شناسایی شده است [۵]. جالب اینکه میزان این دو نوع چربی قهوه‌ای در پاسخ به محرک‌های فیزیولوژیکی از قبیل قرار گرفتن در سرما، آیریزین، آگونیسست PPARγ<sup>۴</sup> یا تحریکات بتا آدرنرژیک [۶] و بالا رفتن متابولیسم بدن افزایش یافته و از چاقی ناشی از رژیم غذایی و بیماری‌های مرتبط با آن جلوگیری می‌کند [۵]. چاقی با کاهش ترموژن همراه است. تغییر WAT به بافت چربی قهوه‌ای شامل بیان و فعال کردن ژن‌های خاص قهوه‌ای‌کننده در بافت چربی سفید است [۷]. نقش PGC-1α<sup>۵</sup> در تبدیل WAT به قهوه‌ای تأیید شده است. PGC-1α یک عامل فعال‌کننده PPARγ<sup>۶</sup> است که بسیاری از اثرات بیولوژیکی خود را بر متابولیسم انرژی اعمال می‌کند [۸]. افزایش بیان PGC-1α باعث افزایش FND۵<sup>۷</sup> شده و این پروتئین بعد از شکستن از غشای سلولی جدا شده و به نام آیریزین<sup>۸</sup> در خون ترشح می‌شود [۸]. آیریزین ناشی از PGC-1α باعث بیان پروتئین UCP-1 شده و محتویات میتوکندری را افزایش می‌دهد. UCP-1 یکی از پروتئین‌های مهمی است که در تنظیم ترموژن چربی قهوه‌ای و توانایی تبدیل WAT به بافت چربی قهوه‌ای [۸] نقش دارد. UCP-1 در غشای داخلی میتوکندری وجود دارد و باعث افزایش ترموژن با تأثیر بر میتوکندری می‌شود. نشان داده شده که موش‌های فاقد UCP-1 در معرض چاقی ناشی از کاهش ترموژن هستند [۹]. علاوه بر این نشان داده شده که چاقی ناشی از HFD در حیوانات باعث کاهش PGC-1α عضله اسکلتی می‌شود [۱۰].

پژوهشگران سعی می‌کنند از مداخله‌هایی استفاده کنند که باعث تغییر در این ژن‌ها/پروتئین‌ها و ملکول‌های پایین‌دست آن‌ها می‌شود. یکی از مداخله‌های مورد توجه، تمرین ورزشی است. در این راستا، ژانگ<sup>۹</sup> و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی نشان دادند که هشت هفته تمرین روی تردمیل باعث افزایش بیان PGC-1α عضله اسکلتی موش‌های تغذیه‌شده با HFD می‌شود [۱۱]. همچنین کانگ<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمرین شنا باعث افزایش بیان PGC-1α در موش‌های چاق می‌شود [۱۲]. هندسچین و اسپگلمن<sup>۱۱</sup> (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که سه هفته تمرین استقامتی دوییدن روی نوارگردان با شدت متوسط در موش‌های صحرایی، منجر به افزایش دو برابری در بیان mRNA ژن UCP-1 در بافت چربی احشایی و افزایش ۲۵

3. Thermogenesis
4. Peroxisome proliferator-activated receptors gamma
5. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
6. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
7. Fibronectin domain containing protein 5
8. Irisin
9. Zhang
10. Kang
11. Handschin C, Spiegelman

12. Sirtuin1

13. Bone morphogenetic protein-8b

14. Fan

15. Capsiate

16. Transient receptor potential vanilloid subtype 1

17. Panchal

جدول ۱. پروتکل تمرین

متغیر	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
شدت (متر)	۱۵	۱۶	۱۸	۲۰	۲۱	۲۳	۲۵	۲۵
مدت (دقیقه)	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰	۶۰



متر در دقیقه در هفته هفتم رسید و زمان فعالیت نیز به ۶۰ دقیقه افزایش یافت (جدول شماره ۱). با توجه به منبع استفاده شده، این شدت تمرین معادل ۵۰-۶۰ درصد  $VO_{2max}$  در موش‌های چاق بود [۲۳]. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان)، استفاده شد؛ بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی کردن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد.

#### نحوه تهیه و مصرف

کپسایسین (با خلوص ۹۵ درصد) از شرکت سیگما-آلدردیج<sup>۱۹</sup> خریداری شد. محلول کپسایسین (۴ mg/ml) در سالیان ۰/۹ درصد آماده شد. کپسایسین در سالیان به خوبی حل نمی‌شود، اما سوسپانسیون به دست می‌آید. در تمام موارد قبل از استفاده از محلول برای اطمینان از اینکه ترکیبات در حالت معلق وجود دارد، به شدت مخلوط می‌شد. این ترکیب به صورت خوراکی با گاوآذ یک بار در روز با دوز ۴ mg/kg/day به مدت هشت هفته در صبح پس از شروع چرخه روشنایی استفاده می‌شد [۲۴]. به دیگر گروه‌ها نیز به همان میزان سالیان گاوآذ شد.

#### روش نمونه‌گیری از بافت چربی و اندازه‌گیری متغیرها

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین<sup>۲۰</sup> (۶۰ mg/kg) و زایلازین<sup>۲۱</sup> (۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی، وزن‌کشی و شست‌وشو با سالیان فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later برای جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شد و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز می‌شد و در ساعت ۱۱:۳۰ دقیقه به پایان می‌رسید. برای بررسی بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در هر گروه از تکنیک PCR Real Time استفاده شد.

19. Sigma-Aldrich Co., LLC

20. Ketamine

21. Xylazine

به مطالعه حاضر شامل سلامت کامل موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه، عدم اجرای پروتکل تمرینی و مصرف نکردن مکمل و آسیب حین اجرای تمرین بود. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر ۵ هفته‌ای با وزن  $94 \pm 1$  g/۶۸ از نژاد ویستار از انستیتو پاستور تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. حیوانات مورد آزمایش در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت  $55 \pm 4$  درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند.

#### روش القای چاقی

بعد از سازگاری موش‌ها با شرایط محیطی جدید (پس از یک هفته)، موش‌ها به دو گروه رژیم غذایی نرمال (ND، n=۸) و رژیم غذایی پرچرب (HFD، n=۳۲) تقسیم شدند. موش‌های گروه ND به مدت هشت هفته با غذایی استاندارد (۲۳ درصد پروتئین، ۶۵ درصد کربوهیدرات و ۱۲ درصد چربی) تغذیه شدند. در همین مدت، موش‌های گروه HFD از رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند. غذای پرچرب شامل ۱۷ درصد پروتئین، ۴۳ درصد کربوهیدرات و ۴۰ درصد چربی بود [۲۳]. چاق شدن موش‌ها با شاخص لی<sup>۱۸</sup> ارزیابی شد. موش‌هایی با مقادیر بالای ۳۱۰ بر اساس شاخص لی، چاق محسوب شدند. بعد از هشت هفته، همه موش‌ها به ۵ گروه: رژیم غذایی نرمال (ND)، پرچرب (HFD)، پرچرب-تمرین (HFD+T)، پرچرب-کپسایسین (HFD+Cap) و پرچرب-تمرین-کپسایسین (HFD+T+Cap) تقسیم شدند. در ادامه پژوهش، رژیم غذایی پرچرب به رژیم غذایی استاندارد تغییر یافت.

#### پروتکل تمرینی

قبل از شروع تمرین اصلی و به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت توسط تردمیل، موش‌ها در یک هفته طی پنج جلسه، به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. برنامه فعالیت بدنی هوازی شامل دویدن روی تردمیل با شیب صفر درصد به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته بود. در هفته اول، موش‌ها یک برنامه تمرینی هوازی فزاینده را روی تردمیل با شدت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه انجام دادند. بعد از آن، شدت فعالیت از ۱۵ متر در دقیقه به ۲۵

18. Lee index

جدول ۲. الگوی پرایمر ۱α-PGC و ۱-UCP

Genes	Sequence (5' → 3')
B2m forward	5'- CGTGCTTGCCATTCAGAAA -3'
B2m reverse	5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG -3'
PGC-1α forward	5'-GTGCAGCCAAGACTCTGTATGG-3'
PGC-1α reverse	5'-GTCCAGGTCATTACATCAAGTTC-3'
UCP1 forward	5'-CAATGACCATGTACACCAAGGAA-3'
UCP1 reverse	5'-GATCCGAGTCGCAGAAAAGAA-3'



### طراحی، آماده‌سازی پرایمر

تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار IDV7/8 Allele طراحی شد و از ژن β2m (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید (جدول شماره ۲). تمام پرایمرها به صورت اتصال آگزون-آگزون طراحی شد و برای اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده شد.

### انجام Real time-PCR

برای اندازه‌گیری mRNA، ۱ میکروگرم از کل RNA بافتی با آنزیم (Promega) RNase-free DNase-I (RQ1) و با retro-transcribed (RT) تیمار شد. واکنش Real-time PCR با استفاده از دستگاه SYBR Green qPCR Master Mix انجام شد. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده Real time-PCR شامل ۹۵° به مدت ۱۰ دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل ۱۵° ثانیه‌ای در حرارت ۹۵°، ۵۵° ثانیه در ۶۰° و ۵ ثانیه در دمای ۷۲° بود. سپس در دمای ۷۲° درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد.

### تحلیل آماری

پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لون، برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری spss نسخه ۲۱ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در جدول شماره ۳ میانگین و نتایج آزمون بین گروهی مربوط به متغیرهای پژوهش در گروه‌های مختلف ارائه شده است.

### روش اندازه‌گیری بیان ۱α-PGC و ۱-UCP

#### استخراج RNA

۲۰ میلی‌گرم از بافت با استفاده از اسکالپر خرد و وارد میکروتیوپ شده، سپس RNA به روش تریزول<sup>۲۲</sup> استخراج شد. به منظور اطمینان از غلظت مناسب RNA استخراج‌شده، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ (ND-1000 NANO-) با استفاده از دستگاه (DROP 385 spectrophotometer) خوانده شد. همچنین کیفیت RNA استخراج‌شده توسط الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی شد. سنجش کمی برای تعیین غلظت RNA به روش اسپکتوفوتومتری انجام شد.

#### سنتز cDNA

سنتز cDNA طبق دستورالعمل موجود در کیت (K۱۶۲۱) تهیه شد. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAid™M-MuLV Reverse transcriptase صورت گرفت. هنگام تهیه cDNA از نمونه تخلیص‌شده پس از قرائت جذب، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته، سپس ۰/۵ μL Random Hexamers، ۰/۵ μL پرایمر oligodT (الیگودئوکسی ریبونوکلوئید) به آن افزوده و تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب DEPC اضافه و به دمای ۶۵° درجه به مدت ۵ دقیقه منتقل شد. در ادامه، به مدت ۲ دقیقه روی یخ قرار گرفت. در مرحله بعد، ۴ μL 5X Reaction Buffer و ۲ μL dNTP و ۱ μL RiboLock RNase Inhibitor و ۱ μL RevertAid RT به این ترکیب اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵° و بعد از آن به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲° قرار گرفت. در آخر به منظور از کار افتادن آنزیم RT، تیوب‌های واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰° درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. cDNA آماده‌شده برای انجام Real time-PCR به کار رفت.

جدول ۳. نتایج آمار توصیفی و استنباطی مربوط به متغیرهای پژوهش

گروه	متغیر	میانگین $\pm$ انحراف معیار			بیان نسبی	بیان نسبی
					۱-UPC	۱ $\alpha$ -PGC
		وزن (گرم)				
		پیش آزمون	بعد القای چاقی	پس آزمون		
	ND	۱۴۵/۳۳ $\pm$ ۱۱/۸۹	۲۹۷/۵۶ $\pm$ ۳۰/۰۰	۳۲۳/۵۶ $\pm$ ۳۲/۹۴	۲/۸۵ $\pm$ ۰/۶۰	۹/۰۶ $\pm$ ۲/۰۸
	HFD	۱۴۳/۲۲ $\pm$ ۷/۲۵	۴۵۶/۱۱ $\pm$ ۸۱/۸ <sup>#</sup>	۴۷۹/۴۴ $\pm$ ۲۹/۲ <sup>#</sup>	۱/۰ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>#</sup>	۱/۰ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>#</sup>
	HFDT	۱۴۹/۱۱ $\pm$ ۶/۱۳	۴۶۹/۵۶ $\pm$ ۳۷/۵ <sup>#</sup>	۴۲۹/۷ $\pm$ ۳۲/۷ <sup>#</sup>	۱/۸۷۸ $\pm$ ۰/۶۱ <sup>§<math>\pm</math></sup>	۴/۱۴۲ $\pm$ ۱/۲۵ <sup>##<math>\pm</math></sup>
	HFD <sub>Cap</sub>	۱۴۸/۶۷ $\pm$ ۱۱/۱۹	۴۸۲/۸۹ $\pm$ ۵۱/۶ <sup>#</sup>	۴۳۳/۶۷ $\pm$ ۴۰/۱ <sup>§<math>\pm</math></sup>	۱/۸۹۷ $\pm$ ۰/۶۶ <sup>##<math>\pm</math></sup>	۳/۳۹۰ $\pm$ ۱/۶۳ <sup>§<math>\pm</math></sup>
	HFD <sub>T</sub> <sub>Cap</sub>	۱۵۱/۲۲ $\pm$ ۸/۹۸	۴۸۲/۲۲ $\pm$ ۵۰/۳ <sup>#</sup>	۳۹۶/۶۷ $\pm$ ۳۲/۱ <sup>§<math>\pm</math></sup>	۲/۷۳۳ $\pm$ ۰/۸۳ <sup>§</sup>	۶/۸۷۳ $\pm$ ۲/۶۲ <sup>§</sup>
P بین گروهی		۰/۳۹۴	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*



\* تفاوت بین گروهی؛ # تفاوت با ND؛ \$ تفاوت با گروه HFD؛ # تفاوت با گروه HFDtCap

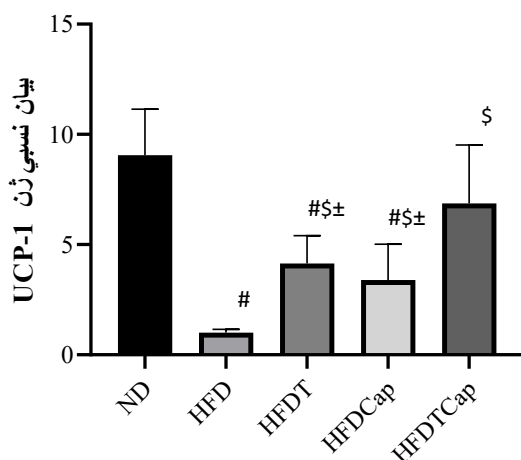
مختلف وجود دارد ( $F=۸۲/۳۳۷$ ,  $P=۰/۰۰۰$ ) (جدول شماره ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه‌های ND با HFD ( $P=۰/۰۰۰$ ) و HFDtCap ( $P=۰/۰۰۰$ ) ObeT، ( $P=۰/۰۰۰$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFD با گروه‌های HFDt ( $P=۰/۰۴۹$ ) و HFDtCap ( $P=۰/۰۰۵$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFDt با گروه‌های HFDtCap ( $P=۰/۰۰۰$ )؛ و گروه HFDtCap با گروه‌های HFDt ( $P=۰/۰۱۷$ )، HFDtCap ( $P=۰/۰۰۱$ ) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول شماره ۳، نمودار شماره ۲).

## بحث

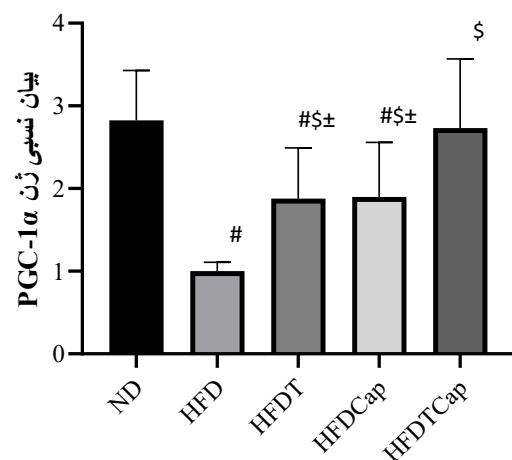
در پژوهش حاضر نشان داده شد که HFD باعث کاهش

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ( $F=۳۱/۳۱۷$ ,  $P=۰/۰۰۰$ ) (جدول شماره ۳). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که بین گروه‌های ND با HFD ( $P=۰/۰۰۰$ )، HFDt ( $P=۰/۰۱۸$ ) و HFDtCap ( $P=۰/۰۲۱$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بین گروه‌های HFD با گروه‌های HFDt ( $P=۰/۰۳۲$ )، HFDtCap ( $P=۰/۰۲۸$ ) و HFDtCap ( $P=۰/۰۰۰$ )؛ و گروه HFDtCap با گروه‌های HFDt ( $P=۰/۰۴۷$ )، HFDtCap ( $P=۰/۰۴۰$ )، HFDtCap ( $P=۰/۰۴۷$ ) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول شماره ۳، نمودار شماره ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان UCP-1 بافت چربی احشایی بین گروه‌های



نمودار ۲. تغییرات بیان نسبی UCP-1 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف  
# تفاوت با ND؛ \$ تفاوت با گروه HFD؛ # تفاوت با گروه HFDtCap در سطح  $P \leq ۰/۰۵$



نمودار ۱. تغییرات بیان نسبی PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف  
# تفاوت با ND؛ \$ تفاوت با گروه HFD؛ # تفاوت با گروه HFDtCap در سطح  $P \leq ۰/۰۵$

بیان UCP-1 بافت چربی قهوه‌ای و توده کل بافت چربی قهوه‌ای شد [۱۶، ۱۷]. به نظر می‌رسد که آزمودنی‌های درگیر در فرایند پژوهش و خصوصیات آن‌ها، نوع و شدت تمرین و حتی محیط تمرین بر نتایج تأثیرگذار باشد.

مکانیسم‌های مختلفی برای افزایش بیان PGC-1α در نتیجه فعالیت ورزشی و تمرین بیان کرده‌اند. افزایش در سطوح اپی‌نفرین به عنوان یک مکانیسم قوی در این رابطه گزارش شده است [۳۶]. علاوه بر این تمرینات استقامتی با استفاده از مسیرهای وابسته به کلسیم و فسفات، آنزیم‌های کیناز وابسته به آدنوزین منوفسفات و کالمدولین را فعال و در نتیجه منجر به فعال‌سازی PGC-1α می‌شود. همچنین فعالیت هوازی باعث کاهش شارژ انرژی درون سلولی و به دنبال آن فعال‌سازی AMPK و فعال کردن PGC-1α درون هسته برای تأثیر بر افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوژنز میتوکندری و حتی افزایش PGC-1α می‌شود [۳۷].

در پژوهش حاضر، افزایش PGC-1α به دنبال فعالیت ورزشی هوازی در موش‌های HFD با افزایش بیان UCP-1 همراه بود. در مطالعه کیان‌مهر و همکاران (۲۰۲۰) نیز افزایش بیان PGC-1α و UCP-1 به دنبال تمرین روی تردمیل مشاهده شد [۳۸]. مطالعات قبلی نشان داده است که تمرین ورزشی باعث افزایش UCP-1 بافت WAT می‌شود [۳۹، ۴۰]. علاوه بر این هو<sup>۲۹</sup> و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که فعالیت ورزشی طولانی‌مدت در موش‌ها باعث افزایش UCP-1 و قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرجلدی می‌شود، اما، HFD باعث کاهش این اثرات می‌شود [۱۶]. آیریزین می‌تواند بیان UCP-1 را در سلول‌های چربی شرایط *in vivo* و داخل بدن تنظیم کرده و منجر به افزایش چربی قهوه‌ای شود [۸]. با توجه به ارتباط معنی‌داری که بین بیان UCP-1 و آیریزین وجود دارد [۴۱]، به نظر می‌سد که بخشی از اثر تمرین بر بیان UCP-1 چربی احشایی از مسیر آیریزین باشد. علاوه بر این نشان داده شده که بیان UCP-1 می‌تواند مستقل از آیریزین افزایش پیدا کند. گزارش شده که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان PGC-1α می‌شود [۳۶] و این عامل محرک بیان UCP-1 است [۴۲].

در پژوهش حاضر، افزایش بیان PGC-1α با افزایش بیان UCP-1 همراه بود. طی فعالیت‌های ورزشی، PGC-1α فعال شده و به نوبه خود باعث رهایش آیریزین به گردش خون می‌شود و در نهایت بر سایر بافت‌ها تأثیر می‌گذارد که یکی از اثرات آن قهوه‌ای کردن WAT از طریق UCP-1 است [۸، ۴۳].

از دیگر نتایج پژوهش حاضر، افزایش بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی احشایی در موش‌های HFD بعد از مصرف کپسایسین بود. جالب اینکه مطالعات اخیر نشان می‌دهد برخی ترکیبات فعال زیستی از جمله ترکیبات فنولی، بیان آیریزین را در عضلات

معنی‌دار بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی احشایی شده است. در این راستا، کنون<sup>۲۳</sup> و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که HFD باعث کاهش بیان UCP-1 و آیریزین بافت چربی احشایی و PGC-1α عضله اسکلتی موش‌های چاق می‌شود [۲۵]. گلی‌فورد<sup>۲۴</sup> و همکاران (۲۰۱۷) نیز بیان کردند که HFD باعث کاهش بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی اپیدرمال می‌شود [۱۶]. UCP-1 مولکول‌های اصلی ترموژن بوده و نقش مهمی در قهوه‌ای کردن WAT دارد [۲۶]. PGC-1α رونویسی UCP-1 را در WAT افزایش داده و باعث تمایز آن به سمت چربی قهوه‌ای می‌شود [۲۷].

برخی مطالعات نشان داده‌اند که کاهش UCP-1 باعث افزایش ابتلا به چاقی می‌شود [۲۸] و میزان آن با چاقی و میزان انرژی دریافتی مرتبط است [۲۹]. به نظر می‌رسد که اختلال در متابولیسم در نتیجه مصرف رژیم غذایی پر چرب باعث کاهش بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی احشایی شده است. در تأیید این نتایج، کیم<sup>۲۵</sup> و همکاران (۲۰۱۷) کاهش بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی زیرجلدی [۳۰] و سانسه<sup>۲۶</sup> و همکاران (۲۰۱۹) کاهش بیان UCP-1 را در بافت چربی [۳۱] موش‌های HFD نشان دادند. کاهش در UCP-1 ممکن است ناشی از افزایش بیان میوستاتین در عضلات اسکلتی باشد که باعث فسفوریلاسیون و فعال‌سازی SMAD3<sup>۲۷</sup> در افراد چاق می‌شود. نقش SMAD3، مهار تولید آیریزین است. در عضلات اسکلتی، SMAD3 به پروموتور ژن FNDC5 و Ppargc1a متصل شده و بیان این ژن‌ها را سرکوب می‌کند [۳۲]. با این حال، در پژوهش حاضر، هشت هفته تمرین فزاینده توانست تأثیر منفی چاقی بر بیان PGC-1α و UCP-1 را جبران کند. هم‌راستا با این پژوهش، زیگلر<sup>۲۸</sup> و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی نشان دادند که هر دو نوع تمرین هوازی و مقاومتی باعث افزایش در میزان بیان PGC-1α و UCP-1 بافت چربی احشایی در موش‌ها می‌شود [۳۳].

مطالعات دیگری نیز نشان دادند که PGC-1α به دنبال تمرینات استقامتی طولانی‌مدت [۱۶]، تمرینات ترکیبی [۳۴] و حاد استقامتی [۸] افزایش می‌یابد. باوجود این، گلی‌فورد و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تمرین روی چرخ دوار تأثیر معنی‌داری بر PGC-1α عضله اسکلتی و بافت چربی اپیدرمال موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب ندارد [۱۵]. علاوه بر این، برخی مطالعات نشان دادند که فعالیت ورزشی باعث کاهش اثرات ترموژنیک در بافت چربی قهوه‌ای می‌شود [۱۶، ۱۷، ۳۵]. شش تا هشت هفته دویدن روی تردمیل با شدت متوسط باعث کاهش

23. Kwon

24. Guilford

25. Kim

26. Senese

27. Mothers against decapentaplegic homolog 3

28. Ziegler

29. Wu

تغییر در مقدار و نوع چربی بافت چربی در موش‌های چاق باعث بهبود اختلالات متابولیکی شوند [۵۰]. AMPK، IL-6، SIRT1 و محرک‌های مؤثر بر گیرنده‌های آدرنژیکی نیز می‌تواند از طریق فعالیت ورزشی و کپسایسین بر شاخص‌های تعدیل‌کننده WAT به قهوه‌ای تأثیر داشته باشد، اما به دلیل هزینه زیاد، اندازه‌گیری نشد. همچنین بررسی هیستولوژی توزیع WAT و قهوه‌ای در نتیجه تمرین و کپسایسین، می‌تواند درک بهتری برای اثرات این دو نشان دهد. توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی به این دو محدودیت نیز توجه شود.

### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، تمرین ورزشی و کپسایسین باعث تأثیر بر مسیر قهوه‌ای شدن بافت چربی احشایی در موش‌ها شده که بخشی از این اثرات، ناشی از افزایش در بیان GC-1α و UCP-1 است. بنابراین، استفاده از کپسایسین و دیگر ترکیبات زیستی فعال به همراه فعالیت بدنی هوازی یک استراتژی جالب و مؤثر برای خنثی کردن رژیم‌های غذایی پر چرب است. مطالعات انسانی برای بررسی اثر کپسایسین و فعالیت ورزشی بر این مسیر ضروری به نظر می‌رسد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) و با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی با کد IR.SSRC. REC.1398.125 انجام شده است.

#### حامی مالی

این مقاله حاصل پایان‌نامه دکتری نویسنده اول با شماره دانشجویی ۹۴۰۵۳۷۰۵۷ در گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی است.

#### مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در همه بخش‌ها به یک اندازه مشارکت داشته‌اند.

#### تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارضی در منافع اعلام نکردند.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان بدین‌وسیله، تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی اعلام می‌دارند.

اسکلتنی [۳۴] و میوبلاست‌های L۶ و WAT [۴۵، ۴۴] تحریک می‌کند. به نظر می‌رسد در این پژوهش کپسایسین با افزایش PGC-1α و UCP-1 مسیر FND۵/آیریزین را در موش‌های چاق فعال می‌کند. یافته‌های مطالعه حاضر مطابق با یافته‌هایی است که نشان می‌دهد کپسایسین قادر به افزایش بیان PGC-1α می‌باشد [۱۹]. علاوه بر این کپسایسین قادر به افزایش چندین ژن گرمازا متابولیکی، از جمله-PGC، SIRT1، BMP8b<sup>۳۰</sup>، UCP-1، PRDM-۱۶<sup>۳۱</sup> و 1α است [۴۶]. یکی دیگر از اثرات کپسایسین، فعال کردن PPARα و PPARγ است، درحالی‌که HFD باعث سرکوب PPARα می‌شود [۱۹].

محرک‌های مختلفی توانایی قهوه‌ای کردن WAT را دارند که شامل درمان‌های دارویی، فعالیت ورزشی و آگونیست‌های PPARγ هستند [۴۷]. همه این محرک‌ها توانایی فعال کردن گیرنده‌های بتا آدرنژیک را دارند. علاوه بر این، احتمال دارد ترکیبات موجود در کپسایسین، قهوه‌ای کردن WAT را از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله فعال‌سازی گیرنده‌های بتا آدرنژیک و سلطه کنند. با وجود این در مطالعه‌ای نشان داده شد که کپسایسین تأثیری بر پروتئین‌های ترموزنیک و قهوه‌ای‌کننده بافت چربی اپیدرمال (BMP8b و UCP-1) در موش‌هایی با رژیم غذایی نرمال ندارد [۱۹]. همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شد که کپسایسین تأثیر معنی‌داری بر سطوح پایه UCP-1 ندارد [۴۸]. به‌هرحال مطالعات بیشتری برای درک بهتر مکانیسم قهوه‌ای شدن WAT از طریق کپسایسین ضروری است. مشابه یافته‌های مطالعه حاضر، نشان داده شد که عصاره تمشک<sup>۳۲</sup> و سایر ترکیبات فنولی مانند رزوراترول<sup>۳۳</sup> و کوئرستین<sup>۳۴</sup> باعث القای قهوه‌ای شدن WAT و کوچک شدن اندازه چربی در موش‌های چاق می‌شود [۴۳، ۴۵].

لونزی<sup>۳۵</sup> و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که عصاره انگور نیز به دلیل داشتن ترکیبات فنولی باعث فعال شدن مسیر FND۵/آیریزین شده و همچنین این عصاره می‌تواند اثرات فعالیت ورزشی را از این مسیر تقلید کند [۴۹]. در پژوهش حاضر، اثر افزایشی ترکیب تمرین و کپسایسین بر بیان PGC-1α و UCP-1 بیشتر از اثر هر کدام به تنهایی بود. به نظر می‌رسد تمرین هوازی و کپسایسین با تأثیر بر مسیر سیگنالینگ PGC-1α/AMPK/SIRT1 باعث افزایش آیریزین شده و به نوبه خود باعث افزایش بیان UCP-1 در بافت چربی احشایی و در نتیجه باعث تغییر WAT به بافت چربی قهوه‌ای می‌شود. در نهایت می‌تواند تا حدی بیماری‌های وابسته به چاقی را کنترل کند. مداخلات ورزشی و ترکیبات فیتوشیمیایی از طریق

30. Bone morphogenetic protein-8b

31. Positive regulatory domain containing zinc finger protein 16

32. Raspberry

33. Resveratrol

34. Quercetin

35. Lanzi



## References

- [1] Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *The Lancet*. 2014; 384(9945):766-81. [DOI:10.1016/S0140-6736(14)60460-8]
- [2] Finkelstein EA, Khavjou OA, Thompson H, Trogon JG, Pan L, Sherry B, et al. Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *American Journal of Preventive Medicine*. 2012; 42(6):563-70. [DOI:10.1016/j.amepre.2011.10.026] [PMID]
- [3] Yaghoobpour Yekani O, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. [Effect of type of training on markers of hepatocyte apoptosis in rats fed with high fat diet (Persian)]. *Yafte*. 2018; 19(5):106-16. <http://yafte.lums.ac.ir/article-1-2540-fa.html>
- [4] Gonçalves IO, Passos E, Rocha-Rodrigues S, Torrella JR, Rizo D, Santos-Alves E, et al. Physical exercise antagonizes clinical and anatomical features characterizing Lieber-DeCarli diet-induced obesity and related metabolic disorders. *Clinical Nutrition*. 2015; 34(2):241-7. [DOI:10.1016/j.clnu.2014.03.010] [PMID]
- [5] Harms M, Seale P. Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*. 2013; 19(10):1252-63. [DOI:10.1038/nm.3361] [PMID]
- [6] Morton TL, Galior K, McGrath C, Wu X, Uzer G, Uzer GB, et al. Exercise increases and browns muscle lipid in high-fat diet-fed mice. *Frontiers in Endocrinology*. 2016; 7:80. [DOI:10.3389/fendo.2016.00080] [PMID] [PMCID]
- [7] Servera M, López N, Serra F, Palou A. Expression of "brown-in-white" adipocyte biomarkers shows gender differences and the influence of early dietary exposure. *Genes & Nutrition*. 2014; 9(1):372. [DOI:10.1007/s12263-013-0372-4] [PMID] [PMCID]
- [8] Boström 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. [DOI:10.1038/nature10777] [PMID] [PMCID]
- [9] Denjean F, Lachuer J, Gélouën A, Cohen-Adad F, Moulin C, Barré H, et al. Differential regulation of uncoupling protein-1, -2 and -3 gene expression by sympathetic innervation in brown adipose tissue of thermoneutral or cold-exposed rats. *FEBS Letters*. 1999; 444(2-3):181-5. [DOI:10.1016/S0014-5793(99)00056-3]
- [10] Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 $\alpha$ -FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2018; 43(7):651-62. [DOI:10.1139/apnm-2017-0614] [PMID]
- [11] Zhang YJ, Li J, Huang W, Mo GY, Wang LH, Zhuo Y, et al. [Effect of electroacupuncture combined with treadmill exercise on body weight and expression of PGC-1 $\alpha$ , Irisin and AMPK in skeletal muscle of diet-induced obesity rats (Chinese)]. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2019; 44(7):476-80. [PMID] [DOI:10.13702/j.1000-0607.180460]
- [12] Kang YS, Kim JC, Kim JS, Kim SH. Effects of swimming exercise on serum Irisin and bone FNDC5 in rat models of high-fat diet-induced osteoporosis. *Journal of Sports Science & Medicine*. 2019; 18(4):596-603. [PMID] [PMCID]
- [13] Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1 $\alpha$  in inflammation and chronic disease. *Nature*. 2008; 454(7203):463-9. [DOI:10.1038/nature07206] [PMID] [PMCID]
- [14] Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , Irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS Journal*. 2014; 281(3):739-49. [DOI:10.1111/febs.12619] [PMID]
- [15] Guilford BL, Parson JC, Grote CW, Vick SN, Ryals JM, Wright DE. Increased FNDC5 is associated with insulin resistance in high fat-fed mice. *Physiological Reports*. 2017; 5(13):e13319. [DOI:10.14814/phy2.13319] [PMID] [PMCID]
- [16] 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. *The Journal of Biological Chemistry*. 2014; 289(49):34129-40. [DOI:10.1074/jbc.M114.591008] [PMID] [PMCID]
- [17] 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. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2013; 23(6):582-90. [DOI:10.1016/j.numecd.2012.01.013] [PMID]
- [18] Yoneshiro T, Saito M. Transient receptor potential activated brown fat thermogenesis as a target of food ingredients for obesity management. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2013; 16(6):625-31. [DOI:10.1097/MCO.0b013e3283653ee1] [PMID]
- [19] Baskaran P, Krishnan V, Ren J, Thyagarajan B. Capsaicin induces browning of white adipose tissue and counters obesity by activating TRPV1 channel-dependent mechanisms. *British Journal of Pharmacology*. 2016; 173(15):2369-89. [DOI:10.1111/bph.13514] [PMID] [PMCID]
- [20] Fan L, Xu H, Yang R, Zang Y, Chen J, Qin H. Combination of capsaicin and capsate induces browning in 3T3-L1 white adipocytes via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ / $\beta$ 3-adrenergic receptor signaling pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019; 67(22):6232-40. [DOI:10.1021/acs.jafc.9b02191] [PMID]
- [21] Panchal SK, Bliss E, Brown L. Capsaicin in metabolic syndrome. *Nutrients*. 2018; 10(5):630. [DOI:10.3390/nu10050630] [PMID] [PMCID]
- [22] Jamali E, Asad MR, Rassouli A. [Effect of eight-week endurance exercise on resistin gene expression in visceral adipose tissues in obese rats (Persian)]. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2017; 25(1):20-31. <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-3559-en.html>
- [23] Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gouveia AM, Gonçalves IO, Becerril S, Ramírez B, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sciences*. 2016; 165:100-8. [DOI:10.1016/j.lfs.2016.09.023] [PMID]
- [24] Mosqueda-Solís A, Sánchez J, Portillo MP, Palou A, Picó C. Combination of capsaicin and hesperidin reduces the effectiveness of each compound to decrease the adipocyte size and to induce browning features in adipose tissue of western diet fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018; 66(37):9679-89. [DOI:10.1021/acs.jafc.8b02611] [PMID]
- [25] Kwon J, Kim B, Lee C, Joung H, Kim BK, Choi IS, et al. Comprehensive amelioration of high-fat diet-induced metabolic dysfunctions through activation of the PGC-1 $\alpha$  pathway by probiotics treatment in mice. *PLoS One*. 2020; 15(2):e0228932. [DOI:10.1371/journal.pone.0228932] [PMID] [PMCID]
- [26] Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metabolism*. 2005; 1(6):361-70. [DOI:10.1016/j.cmet.2005.05.004] [PMID]



- [27] Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*. 1998; 92(6):829-39. [DOI:10.1016/S0092-8674(00)81410-5]
- [28] Winn NC, Vieira-Potter VJ, Gastecki ML, Welly RJ, Scroggins RJ, Zidon TM, et al. Loss of UCP1 exacerbates western diet-induced glycemic dysregulation independent of changes in body weight in female mice. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2017; 312(1):R74-R84. [DOI:10.1152/ajpregu.00425.2016] [PMID] [PMCID]
- [29] von Essen G, Lindsund E, Cannon B, Nedergaard J. Adaptive facultative diet-induced thermogenesis in wild-type but not in UCP1-ablated mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2017; 313(5):E515-E527. [DOI:10.1152/ajpendo.00097.2017] [PMID]
- [30] Kim E, Lim SM, Kim MS, Yoo SH, Kim Y. Phylodulcin, a natural sweetener, regulates obesity-related metabolic changes and fat browning-related genes of subcutaneous white adipose tissue in high-fat diet-induced obese mice. *Nutrients*. 2017; 9(10):1049. [DOI:10.3390/nu9101049] [PMID] [PMCID]
- [31] Senese R, Cioffi F, De Matteis R, Petito G, de Lange P, Silvestri E, et al. 3,5 Diiodo-L-Thyronine (T2) promotes the browning of white adipose tissue in high-fat diet-induced overweight male rats housed at thermoneutrality. *Cells*. 2019; 8(3):256. [DOI:10.3390/cells8030256] [PMID] [PMCID]
- [32] Perakakis N, Triantafyllou GA, Fernández-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J, et al. Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*. 2017; 13(6):324-37. [DOI:10.1038/nrendo.2016.221] [PMID] [PMCID]
- [33] Ziegler AK, Damgaard A, Mackey AL, Schjerling P, Magnusson P, Olesen AT, et al. An anti-inflammatory phenotype in visceral adipose tissue of old lean mice, augmented by exercise. *Scientific Reports*. 2019; 9(1):12069. [DOI:10.1038/s41598-019-48587-2] [PMID] [PMCID]
- [34] Abdi A, Mehrabani J, Nordvall M, Wong A, Fallah A, Bagheri R. Effects of concurrent training on irisin and fibronectin type-III Domain Containing 5 (FNDC5) expression in visceral adipose tissue in type-2 diabetic rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2020; January:1-6. [DOI:10.1080/13813455.2020.1716018] [PMID]
- [35] Rachel Richards M, Harp JD, Ory DS, Schaffer JE. Fatty acid transport protein 1 and long-chain acyl coenzyme A synthetase 1 interact in adipocytes. *Journal of Lipid Research*. 2006; 47(3):665-72. [DOI:10.1194/jlr.M500514-JLR200] [PMID]
- [36] Sutherland LN, Bornhof MR, Capozzi LC, Basaraba SAU, Wright DC. Exercise and adrenaline increase PGC-1 $\alpha$  mRNA expression in rat adipose tissue. *Journal of Physiology*. 2009; 587(7):1607-17. [DOI:10.1113/jphysiol.2008.165464] [PMID] [PMCID]
- [37] Roberts-Wilson TK, Reddy RN, Bailey JL, Zheng B, Ordas R, Gooch JL, et al. Calcineurin signaling and PGC-1 $\alpha$  expression are suppressed during muscle atrophy due to diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2010; 1803(8):960-7. [DOI:10.1016/j.bbamcr.2010.03.019] [PMID] [PMCID]
- [38] Kianmehr P, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Synergic effects of exercise training and octopamine on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 $\alpha$  and uncoupling protein 1 mRNA in heart tissue of rat treated with deep frying oil. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2020; 22:100735. [DOI:10.1016/j.bbrep.2020.100735] [PMID] [PMCID]
- [39] Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One*. 2013; 8(4):e60563. [DOI:10.1371/journal.pone.0060563] [PMID] [PMCID]
- [40] Claycombe KJ, Vomhof-DeKrey EE, Roemmich JN, Rhen T, Ghribi O. Maternal low-protein diet causes body weight loss in male, neonate Sprague-Dawley rats involving UCP-1-mediated thermogenesis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2015; 26(7):729-35. [DOI:10.1016/j.jnutbio.2015.01.008] [PMID]
- [41] Ghaderi M, Mohebbi H, Soltani B. [The effect of 14 weeks of endurance training with two different intensity on serum irisin level, gene expression of skeletal muscle PGC1- $\alpha$  and FNDC5 and subcutaneous adipose tissue UCP1 in obese rats (Persian)]. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*. 2019; 41(1):72-81. <https://mj.tbzmed.ac.ir/fa/Article/26047>
- [42] Luisa Bonet M, Oliver P, Palou A. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2013; 1831(5):969-85. [DOI:10.1016/j.bbalip.2012.12.002] [PMID]
- [43] Xing T, Kang Y, Xu X, Wang B, Du M, Zhu MJ. Raspberry supplementation improves insulin signaling and promotes brown-like adipocyte development in white adipose tissue of obese mice. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018; 62(5):1701035. [DOI:10.1002/mnfr.201701035] [PMID]
- [44] Palacios-González B, Vargas-Castillo A, Velázquez-Villegas LA, Vasquez-Reyes S, López P, Noriega LG, et al. Genistein increases the thermogenic program of subcutaneous WAT and increases energy expenditure in mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2019; 68:59-68. [DOI:10.1016/j.jnutbio.2019.03.012] [PMID]
- [45] Andrade JMO, Barcala-Jorge AS, Batista-Jorge GC, Paraíso AF, de Freitas KM, de Farias Lelis D, et al. Effect of resveratrol on expression of genes involved thermogenesis in mice and humans. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019; 112:108634. [DOI:10.1016/j.biopha.2019.108634] [PMID]
- [46] Baskaran P, Krishnan V, Fettel K, Gao P, Zhu Z, Ren J, et al. TRPV1 activation counters diet-induced obesity through sirtuin-1 activation and PRDM-16 deacetylation in brown adipose tissue. *International Journal of Obesity*. 2017; 41(5):739-49. [DOI:10.1038/ijo.2017.16] [PMID] [PMCID]
- [47] Kim SH, Plutzky J. Brown fat and browning for the treatment of obesity and related metabolic disorders. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2016; 40(1):12-21. [DOI:10.4093/dmj.2016.40.1.12] [PMID] [PMCID]
- [48] Kida R, Yoshida H, Murakami M, Shirai M, Hashimoto O, Kawada T, et al. Direct action of capsaicin in brown adipogenesis and activation of brown adipocytes. *Cell Biochemistry & Function*. 2016; 34(1):34-41. [DOI:10.1002/cbf.3162] [PMID]
- [49] Lanzi CR, Perdicaro DJ, Tudela JG, Muscia V, Fontana AR, Oteiza PI, et al. Grape pomace extract supplementation activates FNDC5/irisin in muscle and promotes white adipose browning in rats fed a high-fat diet. *Food & Function*. 2020; 11(2):1537-46. [DOI:10.1039/C9FO02463H] [PMID]
- [50] Kong LC, Willemin PH, Bastard JP, Sokolovska N, Gougis S, Fellahi S, et al. Insulin resistance and inflammation predict kinetic body weight changes in response to dietary weight loss and maintenance in overweight and obese subjects by using a Bayesian network approach. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2013; 98(6):1385-94. [DOI:10.3945/ajcn.113.058099] [PMID]