

تأثیر هم‌زمان تمرین هوازی و اکتاپامین بر سطوح بافتی انفلامازوم NLRP1، لپتین، پروتئین کربونیل و تغییرات بافت‌شناسی بافت چربی قهوه‌ای در رت‌های تغذیه شده با روغن حرارت دیده عمیق

ناهد درویش زاده^۱، کمال عزیزبگی^۲، ظاهر اعتماد^۳

^۱ گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران، ^۲ گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران، ^۳ گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: مصرف غذاهای ترد و عدم رعایت بهداشت تغذیه باعث تخریب هموستاز بافت چربی و ترشح فاکتورهای التهابی می‌شود. تمرین ورزشی هوازی از جمله راهکارهای کنترل کننده التهاب ناشی از بافت چربی است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و هم‌زمان تمرین هوازی و اکتاپامین بر سطوح بافتی انفلامازوم NLRP1، لپتین، پروتئین کربونیل و تغییرات بافت‌شناسی بافت چربی قهوه‌ای در رت‌های تغذیه شده با روغن حرارت دیده عمیق بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (سن ۲۰ هفته؛ وزن 20 ± 350 گرم) به طور تصادفی در گروه‌های کنترل سالم (تعداد=۸)، کنترل مسموم با روغن حرارت دیده (تعداد=۸)، مسموم + تمرین هوازی (تعداد=۸)، مسموم + اکتاپامین (تعداد=۸) و مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین (تعداد=۸) قرار داده شدند. روغن حرارت دیده به صورت خوراکی (گاواژ) و به مدت ۴ هفته به رت‌های مربوطه خوراند. دوز مورد استفاده اکتاپامین ۸۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی (IP) و حل شده با نرمال سالین ۹ درصد بود. گروه‌های تمرینات هوازی نیز به مدت ۴ هفته بر روی نوارگردان با شدت فزاینده در هفته اول ۵۰ درصد توان هوازی تمرین کردند و در هفته آخر شدت تمرین به ۶۵ درصد توان هوازی رسید. میزان غلظت هورمون لپتین، پروتئین کربونیل با استفاده از روش الیزا و تغییرات بافت چربی قهوه‌ای با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین_ائوزین و IHC بررسی شد. جهت تعیین تغییرات ژن و پروتئین NLRP1 به ترتیب روش‌های Real time PCR و ایمونوهیستوشیمی به کار گرفته شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس دوطرفه و تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در تمام گروه‌های مسموم افزایش معنی‌دار در بیان ژن و پروتئین NLRP1 و همچنین افزایش مقادیر پروتئین کربونیل و لپتین نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد ($p < 0.05$). نتایج نشان داد که بیان ژن و پروتئین NLRP1 در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی و مسموم + اکتاپامین کاهش معنی‌دار نسبت به گروه مسموم دارند ($p < 0.05$). همچنین بیان پروتئین NLRP1 در گروه مسموم - هوازی + اکتاپامین در مقایسه گروه کنترل مسموم دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در حالی که بیان این ژن در گروه مسموم - هوازی + اکتاپامین تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه مسموم نداشت. نتایج حاکی از کاهش معنی‌دار غلظت پروتئین کربونیل در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی و مسموم + اکتاپامین نسبت به گروه مسموم بود، اما این نتیجه در مورد گروه مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین مشاهده نشد. غلظت لپتین نیز در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی، (مسموم + اکتاپامین و مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین کاهش معنی‌دار نسبت به گروه مسموم داشت.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد استفاده از مکمل اکتاپامین در کنار تمرین ورزشی هوازی با کنترل NLRP1 و کاهش لپتین در کنترل عوامل خطر ناشی از بافت چربی مؤثر باشند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، اکتاپامین، NLRP1، لپتین، پروتئین کربونیل، روغن حرارت دیده عمیق

*نویسنده مسئول: کمال عزیزبگی، سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: kazizbeigi@gmail.com

مقدمه

چاقی یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی می‌باشد که می‌تواند هزینه‌های سرسام‌آوری برای کشورهای مختلف به بار آورد (۱-۴). علت اصلی چاقی و آسیب‌های ناشی از آن، عدم رعایت بهداشت غذایی و عدم تعادل بین کالری دریافتی و کالری مصرفی بر می‌گردد (۵-۷). استفاده از چربی‌های اشباع، کلسترول، مواد قندی، غذاهای پر انرژی به ظاهر جذاب و در نهایت تغییرات الگوی رژیم غذایی امروزه در وعده غذایی بیشتر افراد روغن حرارت دیده عنصر اصلی رژیم غذایی بوده و به همین دلیل نگرانی‌ها در مورد تأثیر آن بر سلامت انسان برجسته شده است (۸). سرخ کردن بیش از حد روغن یک روش آشپزی سنتی و رایج است که به دلیل راحتی و تأثیرات بی‌نظیر آن بر طعم و بافت مواد غذایی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹). با وجود این استفاده از این مواد غذایی تعدادی از واکنش‌های شیمیایی پیچیده مانند؛ هیدرولیز، اکسیداسیون و پلیمریزاسیون را فعال می‌کند (۱۰). این محصولات واکنشی، در روغن انباشته شده و باعث تغییر در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مانند ویسکوزیته، ترکیب اسیدهای چرب و مواد قطبی را سبب می‌شوند (۱۱). گزارش شده است مصرف غذاهای سرخ شده با روغن داغ سبب گسترش بافت چربی سفید و افزایش فعالیت التهابی آن می‌شود (۱۲ و ۱۳). بافت چربی سفید با ترشح فاکتورهای التهابی منجر به گسترش التهاب شده (۱۴)، در حالی که بافت چربی

قهوه‌ای به سبب وجود میتوکندری فراوان، قادر به تولید گرمای بیشتر و تأثیرات مفیدتری نسبت به بافت چربی سفید است (۱۵). در هر حال فاکتورهایی مانند پروتئین لپتین به وسیله بافت چربی سفید در بدن انسان ساخته و در خون رها شده و از راه‌های مختلف موجب کاهش اشتها و افزایش مصرف می‌گردد و در واقع باعث زیاد چاق شدن ما می‌شود (۱۶). در این ارتباط تاکاهاشی و ایده گزارش دادند که رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با رژیم غذایی کم چرب، میزان mRNA لپتین در بافت چربی سفید را دو برابر کرد (۱۷). گزارش شده است لپتین باعث کاهش لیپوژنز، افزایش هیدرولیز تری‌گلیسیرید و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب شده (۱۸) و سیگنال سمپاتیک را به هر دو بافت چربی قهوه‌ای (۱۹) و بافت چربی سفید (۲۰) جهت لیپولیز افزایش می‌دهد. با وجود این در شرایط تغذیه‌ای نامناسب می‌تواند عملکرد لپتین را تحت تأثیر قرار دهد. از طرف دیگر استفاده از روغن‌های حرارت دیده داغ با ایجاد فشار اکسیداتیو منجر به سلسه واکنش‌های زنجیره‌ای و تخریب ساختارهای پروتئینی و از بین رفتن عملکرد پروتئین و در نهایت تولید پروتئین‌های کربونیل شده می‌شود (۲۱). افزایش بیش از حد محتوای پروتئین کربونیل باعث ایجاد تغییرات قابل توجهی در ساختار پروتئین می‌شود که منجر به تشکیل پروتئین‌های مقاوم به پروتئاز شده و منجر به مرگ سلولی در اثر سمیت آن شوند. از طرفی دیگر بافت چربی احشایی در التهاب سیستمیک نقش بسزایی دارد. نشان داده

لپتین بر بافت چربی نیز تأثیرگذار باشد. همچنین اکتاپامین یک ماده آدرنرژیک محسوب می‌گردد. از اثرات اکتاپامین می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی، اثرات ضد التهابی، کاهش وزن و چربی سوزی و ضد سرطان اشاره کرد (۲۶) که می‌تواند عملکرد NLRP و همچنین پروتئین کربونیل را خنثی کند. با وجود پژوهش‌های انجام شده به نظر می‌رسد تأثیر تمرینات ورزشی بر التهاب و عوامل خطر قلبی - عروقی قطعیت ندارد و ممکن است نیاز استفاده از برخی از مکمل‌ها از جمله مکمل‌های گیاهی جهت افزایش اثرات دوجانبه کاهش عوامل التهاب باشد. (۲۷): آیریزین هورمون تحریک شده با فعالیت ورزشی است که تبدیل بافت چربی سفید به بافت چربی شبه قهوه‌ای را تحریک می‌کند. این مایوکاین به عنوان یک مکانیسم احتمالی جدید برای کاهش وزن ناشی از تمرینات ورزشی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. در رابطه با سایر تغییرات بافت چربی با تمرین ورزشی بیسال و همکاران بیان کردند که تمرین ورزشی هوازی منظم با کاهش اشتها و افزایش سطوح آیریزین مغزی و بافت چربی سفید همبستگی دارد (۲۸). با این حال تغییرات بافت چربی قهوه‌ای و با لپتین و فاکتورهای انفلامازوم NLRP1 در کنار تمرین ورزشی به ویژه با اکتاپامین ارزیابی نشده است. با توجه به محدودیت پژوهش‌های انجام شده در این زمینه و گسترش شیوع مصرف غذاها با

شده است که NLRPها^(۱) نیز در القای التهاب مؤثر می‌باشند. (حوزه الیگومریزاسیون متصل به نوکلئوتید، حاوی تکرار غنی از لوسین و دامنه پیرین)، که به اختصار NALP نامیده می‌شود، نوعی گیرنده شبه NOD^(۲) است. پروتئین‌های NLRP بخشی از ایمنی ذاتی هستند و مشخصات پاتوژن محافظت شده مانند پپتیدو گلیکان را تشخیص می‌دهند. NLRP1 اولین پروتئین NLR است که به عنوان یک عامل التهاب تشریح شده است. NLRP1 برای تشکیل التهاب مکانیزم‌های مختلفی را درگیر می‌کند؛ از جمله آنها می‌توان به استخدام ASC برای فعال کردن کاسپاز-۱، interleukin-1 β و interleukin-18 اشاره کرد (۲۲). در هر حال پژوهش‌های زیادی با استفاده از مداخله‌های دارویی و غیر دارویی مانند تمرینات ورزشی جهت کاهش عوامل التهاب و عوامل خطر فاکتورهای قلبی - عروقی پرداخته‌اند و گاهی منتهی به نتایج متناقض شده است (۲۳). گاداگو و همکاران در بررسی تأثیر تمرینات ورزشی هوازی بر آپلین و گرلین را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ گزارش کرده‌اند که تمرین اختیاری ویل رانینگ مقادیر mRNA لپتین را کاهش داد که این کاهش با تقلیل در حجم بافت آدیپوز هم‌سو بود (۲۴).

اکتاپامین نام یک آمین بیوژنیک درون زا است که ارتباط نزدیکی با نوراپی نفرین دارد و بر روی سامانه‌های آدرنرژیک و دوپامینرژیک تأثیرگذار است. اکتاپامین از نظر بالینی به عنوان یک داروی مقلد سمپاتیک تجویز می‌شود (۲۵)، لذا می‌تواند در کنار

1-NLR Family Pyrin
2-NOD-like receptor

روغن حرارت دیده در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا تأثیر تمرین ورزشی و مکمل اکتاپامین بر NLRP1، لپتین، پروتوئین کربونیل و تغییرات بافت چربی قهوه‌ای در رت‌های تغذیه شده با روغن حرارت دیده عمیق مورد بررسی قرار دهیم.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار (سن ۲۰ هفته، وزن 20 ± 350 گرم) از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و پس از انتقال رت‌ها به محیط جدید حیوانات در شرایط کنترل شده با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر)، دما (22 ± 3 سانتی‌گراد) و رطوبت (حدود ۴۵ درصد) نگهداری شدند. تعداد ۳-۵ رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری شدند، که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. تمامی مراحل نگهداری و کشتار رت‌ها بر اساس ضوابط کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شد. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه به طور تصادفی در گروه‌های کنترل سالم (تعداد=۸)، کنترل مسموم (تعداد=۸)، مسموم + تمرین هوازی (تعداد=۸)، مسموم + اکتاپامین (تعداد=۸)، مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین (تعداد=۸) قرار داده شدند.

به منظور تهیه روغن حرارت دیده بر اساس بررسی‌های پیشین از ۸ لیتر روغن آفتاب گردان مخصوص سرخ کردن استفاده شد. روغن به مدت ۴ روز متوالی روزی ۸ ساعت با حرارت ۱۹۰-۲۰۰ درجه سانتی‌گراد داغ شده و هر ۳۰ دقیقه مواد غذایی مرغ، سیب زمینی، مرغ و فرآورده‌های پروتئینی سوسیس و کالباس داخل روغن غوطه‌ور شده و در انتها روغن در روز چهارم به منظور استفاده به عنوان مداخله مسمومیتی تا زمان اجرا نگهداری و به صورت خوراکی (گاواژ) به مدت ۴ هفته به رت‌ها خوراندند شد (۲۹).

مکمل اکتاپامین به مدت ۴ هفته، ۵ روز در هفته تجویز شد، دوز مورد استفاده اکتاپامین بر اساس مقالات ۸۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تزریق درون صفاقی IP و حل شده با نرمال سالین ۹ درصد بود که از شرکت (۳۰) سیگما آلدریج تهیه گردید.

برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته و با شدت متوسط بر روی نوارگردان حیوانی (تجهیز گستر ایرانیان، مدل ۲۰۱۶) انجام پذیرفت، شدت تمرین در هفته اول ۵۰ درصد vo_{2max} و در هفته ی آخر به ۶۵ درصد vo_{2max} رسید. به منظور سازگاری تمرینی، رت‌ها قبل از شروع برنامه اصلی تمرینی یک هفته تمرین سازگاری با سرعت ۹ متر بر دقیقه، به مدت ۲۰ دقیقه انجام دادند. مدت زمان تمرین بر اساس ۲۰ دقیقه ثابت بوده و شدت تمرین از روز اول ۱۶ متر بر دقیقه و در روز آخر به ۲۶ متر بر دقیقه رسید. برای شروع تمرین ۵ دقیقه با سرعت ۷ متر بر دقیقه گرم کردن و

ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد. نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب آن ۱ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. مایع رویی تخلیه گردید و پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. میزان ۲۰ لاندا آب مقطر ۶۰ درجه بر روی پلاک ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه ۶۰ درجه قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان NLRP1 از روش کمی Real time-PCR انجام شد. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های NLRP1 و GAPDH در بانک ژنی NCBI و به وسیله شرکت ماکروژن انجام شد. از ژن گلیسرآلدئید-۳ فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به روش زیر محاسبه شد.

به این صورت که ابتدا سیکل آستانه ژن مورد نظر هر نمونه را از سیکل آستانه ژن خانه‌گردان همان نمونه کم شد.

پس از تمرین اصلی ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه سرد کردن در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است در طول برنامه تمرینی از هیچ گونه شوک تمرینی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست و یا ایجاد محرک صوتی بر روی درپوش ریل‌های نوارگردان، حیوانات مجبور به ادامه تمرین شدند (۳۱).

پس از ۴ هفته، کلیه رت‌ها با تزریق کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند سپس بافت چربی قهوه‌ای رت‌ها از ناحیه کتف رت‌ها به طول دو سانتی‌متر قطع گردید و در پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از مرحله تثبیت اولیه، برش ۵ میکرومتری از ناحیه بافت چربی قهوه‌ای تهیه و رنگ‌آمیزی H&E برای ارزیابی‌های بافتی انجام شد. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. برای این کار، میزان ۲۰۰ لاندا کیاژول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- انکوبه شد. پلاک موجود در کرایوتیوب در حالت نیمه انجماد خرد شد و به منظور لیز نمونه‌ها میزان ۱۰۰ لاندا کلروفرم به مدت ۱ دقیقه به آنها اضافه شد. محلول حاصل، با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. ۱ میلی‌لیتر

($\Delta Ct = Ct \text{ Target} - Ct \text{ Housekeeping}$)

در مرحله بعد، ΔCt هر نمونه را از نمونه‌ای که نسبت به آن نیاز بود مقایسه شود کم کرده، منفی عدد به دست آمده را به توان دو رسانده و بیان نسبی ژن NLRP1 را به دست می‌آوریم.

$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ Target} - \Delta Ct \text{ Reference}$ E= 2

توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ گزارش شده است.

حیوانات پس از طی زمان مذکور (۴ هفته) و تزریق درون صفاقی کتامین و زایلارین بیهوش شده و قسمتی از بافت چرب قهوه‌ای آنها بلافاصله استخراج و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از تثبیت نمونه‌ها، بافت‌های قالب‌گیری شده در پارافین به وسیله دستگاه میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر گرفته شد. برش‌های به دست آمده به منظور بازیابی آنتی‌ژنی، در بافر TBS1X (pH: 9.2) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه انکوبه شد. سپس تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده گردید. پس از شست و شو با PBS، سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده ضد NLRP1 (۱ به ۱۰۰) با PBS به مدت یک شب به نمونه اضافه گردید و در دمای ۲ تا ۸ درجه انکوبه شد. پس از شست و شو با PBS آنتی‌بادی ثانویه متصل شده با رنگ FITC اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲ ساعت در تاریکی انکوبه گردید. در نهایت به منظور رنگ‌آمیزی هسته، به نمونه‌ها DAPI اضافه شد. در مرحله آخر نمونه به

وسیله میکروسکوپ فلوروسنت مدل Olympus و با لنز ۴۰۰ برای تأیید مارکرها مشاهده شدند.

ابتدا بافت را با محلول بافر خنک (PBS) جهت خارج کردن خون اضافه شستشو داده شد و بافت در یک ظرف حاوی یک میلی‌لیتر بافر لیز کننده قرار داده و ظرف در یخ قرار داده شد. سپس مخلوط حاصل به وسیله هموژنایزر به خوبی هموژن شد و مخلوط هموژن شده در ۱۰۰۰۰ گرم به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی جهت سنجش بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به منظور سنجش میزان پروتئین کربونیل شده و لپتین از روش الیزا استفاده شد. در این مطالعه از کیت شرکت

CUSABIO کشور ژاپن با حساسیت کمتر از ۰/۹۷ پیکوگرم در میلی‌لیتر و دامنه تشخیص ۹-۳/۲۵۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر استفاده شد. ابتدا ۷ چاهک به عنوان استاندارد و یک چاهک به عنوان بلانک و به تعداد نمونه‌ها چاهک از کیت جدا شد و به ترتیب به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر محلول استاندارد (سریال استاندارد تهیه شده)، بلانک (محلول رقیق کننده استاندارد) و نمونه هموژن شده افزوده شد، سپس روی آنها به وسیله پلاستیک مخصوص پوشانده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. در ادامه چاهک‌ها را از محلول خالی و از شستشوی آنها اجتناب شد. در ادامه کار، به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول A افزوده و دوباره به وسیله پلاستیک مخصوص روی چاهک‌ها پوشانده

یافته‌ها

نتایج بررسی میکروسکوپی بافت‌شناسی نشان داد که میزان جمعیت سلول‌های چربی سفید در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی و مسموم + اکتاپامین نسبت به گروه کنترل مسموم کاهش قابل توجه داشته است. این در حالی بود که این دو گروه نسبت به گروه کنترل سالم جمعیت سلولی چربی قهوه‌ای کمتری دارند. در گروه مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین نیز جمعیت سلول‌های چربی قهوه‌ای زیاد بوده و نسبت به گروه کنترل نرمال تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

بر اساس نتایج به دست آمده از تصاویر بافتی رنگ‌آمیزی شده با H&E، مشخص شد که در گروه کنترل مسموم (DFO) تعداد بیشتری از سلول‌های بافت چربی سفید جایگزین سلول‌های چربی قهوه‌ای شده است (شکل ۱). تغییرات هیستولوژیک بافت چربی قهوه‌ای را نشان می‌دهد، همان‌طور که مشاهده می‌شود سلول‌ها حاوی قطرات چربی با اندازه‌های مختلف می‌باشند. در این تصاویر سلول‌های چربی قهوه‌ای با هسته‌های گرد و اغلب مرکزی نشان داده شده است. بسیاری از سلول‌ها به صورت چند وجهی و کاملاً فشرده و حاوی قطرات متعدد چربی هستند. در برخی سلول‌ها، قطرات چربی بزرگ و هسته‌ها را به سمت حاشیه سلول جا به جا می‌کند. شبکه‌ای از الیاف کلاژن و مویرگ‌ها نیز سلول‌های چربی قهوه‌ای را احاطه می‌کند (شکل ۱). تغییرات بیان ژن NLRP-1 در نمودار ۱ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج در

شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید. سپس چاهک‌ها خالی و به هر کدام ۳۵۰ میکرولیتر از محلول شستشو افزوده شد و پس از یک تا دو دقیقه خالی شدند. این عمل سه مرتبه تکرار و پس از مرتبه آخر که چاهک‌ها خالی از محلول شده بودند بر روی دستمال کاغذی به طور معکوس قرار داده شد تا محلول داخل چاهک‌ها کاملاً خشک شد. در ادامه به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول B اضافه و روی چاهک‌ها دوباره پوشانده شد و ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس همان مرحله‌ای که چاهک‌ها خالی و به هر کدام ۳۵۰ میکرولیتر از محلول شستشو اضافه شده بود دوباره و به تعداد ۵ مرتبه تکرار شد. سپس به چاهک‌ها ۹۰ میکرو لیتر از سوبسترا افزوده شد و پس از پوشاندن چاهک‌ها با روکش جدید، به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در این مدت رنگ محلول داخل چاهک‌ها به آبی پررنگ تغییر یافت و سپس به چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده (Solution Stop) افزوده شد و به آرامی محلول چاهک‌ها با تکان دادن میکروپلیت مخلوط شدند تا رنگ چاهک‌ها به رنگ زرد تغییر یافت. در نهایت چاهک‌ها به وسیله پلیت ریدر (الیزا ریدر) در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک، آنالیز واریانس دوطرفه و تست تعقیبی بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.

تعامل تمرین و مکمل اکتاپامین نیز موجب کاهش معنی دار بیان پروتئین NLRP-1 نسبت به اثر تک تک تمرین و مکمل گردید ($p=0/044$ ، $\eta_p^2=0/188$) (نمودار ۲ ب).

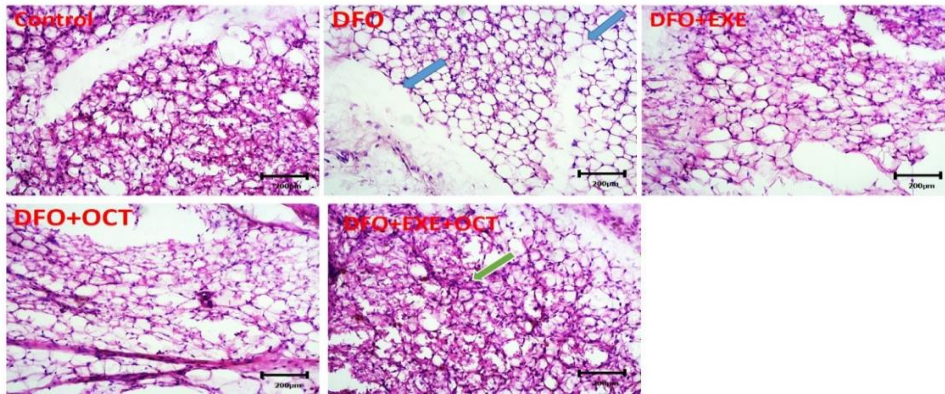
نتایج نشان داد در گروه کنترل مسموم با روغن، در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق غلظت پروتئین کربونیل و هم‌چنین لپتین به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p=0/001$) (نمودار ۳ و الف). مشاهده شد در گروه تمرین هوازی، تمرینات موجب کاهش معنی‌داری در غلظت پروتئین کربونیل ($p=0/002$) و لپتین ($p=0/001$) گردید، در گروه دریافت کننده مکمل اکتاپامین، مشاهده گردید که دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش معنی‌دار غلظت پروتئین کربونیل ($p=0/001$) و غلظت لپتین ($p=0/001$) را در پی داشت (نمودار ۳ و ۴ ب). کاهش میزان غلظت پروتئین کربونیل در گروه تأثیر هم‌زمان تمرین هوازی و دریافت مکمل اکتاپامین از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/933$) (نمودار ۳ ب)، با وجود این تأثیر هم‌زمان مصرف مکمل اکتاپامین و تمرینات هوازی به طور معنی‌داری موجب کاهش غلظت لپتین گردید ($p=0/001$) (نمودار ۴ ب).

اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان ژن NLRP-1 به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p=0/001$). در گروه تمرین هوازی، کاهش معنی‌دار بیان ژن NLRP-1 مشاهده شد ($p=0/001$ ، $\eta_p^2=0/593$). هم‌چنین در گروه دریافت کننده مکمل اکتاپامین نیز مشاهده شد که دریافت اکتاپامین نیز کاهش معنی‌دار بیان ژن NLRP-1 را به همراه داشت ($F=27/028$ ، $p=0/001$ ، $\eta_p^2=0/575$)، با وجود آن که کمترین بیان ژن NLRP-1 در گروه دریافت کننده هم‌زمان تمرین هوازی + مکمل اکتاپامین مشاهده شد، اما تعامل تمرین و اکتاپامین بر بیان این ژن از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/212$ ، $\eta_p^2=0/077$) (نمودار ۱ الف و ب).

تغییرات بیان پروتئین NLRP-1 در شکل ۲ و نمودار ۲ (الف و ب) نشان داده شده است. بر اساس این نتایج در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان پروتئین NLRP-1 به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p=0/001$). در گروه تمرین هوازی، کاهش معنی‌دار بیان پروتئین NLRP-1 مشاهده گردید ($F=218/47$ ، $p=0/001$ ، $\eta_p^2=0/916$). دریافت مکمل اکتاپامین نیز اثر کاهشی معنی‌داری بر بیان پروتئین NLRP-1 نشان داد ($F=433/06$ ، $p=0/001$ ، $\eta_p^2=0/956$) (شکل ۲، نمودار ۲ الف و ب).

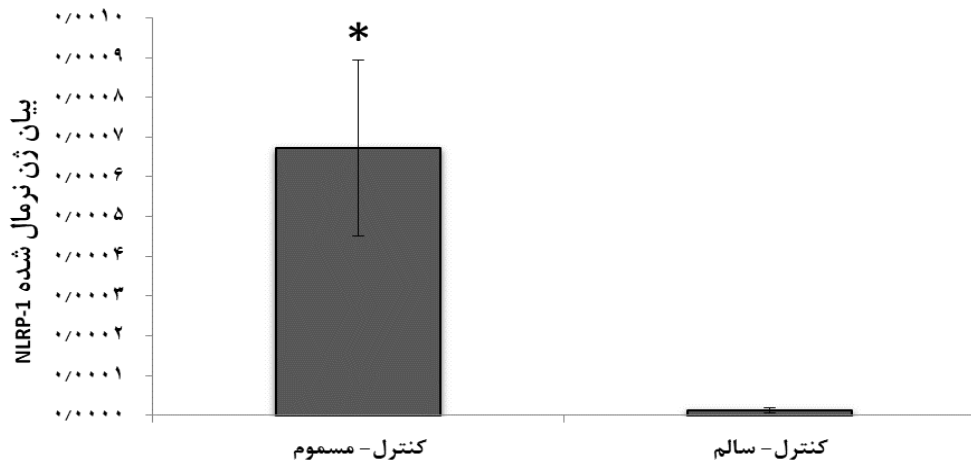
جدول ۱: توالی پرایمر برای فاکتورهای NLRP1 و GAPDH

Gene name	Oligo sequence 5'-3'	Accession Number
NLRP1	F: 5' AGGTGGTTGACAGAGAGAGGA 3' R: 5' ATGTGACTGTGTTGCAAGGGAG 3'	XM_006246755.3
GAPDH	F: 5' AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG 3' R: 5' CATACTCAGCACCAGCATCACC 3'	XM_017593963.1

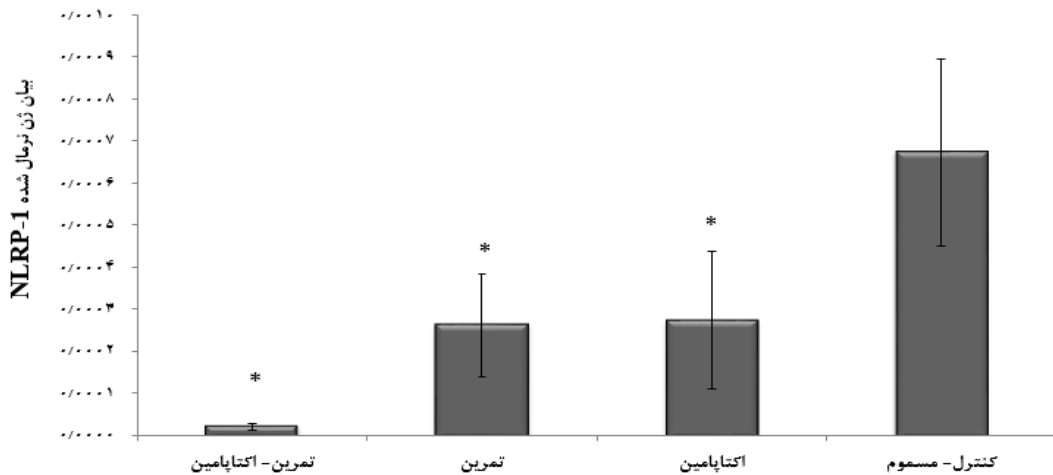


شکل ۱: تغییرات بافت چربی قهوه‌ای به دنبال تمرین ورزشی و مکمل اکتاپامین در موش‌های مسموم شده با DFO (تصاویر H&E با بزرگنمایی ۲۰۰ میکرومتر). گروه DFO بیشترین نفوذ سلول‌های چربی سفید را نشان می‌دهد (فلش آبی) که گروه DFO مصرف کننده مکمل و تمرین ورزشی بیشترین مهار نفوذ چربی سفید را دارد (فلش سبز). کنترل: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO + اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO + تمرین ورزشی + اکتاپامین.

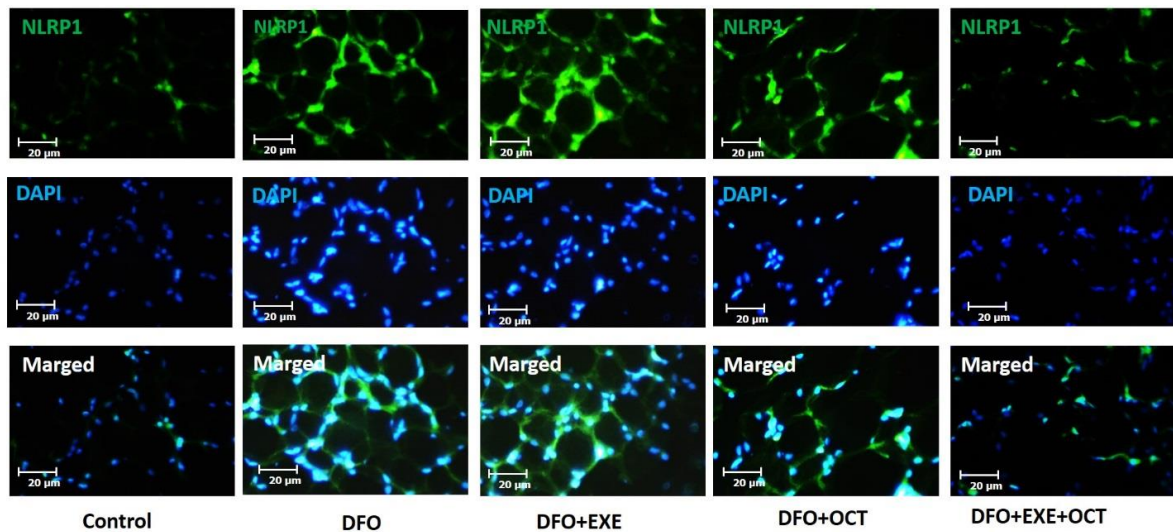
(الف)



(ب)

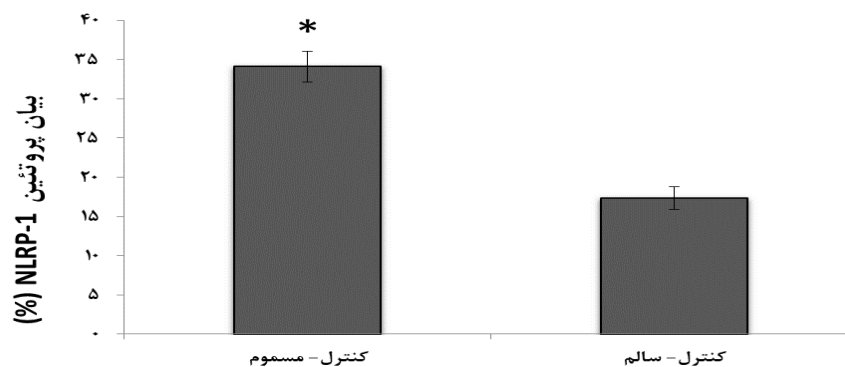


نمودار ۱: مقایسه بیان ژن NLRP-1 در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق (الف و ب). اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. * نشانه افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم.

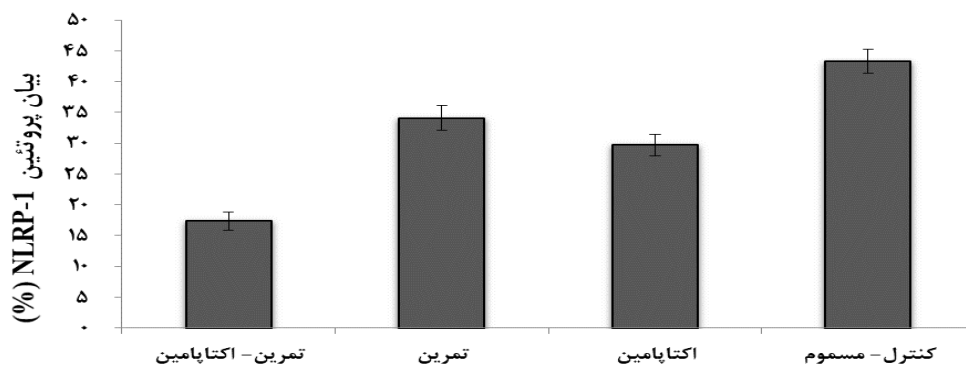


شکل ۲: تغییرات بیان پروتئین NLRP-1 در گروه های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق یا روش IHC (بزرگنمایی ۲۰ میکرومتر). با توجه به تصویر هسته های به رنگ سبز مشخص شده اند و DFO بیشترین بیان پروتئین NLRP1 را نشان می دهد. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق، DFO+EXE: گروه مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق + اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی + اکتاپامین.

(الف)

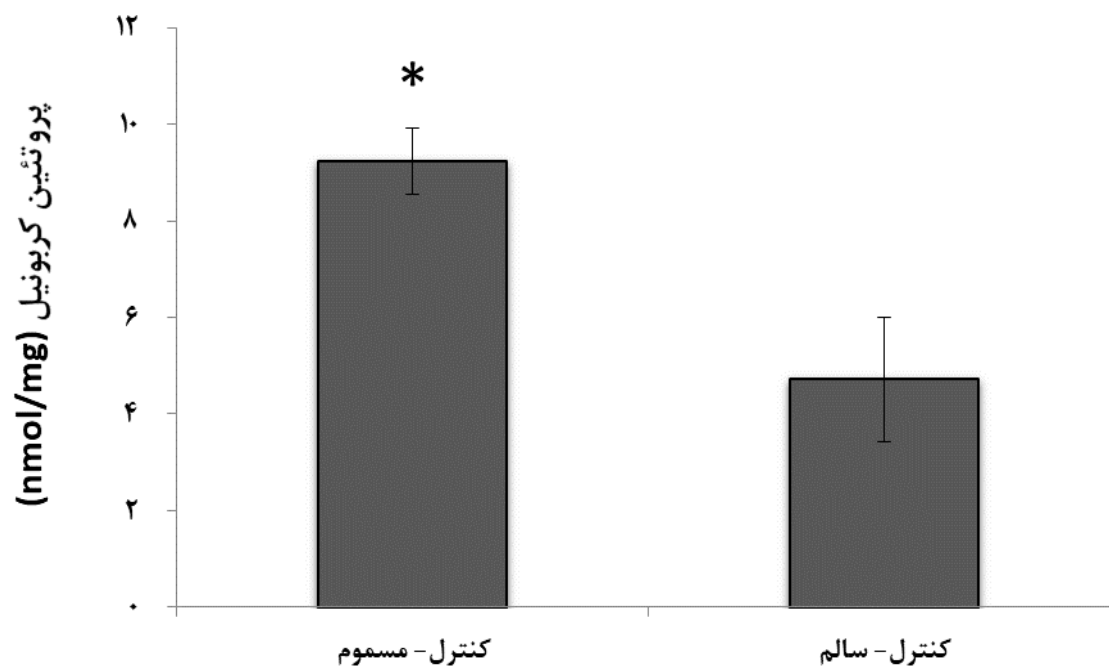


(ب)

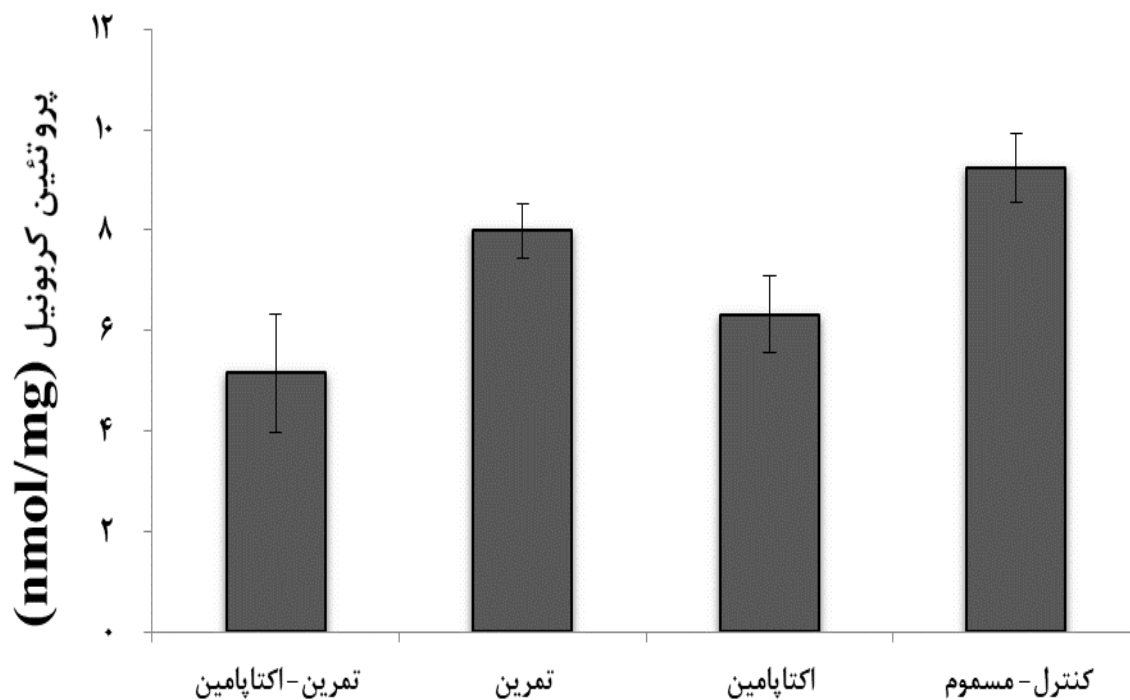


نمودار ۲: مقایسه بیان پروتئین NLRP-1 در گروه های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق (الف و ب). نمودارها مقادیر کمی شده بیان پروتئین NLRP-1 با نرم افزار ImageJ می باشد. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم

(الف)

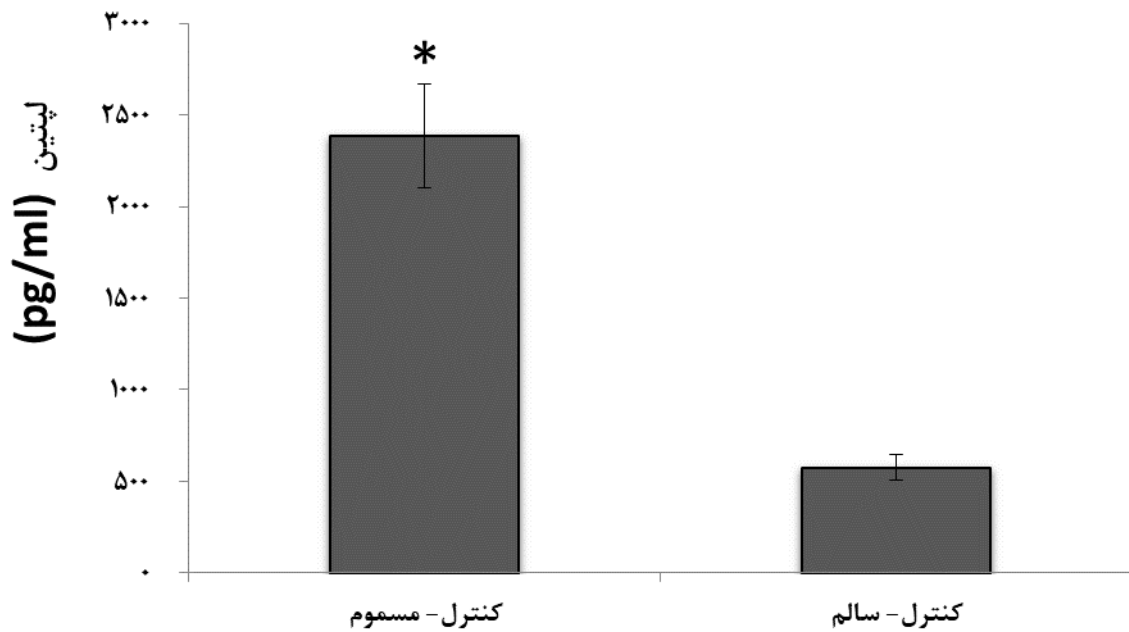


(ب)

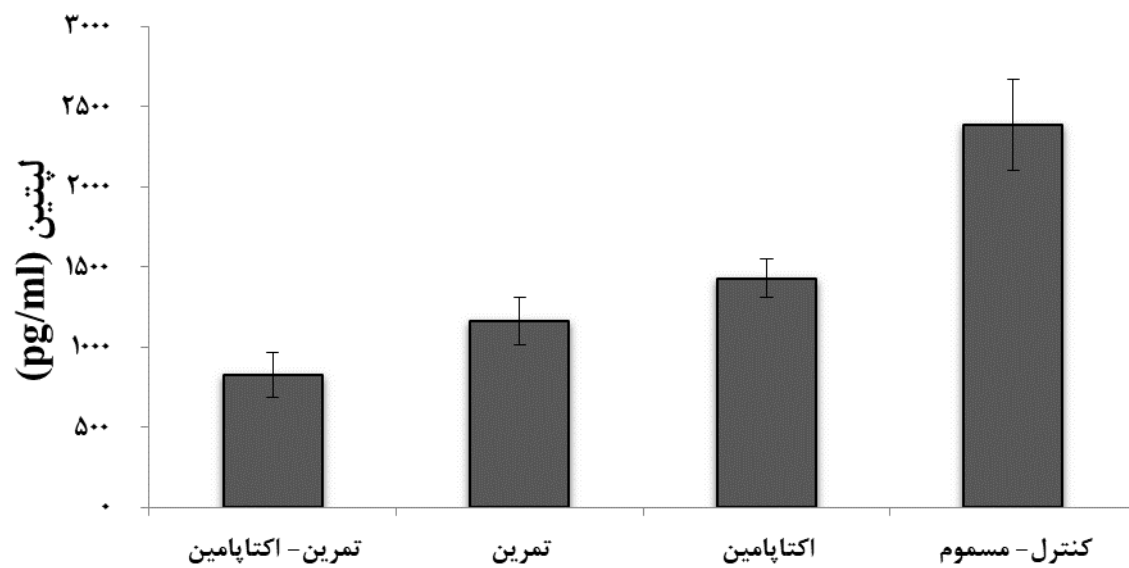


نمودار ۳: مقایسه غلظت پروتئین کربونیل (الف و ب) در گروه های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم ($p < 0.05$)

(الف)



(ب)



نمودار ۴: مقایسه غلظت پروتئین لپتین (الف و ب) در گروه های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم ($P < 0.05$)

بحث

بافت های دوردست خود تأثیرات مضر بر جای می گذارد (۱۴). هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر تمرین ورزشی با مکمل دهی اکتاپامین بر

بافت چرب می تواند تأثیرات متفاوت بر بدن داشته باشد و با رهایی فاکتورهای التهابی حتی بر

می‌تواند تأثیرات ترمومتابولیک بر جای گذارد (۳۲). بیان شده که تمرین ورزشی بر بافت‌های چربی مختلف تأثیرات متفاوتی بر جای می‌گذارد (۳۴ و ۳۳). به عنوان مثال هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر نشان داده شده که تمرین ورزشی قادر به افزایش فعالیت میتوکندریایی در بافت چربی سفید بوده که می‌تواند خاصیت آن را تغییر دهد (۳۵). بررسی‌های دیگر نیز نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی باعث افزایش حضور چربی قهوه‌ای در بافت چربی سفید در جوندگان می‌شود (۳۶). در مطالعه حاضر نیز تغییرات بافتی گروه‌های مسموم - تمرین هوازی و مسموم - تمرین هوازی - اکتاپامین این مهم را مورد تأیید قرار داد. به نظر می‌رسد اکتاپامین نیز با توجه به این که بر گیرنده سلول‌های چربی تأثیر می‌گذارد، در کنار تمرین ورزشی قادر به تغییر در ویژگی بافت چربی سفید به قهوه‌ای باشد. پژوهش‌های محدودی به بررسی اکتاپامین و تغییر ماهیت بافت چربی پرداخته‌اند، لذا تشریح مکانیزم‌های مرتبط با آن نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقادیر لپتین در گروه کنترل مسموم افزایش معنی‌دار دارد، در حالی که در گروه‌های مسموم - تمرین هوازی و مسموم اکتاپامین کاهش معنی‌داری را نشان داد. بیان شده که لپتین نقش مهمی در هومئوستازی انرژی و تنظیم اشتها بر عهده دارد (۳۷). بیشتر بررسی‌ها تغییرات سرمی لپتین را مورد ارزیابی قرار داده‌اند، این در حالی بود که در مطالعه حاضر تغییرات لپتین

تغییرات NLRP1، لپتین، پروتئین کربونیل و تغییرات بافتی بافت چربی رت‌های تغذیه شده با روغن حرارت دیده عمیق بود.

با توجه به نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی بافتی بافت‌های چربی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه مشاهده گردید که در گروه کنترل مسموم تعداد بیشتری از سلول‌های بافت چربی سفید جایگزین سلول‌های چربی قهوه‌ای شدند. همچنین نتایج حاصل از آزمون‌های هسیتولوژیک نشان داد که میزان جمعیت سلول‌های چربی سفید در گروه‌های مسموم - تمرین هوازی و مسموم - اکتاپامین نسبت به گروه کنترل مسموم کاهش معنی‌داری داشته است. در گروه ترکیبی مسموم - تمرین هوازی - اکتاپامین نیز جمعیت سلول‌های چربی قهوه‌ای زیاد بوده و نسبت به گروه کنترل نرمال تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به این تصاویر بافتی می‌توان بیان نمود که به نظر می‌رسد که با افزایش دریافت میزان روغن در گروه‌ها، جمعیت سلولی چربی سفید در ابتدا افزایش یافته و سپس سلول‌ها شروع به چاق شدن و هایپرتروفی می‌کنند که این روند نشان از افزایش تدریجی بافت چربی سفید به داخل بافت چربی قهوه‌ای می‌باشد، که این امر نشان دهنده کاهش بافت چربی قهوه‌ای در این گروه‌ها می‌باشد و تمرین ورزشی و مکمل اکتاپامین به گونه‌ای این افزایش بافت چربی سفید را مهار می‌کند.

شواهد نشان داده‌اند که تمرین ورزشی سبب سازگاری در بافت چربی نیز می‌شود که

در بافت چربی قهوه‌ای بررسی شد، لذا تغییرات کاهشی لپتین در بافت چربی قهوه‌ای ممکن است تأثیرات متفاوت‌تری به بار آورد. در هر حال نشان داده شده است که در پاسخ به یک دوره تمرین ورزشی، غلظت لپتین پلاسمایی به طور کلی کاهش می‌یابد (۳۹ و ۳۸). ورزش در تلاش برای جایگزینی ذخایر انرژی باعث افزایش اشتها می‌شود که نتایج مطالعه حاضر نیز این مهم را مورد تأیید قرار داد. شواهد متناقضی نیز وجود دارد که ادعا می‌کند ورزش هیچ تأثیری در این هورمون‌ها ندارد (۴۰ و ۴۱)، که در این رابطه باید بیان کرد پاسخ دقیق این هورمون‌ها به نظر می‌رسد تحت تأثیر شدت، فرکانس و مدت زمان ورزش باشد که در مطالعه حاضر استفاده هم‌زمان از مکمل اکتاپامین نیز به نظر می‌رسد در این تغییرات مؤثر باشد. تا آنجا که می‌دانیم مطالعه‌ای بر روی اثر اکتاپامین بر میزان لپتین سلول‌های چربی انجام نشده است، اما این هورمون بسیار شبیه به هورمون نوراپی نفرین می‌باشد. نشان داده شده است که افزایش غلظت نوراپی نفرین با ثبات لپتین همراه است (۴۲)، لذا پیشنهاد می‌شود که اثر لپتین نیز مشابه باشد.

همچنین نتایج نشان داد که مقادیر ژنی و پروتئینی NLRP1 نیز در گروه کنترل مسموم با روغن حرارت دیده افزایش معنی‌دار داشت و هر یک از گروه‌های تمرین و مکمل به تنهایی باعث کاهش معنی‌داری در بیان ژن و پروتئین NLRP1 شد. این در

حالی بود که گروه ترکیبی تمرینات هوازی و اکتاپامین بیشترین کاهش را در بیان ژن NLRP1 نشان داد، اما تأثیرات مداخله‌ای آنها با هم معنی‌دار نبود. در صورتی که گروه ترکیبی تمرینات هوازی و اکتاپامین بر بیان پروتئین NLRP1 کاهش معنی‌داری را نشان داد. التهاب به عنوان یک عامل مهم در ایجاد مقاومت به انسولین ناشی از چاقی و دیابت نوع ۲ عمل می‌کند که با سیتوکین‌های التهابی مترشح از خود چربی یا از ماکروفاژهای نفوذی بافت چربی آزاد می‌شوند (۴۳). مکانیسم‌های مولکولی اساسی که منجر به تقویت التهاب در بافت چربی می‌شود، هنوز هم تا حدی درک نشده‌اند، نشان داده شده است که NLRP1 و IL-8 قادر به راه‌اندازی التهاب بافت چربی می‌باشند. نشان داده شده که فقدان یا مهار IL-1B و گیرنده‌های آن، یا اجرای التهابی NLRP3 در برابر توسعه التهاب بافت چربی و مقاومت به انسولین آن در شرایط رژیم غذایی پرچرب محافظت می‌کنند (۴۳). هر چند در مطالعه حاضر از روغن حرارت دیده استفاده شد، اما نتایج نشان داد که گروه‌های تمرین ورزشی و اکتاپامین قادر به کاهش معنی‌دار در ژن و پروتئین NLRP1 بودند، لذا به نظر می‌رسد تمرین و اکتاپامین تأثیرات ضدالتهابی بر جای گذاشته باشند (۴۴). مکانیسم‌های متعددی در رابطه با تأثیر تمرین بر کنترل التهاب بافت چربی بیان شده، اما در رابطه با بررسی تأثیر تمرین بر کنترل التهاب با کنترل NLRP1 مطالعه‌ای وجود ندارد، لذا به نظر می‌رسد تمرین ورزشی با

آدیپونکتین در این تحقیق اندازه‌گیری نشده است، که می‌تواند به عنوان محدودیت مطالعه حاضر مورد توجه قرار گیرد. اندازه‌گیری این فاکتورها هم‌زمان با عوامل اینفلامازومی در پژوهش‌های بعدی، می‌تواند اطلاعات کامل‌تری در خصوص اثربخشی این تمرینات ارائه دهد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد استفاده از مکمل اکتاپامین در کنار تمرین ورزشی هوازی با کنترل NLRP1 و کنترل عملکرد لپتین و پروتئین کربونیل در بهبود عوامل خطر ناشی از بافت چربی بعد از مسمومیت با روغن‌های حرارت‌دیده عمیق مؤثر باشند. در این زمینه نیاز به پژوهش‌های بیشتر به ویژه بر روی نمونه‌های انسانی می‌باشد.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه دکتری رشته فیزیولوژی ورزش با کد اخلاق IR.MUK.REC.1398.242 از دانشگاه کردستان می‌باشد، نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از مسئولین محترم آزمایشگاه هیستونوتک پاسارگاد تهران که امکان آنالیزهای بیوشیمیایی را فراهم آوردند تشکر و سپاسگزاری می‌نمایند.

کنترل خانواده التهابی اینترلوکین در تغییرات NLRP1 پژوهش حاضر مؤثر باشد، این در حالی است که در این مطالعه تغییرات اینترلوکین بررسی نشد.

پژوهش‌هایی در رابطه با بررسی تأثیرات پروتئین کربونیل در بافت چربی قهوه‌ای محدود می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقادیر کربونیل در گروه کنترل مسموم با روغن حرارت‌دیده افزایش معنی‌دار و گروه‌های مسموم - تمرین هوازی و مسموم - اکتاپامین کاهش معنی‌داری را در این پروتئین نشان دادند، در صورتی که تعامل گروه مسموم - تمرین هوازی - اکتاپامین اثر معنی‌داری بر روی این پروتئین نشان نداد. در شرایط مختلف تغییرات پروتئین کربونیل می‌تواند تأثیرات متفاوتی برجای گذارد. بیان شده است که افزایش محتوای پروتئین کربونیل لزوماً منجر به مرگ سلول و دژنراسیون نمی‌شود (۴۵). تنها در مواردی که محتوای پروتئین کربونیل بیش از حد باشد باعث ایجاد تغییرات قابل توجهی در ساختار پروتئین می‌شود و منجر به تشکیل پروتئین‌های مقاوم به پروتئاز می‌شود، خاصیت سمی پیدا می‌کند و ممکن است منجر به مرگ سلولی شوند (۴۶). با وجود این بررسی دقیق‌تر این پروتئین در بافت چربی در کنار مکمل اکتاپامین و تمرین ورزشی هوازی نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد. همچنین عوامل التهابی مترشحه از بافت چربی (آدیپوسایتوکاین‌ها) و عامل محافظتی

REFERENCES

1. Ruiz LD, Zuelch ML, Dimitratos SM, Scherr RE. Adolescent obesity: diet quality, psychosocial health, and cardiometabolic risk factors. *Nutrients* 2020; 12(1): 38-43.
2. Tremmel M, Gerdtham UG, Nilsson PM, Saha S. Economic burden of obesity: a systematic literature review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2017; 14(4): 435-39.
3. Goettler A, Grosse A, Sonntag D. Productivity loss due to overweight and obesity: a systematic review of indirect costs. *BMJ Open* 2017; 7(10):1-9.
4. Lartey S, Si L, Lung T, Magnussen CG, Boateng GO, Minicuci N, et al. Impact of overweight and obesity on life expectancy, quality-adjusted life years and lifetime costs in the adult population of Ghana. *BMJ Global Health* 2020; 5(9): 33-39.
5. Fruh SM. Obesity: Risk factors, complications, and strategies for sustainable long-term weight management. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners* 2017; 29(1): 3-14.
6. Ludwig DS, Ebbeling CB. The carbohydrate-insulin model of obesity: beyond "calories in, calories out". *JAMA Internal Medicine* 2018; 178(8): 1098-103.
7. Fitzgerald S, Kirby A, Murphy A, Geaney F. Obesity, diet quality and absenteeism in a working population. *Public Health Nutrition* 2016; 19(18): 3287-95.
8. Sebastian A, Ghazani SM, Marangoni AG. Quality and safety of frying oils used in restaurants. *Food Research International* 2014; 64(8): 420-3.
9. Saguy IS, Dana D. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Journal of Food Engineering* 2003; 56(2-3): 143-52.
10. Li Y, Ngadi M, Oluka S. Quality changes in mixtures of hydrogenated and non-hydrogenated oils during frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2008; 88(9): 1518-23.
11. Li X, Wu X, Liu R, Jin Q, Wang X. Effect of frying conditions on fatty acid profile and total polar materials via viscosity. *Journal of Food Engineering* 2015; 166(11): 349-55.
12. Chalkiadaki A, Guarente L. High-fat diet triggers inflammation-induced cleavage of SIRT1 in adipose tissue to promote metabolic dysfunction. *Cell Metabolism* 2012; 16(2): 180-8.
13. Lumeng CN, DeYoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes* 2007; 56(1): 16-23.
14. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition* 2004; 92(3): 347-55.
15. Porter C, Herndon DN, Chondronikola M, Chao T, Annamalai P, Bhattarai N, et al. Human and mouse brown adipose tissue mitochondria have comparable UCP1 function. *Cell Metabolism* 2016; 24(2): 246-55.
16. Ambrus L, Westling S. Leptin, anxiety symptoms, and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity among drug-free, Female Suicide Attempters. *Neuropsychobiology* 2019; 78(3): 145-52.
17. Takahashi Y, Ide T. Dietary n-3 fatty acids affect mRNA level of brown adipose tissue uncoupling protein 1, and white adipose tissue leptin and glucose transporter 4 in the rat. *British Journal of Nutrition* 2000; 84(2): 175-84.
18. William W, Ceddia R, Curi R. Leptin controls the fate of fatty acids in isolated rat white adipocytes. *Journal of Endocrinology* 2002; 175(3): 735-44.
19. Rezai-Zadeh K, Münzberg H. Integration of sensory information via central thermoregulatory leptin targets. *Physiology & Behavior* 2013; 121 (12): 49-55.
20. Bartness TJ, Song CK, Shi H, Bowers RR, Foster MT. Brain-adipose tissue cross talk. *Proceedings of the Nutrition Society* 2005; 64(1): 53-64.
21. Dandona P, Mohanty P, Ghanim H, Aljada A, Browne R, Hamouda W, et al. The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001; 86(1): 355-62.

22. Huang TT, Chong KY, Ojcius DM, Wu YH, Ko YF, Wu CY, et al. Hirsutella sinensis mycelium suppresses interleukin-1 β and interleukin-18 secretion by inhibiting both canonical and non-canonical inflammasomes. *Scientific Reports* 2013; 3(1): 1-11.
23. Fatouros IG, Jamurtas AZ. Insights into the molecular etiology of exercise-induced inflammation: opportunities for optimizing performance. *Journal of Inflammation Research* 2016; 9(4): 175-81.
24. Zachwieja JJ, Hendry SL, Smith SR, Harris RB. Voluntary wheel running decreases adipose tissue mass and expression of leptin mRNA in Osborne-Mendel rats. *Diabetes* 1997; 46(7): 1159-66.
25. Ibrahim K, Couch M, Williams C, Fregly M, Midgley J. Octopamine: normal occurrence with p-octopamine in mammalian sympathetic nerves. *Journal of Neurochemistry* 1985; 44(6): 1862-7.
26. De Oliveira AL, De Paula MN, Comar JF, Vilela VR, Peralta RM, Bracht A. Adrenergic metabolic and hemodynamic effects of octopamine in the liver. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14(11): 21858-72.
27. Luo X. Aerobic exercise and resistance exercise on morphology and activity of brown adipose tissue in rats. *Revista Científica-Facultad de Ciencias Veterinarias* 2020; 30(4), 1876-1884.
28. Uysal N, Yuksel O, Kizildag S, Yuce Z, Gumus H, Karakilic A, et al. Regular aerobic exercise correlates with reduced anxiety and increased levels of irisin in brain and white adipose tissue. *Neuroscience Letters* 2018; 676(12): 92-7.
29. Zhou Z, Wang Y, Jiang Y, Diao Y, Strappe P, Prenzler P, et al. Deep-fried oil consumption in rats impairs glycerolipid metabolism, gut histology and microbiota structure. *Lipids in Health and Disease* 2016; 15(1): 86-92.
30. Bour S, Visentin V, Prévot D, Carpené C. Moderate weight-lowering effect of octopamine treatment in obese Zucker rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* 2003; 59(3): 175-82.
31. Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. The effects of aerobic exercise training with octopamine supplementation on cardiomyocyte apoptosis induced by deep frying oil: the role of caspase and pro-Caspase 3. *Research Square* 2020; 1(2):1-19.
32. Stanford KI, Middelbeek RJ, Goodyear LJ. Exercise effects on white adipose tissue: being and metabolic adaptations. *Diabetes* 2015; 64(7): 2361-8.
33. Shirvani H, Arabzadeh E. Metabolic cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue in high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training by regulation of PGC-1 α . *Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 2018; 25(1), 17-24.
34. Fabre O, Ingerslev LR, Garde C, Donkin I, Simar D, Barres R. Exercise training alters the genomic response to acute exercise in human adipose tissue. *Epigenomics* 2018; 10(08): 1033-50.
35. Trevellin E, Scorzeto M, Olivieri M, Granzotto M, Valerio A, Tedesco L, et al. Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms. *Diabetes* 2014; 63(8): 2800-11.
36. Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *Journal of Biological Chemistry* 2010; 285(10): 7153-64.
37. Luheshi GN, Gardner JD, Rushforth DA, Loudon AS, Rothwell NJ. Leptin actions on food intake and body temperature are mediated by IL-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999; 96(12): 7047-52.
38. Dirlewanger M, Di Vetta V, Giusti V, Schneiter P, Jequier E, Tappy L. Effect of moderate physical activity on plasma leptin concentration in humans. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 1999; 79(4): 331-5.
39. Durstine JL, Thompson R, Drowatzky K, Bartoli WP. Leptin and exercise: new directions. *British Journal of Sports Medicine* 2001; 35(1): 3-4.

40. Boudou P, Sobngwi E, Mauvais-Jarvis F, Vexiau P, Gautier J. Absence of exercise-induced variations in adiponectin levels despite decreased abdominal adiposity and improved insulin sensitivity in type 2 diabetic men. *European Journal of Endocrinology* 2003; 149(5): 421-4.
41. Howe SM, Hand TM, Larson-Meyer DE, Austin KJ, Alexander BM, Manore MM. No effect of exercise intensity on appetite in highly-trained endurance women. *Nutrients* 2016; 8(4): 223-28.
42. Tao P, Jing Z, Shou-Hong G, Shu-Juan P, Jian-Peng J, Wen-Quan L, et al. Effects of leptin on norepinephrine in acute ischemic stroke. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* 2019; 74(8): 477-80.
43. Tack CJ, Stienstra R, Joosten LA, Netea MG. Inflammation links excess fat to insulin resistance: the role of the interleukin-1 family. *Immunological Reviews* 2012; 249(1): 239-52.
44. Kianmehr P, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Synergic effects of exercise training and octopamine on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1a and uncoupling protein 1 mRNA in heart tissue of rat treated with deep frying oil. *Biochemistry and Biophysics Reports* 2020; 22 (8): 1007-15.
45. Biswas MS, Mano JI. Reactive carbonyl species activate caspase-3-like protease to initiate programmed cell death in plants. *Plant and Cell Physiology* 2016; 57(7): 1432-42.
46. Nyström T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *The EMBO Journal* 2005; 24(7): 1311-7.

Simultaneous Effect of Aerobic Exercise and Octapamine on Tissue Levels of NLRP1, Leptin, Carbonyl Protein and Inflammatory Histological Changes of Brown Adipose Tissue in Rats Fed with Deep Heated

Darvishzadeh N¹, Aziz Beigi K^{2*}, Etemad Z³

¹Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ²Departments of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ³Department of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Received: 04 Jul 2020 Accepted: 14 Oct 2020

Abstract:

Background & aim: Consumption of crunchy foods and lack of nutritional hygiene causes destruction of adipose tissue homeostasis and secretion of inflammatory factors. Aerobic exercise is one of the ways to control inflammation adipose tissue. Therefore, the aim of this study was to investigation the simultaneous effect of aerobic exercise and Octopamine on NLR Family Pyrin Domain Containing 1 (NLRP1), leptin, carbonyl protein of brown adipose tissue changes in rats fed with deep fried oil.

Methods: In the present experimental study conducted in 2019, 40 male Wistar rats (age 20 weeks; weight \pm 350 20 20 g) were randomly selected in healthy control groups (n = 8), control with heated oil (n = 8). Poisoned + aerobic exercise (number = 8), poisoned + octapamine (number = 8) and poisoned + aerobic exercise + octapamine (number = 8). Heated oil was fed orally (gavage) to the relevant rats for 4 weeks. The dose used was 81 mg / kg octapamine by intraperitoneal (IP) injection and dissolved in 9% normal saline. Aerobic exercise groups also trained on a treadmill for 4 weeks with increasing intensity in the first week of 50% of aerobic power and in the last week the intensity of training reached 65% of aerobic power. Concentrations of leptin, protnyl carbonyl were assessed by ELISA method and brown adipose tissue changes were assessed by hematoxylin-eosin and IHC staining methods. Real time PCR and immunohistochemical methods were used to determine changes in NLRP1 gene and protein, respectively. The collected data were analyzed using two-way ANOVA and independent t-test.

Results: In all toxic groups, a significant increase in NLRP1 gene and protein expression was observed, as well as an increase in carbonyl protein and leptin compared to the healthy control group ($p \leq 0.05$). The results showed that the expression of NLRP1 gene and protein in the poisoned + aerobic exercise and poisoned + octapamine groups had a significant decrease compared to the poisoned group ($p \leq 0.05$). Also, the expression of NLRP1 protein in the toxic-aerobic + octapamine group was significantly different in comparison with the poisoned control group ($p \leq 0.05$). while the expression of this gene in the DFO + aerobic + octapamine group did not decrease significantly compared to the toxic group. The results showed a significant difference in the concentration of carbonyl protein in the DFO-aerobic and DFO-octapamine groups compared to the DFO sole group, but this result was not observed in the DFO-aerobic exercise + octapamine. Leptin concentration in the poisoned+aerobic exercise (poisoned+octapamine and poisoned+aerobic exercise + octapamine) groups was significantly reduced compared to the poisoned group.

Conclusion: It looked as if that the use of octapamine supplement along with aerobic exercise with control of NLRP1 and reduction of leptin were effective in controlling risk factors for adipose tissue.

Keywords: Endurance Training, Octopamine, NLRP1, Leptin, Carbonyl Protein

*Corresponding Authors: Aziz Beigi K, Departments of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Email: kazizbeigi@gmail.com

Please cite this article as follows:

Darvishzadeh N, Aziz Beigi K, Etemad Z. Simultaneous Effect of Aerobic Exercise and Octapamine on Tissue Levels of NLRP1, Leptin, Carbonyl Protein and Inflammatory Histological Changes of Brown Adipose Tissue in Rats Fed with Deep Heated. Armaghane-danesh 2021; 26(4(1)): 577-595.