

تأثیر شش هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی دانه زیره سیاه بر بیان ژن FNDC5 و سطح سرمی آیریزین موش‌های صحرایی نر چاق

صدیقه طاهرزاده^۱ - مهدی مقرنسی^{۲*} - آیت کائیدی^۳ - بهرام رسولیان^۴

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی و هیأت علمی گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران

۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، ایران ۳. استادیار فیزیولوژی پزشکی، گروه فیزیولوژی و

فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ایران ۴. استاد فیزیولوژی انسان و پزشکی عمومی، گروه فیزیولوژی،

دانشگاه علوم پزشکی لرستان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۱/۰۳/۱۳۹۹، تاریخ تصویب: ۱۴/۰۵/۱۳۹۹)

چکیده

یکی از عوامل مهم در ابتلا به انواع بیماری‌ها، اضافه‌وزن و چاقی است. FNDC5 بیان ژن پروتئین آیریزین در بافت چربی است. هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر ۶ هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی دانه زیره سیاه بر بیان ژن پروتئین FNDC5، سطح سرمی آیریزین موش‌های صحرایی نر چاق بود. در این تحقیق تجربی، از ۲۴ سر موش صحرایی نر چاق شده، به‌دنبال ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب استفاده شد، که به‌طور تصادفی به چهار گروه ۱. کنترل رژیم پرچرب، ۲. رژیم پرچرب + تمرین، ۳. رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه و ۴. گروه رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه تقسیم شدند. گروه‌های تمرین ۵ روز در هفته به مدت ۶ هفته تمرین هوازی (تقریباً معادل ۷۰٪ VO_{2max} ۵۰٪) انجام دادند. بیان ژن FNDC5، سطح سرمی آیریزین و وزن بدن اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری $\alpha < 0/05$ تحلیل شدند. نتایج افزایش معنادار بیان ژن FNDC5 و سطح سرمی آیریزین ($P < 0/05$) و کاهش معنادار وزن بدن را در گروه رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه نسبت به سایر گروه‌ها ($P < 0/05$) و افزایش معنادار بیان ژن FNDC5 گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$). بنابراین، به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی با شدت متوسط و مصرف عصاره آبی زیره سیاه با افزایش بیان ژن FNDC5 و سطح سرمی آیریزین می‌تواند موجب کاهش وزن و خطرهای ناشی از چاقی شود.

واژه‌های کلیدی

آیریزین، تمرین هوازی، زیره سیاه، ژن FNDC5

مقدمه

مکانیسم‌های فیزیولوژیک درگیر در چاقی می‌تواند درمانی برای چاقی باشد (۱۰). راهبرد نوین برای مدیریت چاقی، کنترل از طریق شیوه زندگی (رژیم غذایی و ورزش) و استفاده از داروهای ضدچاقی است (۱۱). برای این منظور استفاده از گیاهان دارویی (۱۰) و فعالیت بدنی و ورزش (۳) می‌تواند گزینه مناسبی باشد. بوستورم و همکاران (۲۰۱۲)، افزایش سطح آیریزین را پس از ۱۰ هفته تمرین هوازی مشاهده کردند، که احتمالاً طولانی بودن دوره تمرینات آنها به سازگاری در افزایش آیریزین منجر شده است (۸). ورزش اغلب به منظور تعدیل و حفظ وزن تجویز می‌شود (۱۲). مطالعات نشان می‌دهد ورزش مزمن معمولاً به افزایش میزان اکسیداسیون چربی و مصرف انرژی منجر می‌شود (۱۳). کیتینگ^۴ و همکاران (۲۰۱۵)، بیان کردند، افراد بالغ غیرفعال پس از ۸ هفته تمرین هوازی با شدت‌های متفاوت با کاهش اندک چربی کبد و چربی احشایی و بدون از دست دادن وزن قابل توجهی مواجه شدند (۱۱). اثرات احتمالی داروهای گیاهی به وسیله مطالعات متعددی تأیید شده است (۱). احتمالاً با توجه به عوارض جانبی کمتر و قیمت ارزان‌تر داروهای گیاهی نسبت به داروهای شیمیایی تمایل مردم در جهت مصرف داروهای گیاهی بیشتر شده است (۱۴). مکانیسم اثرگذاری گیاهان گرم و خشک برای کاهش وزن، افزایش ترموژنز و فعال‌سازی پروتئین‌کیناز، کاهش بیان برخی ژن‌های درگیر در چربی، افزایش مصرف کالری، اکسیداسیون چربی‌ها، کاهش اشتها و بهبود ترکیب بدن است (۱۵). زیره سیاه (*Carum carvi*; caraway)، گیاه دارویی شناخته‌شده‌ای است که ابن‌سینا دانشمند بزرگ قرن یازدهم آن را برای کاهش وزن توصیه کرده است (۱۶). این گیاه متعلق به خانواده Apaiaceae است (۱۷). میوه

شیوع چاقی و اضافه‌وزن به‌طور هشداردهنده‌ای در حال افزایش است (۱). جمع شدن چربی اضافی در بدن نشانه عدم تعادل بین غذای خورده‌شده و انرژی مصرف‌شده است (۲). افزایش انواع خطرهای ناشی از بیماری‌های مختلف به تشدید اضافه‌وزن و چاقی در زنان و مردان منجر می‌شود که به دنبال آن مرگ زودرس فرا می‌رسد (۳). بافت چربی از غدد درون‌ریز است که با تولید برخی عوامل مهم به نام آدیپوکاین (Adipokines)، عامل برجسته ارتباط‌دهنده چاقی با بیماری‌های متابولیکی است (۴). دو نوع بافت چربی سفید و بافت چربی قهوه‌ای در بدن پستانداران وجود دارد. بافت چربی سفید منبع ذخیره انرژی است (۵) و بافت چربی قهوه‌ای در جهت افزایش پروتئین^۱ UCP-1، تولید حرارت، مصرف انرژی و تنظیم وزن بدن ایفای نقش می‌کند. پژوهش‌های اخیر حاکی از تبدیل بافت چربی قهوه‌ای به بافت چربی سفید پس از دوران کودکی، شرایط سرما و تمرین‌های ورزشی است (۶، ۷). در سال ۲۰۱۱ گروه تحقیقی بوستورم^۲ حین مطالعه^۳ PGC1 α (پروتئین فعال‌کننده نسخه‌بردار)، بیان ژن FNDC5^۴ را کشف کردند. آنها بیان کردند بیان این ژن با فعالیت‌های ورزشی افزایش می‌یابد. بیان ژن FNDC5، به ترشح آیریزین در بافت چربی (آدیپوکاین) و بافت عضلانی (مایوکاین) منجر می‌شود. پس از مطالعات بیشتر، آیریزین عامل مهم قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید گزارش شد. همچنین افزایش آیریزین سرم سبب کاهش وزن و کاهش مقاومت انسولینی می‌شود (۸). بافت عضلانی تعیین‌کننده میزان آیریزین سرم بعد از فعالیت ورزشی و بافت چربی تعیین‌کننده میزان آیریزین سرم در شرایط چاقی است (۹). غلبه بر هریک از

4. Hbnonectin type III domain-containing 5 protein gene expression
6. Keating

1. Uncoupling protein 1
2. Bström
3. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PPARGC1A)

چهار گروه (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل رژیم پرچرب، ۲. گروه رژیم پرچرب + تمرین ورزشی، ۳. گروه رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه و ۴. گروه رژیم پرچرب + تمرین ورزشی + عصاره زیره سیاه. موش‌های صحرایی نر از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند. حیوانات در سه مرحله با استفاده از ترازوی مدل Sartorius ENTRIS 3202- IS با دقت ۰/۰۱ و ظرفیت ۳۲۰۰ گرم وزن‌کشی شدند. مرحله اول سنجش وزن در شروع مطالعه، مرحله دوم پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و در پایان پروتکل ورزشی و عصاره‌دهی انجام گرفت.

حیوانات در دمای محیط بین ۱۹ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت بین ۴۵ تا ۶۵ درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند و غذای پرکالری (پرچرب) در دسترس آنان قرار گرفت. همچنین متغیرهای دما و رطوبت و سنسورهای تعبیه‌شده در داخل اتاق تمرین و حیوان‌خانه به‌طور خودکار در محدوده مشابه و استاندارد حفظ شدند.

روش القای چاقی

در این تحقیق ابتدا موش‌های صحرایی نر با رژیم غذایی به مدت ۱۲ هفته چاق شدند که چاقی حیوانات با استفاده از شاخص لی^۱ تأیید شد. شاخص لی برابر با تقسیم ریشه سوم وزن حیوان برحسب گرم بر طول نوک پوزه حیوان تا مقعد براساس سانتی‌متر ضربدر ۱۰۰۰ است. اگر عدد حاصل بالای ۳۱۰ شد، یعنی حیوان چاق است (۲۱). سپس حیوانات به مدت ۶ هفته تحت تمرین هوازی (هر هفته ۵ روز) قرار گرفتند. غذای پرکالری با ۶۱/۲ درصد انرژی کل از چربی (۲۰/۲ درصد از کربوهیدرات و ۱۸/۶ درصد از پروتئین)، به‌منظور چاق کردن حیوانات از مرکز رویان

گیاه زیره سیاه، بخش اصلی آن است که به‌عنوان ترکیب کاهنده وزن استفاده می‌شود (۱۸). تأثیرات زیره سیاه، افزایش T3 و T4، کاهش TSH و تأثیرات پرکاری آن به تحریک میزان متابولیک منجر می‌شود که سبب کاهش چربی و وزن بدن می‌شود (۱۶). حیدری و همکاران (۲۰۱۱)، نشان دادند مصرف خوراکی زیره سیاه سبب کاهش معنادار میزان قند خون و کاهش وزن در موش‌های صحرایی شد (۱۹). قربانی و همکاران (۲۰۱۷)، بیان کردند تمرین تناوبی شدید به‌همراه مصرف زیره سیاه می‌تواند در پیشگیری از بروز برخی بیماری‌های مرتبط با چاقی مؤثر واقع شود (۲۰). با توجه به اینکه در مطالعاتی که تاکنون انجام گرفته است مدت زمان تمرین هوازی به‌منظور کاهش وزن بیشتر از ۸ هفته در نظر گرفته شده بود و از طرفی پژوهشی در زمینه اثر عصاره آبی دانه زیره سیاه بر بیان ژن FNDC5، سطح آیریزین سرم و مقایسه تأثیر آن با و بدون تمرین انجام نگرفته است، بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین هوازی و مصرف عصاره آبی دانه زیره سیاه بر بیان ژن FNDC5، سطح سرمی آیریزین موش‌های صحرایی چاق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی است که به لحاظ استفاده از نتایج آن جنبه کاربردی دارد. اصول اخلاقی در مراحل اجرایی کار رعایت شد. پژوهش حاضر در کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی با کد IR.SSRI.REC.1397.395 ثبت و تأیید شد و در دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. آزمودنی‌های پژوهش موش‌های صحرایی نر چاق شده با رژیم غذایی بودند. در این پژوهش ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار سالم با سن ۶ هفته و دامنه وزنی اولیه $5/38 \pm 86/16$ گرم، به‌طور تصادفی به

3. Thyroid-stimulating hormone
1. Lee

1. Triiodothyronine
2. Thyroxine

به مدت ۱۲ ساعت تحت هم زدن‌های شدید قرار گرفت. این عمل دو بار تکرار شد. نمونه استخراجی به دست آمده با کاغذ صافی واتمن شماره ۳ کاملاً فیلتر شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه رتاری (مدل Heidolph ساخت آلمان) تغلیظ و خشک شد و با استفاده از دستگاه فریز درایر (مدل Alpha plus ساخت آلمان) کاملاً خشک شد (۱۰، ۱۵، ۲۳).

اصفهان تهیه شد (ترکیبات در جدول ۱). فروکتوز به میزان یک درصد آب مصرفی در تمام مدت مطالعه استفاده شد. عصاره به دست آمده با پودر غذای پرکالری مخلوط و سپس خمیر شد و مجدداً خشک شد. دوز عصاره زیره سیاه، دو درصد رژیم غذایی بود (۱۹، ۲۲).

تهیه عصاره

دانه زیره سیاه در آذرماه ۱۳۹۶ از اطراف شهر کرمان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از خشک شدن در سایه، به ۵ گرم از دانه‌ها ۵۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و

جدول ۱. رژیم غذایی پرچرب

غذای با ۶۰٪ چربی		
۱	کازئین (میلی‌گرم/درصد)	۲۴
۲	کنجاله سویا (گرم/درصد)	۱۰
۳	ذرت	۰
۴	نشاسته ذرت (گرم/درصد)	۲۰
۵	ساکاروز (گرم/درصد)	۸
۶	روغن سویا (گرم/درصد)	۲
۷	دنبه (گرم/درصد)	۳۱
۸	مخلوطی از ویتامین و مواد معدنی (گرم/درصد)	۵
کل		
۱	پروتئین (گرم/درصد)	۲۴
۲	کربوهیدرات (گرم/درصد)	۲۶
۳	چربی (گرم/درصد)	۳۵
۴	کالری (کیلوکالری در هر کیلو غذا)	۵/۲

تمرین هوازی

برنامه تمرین هوازی با استفاده از نوار گردان مخصوص جوندگان اجرا شد. با توجه به اینکه در مطالعاتی که تاکنون انجام گرفته است، مدت زمان تمرین هوازی به منظور کاهش وزن بیشتر از ۸ هفته در نظر گرفته شده بود. در این مطالعه محقق به منظور بررسی اثر تعاملی تمرین هوازی و مصرف عصاره زیره سیاه و کاهش طول دوره پژوهش، تمرین هوازی به مدت ۶ هفته، ۵ جلسه در هفته طی دو مرحله آشنایی و تمرین اجرا شد. مرحله آشنایی یک هفته طول کشید که

طی این مرحله مدت تمرین از ۵ دقیقه در هر جلسه به ۱۰ دقیقه و سرعت نوار گردان از ۵ متر به ۱۰ متر بر دقیقه افزایش یافت. سپس مرحله تمرین سرعت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در روز و شیب نوار گردان صفر درجه برای ۵ جلسه در هفته (۲۴) آغاز شد. سرعت و مدت تمرین با توجه به جدول ۲ افزایش یافت. مشخص شده است که این برنامه تمرینی معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) است. به منظور همانندسازی شرایط، دیگر حیوانات گروه‌ها روزانه ۵ دقیقه روی دستگاه قرار داده

شدند و برنامه راه رفتن با سرعت ۵ متر بر دقیقه را انجام دادند (۲۴).

جدول ۲. برنامه تمرین هوازی

هفته‌های اول و دوم	هفته‌های سوم و چهارم	هفته‌های پنجم و ششم
۱۰ - ۲۰ دقیقه	۲۰ - ۳۰ دقیقه	۳۰ - ۴۰ دقیقه
۱۲ - ۱۰ متر بر دقیقه	۱۴ - ۱۲ متر بر دقیقه	۱۶ - ۱۴ متر بر دقیقه
سرعت تمرین (تقریباً معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)		

نمونه‌گیری بافت حیوانات

با توجه به نیمه عمر معمول بیان ژن‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، ابتدا حیوانات در فضای استریل نمونه‌برداری با ترکیبی از زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) بی‌هوش شدند. پس از تأیید

بی‌هوشی، با ایجاد برشی به طول پنج تا شش سانتی‌متر در ناحیه شکم موش صحرایی، بافت چربی زیر جلدی جدا شده، به داخل میکروتیوب انتقال داده شد و در نیتروژن مایع به سرعت منجمد شد. در آخر نمونه‌های منجمد شده تا زمان بررسی مولکولی به فریزر با دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد (۲۵).



شکل ۱. بافت چربی زیر جلدی

اندازه‌گیری آیریزین و بیان ژن FNDC5

به منظور سنجش آیریزین سرم، از کیت الایزا تهیه شده از شرکت ZellBio Germany با شماره کاتالوگ ZB-16281C-R9648 استفاده شد. حساسیت این کیت ۰/۰۳ ng/ml است. همچنین برای تعیین بیان ژن FNDC5 نمونه بافت چربی جداسازی شده همورژن شد. سپس استخراج RNA صورت گرفته و پس از تشکیل cDNA بیان ژن‌های مربوطه از طریق روش Real Time PCR سنجیده شد (۲۵). به منظور سنجش ژن FNDC5

پرایمر شرکت سیناکلون، پرایمر بتا اکتین شرکت سیناکلون، کیت استخراج RNA شرکت یکتا تجهیز و کیت ساخت cDNA شرکت یکتا تجهیز استفاده شد (جدول ۳). انجام PCR (Polymerase chain reaction) شامل مراحل زیر بود:

- واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه؛
- ۳۵ سیکل که به ترتیب شامل (a) واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در

دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای هر پرایمر به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

طویل‌سازی نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۲۵).

جدول ۳. پرایمرهای استفاده‌شده در Real-time PCR (F: پرایمر رفت، R: پرایمر برگشت)

نام پرایمر	توالی پرایمر
F	5-GTCTCCCACCACCATCTT-3
R	5-TCTGTCTCTGAGTGTAGCCTTAGC-3
FNDC5	

تمام آزمون‌ها، سطح معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ به‌منظور انجام عملیات آماری استفاده شد.

نتایج

انحراف معیار \pm میانگین وزن اولیه و وزن پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب در جدول ۴ آمده است.

از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن داده‌ها (P-value بیشتر از ۰/۰۵) به‌منظور مقایسه اختلاف میانگین متغیرهای مورد اندازه‌گیری گروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی^۲ استفاده شد. داده‌ها به‌صورت انحراف معیار \pm میانگین گزارش شد. تساوی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لونز^۳ ارزیابی شد. در

جدول ۴. انحراف معیار \pm میانگین وزن اولیه و وزن پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب. گروه‌های مختلف (n=۶)

متغیر	کنترل رژیم	رژیم پرچرب +	رژیم پرچرب +	رژیم پرچرب + تمرین
	پرچرب	عصاره زیره سیاه	عصاره زیره سیاه	تمرین
وزن اولیه (گرم)	۸۷/۶±۱۶/۹۴	۸۶/۶±۰/۱۶	۸۷/۴±۵۰/۷۶	۸۴/۴±۶۶/۴۵
وزن پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب (گرم)	۳۰۰/۱۱±۰/۸۹	۲۹۷/۱۳±۰/۶۰	۲۹۹/۱۲±۵۰/۸۴	۲۹۷/۱۳±۳۳/۵۸

3. Levene's

1. Shapiro – wilk
2. Tukey

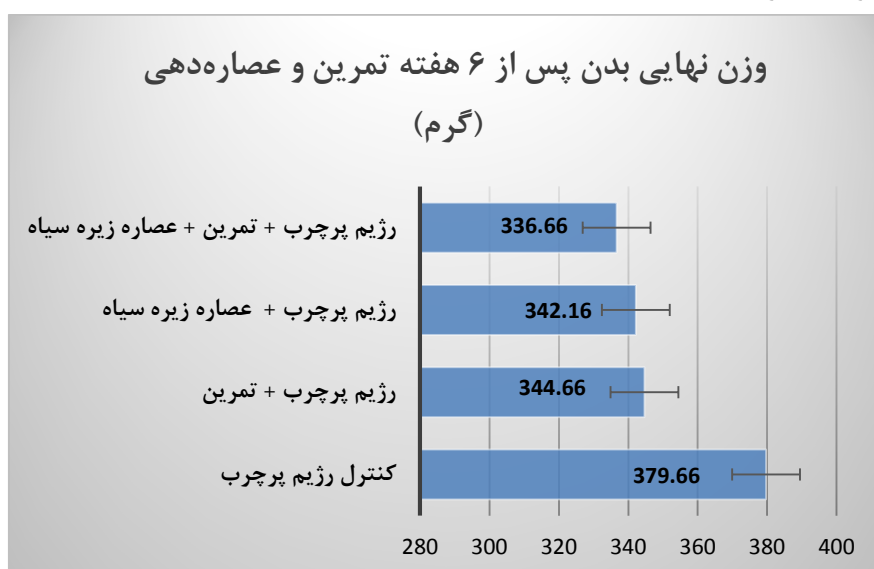
جدول ۵. نتایج آزمون آنالیز واریانس یکطرفه وزن نهایی بدن، میزان بیان ژن FNDC5 و آیریزین سرم پس از ۶ هفته اعمال مداخله تمرین هوازی و مصرف عصاره

متغیر	منبع واریانس (منبع تغییرات)	مجموع مربعات	DF (درجه آزادی)	میانگین مربعات	مقدار F	* مقدار P (معناداری)
وزن نهایی بدن	بین گروهی	۶۸۱/۱۲۵	۳	۲۲۹۰/۳۷۵	۸۴/۳۸۶	۰/۰۰۱*
	درون گروهی	۵۴۲/۸۳۳	۲۰	۲۷/۱۴۲		
بیان ژن FNDC5	بین گروهی	۰/۹۷۶	۳	۰/۳۲۵	۲۷/۹۱۰	۰/۰۰۱*
	درون گروهی	۰/۲۳۳	۲۰	۰/۰۱۲		
آیریزین	بین گروهی	۶۸/۹۴۸	۳	۲۲/۹۸۳	۱۱/۶۱۱	۰/۰۰۱*
	درون گروهی	۳۹/۵۸۸	۲۰	۱/۹۷۹		

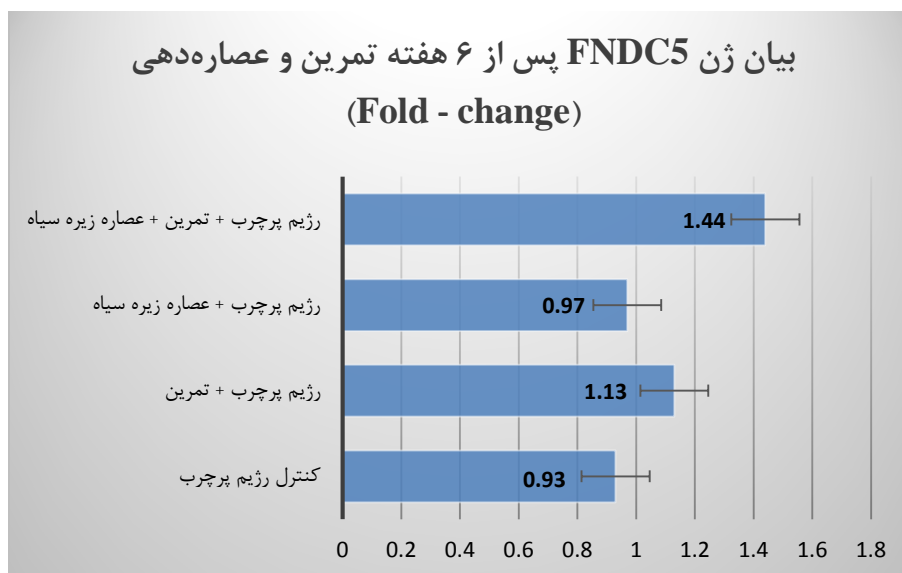
جدول ۶. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مورد مقایسه زوجی تفاوت میانگین متغیرهای تحقیق در گروه‌های مورد پژوهش

آماره استنباطی	مقایسه بین گروهی	وزن نهایی بدن	بیان ژن FNDC5	آیریزین	P
کنترل رژیم پرچرب	رژیم پرچرب + تمرین	*./۰۰۱	*./۰۲۱	۰/۰۸۱	
	رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه	*./۰۰۱	۰/۹۲۶	۰/۶۶۴	
	رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه	*./۰۰۱	*./۰۰۱	*./۰۰۱	
رژیم پرچرب + تمرین	رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه	۰/۸۳۹	۰/۰۷۵	۰/۵۱۰	
	رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه	۰/۰۶۶	*./۰۰۱	*./۰۳۲	
رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه	رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه	۰/۲۹۰	*./۰۰۱	*./۰۰۱	

* $P \leq 0.05$ نشانه تفاوت معنادار

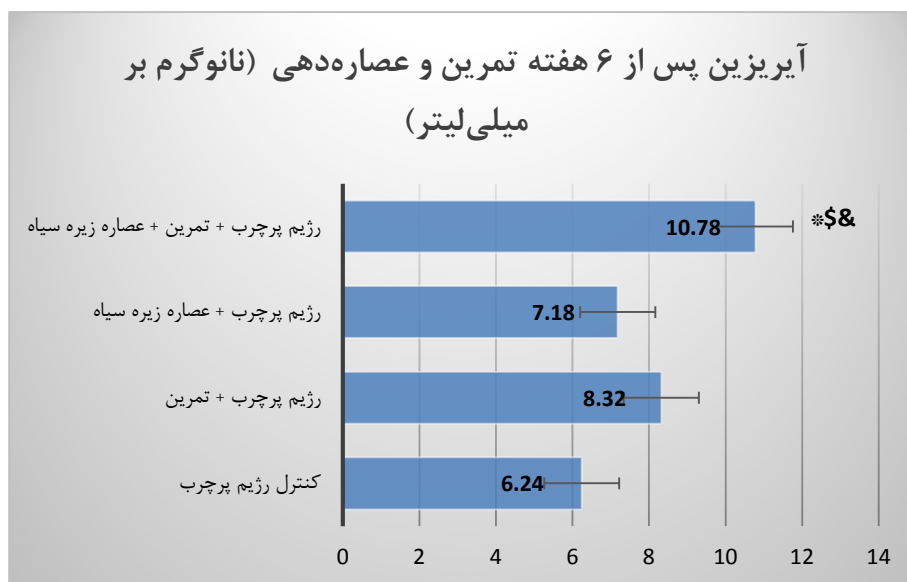


نمودار ۱. انحراف معیار \pm میانگین وزن در گروه‌های مختلف
* اختلاف معنادار با گروه کنترل رژیم پرچرب. $P \leq 0.05$ نشانه تفاوت معنادار



نمودار ۲. میزان بیان ژن FNDC5 بافت چربی

* اختلاف معنادار با گروه کنترل رژیم پرچرب. \$ اختلاف معنادار با گروه رژیم پرچرب + تمرین. & اختلاف معنادار با گروه رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه. $P \leq 0.05$ نشانه تفاوت معنادار



نمودار ۳. میزان آیریزین سرم

* اختلاف معنادار با گروه کنترل رژیم پرچرب. \$ اختلاف معنادار با گروه رژیم پرچرب + تمرین. & اختلاف معنادار با گروه رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه. $P \leq 0.05$ نشانه تفاوت معنادار

گروه‌های رژیم کنترل پرچرب، رژیم پرچرب + تمرین، رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه و گروه رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه نشان می‌دهد.

با توجه به جدول ۵، نتایج آزمون آنالیز واریانس یکطرفه وزن نهایی بدن، بیان ژن FNDC5 و سطح آیریزین سرم موش‌های صحرایی (گرم) در پایان تحقیق معنادار شده است. همچنین نتایج جدول ۶، آزمون تعقیبی توکی و نمودارهای ۱ تا ۳ تفاوت معنادار مداخله‌ها را در بین

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اجرای ۶ هفته تمرین هوازی سبب افزایش معنادار بیان ژن FNDC5 در بافت چربی و میزان آیریزین حاصل از آن در گروه‌های مورد تحقیق نسبت به گروه کنترل و کاهش معنادار وزن نهایی بدن سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل شد. از آنجا که تحقیقات بسیار محدودی در خصوص بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر بیان ژن FNDC5 در بافت چربی و میزان آیریزین حاصل از آن انجام گرفته است، محققان با توجه به مبانی نظری موجود، به بررسی تغییرات بیان ژن FNDC5 و سطح آیریزین سرم در موش‌های صحرایی نر، پس از ۶ هفته تمرین پرداختند. به دنبال فعالیت‌های ورزشی PGC-1 α در عضله اسکلتی ترشح می‌شود، این امر سبب تکمیل فرایند بیان ژن FNDC5 می‌شود. در ادامه FNDC5 در داخل بدن به شکل جدید آیریزین تقسیم می‌شود (۲۶). در مرحله ۲۴ ساعته بازیافت، میزان بیان mRNA ژن FNDC5 پروتئین و بافت عضلانی در سطح بالا نگهداری می‌شود. نتایج به دست آمده بیان هماهنگ FNDC5 و PGC-1 α در افزایش سطح آیریزین سرم بعد از تمرین را نشان می‌دهد (۲۷). تحقیقات نشان داده است که آیریزین سبب قهوه‌ای شدن بافت چربی زیر جلدی می‌شود و افزایش هزینه‌های انرژی و اکسیداسیون چربی را در پی دارد. بنابراین آیریزین به عنوان عامل جدیدی به منظور پیشگیری و درمان چاقی شناخته شده است (۲۶). مسیر سیگنالینگ بیان PGC-1 α و تبدیل FNDC5 به آیریزین از طریق فعالیت ورزشی فعال می‌شود (۲۷). در تحقیق ما میزان تغییرات آیریزین سرم و بیان ژن FNDC5 در بافت چربی با هم همسو هستند. میزان آیریزین سرم و بیان ژن FNDC5 گروه رژیم پرچرب + تمرین + عصاره زیره سیاه

افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل رژیم پرچرب، گروه رژیم پرچرب + تمرین و گروه رژیم پرچرب + عصاره زیره سیاه داشتند. همچنین افزایش در میزان آیریزین و بیان ژن FNDC5 در گروه رژیم پرچرب + تمرین نسبت به گروه کنترل رژیم پرچرب دیده شد که این افزایش تنها در میزان FNDC5 معنادار بود. در یک مطالعه انسانی افزایش بیان mRNA ژن FNDC5 در عضله اسکلتی و سطح آیریزین سرم در پاسخ به ۱۰ هفته تمرین استقامتی نشان داده شده است (۲۸). در تأیید یافته‌های ما همچنین پنگ^۱ و همکاران (۲۰۱۸) در سطح آیریزین سرم و سطح FNDC5 و بیان PGC-1 α عضلات در موش‌ها پس از فعالیت ورزشی با شدت متوسط تغییرات افزایشی هماهنگی را مشاهده کردند (۲۷). با این حال، پژوهش‌های دیگر افزایش در بیان mRNA مربوط به (۱۱) FNDC5 یا سطح آیریزین در سرم (۱۵) را پس از تمرین مزمن نتوانسته‌اند نشان دهند. بیان شده است که نبود PGC-1 α در برخی مطالعات ورزشی، ممکن است توجیه‌کننده نتایج به دست آمده باشد (۲۸). لو^۲ و همکاران (۲۰۱۶) سطح آیریزین را در سه گروه ورزش شنا، گروه رژیم غذایی طبیعی و گروه رژیم غذایی پرچرب سنجیدند. بالاترین میزان آیریزین در گروه ورزش شنا و کمترین مقدار آیریزین در گروه رژیم غذایی پرچرب مشاهده شد (۲۶). کاهش معنادار وزن بدن در اثر فعالیت هوازی در نتایج این پژوهش با نتایج میلارد^۳ و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی دارد. این محققان در بیان علت تغییر معنادار کاهش وزن بدن، افزایش چشمگیر پاسخ کاتکولامین‌ها را بیان می‌کنند که لیپولیز را از طریق گیرنده‌های بتا آدرنرژیک فعال می‌کند (۲۹). همچنین این نتایج با یافته‌های طاهرزاده و همکاران (۲۰۲۰) (۲۲، ۲۳) و عبدالباسط^۴ و همکاران (۲۰۱۹)، تأیید می‌شود، چراکه

گزارش آن‌ها حاکی از کاهش وزن بدن و کاهش وزن چربی احشایی و چربی زیر جلدی است (۳۰). اما این نتایج با نتیجه تحقیق کاظمی‌پور و همکاران (۲۰۱۶) (۱۵)، همسو نیست. نتایج آنها حاکی از عدم تغییر در آب بدن افراد هنگام مداخله است، در حالی که وزن بدن و چربی بدن کاهش و تعداد عضلات افزایش یافته است. آنها بیان کردند محصولات زیستی تشکیل شده طی لیپولیز به واسطه فعالیت بدنی، به صورت هم‌افزایی به عضله تبدیل می‌شود و کاهش توده چربی و افزایش توده عضلانی از نظر سازگاری‌های فیزیولوژیک بعد از ورزش قابل قبول است (۳۱). کاظمی‌پور و همکاران (۲۰۱۳)، در تأیید نتایج پژوهش ما بیان کردند زنان چاق با دریافت ۳۰ میلی‌لیتر عصاره زیره سیاه بدون تغییر رژیم غذایی یا فعالیت بدنی به مدت ۹۰ روز با بررسی تغییرات در ترکیب بدن، شاخص‌های تن‌سنجی و متغیرهای بالینی و پاراکلینیکی مطالعه شدند. در گروه درمان، در مقایسه با دارونما، کاهش معنادار وزن، شاخص بدن، درصد چربی بدن و کمر به نسبت ران دیده شد (۳۱). کاظمی‌پور و همکاران (۲۰۱۶)، در مطالعه‌ای دیگر همسو با نتایج پژوهش حاضر بیان کردند، در پی مصرف زیره سیاه در زنان فعال، کاهش وزن، در نتیجه کاهش وزن بدن، چربی اضافی بدن و چاقی شکم اتفاق می‌افتد (۱۵).

در واقع بیان شده است که کاهش وزن و چربی افراد مربوط به فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی زیره سیاه ناشی از برخی ترکیبات موجود در آن مانند کارواکرول (پلی‌فنول) و اسیدهای چرب اشباع‌نشده است (۳۱). برخی ترکیبات فعال زیستی که می‌توانند میکروارگانیسم‌های روده را متعادل کنند که در هضم و جذب غذا و هموستاز روده کمک می‌کند، در زیره سیاه موجود است (۳۲). لیپولیز به وسیله اسیدهای چرب اشباع‌نشده که به اکسیداسیون اسیدهای چرب منجر می‌شوند، تقویت می‌شود (۳۳). از جمله ترکیبات زیره سیاه

آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که باعث تحریک آپوپتوز در پیش‌چربی می‌شوند. آنها توده بافت چربی را از طریق جلوگیری از تجمع چربی و افزایش لیپولیز در سلول‌های چربی کاهش می‌دهند (۳۴). با فعال شدن مسیر گیرنده بتا آدرنژیک ترموژن و لیپولیز تحریک می‌شود که این امر از طریق افزایش cAMP داخل‌سلولی سبب افزایش سرعت سوخت‌وساز پایه و متابولیسم چربی می‌شود که خود به وسیله سیستم عصبی سمپاتیک انجام می‌گیرد (۳۵). همچنین سازوکار دیگر T4 و T3 است. سطح T4 و T3 با مصرف زیره سیاه افزایش می‌یابد. تأثیرات افزایشی زیره سیاه روی T4 و T3 و اثر کاهشی آن بر TSH باعث تحریک متابولیک می‌شود، که سبب کاهش چربی بدن و وزن بدن می‌شود (۱۰). برخی از محدودیت‌های پژوهش فعلی شامل بررسی تفاوت‌های اولیه در بیان ژن FNDC5 و میزان ترشح آیریزین حیوانات، بررسی تفاوت در بیان ژن FNDC5 و میزان ترشح آیریزین از بافت عضلانی و بافت چربی، محدودیت در افزایش گروه‌های مورد مطالعه به منظور تعیین سازوکار دوزهای دیگر زیره سیاه (با توجه به وابسته بودن به دوز) و انواع فعالیت‌های هوازی با شدت کم و زیاد و علاوه بر این عدم کنترل تأثیر ناشی از استرس شوک الکتریکی در جلسات اولیه است.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تمرین‌های هوازی با شدت متوسط و مصرف عصاره آبی زیره سیاه با افزایش بیان ژن FNDC5 و سطح سرمی آیریزین می‌تواند موجب کاهش وزن و خطرهای ناشی از چاقی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه همکاران مرکز فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان و همچنین مرکز فیزیولوژی اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان اعلام می‌دارند.

1. Hamidnia L, Nematy M, Salari R, Taghipour A, Motavasselian M. Comparing the efficacy of therapeutic packages in Persian Medicine with Classical Medicine in overweight patients: a randomized clinical trial. *Electronic physician*. 2018;10(6):6892.
2. Omidifar A, Toolabi K, Rahimpour A, Emamgholipour S, Shanaki M. The gene expression of CTRP12 but not CTRP13 is upregulated in both visceral and subcutaneous adipose tissue of obese subjects. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2019;13(4):2593-9.
3. Rahmatollahi M, Ravasi A, Soori R. Effect of 8 Weeks of Low-Intensity Continuous Training on Plasma Adipolin, Insulin Resistance, and Weight of Fatty Fat-Filled Rats. *Adv Obes Weight Manag Control*. 2017;7(5):00211.
4. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(2):85-97.
5. Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C, et al. Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell metabolism*. 2014;19(2):302-9.
6. Norheim F, Langlete TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS Journal*. 2014;281(3):739-49.
7. Yoneshiro T, Saito M. Activation and recruitment of brown adipose tissue as anti-obesity regimens in humans. *Annals of medicine*. 2015;47(2):133-41.
8. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
9. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012;61(12):1725-38.
10. Pourahmadi M, Jahromi H, Rooeintan Y. The effect of aqueous extract of caraway seed (*Carum carvi*) on cholecystokinin hormone in male rat. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 2016;8(4):2023-35.
11. Keating SE, Hackett DA, Parker HM, O'Connor HT, Gerofi JA, Sainsbury A, et al. Effect of aerobic exercise training dose on liver fat and visceral adiposity. *Journal of hepatology*. 2015;63(1):174-82.
12. Campbell SC, Wisniewski PJ, Noji M, McGuinness LR, Häggblom MM, Lightfoot SA, et al. The effect of diet and exercise on intestinal integrity and microbial diversity in mice. *PloS one*. 2016;11(3). e0150502.

13. Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, Moore R, Cook MD, White BA, et al. Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2018;50(4):747-57.
14. Cheraghi J, Kimyagar M. The Effects of Hydroalcoholic Borage Extract on Serum Lipid Profile in Mice and Comparison with Lovastatin. *scientific journal of ilam university of medical sciences.* 2016;24(3):1-9.
15. Kazemipoor M, Hamzah S, Hajifaraji M, Radzi CWJBWM, Cordell GA. Slimming and Appetite-Suppressing Effects of Caraway Aqueous Extract as a Natural Therapy in Physically Active Women. *Phytotherapy Research.* 2016;30(6):981-7.
16. Mahboubi M. Caraway as Important Medicinal Plants in Management of Diseases. *Natural products and bioprospecting.* 2019;9(1):1-11.
17. Erjaee H, Rajaian H, Nazifi S, Chahardahcherik M. The effect of caraway (*Carum carvi* L.) on the blood antioxidant enzymes and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comparative Clinical Pathology.* 2015;24(5):1197-203.
18. Agrahari P SD. A review on the pharmacological aspects of *Carum carvi*. *Journal of Biology and earth sciences.* 2014;4(1):1-13.
19. Haidari F, Seyed-Sadjadi N, Taha-Jalali M, Mohammed-Shahi M. The effect of oral administration of *Carum carvi* on weight, serum glucose, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Saudi Med J.* 2011;32(7):695-700.
20. Ghorbani S, Alizadeh R, Moradi L. The effect of high intensity interval training along with consumption of caraway seeds (*Carum carvi* L.) on liver enzymes, lipid profile, and blood glucose in obese and overweight women. 2017.
21. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews.* 2010;23(2):270-99.
22. Taherzadeh S, Mogharnasi M, Rasoulilian B, Kaeidi A, Khosravi A. The Effect of 6 Weeks Aerobic Training and Aqueous Extract of Caraway Seed (*Carum Carvi*) on the Expression of CTRP12 Gene, Body Weight Changes and Subcutaneous Adipose Tissue in Obese Male Rats: An Experimental Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences.* 2020;19(1):39-52.
23. Taherzadeh S, Mogharnasi M, Rasoulilian B, Kaeidi A. The Effect of 6 Weeks Aerobic Training and Aqueous Extract of Caraway Seed on serum levels of Adipolin, lipid profile changes in Obese Male Rats. *Journal of Sport Biosciences.* 2020;12(3):362-74.
24. Hamedifar M, Mirnasouri R, Rahmati M. The Effects of Six Weeks Endurance Training on XBP-1 Protein in the Diabetic Male Wistar Rats Sciatica Tissues. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity.* 2018;10(4):187-93.
25. Reisi J, Rajabi H, Ghaedi K, Marandi S, Asady Samani Z, Kazeminasab F. Effect of eight weeks' resistance training on plasma irisin protein level and muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes expression in male rats. *Exercise Physiology.* 2015;7(28):30-117.

26. Lu Y, Li H, Shen S-W, Shen Z-H, Xu M, Yang C-J, et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids in health and disease*. 2016;15(1):93.
27. Pang M, Yang J, Rao J, Wang H, Zhang J, Wang S, et al. Time-dependent changes in increased levels of plasma irisin and muscle PGC-1 α and FNDC5 after exercise in mice. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2018;244(2):93-103.
28. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *The FEBS journal*. 2014;281(3):739-49.
29. Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Effect of high-intensity interval training on total, abdominal and visceral fat mass: a meta-analysis. *Sports Medicine*. 2018;48(2):269-88.
30. Abdelbasset WK, Tantawy SA, Kamel DM, Alqahtani BA, Soliman GS. A randomized controlled trial on the effectiveness of 8-week high-intensity interval exercise on intrahepatic triglycerides, visceral lipids, and health-related quality of life in diabetic obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Medicine*. 2019;98(12):e14918.
31. Kazemipoor M, Hajifaraji M, Haerian BS, Mosaddegh MH, Cordell GA. Antiobesity effect of caraway extract on overweight and obese women: a randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013.
32. Can Baser K. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current pharmaceutical design*. 2008;14(29):3106-19.
33. Kalupahana NS, Claycombe KJ, Moustaid-Moussa N. (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. *Advances in nutrition*. 2011;2(4):304-16.
34. Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2008;19(11):717-26.
35. Kazemipoor M, Cordell GA, Sarker MMR, Radzi CwJBWM, Hajifaraji M, En Kiat P. Alternative treatments for weight loss: Safety/risks and effectiveness of anti-obesity medicinal plants. *International Journal of Food Properties*. 2015;18(9):1942-63.

The Effect of 6 Weeks of Aerobic Exercise and Aqueous Extract of Caraway Seed on Expression of FNDC5 Gene and Serum Irisin Level in Obese Male Rats

Sedigheh Taherzadeh ¹ - Mehdi Mogharnasi*² - Ayat Kaeidi ³, Bahram Rasulian ⁴

1. PhD of Exercise Physiology and Faculty of Department of Physical Education, Faculty of human sciences, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran 2. Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran 3. Assistant Professor of Medical Physiology, Department of Physiology and Pharmacology, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran 4. Professor of Human Physiology and General Medicine, Department of Physiology, Lorestan University of Medical Sciences, Lorestan, Iran
(Received: 2020/4/30; Accepted: 2020/8/4)

Abstract

Overweight and obesity are one of the important factors in the prevalence of diseases. FNDC5 is the gene expression of the irisin protein in adipose tissue. The aim of the present study was to determine the effect of 6 weeks of aerobic exercise and aqueous extract of carum carvi on FNDC5 gene expression and serum irisin level in obese male rats. In this experimental study, 24 obese male rats had 12 weeks of high-fat diet and then they were randomly divided into 4 groups: 1. high-fat diet + control 2. high-fat diet + exercise 3. high-fat diet + Carum Carvi extract 4. high-fat diet + exercise + Carum Carvi extract. The exercise groups performed aerobic exercise (approximately 50% - 70% VO₂max) 5 days a week for 6 weeks. The gene expression of FNDC5, serum irisin level and body weight were measured. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests. The significance level was set at $\alpha < 0.05$. The results showed a significant increase in FNDC5 gene expression, serum level of irisin ($P < 0.05$) and a significant decrease in body weight in the high fat + exercise + Carum Carvi extract group compared to the other groups ($P < 0.05$) and a significant increase in FNDC5 gene expression in the exercise groups compared to the control group ($P < 0.05$). Therefore, it seems that moderate intensity aerobic exercise and aqueous extract of Carum Carvi can decrease body weight and obesity-induced risks by increasing FNDC5 gene expression and serum irisin level.

Keywords

Aerobic exercise, Carum Carvi, FNDC5 gene, Irisin.

* Corresponding Author: Email: mogharnasi@birjand.ac.ir Tel: +989153412696