

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۶، دی ۱۳۹۶، ۹۱۲-۹۰۱

اثر مهار گیرنده وابسته استروژنی آلفا بر سطوح سرمی کمرین، نسفاتین و آپلین متعاقب تمرین استقامتی در رت‌های نر نژاد ویستار

سیاوش جوکار^{۱،۲}، حمید معرفتی^{۳،۴}، سهیل امینی زاده^۵، یاسر معصومی اردکانی^۶

دریافت مقاله: ۹۶/۲/۳۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۶/۷/۱۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۶/۱۰/۳ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۰/۵

چکیده

زمینه و هدف: آدیپوکین‌ها به عنوان پروتئین‌های ترشح شده بافت چربی نقش مهمی در کنترل متابولیسم بدن دارند. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر مهار گیرنده وابسته استروژنی آلفا (ERR) بر سطوح سرمی کمرین، نسفاتین و آپلین در موش‌های صحرایی متعاقب ۴ هفته تمرین استقامتی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. حیوانات به چهار گروه مساوی به صورت تصادفی تقسیم شدند که شامل گروه‌های کنترل، کنترل+XCT790، تمرین استقامتی، تمرین استقامتی+XCT790 بودند. از XCT790 به عنوان مهار کننده ERR با دوز ۰/۴۸ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی استفاده شد. گروه‌های تمرینی به مدت چهار هفته (پنج جلسه در هر هفته) تمرین استقامتی دویدن انجام می‌دادند. در شروع تمرین، سرعت ۱۵ متر بر دقیقه و زمان ۲۰ دقیقه بود و به سرعت ۲۷ متر بر دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه افزایش یافت. برای اندازه‌گیری سطوح سرمی آپلین، کمرین و نسفاتین از تکنیک الیزا و از تحلیل واریانس یک طرفه به همراه آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه بین گروهی استفاده شد.

یافته‌ها: سطوح سرمی آپلین ($P=0/168$) و کمرین ($P=0/397$) در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل سالم تفاوت معنی‌داری نداشت، اما سطوح سرمی نسفاتین در گروه تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/001$). همچنین، سطوح سرمی آپلین ($P=0/033$) در گروه کنترل سالم+XCT790 در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری کاهش یافت و اما سطوح سرمی نسفاتین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/001$)، در حالی که سطوح سرمی کمرین تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد ($P=0/718$).

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد که نسفاتین-۱ فاکتوری تمرین پذیر است و احتمالاً در شرایط اختلال هومئوستاز انرژی که ناشی از مهار ERR است نقش جبرانی ایفا می‌کند و اما کمرین احتمالاً با مهار ERR دچار تغییر نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: کمرین، نسفاتین، آپلین، ERR، تمرین استقامتی، موش صحرایی

۱- مرکز تحقیقات علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۲- دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۳- مرکز تحقیقات قلب و عروق، پژوهشکده علوم فیزیولوژی پایه و بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

۴- دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

۵- (نویسنده مسئول) مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم فیزیولوژی پایه و بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تلفن: ۰۳۴-۳۲۱۳۱۹۴۸، دورنگار: ۰۳۴-۳۲۱۳۱۹۴۸، پست الکترونیکی: soheilaminizadeh@yahoo.com

۶- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم فیزیولوژی پایه و بالینی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

مقدمه

اگرچه زمینه‌های تحقیقاتی در پزشکی تمایل به تقسیم بندی حیطه‌ها به صورت آسیب‌شناسی و علوم پایه دارد، اما ارتباط و تعامل بین این حوزه‌ها یکی از مهم‌ترین فاکتورها در کشف و آنالیز داروهای جدید و بررسی عملکرد آنهاست [۱]. یکی از این داروها، داروی XCT790 (3-[4-(2,4-bis-trifluoromethyl-benzyloxy)-3-methoxy-phenyl]-2-cyano-N-(5-trifluoromethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-acrylamide) است که اولین مهار کننده بالقوه گیرنده هسته‌ای آلفا استروژن (Estrogen-Related Receptor- ; ERR) است [۲-۳]. توسعه این دارو با نشان دادن نقش کلیدی ERR در تنظیم تمایز سلولی، هومئوستاز انرژی و سندرم‌های متابولیکی گسترش یافته است [۴]. مکانیسم مهاری این دارو با قطع ارتباط ترکیبات هم فعال کننده ERR از طریق متصل شدن XCT790 به آنها صورت می‌گیرد [۵]. XCT790، آنتاگونیست ERR که به عنوان قطع کننده بالقوه زنجیره واکنش‌های شیمیایی درگیر در میتوکندری است منجر به تخلیه سریع ذخایر ATP سلولی می‌شود که این امر نشان دهنده مکانیسم مستقیم عملکرد XCT790 در مختل کردن تنفس میتوکندریایی است [۴]. از طرفی حین تمرین استقامتی تری آسیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد منابع مهم انرژی محسوب می‌شوند که اکسیداسیون آنها در میتوکندری به طور فزاینده‌ای حین تمرین استقامتی طولانی مدت افزایش می‌یابد، استفاده‌ای که به واسطه شدت و مدت تمرین تعیین می‌شود [۶].

بافت چربی به عنوان یک ارگان ترشحی در نظر گرفته می‌شود، زیرا این بافت وظیفه کنترل فیزیولوژیکی و متابولیکی کلی بدن را برعهده دارد. آپلین یکی از آدیپوکاین‌هایی است که نقش مهمی در سیستم قلبی-عروقی و تنظیم متابولیسم لیپید دارد [۷]. در بحث متابولیسم لیپید، آپلین رهایش (Free fatty acid) FFA توسط سلول‌های چربی از طریق فعالیت AMPK (Adenosine monophosphate-activated protein kinase) را کاهش می‌دهد و در مقابل با افزایش مقدار پرلیپین اطراف واکوئول‌های چربی، به آنها ثابت بیشتری می‌بخشد و مقاومت به لیپازها را افزایش می‌دهد [۸]. اما از طرفی تزریق روزانه آپلین به صورت درون صفاقی به مدت دو هفته، کاهش محتوای تری‌گلیسریدها را در بافت چربی و همچنین کاهش وزن ذخایر مختلف چربی را در موش‌های سالم و موش‌های با رژیم غذایی پرچربی را به همراه دارد [۹]. درمان مزمن با آپلین در موش‌های چاق و مقاوم به انسولین نشان داد که میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب در عضله موش از طرق فعال کردن مسیر AMPK افزایش می‌یابد و همچنین اخیراً، درمان مزمن با آپلین نشان داده است که این فاکتور از کاهش اکسیداسیون گلوکز و اسیدهای چرب، در مدل حیوانی کاهش عملکرد قلبمربط با چاقی جلوگیری می‌کند [۱۰]. علاوه بر این، افزایش وزن در موش‌های فاقد آپلین مشاهده شد که می‌تواند مرتبط با افزایش نفوذپذیری عروق باشد که منجر به برداشت اسیدهای چرب بیشتر در بافت‌های چربی می‌شود. بنابراین آپلین ممکن است در

جلوگیری از توسعه چاقی از طریق حفظ تمامیت عروقی نقش داشته باشد [۱۱].

هورمون کمرین توانایی تنظیم آدیپوکاین‌ها، هورمون‌های اوتوکراین، پاراکراین و عملکردهای رگ زایی را دارد و در ارتباط با سیستم ایمنی به عنوان یک کموکاین و در سلول‌های چربی به عنوان یک آدیپوکاین در نظر گرفته می‌شود که ارتباط این فاکتور با التهاب و نقش آن به عنوان یک کموکاین کاملاً روشن است. به علاوه کمرین آدیپوگینی است که در تنظیم متابولیسم لیپید و در رشد بافت چربی نقش دارد [۱]. تاکنون تنها یک گزارش است که نشان داده است کمرین برداشت گلوکز را کاهش می‌دهد [۱۲] در حالیکه، نتایج سایر تحقیقات حاکی از نقش حمایتی کمرین در برداشت طبیعی گلوکز است [۱۳-۱۵].

نسفاتین-۱ پپتیدی است که توسط بافت‌های محیطی مانند بافت چربی، سلول‌های بتا پانکراس و سیستم عصبی مرکزی و محیطی ترشح می‌شود و در تنظیم هومئوستاز انرژی در ارتباط با تنظیم غذا و آب دریافتی درگیر است [۱۶]. تغییرات در ترشح مرکزی نسفاتین-۱ وابسته به متغیرها در فعالیت‌های متابولیکی است [۱۶] و تزریق داخل بطنی مغز (icv) نسفاتین-۱ در موش صحرایی، منجر به افزایش فعالیت سمپاتیکی کلیه و افزایش فشارخون می‌شود [۱۶]. از طرفی، نسفاتین-۱ مکملی برای انسولین برای کاهش سطوح گلوکز خون است، اما مکانیسم درون سلولی اثر نسفاتین برای کاهش گلوکز خون ناشناخته است. با این حال، نتایج نشان می‌دهد که نسفاتین-۱ نقش کلیدی در مکانیسم‌های کنترل

متابولیکی بدن بازی می‌کند به طوریکه در اختلالات متابولیکی مانند دیابت نوع ۲ و چاقی ممکن است به عنوان عامل درمانی بالقوه مورد استفاده واقع شود [۱۷]. در مطالعات مختلف انجام شده نسفاتین نقش مهمی در دیابت نوع ۲ بازی می‌کند که این اثر از طریق تحریک مصرف اسیدهای چرب آزاد انجام می‌گیرد [۱۸].

با توجه به نقش کاملاً تثبیت شده ERR در اکسیداسیون لیپید [۴] در مطالعات برون تنی (In Vito)، هنوز تأثیر آن بر آدیپوکاین‌هایی مانند کمرین، آپلین و نسفاتین-۱ ناشناخته است و تاکنون تحقیقی که اثرات مهاری ERR را بر این فاکتورها مورد بررسی قرار دهد انجام نشده است. اگرچه احتمال درگیری آدیپوکاین‌های ذکر شده در متابولیسم لیپید و کربوهیدرات‌ها مطرح است اما هنوز به طور مستقیم به بررسی آنها و نقش مستقیم آنها در متابولیسم لیپید پرداخته نشده است. لذا در تحقیق حاضر به دنبال ۲ هدف اصلی هستیم که این اهداف شامل: (۱) بررسی اثر مهاری ERR بر سطوح سرمی آپلین، کمرین و نسفاتین و (۲) بررسی اثر مشترک تمرین استقامتی و مهاری ERR بر سطوح سرمی آپلین، کمرین و نسفاتین-۱ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن 200 ± 10 استفاده شد. آن‌ها به چهار گروه مساوی به صورت تصادفی تقسیم شدند که شامل گروه‌های کنترل، کنترل+XCT790، تمرین استقامتی، تمرین استقامتی+XCT790 بودند. در طول مطالعه حیوانات

در درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی گراد محیط، دوره تاریکی-روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت و با رژیم غذایی معمولی (تولیدی از شرکت جوانه خراسان) و دسترسی آزاد به آب نگهداری و تغذیه شدند.

ماده XCT790، به عنوان مهار کننده ERR با دوز ۰/۴۸ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در محلول ۱۰ میلی مولار دی متیل سولفوکسید (Dimethyl sulfoxide) حل شد و روزی یک بار به صورت درون صفاقی تزریق شد [۱۹]. این ماده که یک لیگاند اختصاصی ERR است هم اثرات رونویسی ERR را سرکوب می کند و هم عملکرد متقابل بین ERR و PGC-1 (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) را مختل می نماید [۲۰، ۴].

حیوانات در گروه های ورزش به مدت چهار هفته (پنج روز در هر هفته) تمرین کردند. جهت آشنایی، آنها ابتدا با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه روی دستگاه تردمیل (مدل LE7800، ساخت شرکت Harvard Apparatus، فرانسه) می دویدند. سپس تدریجاً مدت زمان و سرعت در طول چهار هفته افزایش یافت تا اینکه در هفته پایانی سرعت به ۲۷ متر بر دقیقه و زمان تمرین به ۵۰ دقیقه در هر روز رسید. جهت همسان سازی و حذف تأثیر محیط تردمیل، گروه های کنترل در طول دوره تمرین روزانه چند دقیقه ای بر روی تردمیل خاموش قرار می گرفتند [۲۱].

پس از ۷۲ ساعت از آخرین جلسه تمرین، حیوانات با تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازاء هر

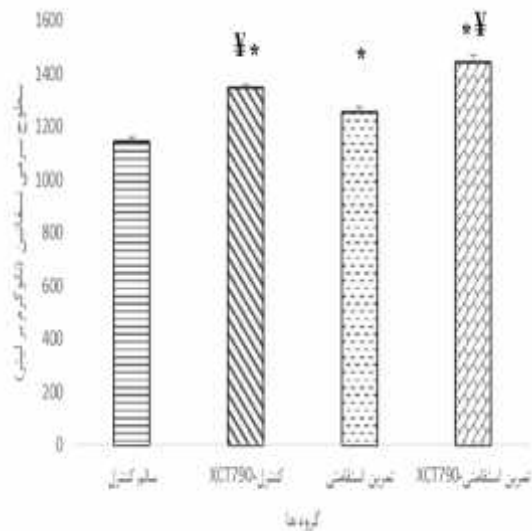
کیلوگرم وزن بدن) بی هوش و نمونه خون گرفته شد. تمام مراحل خون گیری با شرایط مشابه، هنگام صبح صورت گرفت. سپس نمونه های خونی به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۵۰۰ جی سانتریفیوژ (دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار، مدل 5430R، شرکت Eppendorf، ساخت آلمان) شدند و سرم های به دست آمده به آزمایشگاه برای تجزیه و تحلیل بعدی منتقل شدند.

برای اندازه گیری سطوح سرمی آپلین (Sensitivity: 12.21pg/ml، کمرین (Sensitivity: 0.52ng/L) و نسفاتین-۱ (Sensitivity: 16.23ng/L) از کیت های الیزا خریداری شده از شرکت Bioassay Technology Laboratory استفاده شد. برای انجام کیت ها آنتی بادی های ویژه هر کیت برای هر آنتی ژن (کمرین، آپلین و نسفاتین-۱) در چاهک ها استفاده شد و سپس شدت رنگ با دستگاه الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت که طول موج ۴۵۰ نانومتر برای خوانش کیت ها استفاده شد. چگونگی مراحل انجام آزمایشات بر اساس دستورالعمل هایی که شرکت مذکور طراحی نموده بود، انجام گرفت.

روش آماری

برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. در قسمت آمار توصیفی از میانگین و انحراف معیار استفاده شد. در قسمت آمار استنباطی از آزمون Shapiro-wilk برای تعیین توزیع طبیعی داده ها ($P=0/672$) و از آزمون لوین برای تعیین همگنی واریانس ها استفاده شد. در تحقیق حاضر، در آزمون لوین مقدار $P=0/066$ برای فاکتور آپلین، $P=0/120$ برای

نمودار ۲ سطوح سرمی نسفاتین-۱ را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. سطوح سرمی نسفاتین-۱ در گروه کنترل در مقایسه با گروه سالم+XCT790، گروه تمرین استقامتی+XCT790 و گروه تمرین استقامتی کاهش معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب، $P=0/001$ ، $P=0/001$ ، $P=0/001$) و همچنین سطوح سرمی نسفاتین-۱ در گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه تمرین استقامتی+XCT790 و گروه XCT790 به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/002$ ، $P=0/001$).



نمودار ۲- سطوح سرمی نسفاتین-۱ در گروه‌های مختلف موش‌های نر نژاد ویستار (میانگین \pm انحراف معیار) تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۸ سر حیوان بود. آنالیز واریانس یک طرفه، * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم ($P=0/005$)؛ ** اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین استقامتی ($P=0/005$)

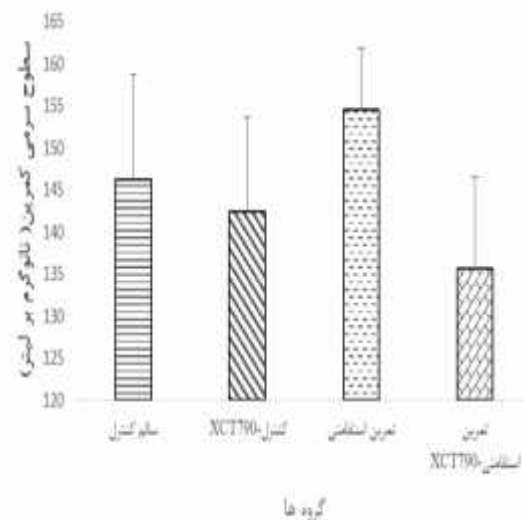
نمودار ۳ سطوح سرمی آپلین را در گروه‌های مختلف

نشان می‌دهد. سطوح سرمی آپلین در گروه کنترل در مقایسه با گروه سالم+XCT790 و گروه تمرین استقامتی+XCT790 به طور معنی‌داری بیشتر بود (به ترتیب، $P=0/033$ ، $P=0/006$). اما مقدار این فاکتور در

فاکتور کمترین و $P=0/085$ برای فاکتور نسفاتین به دست آمد که نشان دهنده همگنی واریانس‌ها است. جهت بررسی اختلاف در میانگین متغیرها در بین گروه‌های مورد مطالعه از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری منظور گردید.

نتایج

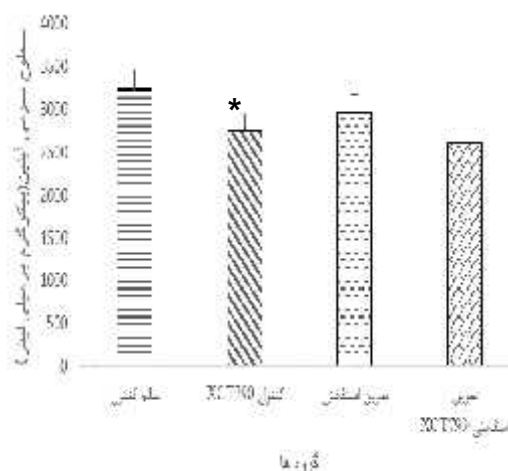
نمودار ۱ سطوح سرمی کمترین را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. مقادیر سرمی کمترین در گروه کنترل با گروه تمرین و گروه XCT790 تفاوت معنی‌داری نداشت ($P=0/397$ و $P=0/718$) و در نهایت هم، مقادیر سرمی کمترین در گروه تمرین استقامتی+XCT790 در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/313$).



نمودار ۱- سطوح سرمی کمترین در گروه‌های مختلف موش‌های نر نژاد ویستار (میانگین \pm انحراف معیار)

تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۸ سر حیوان بود. آنالیز واریانس یک طرفه، اختلاف معنی‌داری از نظر سطوح کمترین در گروه‌های مختلف مشاهده نشد ($P=0/05$)

گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P=0/168$).



نمودار ۳- سطوح سرمی آپلین در گروه‌های مختلف موش‌های نر نژاد ویسار (میانگین \pm انحراف معیار) تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۸ سر حیوان بود. آنالیز واریانس یک طرفه، * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم ($P < 0/05$)

بحث

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات بلند مدت تمرین استقامتی بر سطوح سرمی آپلین، کمرین و نسفاتین و همچنین تعیین نقش ERR در سطوح سرمی این فاکتورها متعاقب تمرین استقامتی انجام شد. مهم‌ترین نتایج به دست آمده این بود که کمرین و آپلین خاصیت تمرین‌پذیری ندارند و در پاسخ به تمرین بلند مدت استقامتی تغییر نمی‌کنند، اما نسفاتین-۱ فاکتوری تمرین‌پذیر است و در پاسخ به تمرین افزایش می‌یابد. در مقابل، تزریق مزمن XCT790، روی سطوح کمرین سرمی تغییری ایجاد نکرد اما احتمالاً تغییرات در سطوح سرمی آپلین و نسفاتین-۱ وابسته به حضور ERR است. در این مطالعه از XCT790 که یک ترکیب صناعی بوده و موجب

مهار رونویسی و فعالیت ERR و همچنین سرکوب رابطه متقابل بین ERR و PGC-1 می‌شود، استفاده گردید [۴، ۱۹، ۲۳-۲۲].

تغییرات کمرین در گروه‌های مهار ERR که هم شامل گروه کنترل سالم + XCT790 و هم تمرین استقامتی + XCT790 بود به صورت کاهش غیر معنی‌دار پدیدار شد. کمرین آدیپوکینی است که اخیراً به عنوان تنظیم‌کننده تمایز بافت چربی و متابولیسم شناسایی شده است [۲۴، ۱۴]. اعتقاد بر آن است که کمرین باعث مقاومت انسولینی و کاهش برداشت گلوکز در عضله اسکلتی، در هر دو حالت In vivo و In vitro می‌شود [۲۵-۲۶]. از آنجایی که XCT790 آنتاگونیستی است که محیطی شبیه به دیابت در بافت ایجاد می‌کند و در دیابت میزان مقاومت انسولینی نیز افزایش می‌یابد، بنابراین این امر احتمالاً می‌تواند تبیین‌کننده کاهش غیر معنی‌دار در گروه‌های دریافت‌کننده XCT790 باشد، اما با توجه به غیر معنی‌دار بودن داده‌های مربوط به کمرین در گروه‌های مختلف نمی‌توان در مورد ارتباط بین کمرین و ERR اظهار نظر کرد.

تحقیقات انجام شده در زمینه تأثیر کمرین بر واکنش‌های متابولیسمی سلول بسیار کم هستند و روشن شدن این ارتباط به مطالعه بیشتر نیاز دارد؛ در تحقیقی که روی بافت چربی زنان با سندرم تخمدان پلی‌سیستیک (*Polycystic ovary syndrome*) انجام شده نیز نشان داده شده که تولید کمرین به طور معنی‌داری با انسولین افزایش می‌یابد که توسط متفورمین کاهش پیدا می‌کند و از طریق غدد جنسی و آدرنال، دچار تغییر نمی‌شود [۲۷].

مسیرهای سیگنالینگ بیشتر برای روشن شدن این مسیر است.

از آنجایی که نسفاتین-۱ مکملی برای انسولین برای کاهش سطوح گلوکز خون است بنا بر نتایج، نسفاتین-۱ نقش کلیدی در مکانیسم‌های کنترل متابولیکی بدن بازی می‌کند به طوری که در اختلالات متابولیکی مانند دیابت نوع ۲ و چاقی ممکن است به عنوان عامل درمانی بالقوه مورد استفاده واقع شود [۱۷]. در تحقیق حاضر نیز با مهار ERR سطوح سرمی نسفاتین در گروه‌های مهار ERR افزایش داشت که می‌تواند مؤید واکنش جبرانی این فاکتور در قبال مختل شدن اکسیداسیون لیپید باشد و از طرفی میزان نسفاتین نیز در گروه تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت که نشان دهنده ی تأثیر مثبت تمرین استقامتی بر سطوح نسفاتین-۱ باشد. مهار ERR منجر به ایجاد شرایطی شبیه به دیابت می‌شود که در چنین شرایطی با توجه به نقش نسفاتین-۱ در جهت کاهش گلوکز خون، در نتیجه میزان سطوح سرمی نسفاتین-۱ افزایش می‌یابد تا سطوح سرمی گلوکز را کاهش دهد که نتایج تحقیق حاضر مؤید همین مطلب است. از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم بررسی مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی در رابطه با برهم کنش ERR و آدیپوکاین‌های مورد استفاده در این مطالعه بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای بررسی دقیق تر مکانیسم ارتباطی ERR با آدیپوکاین‌ها، میزان بیان پروتئین این فاکتورها در عضله اسکلتی و کبد نیز حین فعالیت ورزشی مورد بررسی قرار گیرد و تاثیر مهار بر مسیرهای

با این وجود، اختلافات در تحقیق حاضر معنی‌دار نیست و بررسی ارتباط دقیق بین ERR و کمترین مطالعه بیشتری را طلب می‌کند.

درسال‌های اخیر گزارش شده است که بافت چربی آدیپوکاینی به نام آپلین (Apelin) ترشح می‌کند که در سوخت و ساز کربوهیدرات و عملکرد انسولین نقش دارد [۲۸] و از متسع‌کننده‌های قوی عروقی به حساب می‌آید [۲۹]. پژوهش‌های آزمایشگاهی اولیه روی گونه‌های حیوانی نشان می‌دهد که آپلین و گیرنده آن، در هموستاز قلبی-عروقی نقش دارند، به گونه‌ای که پیام‌رسانی آن ممکن است در تنظیم تونسیته عروقی (Vascular tone)، عملکرد انقباضی قلب و تعادل مایع نقش داشته باشد [۳۰]. آپلین به عنوان یک میانجی در کنترل سیستم قلبی-عروقی، از جمله فشار خون و جریان خون عمل می‌کند و یکی از قوی‌ترین عامل‌های انقباضی قلب شناخته شده است [۳۱-۳۲]. در تحقیق حاضر نیز به دنبال تمرین استقامتی در موش صحرایی، میزان آپلین تغییر معنی‌داری نداشت، اما در گروه‌های تزریق XCT790 سطوح آپلین به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. از آنجایی که آپلین میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب را از طریق فعال کردن مسیر AMPK افزایش می‌دهد، احتمالاً مهار ERR که نقشی تعیین کننده در اکسیداسیون لیپید دارد منجر به کاهش بیان این پروتئین (آپلین) به منظور مشارکت در مسیر اکسیداسیون اسید چرب می‌شود، اگرچه با توجه به سطوح سرمی نمی‌توان نظر قطعی درباره این ارتباط داد و نیاز به بررسی

به عنوان یک فاکتور تمرین پذیر معرفی کرد که متعاقب ۴ هفته تمرین استقامتی افزایش یافت اما ارتباط آن با سایر مسیرهای متابولیکی نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مرکز تحقیقات فیزیولوژی کرمان بابت حمایت مالی از این طرح تشکر و قدردانی می‌کنیم.

سیگنالینگ درون سلولی در ارتباط با آدیپوکاین‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

بنابر نتایج این مطالعه، احتمالاً ارتباط متابولیکی بین ERR با سطوح سرمی آپلین و نسفاتین-۱ برقرار است که برای روشن تر شدن این مسیر نیاز به بررسی‌های بیشتر در مسیرهای سیگنالینگ احتمالی مرتبط با این فاکتورهاست. در این فاکتورها می‌توان تنها نسفاتین-۱ را

References

- [1] Ferland DJ, Watts SW. Chemerin. A comprehensive review elucidating the need for cardiovascular research. *Pharmacol Res* 2015; 99 (48): 351-61.
- [2] Busch BB, Stevens WC, Jr., Martin R, Ordentlich P, Zhou S, Sapp DW, et al. Identification of a selective inverseagonist for the orphan nuclear receptor estrogen-related receptor alpha. *J Med Chem* 2004; 47 (23): 5593-6.
- [3] Willy PJ, Murray IR, Qian J, Busch BB, Stevens WC, Jr., Martin R, et al. Regulation of PPARgamma coactivator 1alpha (PGC-1alpha) signaling by an estrogen-related receptor alpha (ERRalpha) ligand. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101 (24): 8912-7.
- [4] Eskiocak B, Ali A, White MA. The estrogen-related receptor alpha inverse agonist XCT 790 is a nanomolar mitochondrial uncoupler. *Biochemistry* 2014; 53 (29): 4839-46.
- [5] Mootha VK, Handschin C, Arlow D, Xie X, St Pierre J, Sihag S, et al. Erralpha and Gabpa/b specify PGC-1alpha-dependent oxidative phosphorylation gene expression that is altered in

- diabetic muscle. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101 (17): 6570-5.
- [6] Horowitz JF, Klein S. Lipid metabolism during endurance exercise. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (2): 558-63.
- [7] Bertrand C, Valet P, Castan-Laurell I. Apelin and energy metabolism. *Front Physiol.* 2015; 6 (2): 115.
- [8] Than A, Cheng Y, Foh LC, Leow MK, Lim SC, Chuah YJ, et al. Apelin inhibits adipogenesis and lipolysis through distinct molecular pathways. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 362 (1-2): 227-41.
- [9] Higuchi K, Masaki T, Gotoh K, Chiba S, Katsuragi I, Tanaka K, et al. Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 2007; 148 (6): 2690-7.
- [10] Alfarano C, Foussal C, Lairez O, Calise D, Attane C, Anesia R, et al. Transition from metabolic adaptation to maladaptation of the heart in obesity: role of apelin. *Int J Obes (Lond)* 2015; 39 (2): 312-20.
- [11] Sawane M, Kajiya K, Kidoya H, Takagi M, Muramatsu F, Takakura N. Apelin inhibits diet-induced obesity by enhancing lymphatic and blood vessel integrity. *Diabetes* 1970; 6 (62): 130.
- [12] Kralisch S, Weise S, Sommer G, Lipfert J, Lossner U, Bluher M, et al. Interleukin-1beta induces the novel adipokine chemerin in adipocytes in vitro. *Regul Pept* 2009; 154 (1-3): 102-6.
- [13] Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *J Biol Chem* 2007; 282 (38): 28175-88.
- [14] Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Kitazawa R, et al. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2008; 582 (5): 573-8.
- [15] Muruganandan S, Roman AA, Sinal CJ. Role of chemerin/CMKLR1 signaling in adipogenesis and osteoblastogenesis of bone marrow stem cells. *J Bone Miner Res* 2010; 25 (2): 222-34.
- [16] Ayada C, Toru U, Korkut Y. Nesfatin-1 and its effects on different systems. *Hippokratia* 2015; 19 (1): 4-10.
- [17] Su Y, Zhang J, Tang Y, Bi F, Liu JN. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391 (1): 1039-42.

- [18] Xu J, Ma Q, Duan HF, Qian LJ. Effects of stress on L type calcium channels of rat ventricular myocytes. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2003; 19 (3): 216-20.
- [19] Hu JZ, Long H, Wu TD, Zhou Y, Lu HB. The effect of estrogen-related receptor alpha on the regulation of angiogenesis after spinal cord injury. *Neuroscience* 2015; 290 (2): 570-80.
- [20] Teyssier C, Bianco S, Lanvin O, Vanacker JM. The orphan receptor ERRalpha interferes with steroid signaling. *Nucleic Acids Res* 2008; 36 (16): 5350-61.
- [21] Mansouri M, Nikooie R, Keshtkar A, Larijani B, Omidfar K. Effect of endurance training on retinol-binding protein 4 gene expression and its protein level in adipose tissue and the liver in diabetic rats induced by a high-fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig* 2014; 5 (5): 484-91.
- [22] Lanvin O, Bianco S, Kersual N, Chalbos D, Vanacker JM. Potentiation of ICI182,780 (Fulvestrant)-induced estrogen receptor-alpha degradation by the estrogen receptor-related receptor-alpha inverse agonist XCT790. *J Biol Chem* 2007; 282 (39): 28328-34.
- [23] Bianco S, Lanvin O, Tribollet V, Macari C, North S, Vanacker JM. Modulating estrogen receptor-related receptor-alpha activity inhibits cell proliferation. *J Biol Chem* 2009; 284 (35): 92-6.
- [24] Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology* 2007; 148 (10): 4687-94.
- [25] Ernst MC, Issa M, Goralski KB, Sinal CJ. Chemerin exacerbates glucose intolerance in mouse models of obesity and diabetes. *Endocrinology* 2010; 151 (5): 1998-2007.
- [26] Becker M, Rabe K, Lebherz C, Zugwurst J, Goke B, Parhofer KG, et al. Expression of human chemerin induces insulin resistance in the skeletal muscle but does not affect weight, lipid levels, and atherosclerosis in LDL receptor knockout mice on high-fat diet. *Diabetes* 2010; 59 (11): 2898-903.
- [27] Keim NL, Stern JS, Havel PJ. Relation between circulating leptin concentrations and appetite during a prolonged, moderate energy deficit in women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (4): 794-801.
- [28] Heinonen MV, Purhonen AK, Miettinen P, Paakkonen M, Pirinen E, Alhava E, et al. Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul Pept* 2005; 130 (1-2): 7-13.
- [29] Kalea AZ, Battle D. Apelin and ACE2 in cardiovascular disease. *Curr Opin Investig Drugs* 2010; 11 (3): 273-82.

- [30] Chandrasekaran B, Dar O, McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008; 10 (8): 725-32.
- [31] Berry MF, Pirolli TJ, Jayasankar V, Burdick J, Morine KJ, Gardner TJ, et al. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation* 2004; 110 (11 Suppl 1): 187-93.
- [32] Charo DN, Ho M, Fajardo G, Kawana M, Kundu RK, Sheikh AY, et al. Endogenous regulation of cardiovascular function by apelin-APJ. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297 (5): 1904-13.

The Effects of Err (Estrogen-Related Receptor Alpha) Inhibition on the Serum Levels of Chemerin, Nesfatin-1, and Apelin After Endurance Training in Male Wistar Rats

S. Joukar^{1,2}, H. Marefati^{3,4}, S. Aminizadeh⁵, Y. Masoumi Ardakani⁶

Received: 20/05/2017 Sent for Revision: 07/10/2017 Received Revised Manuscript: 23/12/2017 Accepted: 26/12/2017

Background and Objectives: Adipokines as lipid-secreted proteins play an important role in controlling the metabolism of the body. The aim of the present study was to investigate the effects of ERR (Estrogen-related receptor alpha) inhibition on the serum levels of Chemerin, Nesfatin-1, and Apelin after 4 weeks of endurance training in male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 32 adult male Wistar rats were used. The animals were randomly divided into four equal groups including the control, control+XCT790, endurance training, and endurance training+XCT790. XCT790, as an ERR inhibitor, was intraperitoneally injected at a dose of 0.48 mg/kg of body weight. The training groups performed running endurance training for four weeks (five sessions per week). At the start of the training, the speed was 15 meters per minute and the time was 20 minutes, and gradually increased to 27 meters per minute for 50 minutes. The ELIZA technique was utilized for measuring the serum levels of Apelin, Chemerin, and Nesfatin-1. One-way analysis of variance followed by Tukey post hoc test was used for between groups comparisons.

Results: Serum levels of Apelin ($P=0.168$) and Chemerin ($P=0.397$) in the endurance training group had no significant difference compared to the control group. Serum levels of Nesfatin-1 in the endurance training group showed a significant increase compared to the control group ($P=0.001$). Also, Apelin serum levels ($P=0.033$) in the control+XCT790 group significantly decreased compared to the control group, but the serum levels of Nesfatin-1 showed a significant increase ($P=0.001$), while there was no significant difference in the serum levels of Chemerin compared to the control group ($P=0.718$).

Conclusion: The results suggest that Nesfatin-1 is a factor that can be changed by the endurance training, and it can probably play a compensatory role in energy homeostasis disorders, but Chemerin does not change with ERR inhibition.

Key words: Chemerin, Nesfatin-1, Apelin, ERR, Endurance training, Rat

Funding: This study was funded by Research Center of Basic Physiology and Clinical Cardiovascular Research Institute, Kerman University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Research Center of Basic Physiology and Clinical Cardiovascular Research Institute, Kerman University of Medical Sciences approved the study (IR.KMU.REC.1394.449).

How to cite the article: Joukar S, Marefati H, Aminizadeh S, Masoumi Ardakani Y. The Effects of Estrogen-Related Receptor Alpha Inhibition on the Serum Levels of Chemerin, Apelin, and Nesfatin-1 After Endurance Training in Male Wistar Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2018; 16(10): 901-12. [Farsi]

1- Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2- Associate Prof., Dept. of Physiology and Pharmacology, Medical School, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

3- Cardiovascular Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

4- Associate Prof., Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Bojnourd University, Bojnourd, Iran

5- Physiology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

(Corresponding Author) Tel: (034) 32131948, Fax: (034) 32131948, E-mail: soheilaminizadeh@yahoo.com

6- Physiology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran