

The effect of eight weeks of aerobic exercise and resveratrol on expression of genes involved in thermogenesis and lipid profile in male C57BL/6 mice

Fatemeh Kazeminasab^{1†}

Receive 2022 April 10; Accepted 2022 June 15

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the combined effect of resveratrol and aerobic exercise on the expression of genes involved in thermogenesis and lipid profile in the subcutaneous adipose tissue of C57BL/6 mice. **Methods:** Thirty-two male mice with a mean weight of 16 ± 4 g were randomly divided into four groups (n=8). 1. Resveratrol (Res), 2. Control, 3. Aerobic exercise (Exe), 4. Resveratrol+Aerobic exercise (Res+Exe). The mice received resveratrol by gavage five times/week for eight weeks. The exercised mice trained on a treadmill for eight weeks, five sessions/week with an average intensity of 65-50% of maximum oxygen consumption (Vo_{2max}). Adipose tissue was extracted after completing the research protocol and 24 hours after the last training session, subcutaneous adipose tissue was extracted and the expression of genes (PGC1 α , FNDC5, UCP1, PRDM16, and SIRT1) in adipose tissue was measured using Real-time PCR. **Results:** The results showed that the levels of FNDC5, SIRT1, and UCP1 in the adipose tissue of Res mice were higher than the control group. Also, the expression of PGC1 α , FNDC5, UCP1, PRDM16, and SIRT1 in the adipose tissue of Exe mice was higher than the control group. The markers of thermogenesis and genes involved in adipose tissue browning were significantly in the Res+Exe group higher than the Res and Exe groups. The levels of HDL in the Res+Exe group were higher than the control group and the levels of LDL, triglyceride and total cholesterol were lower in the Res+Exe group than the control group. **Conclusions:** Aerobic exercise and resveratrol have a significant synergistic effect on increased thermogenesis and increased expression of UCP1, PRDM16, PGC1 α , SIRT1, and FNDC5 compared to Exe and Res group alone. Increased expression of FNDC5 in subcutaneous adipose tissue following modification of aerobic exercise and resveratrol is modulated by SIRT1.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Human Sciences, University of Kashan, Kashan, Iran.

†Corresponding address: Dr. Fatemeh Kazeminasab, Tel: +98-313-55913706;

Email: fkazeminasab@kashanu.ac.ir

Keywords: Resveratrol, Aerobic exercise, Thermogenesis, Sirtuin 1 (SIRT1), Fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5)

Cite as: Fatemeh Kazeminasab. The effect of eight weeks of aerobic exercise and resveratrol on expression of genes involved in thermogenesis and lipid profile in male C57BL/6 mice. *Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2022; 9(1): 164-175.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27812.1471

DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.14.5



Extended abstract

Background

Bostrom et al. reported that aerobic exercise increased PGC1 α expression in skeletal muscle, which increased FNDC5 levels, broke down part of FNDC5, and released it as plasma in the form of irisin. Irisin secretion is dependent on the expression PGC1 α (4). Irisin induces the expression of UCP1 protein and other markers related to brown adipose tissue, thermogenesis, and browning in adipose tissue (4-7). Resveratrol is a polyphenolic compound found in red grapes and grape products that improves the metabolic homeostasis of lipids and carbohydrates (9). Resveratrol improves fat browning, thereby contributing to an increase in thermogenesis (3). The aim of this study was to investigate the combined effects of aerobic exercise and resveratrol on the expression of genes involved in thermogenesis (PGC1 α , FNDC5, UCP1, PRDM16, and SIRT1) in subcutaneous adipose tissue and lipid profile (triglyceride, total cholesterol, low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein) in C57BL/6 in male mice.

Methodology

Thirty-two C57BL/6 male mice were randomly divided into four equal groups: 1. Resveratrol group (Res) (n=8) 2. Aerobic exercise group (Exe) (n=8), 3. Resveratrol+aerobic exercise group (Res+Exe) (n=8), 4. placebo group (Control) (n=8). The exercised groups received some progressive exercise. They were again made to run on a treadmill for 50 min/day, 5 days/week, 1 session/day. During the first and second weeks of exercises, the speed was set to 15 m/min, while for the third and fourth, fifth and sixth, and seventh and eighth weeks, it was adjusted to 17, 19, and 21 m/min, respectively. Res and Res+Exe mice received resveratrol by gavage five times/week for eight weeks. The daily dose of resveratrol was 400 mg/kg body weight (20-22). Twenty-four hours after the last training session, blood sampling was performed. Adipose tissue was extracted, and the expression of genes (PGC1 α , FNDC5, UCP1, PRDM16, and SIRT1) in adipose tissue was measured using Real-time PCR.

Statistical Analysis:

Data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). ANOVA test was used for comparison between groups and the post-hoc Tukey test was used for comparison between groups.

Results:

The results show that the levels of HDL, and TG in the Exe, and Res+Exe groups were significantly higher than the control group. Also, serum LDL levels in the Res, and Res+Exe mice were significantly lower than the control. The levels of serum TC were significantly lower in the Exe, Res, and Res+Exe groups than the control. The results showed that PGC1 α mRNA in the Exe, and Res+Exe mice was significantly higher than the control. Also, the levels of PGC1 α mRNA in the Res+Exe group were significantly higher than the Res group. Also, the levels of PGC1 α expression in the Exe group were significantly higher than Res group (Figure 1). The data show that FNDC5 mRNA in the Exe, Res, and Res+Exe mice was significantly higher than the control group. Also, the levels of this gene in the Res+Exe group were significantly higher vs. the Res mice (Figure 1). The results showed that exercise and resveratrol had synergistic effects on UCP1 expression in the Res+Exe group vs. the Exe, and Res groups (Figure 1). The results showed that PRDM16 mRNA expression was higher in the Exe, and Res+Exe mice than control group. But resveratrol alone did not affect on PRDM16 mRNA expression in the Res group (Figure 1). The data showed that SIRT1 mRNA was significantly higher in the Res+Exe, Res, and Exe groups than the control group. Also, the expression of this gene in the Res mice was significantly higher than the Exe group. There were synergistic effects of exercise and resveratrol on the expression of SIRT1 in the Res+Exe group vs. the Exe, and Res groups (Figure 2).

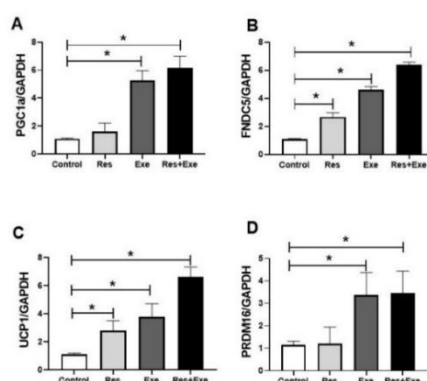


Figure 1- Effects of aerobic exercise and resveratrol on the expression of PGC1 α , FNDC5, UCP1, and PRDM16 genes in different groups. *: $p < 0.05$.

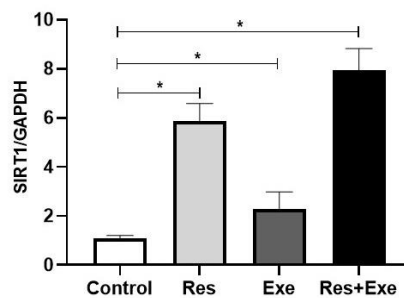


Figure 2 - Effects of aerobic exercise and resveratrol on SIRT1 gene expression in different groups. *: $p < 0.05$.

Discussion:

The results of the present study showed that aerobic exercise and resveratrol have synergistic effects on FNDC5, PGC1a, and PRDM16 expression vs. the Res group. Also, exercise and resveratrol also had a synergistic impact on UCP1 expression in the Res+Exe group vs. the Exe, and Res groups. Resveratrol administration and the combination of exercise and resveratrol improved serum lipid profile in male C57BL/6 mice. This study showed that resveratrol increased the expression of FNDC5 in subcutaneous adipose tissue. The results of this study are consistent with the study of Android et al. In 2019. This study reported that resveratrol activates SIRT1 in white adipose tissue, and the increase in FNDC5 following resveratrol intervention occurs through the SIRT1 mRNA (22). SIRT1 regulates glucose homeostasis, insulin production, and fat metabolism (11). Recent studies have reported that one of the possible mechanisms of resveratrol effects on metabolism occurs through the AMPK signaling pathway (22, 29). AMPK enzyme affects SIRT1 expression and modulates PGC1a expression (20). On the other hand, by performing physical activity and increasing the amount of AMP during aerobic exercise, the AMPK signaling pathway is activated (30, 31). AMPK is a fuel-sensitive enzyme activated during physical activity in human and rodent skeletal muscle, as well as in adipose tissue and liver, due to the increased AMP/ATP ratio (32). Resveratrol treatment decreased TG, TC, and LDL levels. The results of this study are consistent with recent research (22). As a result, resveratrol and aerobic exercise improved fat metabolism in male C57BL/6 mice.

Conclusion:

The findings of the present study show that resveratrol and aerobic exercise have significant synergistic effects on thermogenesis and FNDC5 markers in the subcutaneous adipose tissue of mice. SIRT1 is one of the key genes associated with FNDC5 and energy homeostasis and heat production in the body. We suggested that resveratrol and aerobic exercise have significant synergistic effects on thermogenesis. The combination of resveratrol and exercise may be effective for metabolic diseases such as type 2 diabetes.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال نهم، شماره اول؛

بهار و تابستان ۱۴۰۱؛ صفحات ۱۶۴-۱۷۵

Open Access

مقاله پژوهشی

اثرات هشت هفته تمرین هوازی و رزوراترول بر بیان ژن‌های دخیل در ترموژنز و پروفایل لیپیدی در موش‌های نژاد C57BL/6

فاطمه کاظمی نسب

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱

چکیده

هدف: هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ترکیبی رزوراترول و تمرین هوازی بر بیان ژن‌های درگیر در ترموژنز و پروفایل لیپیدی در بافت چربی زیرپوستی موش‌های نژاد C57BL/6 بود. **روش شناسی:** ۳۲ موش نر با میانگین وزنی 16 ± 4 گرم به طور تصادفی به چهار گروه (تعداد = ۸) تقسیم شدند. ۱. رزوراترول (Res)، ۲. کنترل (Control)، ۳. تمرین هوازی (Exe)، ۴. تمرین هوازی + رزوراترول (Res+Exe). موش‌ها رزوراترول را به مدت هشت هفته، پنج مرتبه/هفته، از طریق گاواژ دریافت کردند. موش‌های تمرین کرده به مدت هشت هفته، پنج جلسه/هفته با میانگین شدت ۵۰-۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی تحت تمرین بدنی بر روی نوارگردان قرار گرفتند. پس از اتمام پروتکل پژوهش و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت چربی زیرپوستی استخراج و بیان ژن‌ها (PGC1 α ، FNDC5، UCP1، PRDM16 و SIRT1) در بافت چربی با استفاده از تکنیک Real-time PCR سنجش شد. همچنین میزان پروفایل چربی (تری گلیسرید، کلسترول تام، HDL و LDL) ارزیابی شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که سطوح FNDC5، SIRT1 و UCP1 در بافت چربی موش‌های گروه Res بالاتر از گروه کنترل بود. همچنین بیان PGC1 α ، FNDC5، UCP1، PRDM16 و SIRT1 در بافت چربی موش‌های Exe بالاتر از گروه کنترل بود. نشانگرهای ترموژنز و ژن‌های دخیل در قهوه ای شدن بافت چربی در گروه Res+Exe نسبت به گروه Res و Exe به طور معناداری بالاتر بود. میزان HDL در گروه Res+Exe نسبت به گروه کنترل بالاتر و سطوح LDL، تری گلیسرید و کلسترول تام در گروه Res+Exe نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود. **نتیجه گیری:** تمرین هوازی و رزوراترول اثر هم‌افزایی قابل توجهی بر افزایش ترموژنز و افزایش بیان UCP1، PRDM16، PGC1 α ، SIRT1 و FNDC5 نسبت به گروه تمرین و رزوراترول به تنهایی دارد. افزایش بیان FNDC5 در بافت چربی زیرجلدی که به دنبال مداخله تمرین هوازی و رزوراترول ایجاد می‌گردد، توسط SIRT1 تعدیل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: رزوراترول، تمرین هوازی، ترموژنز، سیرتوئین ۱ (SIRT1)، پروتئین غشائی فیبرونکتین (FNDC5)

نحوه ارجاع: فاطمه کاظمی نسب، "اثر ترکیبی تمرین هوازی و رزوراترول بر بیان ژن‌های دخیل در ترموژنز در موش‌های نژاد C57BL/6". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۱؛ ۹ (۱): ۱۶۴-۱۷۵.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27812.1471

DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.14.5



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان (نویسنده مسئول):
fkazeminasab@kashanu.ac.ir



مقدمه

بافت چربی نقش اساسی در هموستاز انرژی، توسعه چاقی، بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع ۲ دارد و به عنوان اهداف اساسی در درمان چاقی و اختلالات متابولیک است (۱). مقاومت انسولین و ذخیره سازی ناکارآمد چربی سبب پیشرفت اختلالات متابولیک در افراد چاق و بیماران متابولیک می‌شود. بافت چربی زیر جلدی (SAT) و بافت چربی احشایی (VAT) با عوامل خطر ساز متابولیک مرتبط هستند (۲). دو نوع بافت چربی متفاوت از نظر عملکردی در پستانداران وجود دارد: ۱. بافت چربی سفید (WAT) که محل ذخیره‌ی تری گلیسیرید و چربی در بدن است که ازدیاد آن منجر به چاقی و بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع ۲، سندرم متابولیک و چاقی می‌شود. ۲. بافت چربی قهوه ای (BAT) که در مصرف انرژی و گرمزایی نقش کلیدی دارد. از عملکرد مهم BAT حفظ دمای اولیه بدن و حفظ تعادل انرژی است (۳).

بوستروم^۵ و همکاران گزارش کردند که تمرین هوازی منجر به افزایش بیان PGC1a در عضله اسکلتی می‌شود که به دنبال آن سطوح FNDC5^۶ افزایش یافته، بخشی از FNDC5^۷ شکسته شده و به صورت آیریزین (مایوکاین ترشح شده توسط عضله اسکلتی) در پلاسما آزاد می‌شود. ترشح آیریزین به بیان فاکتور رونویسی^۸ (PGC1a) وابسته است (۴). آیریزین بیان پروتئین^{۱۰} UCP1 و سایر نشانگرهای مرتبط با بافت چربی قهوه ای، ترموژن و قهوه‌ای شدن در بافت چربی را القا می‌کند (۴-۷). استنفورد^{۱۱} و همکاران نشان دادند که تمرینات بدنی منجر به تغییر فنوتیپ بافت چربی سفید می‌شود و بیان ژن UCP1 در بافت چربی سفید احشایی و زیرپوستی و بیان مارکرهای بافت چربی قهوه‌ای در بافت چربی سفید زیرپوستی افزایش می‌یابد (۸). رزوراترول یک ترکیب پلی فنلی موجود در انگور قرمز و محصولات انگور است که باعث افزایش طول عمر در بسیاری از ارگانسیم‌ها و بهبود هموستاز متابولیک چربی و کربوهیدرات می‌شود (۹). رزوراترول رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط اکسیداتیو را از بین می‌برد (۱۰، ۱۱) و به عنوان فعال کننده خانواده سیرتوئین‌ها (به ویژه سیرتوئین-۱^{۱۲} SIRT1) شناخته شده است (۱۲، ۱۳). رزوراترول فعالیت SIRT1 را تا هشت برابر افزایش می‌دهد (۱۱، ۱۴). اخیراً مطالعات نشان داده اند که رزوراترول بر ترموژن و فرآیند قهوه ای شدن تاثیر مثبت دارد (۳). رزوراترول باعث کاهش تجمع چربی، افزایش اکسیژن مصرفی و بیان نشانگرهای ترموژن مانند UCP1 و BMP7^{۱۳} می‌شود (۳). مطالعه دیگری نشان داد که رزوراترول سطح بیان پروتئین UCP1 را

در دو بافت مهم ترموژنیک (بافت چربی قهوه ای و عضله اسکلتی) افزایش می‌دهد. در نتیجه می‌تواند به افزایش انرژی کل بدن کمک کند (۱۵). لاگاک^{۱۴} و همکاران گزارش کردند که درمان موش‌ها با رزوراترول منجر به بهبود ظرفیت هوازی می‌شود که این امر از طریق القای ژن‌های درگیر در بیوژن میتوکندری از جمله افزایش فعالیت PGC1a با واسطه SIRT1 رخ می‌دهد (۱۶).

رزوراترول، یک پلی فنول با عملکردهای مهم در بیماری‌های مرتبط با چاقی است که با توجه به نقش آن در گرمزایی بافت چربی قهوه‌ای BAT و فعال شدن قهوه‌ای شدن در بافت چربی سفید به عنوان یک داروی اساسی برای درمان چاقی مورد توجه محققان قرار گرفته است.

با در نظر گرفتن خواص شناخته شده مثبت فیزیولوژیک تمرینات هوازی و همچنین مکمل رزوراترول برای بافت چربی و احتمال تحریک بیان ژن‌های درگیر در ترموژن از جمله PGC1a, FNDC5, UCP1, PRDM16, SIRT1 و بهبود پروفایل لیپیدی در راستای سازگاری‌های مثبت فیزیولوژیک بافت چربی، بخصوص فرآیند ترموژن، ما چنین فرض کردیم که: ۱- تمرینات هوازی می‌تواند در بهبود بیان ژن‌های مذکور و پروفایل لیپیدی در موش‌های نر نژاد C57BL/6 موثر باشد. ۲- مکمل رزوراترول می‌تواند در بهبود بیان ژن‌های مذکور و پروفایل لیپیدی در موش‌های نر نژاد C57BL/6 مفید باشد. ۳- ترکیب مداخلات تمرینات هوازی و مکمل رزوراترول می‌تواند نقش موثرتری در بهبود بیان ژن‌های درگیر در ترموژن پروفایل لیپیدی در موش‌های نر نژاد C57BL/6 داشته باشد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات ترکیبی تمرین هوازی و رزوراترول بر بیان ژن‌های درگیر در ترموژن (PGC1a, FNDC5, UCP1, PRDM16, SIRT1) در بافت چربی زیرپوستی و پروفایل لیپیدی (تری گلیسیرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین با چگالی بالا و لیپوپروتئین با چگالی پایین) در موش‌های نر نژاد C57BL/6 بود.

روش پژوهش

حیوانات

۳۲ موش نر نژاد C57BL/6 با میانگین وزنی 16 ± 4 گرم و میانگین سن چهار هفته، تحت شرایط کنترل شده دما (23 ± 1 درجه سانتی‌گراد)، رطوبت (50 ± 5) و نور (۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس‌های مخصوص موش نگهداری شدند. حیوانات در طول دوره

^۱. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

coactivator-1 alpha

^{۱۰}. Uncoupling Protein 1

^{۱۱}. Stanford

^{۱۲}. Sirtuin 1

^{۱۳}. Bone Morphogenetic Protein 7

^{۱۴}. Lagouge

^۱. Subcutaneous adipose tissue

^۲. Visceral adipose tissue

^۳. White adipose tissue

^۴. Brown adipose tissue

^۵. Bostrom

^۶. Fibronectin Type III Domain Containing 5

^۷. Fibronectin Type III Domain Containing 5

^۸. Transcription factor



جمع آوری و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و برای سنجش بیان ژن، در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. مدت زمان نگهداری بافت‌ها، نهایتاً ۲ هفته بود.

تعیین پارامترهای بیوشیمیایی

سرم پس از سانتریفیوژ خون (۶۰۰ × گرم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد) به دست آمد. کلسترول تام (TC^{۱۸})، تری گلیسرید (TG^{۱۹})، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL^{۲۰}) و لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL^{۲۱}) موجود در سرم با استفاده از کیت آنزیمی (Biolabo) فرانسه اندازه گیری شد.

استخراج RNA و بررسی بیان ژن با استفاده از تکنیک Real-time PCR

با استفاده از تریزول^{۲۲} (شرکت Thermo Scientific) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده، RNA از بافت چربی زیرجلدی استخراج شد.

مراحل استخراج RNA به شرح ذیل است:

۱. هموژنیزه کردن ۵۰-۱۰۰ میلی گرم بافت در یک میلی لیتر از محلول تریزول.
۲. آنکوباسیون به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق.
۳. اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم.
۴. ورتکس کردن میکروتیوب به مدت ۱۵-۳۰ ثانیه.
۵. آنکوباسیون به مدت ۲-۳ دقیقه در دمای اتاق.
۶. سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتیگراد.
۷. انتقال فاز آبی رویی به میکروتیوب RNase free جدید (میکروتیوب‌ها را به آرامی جابجا می کنیم تا فازها با هم مخلوط نشوند).
۸. اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به فاز آبی.
۹. آنکوباسیون به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق.
۱۰. سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتیگراد.
۱۱. دور ریختن فاز رویی و جدا کردن آن از رسوب RNA.
۱۲. شست و شوی رسوب RNA توسط یک میلی لیتر اتانول ۷۵ درصد (بهتر است رسوب توسط کمی ضربه شاور شود).

آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد داشتند. وزن بدن و میزان مصرف غذا به صورت هفتگی اندازه گیری شد. پس از دو هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه و دستکاری توسط انسان، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند: ۱. گروه رزوراترول (Res^{۱۵}) (تعداد = ۸)، ۲. گروه تمرین هوازی (Exe^{۱۶}) (تعداد = ۸)، ۳. گروه رزوراترول+تمرین هوازی (Res+Exe) (تعداد = ۸)، ۴. گروه دارونما (کنترل) (Control) (تعداد = ۸). روش پژوهش این مطالعه، تجربی است.

پروتکل تمرین هوازی فزاینده و تجویز رزوراترول

موش‌های گروه تمرینی (Exe و Res+Exe) با شدت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در روز بر نوارگردان مخصوص چوندگان تمرین هوازی را شروع کردند و به مدت یک هفته به تدریج مدت فعالیت بدنی به ۵۰ دقیقه در روز و شدت فعالیت به ۱۵ متر در دقیقه افزایش یافت. این یک هفته تمرین برای آشنایی موش‌ها به تمرین هوازی طراحی شد تا بتوانند در شروع پروتکل تمرینی به مدت ۵۰ دقیقه و با شدت ۱۵ متر در دقیقه تمرین هوازی داشته باشند. پروتکل فزاینده تمرین هوازی شامل، هفته‌های اول و دوم با شدت ۱۵ متر در دقیقه، هفته‌های سوم و چهارم با شدت ۱۷ متر در دقیقه، هفته‌های پنجم و ششم با شدت ۱۹ متر در دقیقه، هفته‌های هفتم و هشتم با شدت ۲۱ متر در دقیقه و شیب صفر درجه بود. شدت تمرین در طول اجرای پروتکل، ۵۰-۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (Vo2max^{۱۷}) بود و در زمان ۹ صبح توسط فیزیولوژیست ورزش اجرا شد (۱۷-۱۹). موش‌های گروه کنترل و گروه دریافت کننده رزوراترول هیچ گونه فعالیت بدنی روی نوارگردان انجام ندادند.

موش‌های گروه Res و Res+Exe به مدت هشت هفته، پنج مرتبه/هفته، رزوراترول را از طریق گاواژ دریافت کردند. دوز روزانه رزوراترول، ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود (۲۰-۲۲). موش‌های گروه کنترل (دارونما)، به مدت هشت هفته، پنج مرتبه در هفته، آب از طریق گاواژ دریافت کردند. رزوراترول از شرکت Sigma Aldrich Co. LLC خریداری شد.

جداسازی بافت چربی زیربوستی

پس از اتمام پروتکل پژوهش (هشت هفته انجام تمرین هوازی و دریافت رزوراترول) و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین (ساعت ۹ صبح)، در حالی که موش‌ها به مدت ۱۴ ساعت ناشتا بودند؛ از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بیپهوشی کتامین و زایلازین بیپهوش شدند (۱۷). پس از تایید بیپهوشی موش‌ها قربانی شدند. یک میلی لیتر خون (به صورت تقریبی) از قلب هر موش گرفته شد و بافت چربی زیربوستی

^{۱۸}. Triglyceride

^{۲۰}. High-density lipoprotein

^{۲۱}. Low-density lipoprotein

^{۲۲}. TRIzol Reagent

^{۱۵}. Resveratrol

^{۱۶}. Exercise

^{۱۷}. Maximal oxygen consumption

^{۱۸}. Total cholesterol



۱۳. سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۵۰۰ g در دمای ۴ درجه سانتی گراد

۱۴. دور ریختن کامل الکل و قرار دادن نمونه در دمای اتاق تا خشک شدن نسبی رسوب

۱۵. حل کردن رسوب RNA در DEPC water (با توجه به میزان رسوب RNA، حدوداً ۲۰ میکرولیتر) و نگهداری در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد

۱۶. خواندن جذب RNA توسط دستگاه Nano drop

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۹ و با اطمینان آماری ۹۵٪ ($p < 0.05$). آنالیز شدند و با استفاده از این نرم افزار نمودارها رسم شدند. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM^{۲۲}) بیان شد. آزمون ANOVA برای مقایسه بین گروه‌ها و از آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه بین گروهی استفاده شد.

جدول ۱. توالی پرایمرها

ژن	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
<i>GAPDH</i>	TGCCGCTGGAGAAACC	TGAAGTCGCAGGAGACAACC
<i>PGC1α</i>	CCCTGCCATTGTAAAGACC	TGCTGCTGTTCTGTTTTTC
<i>FNDC3</i>	GACAGTAGAGAATGCGAGAGG	CCGATGATAGGAGAAGATGGAG
<i>UCP1</i>	CTTTGCCTCACTCAGGATTGG	ACTGCCACACCTCCAGTCATT
<i>PRDM16</i>	CAGCACGGTGAAGCCATTC	GCGTGCATCCGTTTGTG
<i>SIRT1</i>	GGCAGTAACAGTGACAGT	CTCTCCGATCATCTTCCAA

با استفاده از کیت DNaseI (شرکت Thermo Scientific) RNA استخراج شده از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاک‌سازی شد و سپس با استفاده از کیت cDNA synthesis (شرکت Fermentase)، cDNA سنتز شد. برای ساخت cDNA از پرایمر^{۲۳} (آغازگر) رندوم هگزامر^{۲۴} استفاده شد. سطح نسبی ژن‌های UCP1، PRDM16، SIRT1، PGC1 α و FNDC5 با استفاده از تکنیک Real-time PCR اندازه گیری شد. توالی پرایمر ژن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. برای کنترل تکثیر ژن‌ها از پرایمر اختصاصی ژن خانه گردان^{۲۵} (*GAPDH*^{۲۶}) استفاده شد. ژن *GAPDH* در همه بافت‌ها بیان می‌شود و می‌تواند شاهد خوبی برای بررسی بیان ژن‌ها باشد (جدول ۱).

روش Real-time PCR برای همه نمونه‌ها با استفاده از کیت SYBR Green PCR Master Mix (شرکت TaKaRa) و دستگاه ABI Applied Biosystems سه مرتبه تکرار شد. مراحل PCR شامل: ۱) واسرشت اولیه^{۲۷} در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۲) ۴۰ سیکل که به ترتیب شامل (a) واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، (b) اتصال^{۲۸} در دمای مناسب برای هر پرایمر به مدت ۳۰ ثانیه، (c) طولیل‌سازی^{۲۹} در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۳) طولیل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود. پس از پایان واکنش Real-time PCR و تعیین خط آستانه با استفاده از نرم افزار دستگاه، سیکل آستانه (Ct)^{۳۰} هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش ($2^{-\Delta\Delta CT}$) سطوح ژن‌های UCP1، PRDM16، PGC1 α ، SIRT1 و FNDC5 نسبت به بیان ژن رفرنس^{۳۱} *GAPDH* محاسبه شد.

یافته‌ها

اثرات رزور اترول و تمرین هوازی بر پروفایل لیپیدی

نتایج نشان می‌دهد که سطوح لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) سرمی در گروه Exe ($p=0.03$) و گروه Res+Exe ($p=0.01$) نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود (جدول ۲). همچنین میزان لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) سرمی در موش‌های Res و Res+Exe نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود (جدول ۲، $p=0.04$). داده‌ها نشان می‌دهد که میزان تری گلیسرید (TG) سرمی در گروه Res ($p=0.04$)، Exe ($p=0.04$) و Res+Exe ($p=0.02$) در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری کمتر بود (جدول ۲). میزان کلسترول تام سرمی (TC) در گروه‌های Exe و Res ($p=0.03$) و Res+Exe ($p=0.09$) نسبت به گروه کنترل به طور معناداری پایین‌تر بود. اما تفاوت معناداری بین گروه‌ها در

^{۲۸}. Annealing

^{۲۹}. Elongation

^{۳۰}. Cycle threshold

^{۳۱}. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

^{۳۲}. Standard Error of the mean

^{۲۳}. Primer

^{۲۴}. Random Hexamer

^{۲۵}. Housekeeping

^{۲۶}. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase

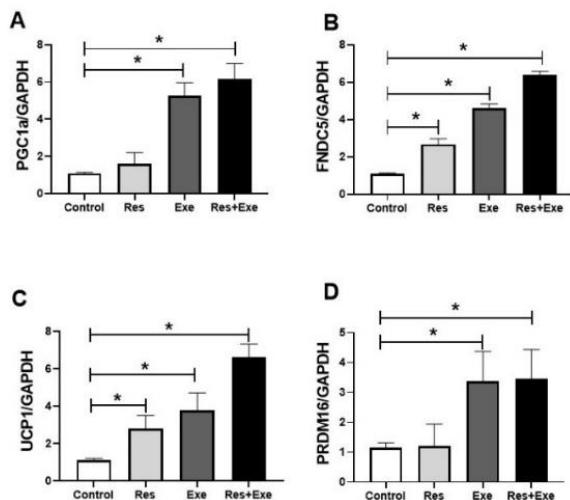
^{۲۷}. Denaturation



جدول ۲. اثر تمرین هوازی و رزوراترول بر پروفایل لیپیدی در موش‌های C57BL/6

گروه‌ها	Control	Res	Exe	Res+Exe
لیپوپروتئین با چگالی بالا (mmol/L)	۳/۴۵±۰/۴۱	۳/۹±۰/۳	۴/۸۵±۰/۶۲	* ۵/۰۶±۰/۴
لیپوپروتئین با چگالی پایین (mmol/L)	۰/۳۳±۰/۰۲	* ۰/۱۲±۰/۰۵	۰/۲۲±۰/۰۶	* ۰/۱۷±۰/۰۳
تری‌گلیسرید (mmol/L)	۱/۶۵±۰/۲۳	* ۰/۹±۰/۱۳	* ۱/۱±۰/۱	* ۰/۷±۰/۰۳
کلسترول تام (mmol/L)	۳/۲۶±۰/۳۶	* ۲/۳±۰/۲	۲/۴±۰/۱۵	* ۱/۸±۰/۴

*: تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۵ بین گروه مداخله و گروه کنترل است.



شکل ۱- اثرات تمرین هوازی و رزوراترول بر بیان ژن‌های PGC1α, FNDC5, UCP1, و PRDM16 در گروه‌های مختلف. *: نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ است. تعداد موش در هر گروه ۸ سر است.

پروفایل چربی (HDL, LDL, TG و TC) مشاهده نشد (جدول ۲).

اثرات رزوراترول و تمرین هوازی بر بیان ژن‌های PGC1α, FNDC5, UCP1, و PRDM16

نتایج نشان داد که بیان ژن PGC1α در موش‌های گروه Exe و Res+Exe به طور معناداری نسبت به گروه کنترل بیشتر بود (شکل ۱A, p=۰/۰۰۱). همچنین بیان این ژن در گروه Res+Exe نسبت به گروه Res به طور معناداری (p=۰/۰۰۱) بالاتر و در گروه Exe نسبت به گروه Res به طور معناداری (p=۰/۰۰۱) بیشتر بود. بیان این ژن در گروه Res نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. اما این افزایش معنادار نبود (شکل ۱A).

نتایج نشان می‌دهد که سطوح FNDC5 mRNA در موش‌های Exe (p=۰/۰۰۳) و Res (p=۰/۰۰۸) و موش‌های گروه Res+Exe نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود (شکل ۱B). همچنین سطوح این ژن در گروه Exe به طور معناداری بالاتر از گروه Res بود (p=۰/۰۰۲) و در گروه Res+Exe در مقایسه با Res به طور معناداری بالاتر بود (شکل ۱B, p=۰/۰۰۱).

نتایج این پژوهش نشان داد که بیان UCP1 mRNA در موش‌های Res (p=۰/۰۰۲) و Res+Exe (p=۰/۰۰۱) و Exe (p=۰/۰۰۱) به طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود (شکل ۱C). نکته قابل توجه این است که تمرین و رزوراترول اثرات هم افزایی^{۳۳} بر میزان بیان UCP1 در گروه Res+Exe نسبت به گروه Exe و Res داشته است (شکل ۱C, p=۰/۰۰۲).

نتایج نشان داد بیان PRDM16 mRNA در موش‌های Exe و موش‌های Res+Exe نسبت به گروه کنترل بیشتر بود (شکل ۱D, p=۰/۰۰۲). اما رزوراترول به تنهایی تاثیری بر بیان PRDM16 mRNA در گروه Res نداشت (شکل ۱D, p=۰/۱). همچنین بیان این ژن در گروه Res+Exe نسبت به گروه Res به طور معناداری (p=۰/۰۰۱) بالاتر و در گروه Exe نسبت به گروه Res به طور معناداری (p=۰/۰۰۱) بالاتر بود. اما تفاوت معناداری بین گروه Res+Exe و Exe وجود نداشت (شکل ۱D, p=۰/۹).

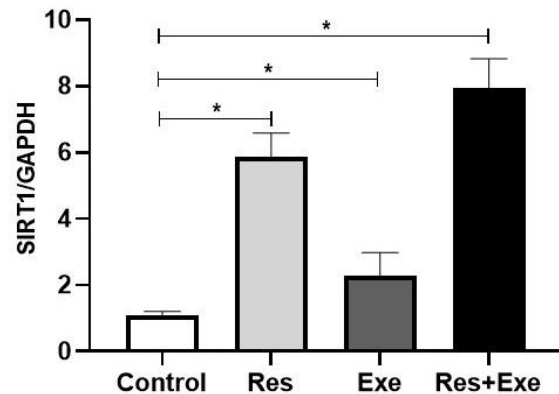
^{۳۳}. Synergistic effects



رزوراترول به تنهایی و ترکیب تمرین و رزوراترول باعث بهبود پروفایل چربی سرمی (افزایش HDL، کاهش TG، LDL، TC) در موش-های نر C57BL/6 شد.

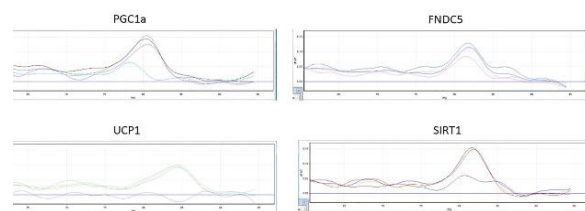
بوستروم و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که به دنبال فعالیت بدنی، بیان PGC1a و پس از آن بیان FNDC5 افزایش پیدا کرده و فرایند قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید القا می‌شود (۴). در فرایند قهوه‌ای شدن، در بافت چربی سفید زیرپوستی بیان UCP1 افزایش یافته و ترموژن (گرمزایی) رخ می‌دهد. فعالیت FNDC5 در موش‌ها با افزایش قهوه‌ای شدن آدیپوسیت‌های زیرپوستی، تحریک مصرف اکسیژن و پیشگیری از اضافه وزن و اختلالات متابولیکی همراه است (۴، ۲۴). کشف فعال کننده‌های FNDC5 از جمله رزوراترول برای پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیک از جمله چاقی و دیابت اهمیت بسزایی خواهد داشت. در مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که رزوراترول در کنترل تعادل انرژی با تعدیل دریافت غذا، وزن بدن و مصرف انرژی نقش مهمی ایفا می‌کند (۹، ۱۵، ۲۵، ۲۶). مطالعات نشان داده‌اند که رزوراترول با فعال شدن سیرتوئین‌ها از استرس متابولیک، چاقی و عوارض آن جلوگیری می‌کند (۱۱، ۲۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که رزوراترول بیان FNDC5 در بافت چربی زیرپوستی موش را افزایش می‌دهد. نتایج این پژوهش با مطالعه اندرید^{۳۴} و همکاران در سال ۲۰۱۹ همخوانی دارد. این مطالعه گزارش کرده است که رزوراترول فعال کننده SIRT1 در بافت چربی سفید است و افزایش FNDC5 که به دنبال مداخله رزوراترول ایجاد می‌شود، از طریق ژن SIRT1 صورت می‌گیرد (۲۲). SIRT1 فرایندهای هموستاز گلکز، تولید انسولین، متابولیسم چربی و بقای سلولی^{۳۵} را تنظیم می‌کند (۱۱). علاوه بر این، پژوهشگران در این مطالعه نشان دادند که مسیرهای سیگنالینگ دیگر از جمله PGC1a، MAPK و UCP1 توسط رزوراترول فعال می‌شوند. افزایش UCP1 و در نتیجه افزایش مصرف انرژی و گرمزایی منجر به کاهش تجمع چربی در بافت چربی خواهد شد (۲۲). همچنین روکا-ریوادا^{۳۶} و همکاران گزارش کردند که ترشح FNDC5 از بافت چربی سفید که توسط فعالیت بدنی تحریک می‌شود، به عنوان یک آدیپوکاین عمل می‌کند (۶). به طوری که احتمالاً FNDC5 در تعدیل هموستاز انرژی بدن در بافت چربی نقش مهمی ایفا می‌کند. به علاوه، مطالعه دیگر نشان داد که در موش‌های تحت درمان با رزوراترول، مصرف انرژی و مصرف اکسیژن افزایش پیدا کرد و با بهبود فعالیت میتوکندری و کاهش اختلالات متابولیک همراه بود (۱۶). احتمالاً رزوراترول باعث تنظیم ترموژن و مارک‌های آدیپوژنیک قهوه‌ای از جمله PRDM16 و بهبود متابولیسم از طریق ژن SIRT1 می‌شود (۱۶). ژنگ^{۳۷} و همکاران گزارش کردند موش‌های چاق با کمبود SIRT1 دارای اختلال عملکرد بافت چربی قهوه‌ای هستند (۲۸).



شکل ۲- اثرات تمرین هوازی و رزوراترول بر بیان ژن SIRT1 در گروه‌های مختلف. *: نشان‌دهنده سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ است. تعداد موش در هر گروه ۸ سر است.

شکل منحنی ذوب ژن‌های UCP1، FNDC5، PGC1a، SIRT1 در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳. منحنی ذوب ژن‌های UCP1، FNDC5، PGC1a، SIRT1

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن FNDC5 پس از تجویز رزوراترول به تنهایی، تمرین هوازی و ترکیب تمرین و رزوراترول نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود. نکته قابل توجه این است که تمرین هوازی و رزوراترول اثرات هم افزایی بر بیان FNDC5 در مقایسه با گروه Res دارد. همچنین داده‌ها نشان داد که پس از هشت هفته تمرین هوازی بیان ژن PGC1a و PRDM16 در بافت چربی زیرپوستی نسبت به گروه کنترل به طور معناداری بیشتر بود و سطوح آن در گروه Res+Exe نسبت به گروه Res (نه گروه Exe) بیشتر بود. همچنین تمرین و رزوراترول اثرات هم افزایی بر میزان بیان UCP1 در گروه Res+Exe نسبت به گروه Exe و Res داشته است. نتایج پروفایل چربی نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی منجر به افزایش HDL و کاهش TG و TC می‌شود. تجویز

^{۳۶} . Roca-Rivada

^{۳۷} . Zheng

^{۳۴} . Andrade

^{۳۵} . Cell survival



مقاومتی و ترکیبی) در چاقی و بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع ۲ و کبد چرب مورد بررسی قرار گیرد و همچنین ارتباط مسیر سیگنالینگ AMPK و SIRT1 در شرایط مذکور بررسی شود.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسنده این مقاله، هیچ نفع متقابل از انتشار آن ندارند.

Reference

1. Santos SHS, Andrade JMO. Angiotensin 1-7: A peptide for preventing and treating metabolic syndrome. *Peptides*. 2014;59:34-41.
2. Baglioni S, Cantini G, Poli G, Francalanci M, Squecco R, Di Franco A, et al. Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell. *PLoS one*. 2012;7(5):e36569.
3. Andrade JMO, Frade ACM, Guimaraes JB, Freitas KM, Lopes MTP, Guimarães ALS, et al. Resveratrol increases brown adipose tissue thermogenesis markers by increasing SIRT1 and energy expenditure and decreasing fat accumulation in adipose tissue of mice fed a standard diet. *European journal of nutrition*. 2014;53(7):1503-10.
4. 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.
5. Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Disease models & mechanisms*. 2012;5(3):293-5.
6. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS one*. 2013;8(4):e60563.
7. Khalafi M, Shabkhiz F, Azali Alamdari K, Bakhtiyari A. irisin response to two types of exercise training in type 2 diabetic male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2016;19(6):37-45. [In Persian]
8. Stanford KI, Goodyear LJ. Exercise regulation of adipose tissue. *Adipocyte*. 2016;5(2):153-62.
9. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006;444(7117):337-42.
10. Olas B, Wachowicz B, Saluk-Juszczak J, Zielinski T, Kaca W, Buczyński A. Antioxidant

مطالعات اخیر گزارش کرده اند که یکی از مکانیسم‌های احتمالی اثرات رزوراترول بر متابولیسم از طریق مسیر سیگنالینگ AMPK^{۳۸} صورت می‌گیرد (۲۲، ۲۹). آنزیم AMPK بر بیان SIRT1 تاثیر می‌گذارد و بیان PGC1 α را تعدیل می‌کند (۲۰). از طرف دیگر با انجام فعالیت بدنی و افزایش میزان AMP در حین تمرین هوازی، مسیر سیگنالینگ AMPK فعال می‌شود (۳۰، ۳۱). AMPK (پروتئین کیناز فعال شده با AMP) یک آنزیم حساس به سوخت است که در حین فعالیت بدنی در عضلات اسکلتی انسان و جوندگان، همچنین در بافت چربی و کبد به علت افزایش نسبت AMP/ATP، فعال می‌شود (۳۲).

کوانگ^{۳۹} و همکاران گزارش کردند که دی استیله شدن PPAR γ از طریق SIRT1 باعث قهوه‌ای شدن WAT زیرجلدی می‌شود که افزایش مصرف انرژی و بهبود پروفایل متابولیک مشاهده شد. آن‌ها پیشنهاد کردند که رزوراترول بیان پروتئین UCP1 را در بافت چربی افزایش می‌دهد (۳۳). علاوه بر این، در موش‌های تحت درمان رزوراترول، افزایش مصرف انرژی، مصرف اکسیژن، بهبود عملکرد میتوکندری و محافظت در برابر بیماری‌های متابولیک مشاهده شد (۱۶). نتایج اندرید و همکاران نشان داد که رزوراترول ترموژن را القا و متابولیسم را از طریق SIRT1 افزایش می‌دهد. آن‌ها گزارش کردند که تجویز خوراکی رزوراترول متابولیسم را بهبود می‌بخشد و ترموژن را از طریق القای UCP1 و SIRT1 افزایش می‌دهد و با کاهش تجمع چربی در بافت چربی، از چاقی جلوگیری می‌کند (۲۲).

درمان رزوراترول باعث بهبود سطح تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و LDL می‌شود. نتایج این پژوهش با پژوهش اخیر همخوانی دارد (۲۲). همچنین انجام تمرینات هوازی به مدت هشت هفته باعث کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول تام و افزایش HDL می‌شود. تمرین هوازی و رزوراترول اثرات ترکیبی و هم افزایی بر پروفایل لیپیدی موش‌های نر نژاد C57BL/6 دارد. در نتیجه، رزوراترول و تمرین هوازی منجر به بهبود متابولیسم چربی‌ها در موش‌های نر C57BL/6 شد.

نتیجه گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که رزوراترول و تمرین هوازی اثرات هم افزایی قابل توجهی در نشانگرهای ترموژن و FNDC5 در بافت چربی زیرپوستی موش‌ها دارد. SIRT1 یکی از ژن‌های کلیدی در ارتباط با FNDC5 و هموستاز انرژی و تولید گرما در بدن است. براساس نتایج پژوهش حاضر و نقش رزوراترول در هموستاز گلوکز و افزایش حساسیت انسولین که در مطالعات پیشین تایید شده است، پیشنهاد می‌شود رزوراترول و تمرین هوازی اثرات هم افزایی چشمگیری در ترموژن و گرمزایی دارند و احتمالاً اعمال هر دو مداخله به صورت همزمان می‌تواند در درمان بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع ۲ تاثیر بسزایی داشته باشد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده اثرات رزوراترول و انواع تمرینات بدنی (تمرین هوازی، تمرین

^{۳۸}. Quang

^{۳۹}. AMP-activated protein kinase



22. Andrade JMO, Barcala-Jorge AS, Batista-Jorge GC, Paraíso AF, de Freitas KM, de Farias Lelis D, et al. Effect of resveratrol on expression of genes involved thermogenesis in mice and humans. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;112:108634.
23. Shirkhani S, Marandi SM, Kazeminasab F, Esmaeili M, Ghaedi K, Esfarjani F, et al. Comparative studies on the effects of high-fat diet, endurance training and obesity on Ucp1 expression in male C57BL/6 mice. *Gene*. 2018;676:16-21.
24. Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, et al. Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PloS one*. 2013;8(9):e73680.
25. Jimenez-Gomez Y, Mattison JA, Pearson KJ, Martin-Montalvo A, Palacios HH, Sossong AM, et al. Resveratrol improves adipose insulin signaling and reduces the inflammatory response in adipose tissue of rhesus monkeys on high-fat, high-sugar diet. *Cell metabolism*. 2013;18(4):533-45.
26. Fiori JL, Shin Y-K, Kim W, Krzysik-Walker SM, González-Mariscal I, Carlson OD, et al. Resveratrol prevents β -cell dedifferentiation in nonhuman primates given a high-fat/high-sugar diet. *Diabetes*. 2013;62(10):3500-13.
27. Kaeberlein M, McDonagh T, Heltweg B, Hixon J, Westman EA, Caldwell SD, et al. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(17):17038-45.
28. Zheng X, Ai H, Yuan S, Cao H, Liang H, Weng J, et al. Effect of SIRT1 deficiency on function of brown adipose tissue in obese mice. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2016;96(23):1859-62.
29. Wang S, Liang X, Yang Q, Fu X, Zhu M, Rodgers B, et al. Resveratrol enhances brown adipocyte formation and function by activating AMP-activated protein kinase (AMPK) α 1 in mice fed high-fat diet. *Molecular nutrition & food research*. 2017;61(4):1600746.
30. Jørgensen SB, Richter EA, Wojtaszewski JF. Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation to exercise. *The Journal of physiology*. 2006;574(1):17-31.
31. Marcinko K, Steinberg GR. The role of AMPK in controlling metabolism and mitochondrial biogenesis during exercise. *Experimental physiology*. 2014;99(12):1581-5.
32. Richter EA, Ruderman NB. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. *Biochemical Journal*. 2009;418(2):261-75.
33. Qiang L, Wang L, Kon N, Zhao W, Lee S, Zhang Y, et al. Brown remodeling of white adipose tissue by SirT1-dependent deacetylation of Pparg. *Cell*. 2012;150(3):620-32.
- activity of resveratrol in endotoxin-stimulated blood platelets. *Cell biology and toxicology*. 2001;17(2):117-25.
11. Borra MT, Smith BC, Denu JM. Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(17):17187-95.
12. Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2012;13(4):225-38.
13. Satoh A, Stein L, Imai S. The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging, and longevity. *Histone Deacetylases: the Biology and Clinical Implication*. 2011:125-62.
14. Huang Y, Lu J, Zhan L, Wang M, Shi R, Yuan X, et al. Resveratrol-induced Sirt1 phosphorylation by LKB1 mediates mitochondrial metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(2):1197-105.
15. Alberdi G, Rodríguez VM, Miranda J, Macarulla MT, Churrua I, Portillo MP. Thermogenesis is involved in the body-fat lowering effects of resveratrol in rats. *Food chemistry*. 2013;141(2):1530-5.
16. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell*. 2006;127(6):1109-22.
17. Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 α -FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2018;43(7):651-62.
18. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F-K, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1993;265(6):H2094-H8.
19. Kazeminasab F, Marandi SM, Shirkhani S, Sheikhanian Poor A, Ghaedi K. The Effect of 8 Weeks Aerobic Exercise on LXR α , PEPCK, and G6PC2 mRNA in Obese Prediabetic Mice. *Sport Physiology*. 2020;12(48):17-38. [In Persian]
20. Um J-H, Park S-J, Kang H, Yang S, Foretz M, McBurney MW, et al. AMP-activated protein kinase-deficient mice are resistant to the metabolic effects of resveratrol. *Diabetes*. 2010;59(3):554-63.
21. Moussa C, Hebron M, Huang X, Ahn J, Rissman RA, Aisen PS, et al. Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal of neuroinflammation*. 2017;14(1):1-10.