

Effect of kind of exercise training on gene expression of β 3-ARs and A2ARs receptors of brown adipose tissue in obese male rats

Shohre Sharifian¹, Ramin Shabani², Mohammad Ali Azarbayjani³, Alireza Elmieh⁴

¹ PhD Candidate of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

² Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

³ Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Abstract

Background: The aim of present study was to investigate the effect of a period of endurance training and high intensity intermittent training on gene expression of β 3-Adrenergic (β 3-ARs) and A2A (A2ARs) receptors of brown adipose tissue in obese male Wistar rats.

Materials and methods: In an experimental trial, 15 male Wistar rats were randomly divided into three groups, including endurance training group (n=5), high intensity intermittent training group (n=5) and control group (n=5). The training protocol included 5 sessions per week for 12 weeks. The gene expression of β 3-Adrenergic and A2ARs were examined by qRT-PCR. The Kruskal-Wallis was used to analysis the data and significant level was set at $p < 0.05$.

Results: There was no significant difference in gene expression of β 3-ARs among groups ($p = 0.097$), but endurance training caused the significant increase in gene expression of A2ARs compared to control group ($p = 0.030$). The weight did not show any significant difference among groups ($p > 0.05$).

Conclusion: Our results showed that endurance training induced significant enhance in gene expression of A2ARs of brown adipose tissue. This result can be due to suitable intensity and during of this training on A2ARs. According to results of this study, it is concluded that endurance training prevents high fat diet induced obesity.

Keywords: *Brown adipose tissue, Endurance training, High intensity intermittent training, High fat diet.*

Cited as: Sharifian S, Shabani R, Azarbayjani M A, Elmieh A. Effect of kind of exercise training on gene expression of β 3-ARs and A2ARs receptors of brown adipose tissue in obese male rats. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2019; 29(1): 27-36.

Correspondence to: Ramin Shabani

Tel: +989112324796

E-mail: shabani_msn@yahoo.com

ORCID ID: 0000-0002-2681-3814

Received: 26 May 2018; **Accepted:** 26 Aug 2018

تاثیر نوع تمرین بر بیان ژن گیرنده $\beta 3$ -ARs و A2ARs در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های نر چاق

شهره شریفیان^۱، رامین شعبانی^۲، محمدعلی آذربایجانی^۳، علیرضا علمیه^۴

^۱ دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
^۲ دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
^۳ استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^۴ استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

چکیده

سابقه و هدف: هدف از تحقیق حاضر، بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن گیرنده‌های بتا آدرنرژیک ۳ ($\beta 3$ -ARs) و A2A آدنوزین ($A2ARs$) در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های نر چاق نژاد ویستار بود.
روش بررسی: در یک کارآزمایی تجربی، ۱۵ سر رت نژاد ویستار به صورت تصادفی در سه گروه تمرین استقامتی ($n=5$)، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا ($n=5$) و گروه کنترل ($n=5$) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی شامل ۵ جلسه تمرین در هفته به مدت ۱۲ هفته بود. بیان ژن $\beta 3$ -ARs و گیرنده A2A آدنوزین از روش qRT-PCR بررسی شدند. برای تحلیل داده‌ها از Kruskal-Wallis استفاده شد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی داری بین گروه‌ها در بیان ژن $\beta 3$ -ARs وجود نداشت ($P=0/097$)، اما تمرین استقامتی باعث افزایش معنی دار بیان ژن گیرنده A2A در مقایسه با گروه کنترل شد ($P=0/030$). وزن نیز تفاوت معنی داری در بین گروه‌ها نشان نداد ($P>0/05$).
نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه ما نشان داد تمرین استقامتی موجب افزایش بیان A2ARs در بافت چربی قهوه‌ای می‌شود. این نتایج می‌تواند ناشی از شدت و مدت مناسب تمرین استقامتی بر A2ARs باشد. براساس نتایج این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود تمرین استقامتی از چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب جلوگیری می‌کند.
واژگان کلیدی: بافت چربی قهوه‌ای، تمرین استقامتی، تمرین تناوبی با شدت بالا، غذای پرچرب.

مقدمه

و دیابت نوع دوم قرار می‌دهد (۲). بافت چربی قهوه‌ای (Brown adipose tissue: BAT) نوع ترموزنیک بافت چربی است و حاوی تعداد زیادی میتوکندری و ذخایر فراوان لیپید است که برای تحمل سرما و کنترل وزن بدن مناسب هستند (۳). با فعال شدن بافت چربی قهوه‌ای، سطوح آدنوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic adenosine monophosphate: cAMP) به سرعت افزایش یافته، منجر به لیپولیز و تنظیم بالایی پروتئین جفت نشده ۱ (Uncoupling Protein 1: UCP1) شده و تولید گرما را شروع می‌کند (۴). به علاوه،

رژیم غذایی نامناسب و عدم فعالیت بدنی از مهم‌ترین عوامل اضافه وزن و چاقی هستند که خود از عوامل زمینه ساز بیماری‌های غیر واگیردار محسوب می‌شوند (۱). چاقی، افراد را در معرض بیماری‌های شریان کرونری، پرفشار خونی، سکت

آدرس نویسنده مسئول: رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دکتر رامین

شعبانی (email: shabani_msn@yahoo.com)

ORCID ID: 0000-0002-2681-3814

تاریخ دریافت مقاله: ۹۷/۳/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/۶/۴

کاهش در گرمزایی وابسته به BAT شد، درحالی که درمان با آگونیست‌های A2A به طور معنی‌داری هزینه انرژی را افزایش داد. نتایج نشان داد سیگنالینگ A2ARs، نقش فیزیولوژیکی غیر منتظره‌ای در فعال شدن سمپاتیکی بافت چربی قهوه‌ای دارد (۱۴). همچنین، پژوهشگران نشان داده‌اند که موش‌هایی که A2ARs شان منهدم شده بود، وقتی در معرض سرما قرار گرفتند، نقص در ترموژنز، مصرف اکسیژن و لیپولیز را داشتند که نشان دهنده اهمیت A2ARs در واسطه کردن پاسخ ترموژنیک است (۱۵).

تمرین ورزشی فاکتور مهمی برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی و چاقی است و می‌تواند نقش کلیدی بر متابولیسم بافت چربی قهوه‌ای اعمال کند (۱۶). تولید آدنوزین در حین تمرین را می‌توان این گونه شرح داد. در طی تمرین، تقاضای اکسیژن میوکارد افزایش یافته و آدنوزین رها می‌شود. آدنوزین، یکی از فاکتورهای اصلی است که عملکرد بافت را، به ویژه وقتی فراهمی انرژی نسبت به تقاضای انرژی سلولی افت می‌کند، تنظیم می‌کند (۱۷) و عامل مهم دیگر در تجمع آدنوزین در طول تمرین، افزایش سوبسترای است که نوکلئوزید از آن شکل گرفته است. از این رو، برداشت ATP و متعاقب آن، افزایش غلظت آدنوزین مونوفسفات حلقوی (AMP) در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم‌های شکل دهنده آدنوزین (نوکلئوتیداز) است که به تجمع آدنوزین منجر شده تا فراهمی انرژی توسط انبساط عروق و کاهش تقاضای انرژی از طریق مکانیسم بازخورد منفی کاهش یابد (۱۶). در رابطه با تمرین نیز در مطالعه‌ای، کمر و همکارانش به بررسی اثر ۱۰ روز تمرین با شدت متوسط (تمرین دوچرخه ۹۰-۶۰ دقیقه در روز با 70% VO₂peak) و تمرین اینتروال شدید کوتاه مدت (شامل ۶ تکرار ۵ دقیقه‌ای در 90% VO₂peak) بر ظرفیت اکسیداتیو بافت چربی پرداختند. به دنبال تمرین، ظرفیت اکسیداتیو بافت چربی و بیان ژن β3-ARs تغییری پیدا نکردند (۱۸). با توجه به شیوع چاقی و تغییرات احتمالی ناشی از رژیم غذایی پر چرب بر β3-ARs که در افراد چاق دچار اختلال است (۱۹)، ارتباط گیرنده A2ARs با فعال شدن بافت چربی قهوه‌ای و تاثیر فعالیت ورزشی بر هر دو گیرنده، در این مطالعه به بررسی تاثیر ۱۲ هفته تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن β3-ARs و A2ARs آدنوزین در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های نر چاق تغذیه شده با رژیم غذایی پر چرب پرداختیم.

بافت چربی قهوه‌ای فعال، مقدار قابل توجهی از سوبسترای متابولیسمی را مصرف می‌کند و منجر به اثرات قوی ضد چاقی و ضد دیابتی می‌شود. از این جهت، بافت چربی قهوه‌ای به طور بالقوه، هدف مهمی برای درمان چاقی و بیماری‌های متابولیسمی است (۵). فعالیت بافت چربی قهوه‌ای از طریق چندین مکانیسم مانند سرما، سیگنالینگ آدرنژیک و هورمونی رخ می‌دهد (۵). از میان گیرنده‌های بتا آدرنژیک، β3-ARs (Beta-3 adrenergic receptors) به فراوانی در بافت چربی سفید و قهوه‌ای جوندگان وجود دارد. در مقابل، β3-ARs در انسان‌ها به طور فراوانی در بافت چربی قهوه‌ای یافت می‌شوند و در بافت چربی سفید تعداد کمی از این گیرنده وجود دارد یا هیچ گیرنده‌ای از آن یافت نشده است (۶). پس از تحریک سیستم سمپاتیکی، هورمون‌های کاتکولامینی (نوراپی نفرین و اپی نفرین)، لیپولیز را از طریق آدرنورسپتورهای لیپولیتیک β تحریک می‌کنند (۷). وقتی کاتکولامین‌ها به رسپتورهای بتا آدرنژیک متصل می‌شوند انتقال دهنده‌های غشایی نیز فعال شده و با پروتئین‌های تحریکی Gs (Stimulatory G protein) جفت شده، آدنیل سیکلاز فعال شده و غلظت درون سلولی cAMP افزایش می‌یابد و به نوبه خود باعث فعال شدن پروتئین کیناز A (Protein kinase A: PKA) شده، پری لیپین و لیپاز حساس به هورمون (Hormone-sensitive lipase) را فسفریله می‌کند و لیپولیز رخ می‌دهد (۸). در مطالعه‌ای بیان کردند افزایش وزن و مقاومت انسولین، مرتبط با فعالیت کم سیستم عصبی سمپاتیکی (۹) و کاهش ترن اور (turnover) نوراپی نفرین در بافت چربی قهوه‌ای هستند (۱۰) و آدنوزین نیز به طور مداوم از سلول‌های چربی رها می‌شود. آدنوزین، یکی از متغیرهای بیولوژیکی موثر در مسیرهای فیزیولوژیکی است که اثرات خود را از طریق گیرنده‌های آدنوزین (Adenosine receptors: ARs) به نام A₁، A_{2A}، A_{2B} و A₃ در بافت‌های مختلف انجام می‌دهد. رهایی آدنوزین توسط ایسکمی، قرارگیری در معرض کاتکولامین‌ها یا تحریک عصب سمپاتیکی افزایش می‌یابد (۱۱). وقتی هایپوکسی رخ می‌دهد، مصرف گلوکز بیشتر می‌شود و یکی از مکانیسم‌های واسطه کننده پیام دهی، آدنوزین است که در طی انقباض عضلانی از تجزیه ATP خارج سلولی تشکیل می‌شود (۱۲). (۱۳) و در طی هایپوکسی افزایش می‌یابد (۱۳). A_{2ARs} فراوان‌ترین گیرنده آدنوزین در بافت چربی قهوه‌ای انسان و موش است و افزایش آن، باعث قهوه‌ای شدن سلول‌های چربی سفید و در نهایت تبدیل چربی سفید به صورت گرما می‌شود. انهدام فارماکولوژیکی یا ژنتیکی A_{2ARs} در موش‌ها باعث

مواد و روشها

در یک کارآزمایی تجربی، تعداد ۱۵ سررت نر نژاد ویستار با میانگین سن ۵-۶ هفته از انستیتو پاستور آمل خریداری شدند. همه آنها در شرایط مناسب آزمایشگاهی و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با میانگین دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰-۵۰ درصد در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف به طول ۳۰، عرض و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر ساخت شرکت رازی راد، نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌ها، از شرکت خوراک دام به‌پرور کرج تهیه شد که بر اساس وزن کشی هر هفته یک بار به ازای هر ۱۰۰ گرم از وزن هر رت، هر ۲۴ ساعت ۲۲ گرم غذا، در قفس قرار داده می‌شد و آب مورد نیاز آنها نیز به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیارشان قرار داده شد. پس از چاق کردن رت‌ها به مدت ۱۳ هفته و رسیدن میانگین وزن آنها به ۳۳۰ تا ۴۰۰ گرم (۲۰) و نمایه توده بدنی (BMI) حدود 0.64 تا 0.65 کیلوگرم بر متر مربع، بطور تصادفی به سه گروه استقامتی ($n=5$)، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا ($n=5$) و گروه کنترل ($n=5$) تقسیم شدند. رت‌های هر سه گروه کنترل، گروه استقامتی و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، در طول ۱۲ هفته تمرین نیز با غذای پرچرب تغذیه شدند. لازم به ذکر است این مطالعه بر طبق راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد (۲۱). جیره غذایی پرچرب با ترکیبات ۴۰٪ چربی (۲۰٪ روغن سویا و ۲۰٪ چربی حیوانی)، ۱۳٪ پروتئین و ۴۷٪ کربوهیدرات تهیه شد و مرحله تمرین با رعایت رژیم غذایی پرچرب ادامه یافت. جهت تعیین BMI، وزن و طول بدن (فاصله بینی تا مقعد یا همان طول بینی تا مقعد) رت‌ها اندازه‌گیری شد.

پروتکل تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا

پس از به دست آوردن میانگین حداکثر سرعت در تمامی رت‌های گروه‌های تمرین، ۶۵٪ حداکثر سرعت ارزیابی شده به عنوان شدت مورد نظر در گروه‌های تمرین استقامتی و ۸۵٪ حداکثر سرعت برای گروه تمرین تناوبی با شدت بالا در هفته اول در نظر گرفته شد. مرحله گرم کردن شامل دویدن به مدت ۳ دقیقه با شدت ۱۰ متر بر دقیقه و به دنبال آن دویدن به مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۵ متر بر دقیقه بود و همچنین پس از اجرای تمرین اصلی در هر گروه، رت‌ها به مدت ۱ دقیقه با شدت ۱۵ متر بر دقیقه و سپس مدت ۲ دقیقه با شدت ۱۰ متر بر دقیقه، به سرد کردن پرداختند.

پروتکل تمرین استقامتی به صورت پیشرونده بود و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول شروع شد و به تدریج به سرعت ۲۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۱ دقیقه در هفته ۱۲ رسید.

پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا با سرعت ۳۱ متر بر دقیقه و ۷ تلاش یک دقیقه‌ای و یک دقیقه استراحت با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول شروع شد و به تدریج به سرعت ۵۵ متر بر دقیقه و ۱۰ تلاش یک دقیقه‌ای و یک دقیقه استراحت با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در هفته ۱۲ رسید.

سنجش و بررسی بافتی

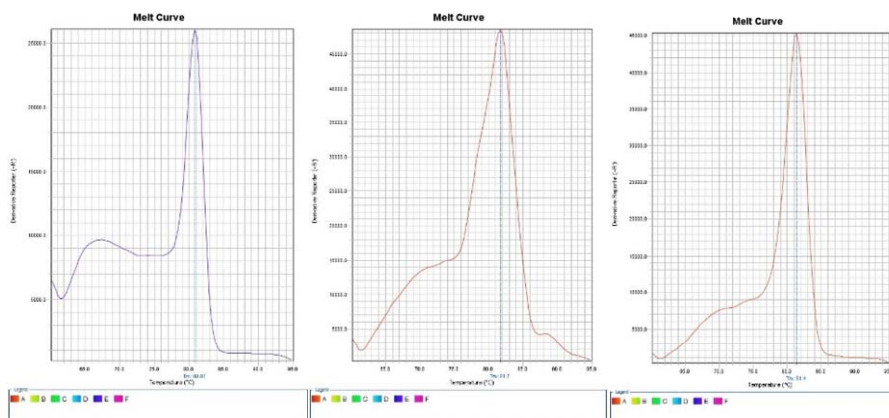
چهل و هشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (7 mg/kg) و زایلازین ($3-5 \text{ mg/kg}$) بیهوش و پس از آن قربانی شدند. نمونه بافت چربی قهوه‌ای از اینترا اسکاپولار بین کتفی گرفته شد و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0.001 گرم وزن کشی شد. بافت داخل لوله آزمایش فالكون ۱۵ قرار داده شد و به نسبت هر 0.5 گرم بافت مقدار 200 میکرولیتر از محلول لیز کننده تک فازی روی آن ریخته شد. برای حفظ پروتئین‌های بافت، آپروتینین به آن اضافه شد و با استفاده از هموژنایزر به مدت پنج دقیقه با سرعت 8000 دور در دقیقه بافت هموژن شد. محلول بدست‌آمده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی توسط سمپلر به داخل میکروتیوب منتقل شد، جهت ارزیابی متغیرهای مورد نظر مورد تحلیل قرار گرفت و رسوب باقیمانده دور ریخته شد. برای بررسی بیان ژن‌های $\beta 3$ -ARs و A2ARs، در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج شد و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. از ژن Gapdh به عنوان ژن رفرنس استفاده شد و اعداد حاصل از نمودار تکثیر برای ژن هدف در هر نمونه نسبت به ژن رفرنس نرمالیز شد. به منظور بررسی Efficiency پرایمرها نمودار استاندارد با استفاده از ۵ غلظت لگاریتمی رسم شد و Slop نمودار به صورت $-3/23$ و کارایی تکنیک $E+0.98$ به دست آمد. در این مطالعه نتایج با استفاده از فرمول فافل و به صورت $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق در جدول ۱ و دمای ذوب آنها در نمودار ۱ آورده شده است.

جدول ۱. اسامی، توالی و دمای ذوب پرایمرهای استفاده شده

نام پرایمر	توالی پرایمر	دمای ذوب (درجه سانتی‌گراد)
Adora2b	F: 5' GAACACGAGCAAGAGGGA 3' R: 5' GAGACTTCACAGGGCAG 3'	۸۰/۸۱
Adrb3	F: 5' CAGAACTCACCGTCAACAG 3' R: 5' CATCCACCCCTACACCTCG 3'	۸۱/۷
Gapdh	F: 5' AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG 3' R: 5' CATACTCAGCACCAGCATCACC 3'	۸۱/۴

جدول ۲. آزمون Kruskal-Wallis برای مقایسه بیان ژن A2ARs و β 3-ARs در سه گروه کنترل، گروه تمرین استقامتی و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (انحراف استاندارد \pm میانگین)

متغیر	گروه	تعداد	انحراف معیار \pm میانگین	F	P
A2ARs/Gapdh Ratio	کنترل	۵	$۰/۰۰۰۸۸ \pm ۰/۰۰۰۶۷$	۴/۹۱۵	۰/۰۲۸
	تمرین استقامتی	۵	$۰/۲۱۳۵۱ \pm ۰/۱۸۱۵۷$		
	تمرین تناوبی با شدت بالا	۵	$۰/۰۷۷۴۷ \pm ۰/۰۴۹۱۹$		
β 3-ARs/Gapdh Ratio	کنترل	۵	$۰/۰۳۰۳۲ \pm ۰/۰۲۰۳۷$	۲/۸۵۵	۰/۰۹۷
	تمرین استقامتی	۵	$۲/۵۶۰۵۳ \pm ۲/۶۷۴۷۰$		
	تمرین تناوبی با شدت بالا	۵	$۲/۴۲۰۷۳ \pm ۱/۲۸۷۸۳$		



نمودار ۱. دمای ذوب پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق به ترتیب از سمت چپ مربوط به ژن A2A، A3b، GapdhT

روش آماری

داده‌ها توسط نرم افزار Prism با ورژن ۵ تحلیل شدند. ابتدا طبیعی بودن داده‌ها توسط آزمون کلموگروف اسمیرنوف بررسی شد. به دلیل غیر پارامتریک بودن داده‌ها از آزمون Kruskal-Wallis جهت بررسی تغییرات و اختلاف‌های بین گروهی و آزمون تعقیبی Dunns استفاده شد. سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به دست آمده از آزمون Kruskal-Wallis تفاوت

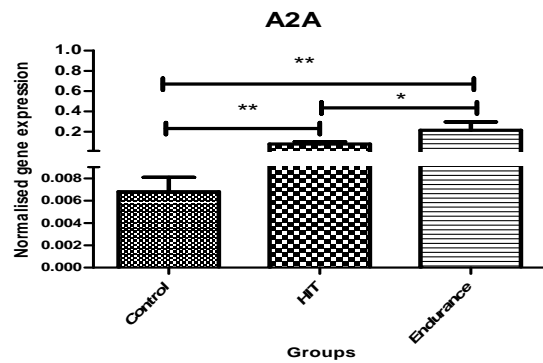
معنی‌داری بین سه گروه در بیان ژن A2ARs ($p=۰/۰۲۸$)، $F(۲,۱۲)=۴/۹۱۵$ (نمودار ۲) و تفاوت غیر معنی‌داری در بیان ژن β 3-ARs ($F(۲,۱۲)=۲/۸۵۵$ ، $p=۰/۰۹۷$) (نمودار ۳) را نشان داد. اگر چه هر دو نوع تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا سبب افزایش میانگین بیان ژن β 3-ARs در مقایسه با گروه کنترل شدند، اما از نظر آماری معنی‌دار نبودند ($P > ۰/۰۵$). در رابطه با اثر اصلی تمرین، نتایج بدست آمده از آزمون تعقیبی Dunns، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه استقامتی و گروه کنترل نشان داد ($P = ۰/۰۳۰$). تمرین استقامتی باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن A2ARs در مقایسه با گروه کنترل شده بود. صحت نتایج به دست آمده در هر

بحث

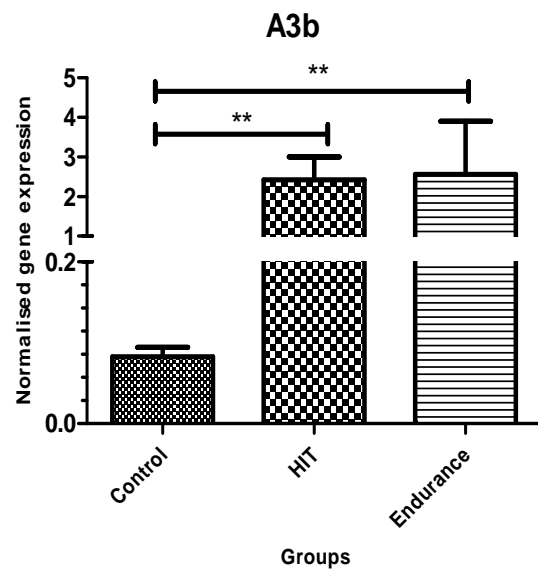
در پژوهش حاضر به بررسی اثر نوع تمرین بر بیان ژن $\beta 3$ -ARs و A2AR در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های نر نژاد ویستار تغذیه شده با غذای پر چرب پرداختیم. مطالعات نشان داده‌اند تمرین ورزشی بافت چربی قهوه‌ای را از طریق سیستم عصبی سمپاتیک، عضله قلبی و اسکلتی فعال به کار می‌گیرد.

مدت، شدت و نوع فعالیت تمرینی در فعال کردن بافت چربی قهوه ای موثر هستند. تمرین ورزشی موجب افزایش فعالیت عصب سمپاتیک، رهایی آدنوزین در بافت چربی قهوه‌ای و افزایش ترشح اپی نفرین و نور اپی نفرین می‌شود. این هورمون‌های کاتکولامینی، گیرنده‌های بتا آدرنرژیک را تحریک کرده و بدین ترتیب لیپولیز افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر، یافته‌ها نشان داد تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل و گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، باعث افزایش معنی‌دار بیان A2ARs در بافت چربی قهوه‌ای شد، اما اثر معنی‌داری بر بیان $\beta 3$ -ARs نداشت. تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با رژیم غذایی پر چرب نیز در مقایسه با گروه کنترل پرچرب باعث افزایش بیان $\beta 3$ -ARs و A2ARs در بافت چربی قهوه‌ای شد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. دلایل افزایش بیان A2ARs بر اثر تمرین استقامتی احتمالاً شامل نقش شدت و مدت مناسب این تمرین به عنوان استرس در فعال کردن بافت چربی قهوه‌ای، مقدار فراهمی گلوکز در نقش سوبسترای مورد نیاز بافت های دیگر بدن و از سویی دیگر، تغییرات ناشی از فعالیت ورزشی در سطوح آدنوزین در بافت چربی قهوه‌ای باشد که سبب فعال شدن بافت چربی قهوه‌ای و تولید انرژی توسط این بافت می‌شود. بافت چربی قهوه‌ای توانایی انتقال انرژی از اسیدهای چرب و گلوکز جهت عمل ترموژن را بر عهده دارد (۲۲). در طی تمرین با شدت زیاد، از نظر فراهمی انرژی، سوبسترا برای عضله کافی بوده و گلیکوژن ذخیره شده در عضلات مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما در طی تمرین با شدت کم و یا در طی تمرین استقامتی طولانی مدت وقتی که ذخایر گلیکوژن تخلیه شده‌اند، اتکاء عضله بر گلوکز خون است (۲۳). از طرفی در قلب و سایر بافت‌ها مانند بافت چربی قهوه‌ای، هنگامی که نیاز به اکسیژن بیش از حد باشد، به عنوان مثال در طی ورزش و شرایط همراه با ایسکمی بافتی و یا تغییر و تبدیل افزایش ATP، آدنوزین تجمع می‌یابد (۲۴). وقتی هایپوکسی رخ می‌دهد، مصرف گلوکز بیشتر می‌شود، آدنوزین در طی انقباض عضلانی از تجزیه ATP خارج

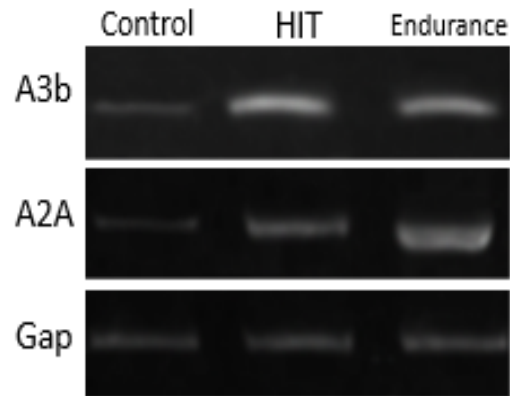
پرایمر با استفاده از رسم منحنی ذوب به دست آمد که در شکل ۱ آورده شده است.



نمودار ۲. نتایج آزمون Kruskal-Wallis بیان A2ARs در سه گروه کنترل، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و گروه تمرین استقامتی



نمودار ۳. نتایج آزمون Kruskal-Wallis بیان $\beta 3$ -ARs در سه گروه کنترل، گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و گروه تمرین استقامتی



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز در گروه های مختلف مورد آزمون

تمرین را موثر دانست که طبق آنچه در بالا بیان شد احتمالاً به دلیل نوع سوبسترای مصرفی توسط عضلات جهت تولید انرژی و به دنبال آن فعال نشدن بافت چربی قهوه‌ای باشد (۲۳) و یا اینکه این نوع تمرین با این شدت و مدت، محرک کافی برای فعال شدن A2ARs بافت چربی قهوه‌ای توسط سیستم عصبی سمپاتیک در بافت چربی قهوه‌ای نبوده است (۱۴) که نتیجه آن از نظر آماری معنی‌دار حاصل نشده است. به طور کلی عدم افزایش معنی‌دار بیان گیرنده‌های β -AR3 در گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا را می‌توان به اثر مضر مصرف رژیم غذایی پرچرب نسبت داد. لیپولیز اساساً از طریق عمل کاتکولامین‌ها، فعال شدن بتا آدرنرژیک‌ها و بازدارندگی مسیر آلفا-۲ آدرنرژیک صورت می‌گیرد (۳۱). فعالیت β -ARs موجب افزایش قابل توجهی در مصرف انرژی و کاهش چاقی در جوندگان می‌شود (۶). در مطالعه‌ای مروری، سیلوا و زانسکو به بررسی اثر تمرین ورزشی بر β -ARs پرداختند نتایج نشان داد تمرین ورزشی دارای اثرات کاهش‌دهنده، افزایشی و یا بدون تاثیر بر بیان β -ARs است. آنها در پایان اظهار داشتند در این خصوص مطالعات بیشتری مورد نیاز است (۳۲). در حیوانات چاق، توانایی تحریک لیپولیز و ترموزن مختل می‌شود که احتمالاً به دلیل اختلال در عملکرد β -ARs در موش‌های چاق باشد (۳۳). چاقی و مصرف رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش عمل آنتی لیپولیتیک کاتکولامین‌ها توسط گیرنده‌های آلفا ۲- آدرنرژیک (α 2-ARs) و افزایش نسبت گیرنده‌های α 2 به β 3 می‌شود (۳۴). مطالعات لیپولیز نشان داده‌اند فعال شدن گیرنده‌های α 2-AR توسط اپی نفرین و نوراپی نفرین، مولفه بتا آدرنرژیکی لیپولیز ناشی از کاتکولامین را مختل می‌کند. در آزمودنی‌های چاق، عمل آنتی لیپولیتیک کاتکولامین‌ها به ویژه اپی نفرین، تمایل زیادی به α 2-ARs را نشان داده است. نقش مهمی برای تعادل نسبت α 2 / β -AR در تنظیم لیپولیز و تعادل انرژی بیان شده است، زیرا کاتکولامین‌ها هر دو گیرنده α 2 (به طور منفی با آدنیل سیکلاز جفت می‌شود) و گیرنده β (به طور مثبت با آدنیل سیکلاز جفت می‌شود) را فعال می‌کنند (۱۹) به خوبی مشخص شده است که β -ARs نیز به سطح بالاتر کاتکولامین‌ها دارد تا بتواند فعال شود و سیگنال پایدارتری را تحویل دهد (۳۵). در مطالعه حاضر، عدم تاثیر معنی‌دار هر دو نوع تمرین بر بیان β -ARs احتمالاً به دلیل عمل آنتی لیپولیتیک کاتکولامین‌ها باشد و تغذیه شدن رت‌ها با رژیم غذایی پرچرب سبب قوی‌تر شدن عمل آنتی لیپولیتیک کاتکولامین‌ها و اختلال در بیان معنی‌دار β -ARs باشد

سلولی شکل می‌گیرد (۱۲) و در طی هایپوکسی افزایش می‌یابد (۲۵). آدنوزین همچنین به صورت داخل سلولی، در طی هایپوکسی و ایسکمی نیز تشکیل می‌شود (۲۶). A2ARs، عملکرد سلول‌های بتا (۲۷) و هومئوستازی گلوکز را تنظیم می‌کنند (۲۸). از طرفی دیگر، بافت چربی قهوه‌ای در اثر تمرین استقامتی، توسط سیستم عصبی سمپاتیک با انتشار همزمان کاتکولامین‌ها و فعال شدن گیرنده‌های β آدرنرژیک، فعال می‌شود. نوراپی نفرین، رهایی آدنوزین از چربی قهوه‌ای را بدون هیچ تغییری در ATP خارج سلولی افزایش می‌دهد و بیان کننده ارتباط متقابل خارج سلولی بین سیگنالینگ کاتکولامین و آدنوزین است. A2ARs در بافت چربی، منجر به افزایش cAMP و فعال کننده تکثیر پراکسی زومی (PGC- α) می‌شود که ترموزن و لیپولیز در سلول‌های چربی قهوه‌ای را افزایش می‌دهد (۱۵). هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، تحریک دارویی A2ARs نیز موجب بیان A2ARs و در نتیجه چربی قهوه‌ای شدن سلول‌های چربی سفید شد. گزارش شده، گیرنده‌های A2A و A2B آدنوزین، لیپولیز سلول‌های چربی قهوه‌ای در موش‌ها را تا دو برابر افزایش می‌دهد (۱۴) و در نهایت محافظت موش در برابر چاقی ناشی از رژیم غذایی را در پی دارد (۱۴). همچنین، موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب درمان شده با آگونست A2ARs، دارای بهبود تحمل گلوکوزی و لاغرتر هستند (۲۹). در مطالعه اخیر چاپ شده در مجله نیچر، گناد و همکارانش نیز نشان دادند که آدنوزین، لیپولیز و برنامه ترموزنیک سلول‌های چربی سفید و قهوه‌ای در انسان‌ها و موش‌ها را فعال می‌کند. این پدیده به طور معنی داری با غلظت کمتر آدنوزین در سلول‌های چربی قهوه‌ای نسبت به سفید رخ می‌دهد (۱۴). از آنجا که مطالعه‌ای در رابطه با اثر تمرین ورزشی بر گیرنده‌های آدنوزین به خصوص گیرنده A2A آدنوزین در بافت چربی قهوه‌ای در دسترس نبود، به بررسی نتایج اثرات تمرین شنا با شدت متوسط بر تولیدات آدنوزین جریان خون قلب رت‌های دارای فشار خون نرمال پرداختیم. نتایج افزایش آدنوزین در جریان خون قلب و به دنبال آن افزایش جریان خون کرونر و آنژیوژنز را گزارش کردند (۱۷) که هم راستا با نتایج اثر تمرین استقامتی بر گیرنده A2A آدنوزین در پژوهش حاضر است. اما در مخالفت با نقش آدنوزین یا گیرنده‌های آن، قبلاً نشان داده‌اند در بافت چربی قهوه‌ای، آدنوزین تولید cAMP در رت‌ها و همستر را مهار می‌کند و مصرف اکسیژن و لیپولیز نیز کاهش می‌یابد (۳۰). در رابطه با عدم تاثیر معنی‌دار تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان A2ARs شاید بتوان مناسب نبودن شدت و مدت

شدت بالا بر بیان ژن $\beta 3$ -ARs و A2ARs در بافت چربی قهوه‌ای، نتوانستیم به طور مستقیم به مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مشابه با آن پردازیم. ذکر این نکته ضروری است که علاوه بر اثر فعالیت ورزشی بر بافت چربی قهوه‌ای، جنسیت نیز بر بافت چربی اثرگذار است (۳۸). در مطالعات آتی برای آشکار شدن بهتر اثر فعالیت‌های ورزشی بر متغیرهای مطالعه حاضر پیشنهاد می‌شود مدت و شدت تمرین، جنس آزمودنی‌ها و عوامل هورمونی مانند کاتکولامین‌ها و نسبت گیرنده‌های آلفا به بتا آدرنرژیک را به عنوان فاکتورهای مهم مورد توجه قرار داد. در نهایت، با توجه به میانگین‌های افزایشی به دست آمده در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل می‌توان بیان کرد اجرای تمرین ورزشی در مقایسه با بی‌حرکی برای بهبود بیان ژن‌های $\beta 3$ -ARs و A2ARs و به دنبال آن وقایع ناشی از چاقی می‌تواند مفید باشد. اما در رابطه با نوع تمرین، تمرین استقامتی در مقایسه با تمرین تناوبی با شدت بالا اثرات افزایشی معنی‌داری بر بیان ژن A2ARs و همچنین اثر بیشتری در افزایش بیان ژن گیرنده $\beta 3$ -AR داشته است که نشان دهنده مناسب و موثرتر بودن این نوع تمرین در جلوگیری از چاقی ناشی از رژیم غذایی نامناسب یا پرچرب و کاهش وزن است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارکنان مرکز تحقیقات شهید میرغنی تشکر و قدردانی می‌شود.

(۱۹). در مخالفت با نتایج مطالعه حاضر، اوگاساوارا و همکاران به بررسی اثر تمرین استقامتی بر رسپتورهای بتا آدرنرژیک پرداختند. آنها بیان کردند با اجرای تمرین استقامتی، گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در سلول‌های چربی تحریک شده، افزایش یافته و به تولید cAMP درون سلولی و متعاقباً فعالیت PKA منجر می‌شود. بنابراین، افزایش تعداد گیرنده‌های بتا آدرنرژیک بیان شده در سطح سلول نقش کلیدی در تنظیم بالایی لیپولیز بازی می‌کند (۳۶). دلیل این نتیجه متضاد با نتایج ما، احتمالاً به دلیل عدم مصرف رژیم غذایی پر چرب و اثر لیپولیتیکی کاتکولامین‌ها بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، به خصوص $\beta 3$ -ARs باشد. از سویی دیگر شدت و مدت تمرین نیز موثر بر نتایج حاصل بود. در مطالعه‌ای دیگر، چن و همکارانش به بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر $\beta 3$ -ARs در بیماران انفارکتوس قلبی پرداختند. پروتکل تمرین هوازی شامل ۵ جلسه در هفته تمرین دویدن بر روی تردمیل بود و در هفته اول با ۱۰ دقیقه دویدن با شیب ۵ درجه و سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز شد و طی هفته دوم به ۱۶ دقیقه دویدن با شیب ۵ درجه و سرعت ۱۶ متر بر دقیقه افزایش یافت و در طول آزمایش ثابت ماند. نتایج نشان داد نسبت بیان ژن $\beta 2$ -ARS/ $\beta 1$ -ARS و بیان ژن $\beta 3$ -ARS در گروه بدون تمرین، نرمال بود اما در گروه تمرین هوازی افزایش معنی‌داری یافته بود (۳۷)، این افزایش احتمالاً حاکی از تاثیر تمرین هوازی بر بیان ژن $\beta 3$ -ARS و عدم مصرف رژیم غذایی پر چرب است. با توجه به جستجوی ما در پایگاه‌های اطلاعاتی و پژوهش‌های محدود مشابه درباره تاثیر تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با

REFERENCES

1. Bayati M. Physical inactivity and sedentary lifestyle. *IJEM* 2012;13:537-9.
2. Malnick SD, Knobler H. The medical complications of obesity. *QJM* 2006;99:565-79.
3. Lowell BB, Flier JS. Brown adipose tissue, $\beta 3$ -adrenergic receptors, and obesity. *Annu Rev Med* 1997;48:307-16.
4. Lowell BB, Spiegelman BM. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature* 2000;404:652-60.
5. Kajimura S, Saito M. A new era in brown adipose tissue biology: molecular control of brown fat development and energy homeostasis. *Annu Rev Physiol* 2014;76:225-49.
6. Thuzar M, Ho KK. Mechanisms in endocrinology: Brown adipose tissue in humans: regulation and metabolic significance. *Eur J Endocrinol* 2016;175:R11-25.
7. Chaves VE, Frasson D, Kawashita NH. Several agents and pathways regulate lipolysis in adipocytes. *Biochimie* 2011;93:1631-40.
8. Brasaemle DL. Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *J Lipid Res* 2007;48:2547-59.
9. Tataranni PA, Young JB, Bogardus C, Ravussin E. A low sympathoadrenal activity is associated with body weight gain and development of central adiposity in Pima Indian men. *Obes Res* 1997;5:341-7.

10. Takahashi A, Tabuchi M, Suzuki W, Iizuka S, Nagata M, Ikeya Y, et al. Insulin resistance and low sympathetic nerve activity in the Tsumura obese diabetic mouse: a new model of spontaneous type 2 diabetes mellitus and obesity. *Metabolism* 2006;55:1664-9.
11. Eisenstein A, Ravid K. G Protein-Coupled Receptors and Adipogenesis: A Focus on Adenosine Receptors. *J Cell Physiol* 2014;229:414-21.
12. Lynge J, Juel C, Hellsten Y. Extracellular formation and uptake of adenosine during skeletal muscle contraction in the rat: role of adenosine transporters. *J Physiol* 2001;537:597-605.
13. Sipilä PN, Knuuti J, Boushel R, Kalliokoski KK. Effects of adenosine, exercise, and moderate acute. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012;302:R385-90.
14. Gnad T, Scheibler S, von Kügelgen I, Scheele C, Kilić A, Glöde A, et al. Adenosine activates brown adipose tissue and recruits beige adipocytes via A2A receptors. *Nature* 2014;516:395-9.
15. Rines AK, Verdegue F, Puigserver P. Adenosine activates thermogenic adipocytes. *Cell Res* 2015;25:155.
16. Mubagwa K, Flameng W. Adenosine, adenosine receptors and myocardial protection: an updated overview. *Cardiovasc Res* 2001;52:25-39.
17. Roque FR, Soci UPR, Angelis KD, Coelho MA, Furstenau CR, Vassallo DV, et al. Moderate exercise training promotes adaptations in coronary blood flow and adenosine production in normotensive rats. *Clinics* 2011;66:2105-11.
18. Camera DM, Anderson MJ, Hawley JA, Carey AL. Short-term endurance training does not alter the oxidative capacity of human subcutaneous adipose tissue. *Eur J Appl Physiol* 2010;109:307-16.
19. Richterova B, Stich V, Moro C, Polak J, Klimcakova E, Majercik M, et al. Effect of endurance training on adrenergic control of lipolysis in adipose tissue of obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1325-31.
20. 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 Sci* 2016;165:100-8.
21. Carlsson B. Ethical issues in animal experimentation--view of the animal rightist. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;554:50-68.
22. Golozoubova V, Gullberg H, Matthias A, Cannon B, Vennström Br, Nedergaard J. Depressed thermogenesis but competent brown adipose tissue recruitment in mice devoid of all hormone-binding thyroid hormone receptors. *Mol Endocrinol* 2004;18:384-401.
23. Rose AJ, Richter EA. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated?. *Physiol* 2005;20:260-70.
24. Koos BJ. Adenosine A(2a) receptors and O(2) sensing in development. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011;301:R601-22.
25. Leuenberger UA, Gray K, Herr MD. Adenosine contributes to hypoxia-induced forearm vasodilation in humans. *J Appl Physiol* (1985) 1999;87:2218-24.
26. Heinonen I, Kempainen J, Kaskinoro K, Peltonen JE, Sipilä HT, Nuutila P, et al. Effects of adenosine, exercise, and moderate acute hypoxia on energy substrate utilization of human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011;302:R385-90.
27. Girgis CM, Cheng K, Scott CH, Gunton JE. Novel links between HIFs, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:372-80.
28. Haskó G, Pacher P. A2A receptors in inflammation and injury: lessons learned from transgenic animals. *J Leukoc Biol* 2008;83:447-55.
29. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhratsky A, Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci* 2009;32:19-29.
30. Schimmel RJ, McCarthy L. Role of adenosine as an endogenous regulator of respiration in hamster brown adipocytes. *Am J Physiol* 1984;246:C301-7.
31. Pistor KE, Sepa-Kishi DM, Hung S, Ceddia RB. Lipolysis, lipogenesis, and adiposity are reduced while fatty acid oxidation is increased in visceral and subcutaneous adipocytes of endurance-trained rats. *Adipocyte* 2015;4:22-31.
32. Silva AS, Zanesco A. Physical exercise, β -adrenergic receptors, and vascular response. *J Vasc Bras* 2010;9:47-56.
33. Collins S, Daniel KW, Petro AE, Surwit RS. Strain-Specific Response to β 3-Adrenergic Receptor Agonist Treatment of Diet-Induced Obesity in Mice. *Endocrinology* 1997;138:405-13.

34. Kumar A, Gallagher EJ, Shiloach J, Betenbaugh MJ. The beta-3 adrenergic agonist (CL-316,243) restores the expression of down-regulated fatty acid oxidation genes in type 2 diabetic mice. *Nutr Metab* 2015;12:8.
35. Lladó I, Rodríguez-Cuenca S, Pujol E, Monjo M, Estrany ME, Roca P, et al. Gender Effects on Adrenergic Receptor Expression and Lipolysis in White Adipose Tissue of Rats. *Obes Res* 2002;10:296-305.
36. Ogasawara J, Izawa T, Sakurai T, Sakurai T, Shirato K, Ishibashi Y, et al. The molecular mechanism underlying continuous exercise training-induced adaptive changes of lipolysis in white adipose cells. *J Obes* 2015:10.
37. Chen T, Cai MX, Li YY, He ZX, Shi XC, Song W, et al. Aerobic exercise inhibits sympathetic nerve sprouting and restores β -adrenergic receptor balance in rats with myocardial infarction. *PLoS One* 2014;9:e97810.
38. Roca P, Rodriguez AM, Oliver P, Bonet ML, Quevedo S, Picó C, et al. Brown adipose tissue response to cafeteria diet-feeding involves induction of the UCP2 gene and is impaired in female rats as compared to males. *Pflugers Arch* 1999;438:628-34.