مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۲۰، فروردین ۱۴۰۰، ۵۲-۳۷

تأثیر تمرینات هوازی و مصرف اکتاپامین بر تغییرات بیان ژن کاسپاز۹، nlrp3، aim2 بافت چربی قهوه‌ای موش‌های صحرایی پس از مسمومیت با روغن‌های حرارت دیده عمیق: یک مطالعه تجربی

ناهید درویش‌زاده[۱]، کمال عزیزبیگی[۲]، ظاهر اعتماد[۳]

دریافت مقاله:۹۹/۱۰/۲۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح:۹۹/۱۱/۱۳ دریافت اصلاحیه از نویسنده:۹۹/۱۲/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۹/۱۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: انجام تمرینات هوازی در کنار مصرف مکمل‌های گیاهی قادر به کنترل التهاب می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرینات هوازی و مصرف اکتاپامین بر تغییرات ژن NLR family pyrin domain containing 3 (nlrp3)، absent in melanoma 2 (aim2) و کاسپاز ۹ بافت چربی قهوه‌ای در موش‌های صحرایی پس از مصرف روغن حرارت دیده عمیق بود.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی شامل: کنترل سالم، کنترل مسموم با روغن حرارت دیده، مسموم+تمرین هوازی، مسموم+اکتاپامین و مسموم+تمرین هوازی+اکتاپامین قرار داده شدند. روغن حرارت دیده به مدت ۴ هفته به موش‌های صحرایی خورانده شد. دوز مورد استفاده اکتاپامین ۸۱ میکرومول/کیلوگرم بود. گروه‌های تمرینات هوازی به مدت چهار هفته بر روی نوارگردان با شدت فزآینده تمرین کردند. جهت تعیین تغییرات ژن‌هایnlrp3، aim2، کاسپاز ۹ و هم‌چنین تغییرات بیان پروتئینی NLRP3 به ترتیب روش‌های Real time PCR و IHC به‌کار گرفته شدند. برای آنالیز داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد.

یافته‌ها: تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌داری در بیان ژن nlrp3 (p=۰/۰۱۰) و aim2 (p=۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل مسموم شد. دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش معنی‌دار بیان ژن nlrp3 (p=۰/۰۰۹) و aim2 (p=۰/۰۰۱) را به همراه داشت. تعامل ورزش و تمرین هوازی سبب کاهش معنی‌دار پروتئین NLRP3 شد (p=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: اعمال ۴ هفته تمرین ورزشی و یا مصرف اکتاپامین به صورت مجزا با کنترل کمپلکس اینفلامازوم، مرگ سلولی در بافت چرب قهوه‌ای را کاهش می‌دهد که در قهوه‌ای و کارآمدتر شدن بافت چربی مؤثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، NLRP3، AIM2، چربی قهوه‌ای، تمرینات هوازی، اکتاپامین، روغن حرارت دیده

۱- دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۲- دانشیار، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
تلفن: ۳۳۲۸۸۶۶۱-۰۸۷، دورنگار: ۳۳۲۸۸۶۶۱-۰۸۷، پست الکترونیکی: kazizbeigi@gmail.com
۳- استادیار، گروه تربیت بدنی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

مقدمه

سرخ کردن غذاها یک فرآیند رایج و گسترده در آشپزی است، که به دلیل فروش قابل توجه و فراوان محصولات سرخ شده، اغلب در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. طی سرخ کردن مقداری قابل توجهی چربی‌های مضر وارد بافت ماده غذایی خواهد شد. افزایش مصرف غذای پرچرب، صرفه نظر از افزایش کالری دریافتی، می‌تواند در القاء دیابت و بیماری‌های التهابی از طریق فاکتورهای التهابی مختلف مؤثر باشد [۲]. انواع بافت چربی در بدن شامل بافت چربی سفید، قهوه‌ای و بژ می‌باشد که هر کدام از این بافت‌ها می‌تواند تأثیرات متفاوتی داشته باشند و در القاء التهاب نقش به سزایی داشته باشند [۳]. در نمونه‌های حیوانی نشان داده شده که سلول‌های چربی در حیوانات چاق اختلال در عملکرد اندامک‌ها از جمله استرس شبکه آندوپلاسمی [۴]، اختلال عملکرد میتوکندری [۵] و فعال شدن مسیر التهابی اینفلامازوم NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) همراه بوده که این علائم حاکی از این است که سلول‌های چربی تحت فشار هیپرتروفیک دچار مرگ سلولی پیروپتوزی می‌شوند و پاسخ التهابی را شروع می‌کنند [۶].

اینفلامازوم کمپلکس چند پروتئینی هستند که در پاسخ به عفونت، آسیب سلول یا استرس محیطی فعال می‌شوند که منجر به استخدام و فعال سازی کاسپازها و مرگ سلولی می شوند [۷]. کاسپازهای پیش برنده آپوپتوز شامل کاسپازهای آغازگر ۲، ۸ و ۹ بوده که نهایتاً کاسپازهای ۳ و ۷ را فعال خواهند کرد. کاسپاز۹ یک پروتئاز مختص به اسید آسپارتیک بوده که فرایند آپوپتوز را فعال کرده و به متلاشی شدن DNA ختم می‌شود. DNA درون سیتوزول منجر به تشکیل absent in melanoma 2 (AIM2) می‌شود [۸]. AIM2 نیز، یک کمپلکس التهابی یعنی پروتئین NLRP3 را فعال می-کند [۹]. AIM2 و NLRP3 دارای دامنه پیرین بوده و برای تشکیل التهاب، apoptosis-associated specklike protein containing a CARD (ASC) و کاسپازها را استخدام می-کند. در هر حال تمام این مسیرهای اینفلامازومی با مرگ سلولی مرتبط هستند [۷]. امروز مدالیته‌های درمانی متنوعی برای کنترل مسیرهای سلولی در نظر گرفته شده که از جمله کم خطرترین و ارزان‌ترین آن‌ها مصرف مکمل‌های مختلف نظیر گیاهی و هم‌چنین انجام تمرین ورزشی منظم می‌باشد [۱۰].

عصاره میوه نارنج (Citrus aurantium)، به طور سنتی به عنوان محصولات کاهش وزن و مهار کننده‌های اشتها استفاده می‌شود [۱۱]. جزء اصلی این عصاره‌ها، اکتاپامین است که یک ماده آدرنرژیک می‌باشد [۱۲]. از لحاظ متابولیکی بیان شده که اکتاپامین باعث افزایش گلیکوژنولیز، گلیکولیز، جذب اکسیژن و گلوکونئوژنز می‌شود [۱۱]. اکتاپامین اکسیداسیون اسیدهای چرب برون‌زا (اکتانوات و اولئات) را تسریع می‌بخشد [۱۳]. از طرفی دیگر انجام تمرینات ورزشی نیز خود به صورت مجزا می‌تواند تأثیرات منفی بافت چرب را خنثی و هم‌چنین بافت چربی قهوه‌ای را کارآمدتر سازد [۱۴]. شواهد جدید نشان می‌دهد که ورزش

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

منجر به سازگاری عمده‌ای در بافت چربی به ویژه قهوه‌ای کردن چربی سفید و کارآمدی بافت چربی قهوه‌ای می‌شود [۱۴]، که در تأثیرات متابولیکی ورزش بر سلامتی نقش دارد.

بر اساس جستجوهای انجام شده، تاکنون هیچ مطالعه‌ای نقش اکتاپامین (از نارنج) با ورزش بر بافت چرب را ارزیابی نکرده است، لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین هوازی و مصرف اکتاپامین بر انفلامازوم nlrp3، aim2 و آپوپتوزیس بافت چربی قهوه‌ای در موش‌های صحرایی پس از مصرف روغن حرارت دیده عمیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود. ۴۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار (سن ۲۰ هفته، وزن ۲۰±۲۵۰ گرم) از انستیتو پاستور ایران تهیه و پس از انتقال موش‌ها به محیط جدید (آزمایشگاه هیستوژنوتک، تهران، ایران، بهار ۱۳۹۹)، حیوانات در شرایط کنترل شده با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شروع روشنایی ۶ صبح و شروع خاموشی ۶ عصر)، دما (۳±۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبت حدود ۴۵ درصد نگه‌داری شدند. تعداد ۵-۳ موش صحرایی در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگه‌داری شدند که تمامی حیوانات به آب و غذای استاندارد دسترسی آزاد داشتند. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه به طور تصادفی در گروه‌های کنترل سالم (n=۸)، کنترل مسموم (مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق) (n=۸)، مسموم + تمرین هوازی (n=۸)، مسموم + اکتاپامین (n=۸)، مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین (n=۸) قرار داده شدند. القاء مسمومیت با استفاده از مصرف روغن حرارت دیده عمیق به صورت خوراکی انجام شد [۱۵]. لازم به ذکر است تمامی مراحل پژوهش توسط کمیته اخلاقی حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کردستان (مطابق با استانداردهای National Institutes of Health; NIH) مطالعه شد و با تأییدیه کد اخلاق IR.MUK.REC.1398.242 مورد تصویت قرار گرفت.

به منظور تهیه روغن حرارت دیده بر اساس مطالعات پیشین از ۸ لیتر روغن آفتاب گردان مخصوص سرخ کردن استفاده شد. روغن به مدت چهار روز متوالی روزی هشت ساعت با حرارت ۲۰۰-۱۹۰ درجه سانتی‌گراد داغ شده و هر ۳۰ دقیقه مواد غذایی ناگت مرغ، سیب زمینی، مرغ و فرآورده‌های پروتئینی سوسیس و کالباس داخل روغن غوطه ور شده و در انتها روغن روز چهارم به منظور استفاده به عنوان مداخله مسمومیتی تا زمان اجرا نگه‌داری و به صورت خوراکی (گاواژ) به مدت ۴ هفته به موش‌های صحرایی خورانده شد [۱۶].

موش‌های گروه مسموم + اکتاپامین و هم‌چنین مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین، مکمل اکتاپامین (سیگما آلدریچ) با دوز ۸۱ میکرومول/کیلوگرم به مدت چهار هفته، پنج روز در هفته تجویز شد. این مکمل به صورت تزریق درون صفاقی و حل شده با نرمال سالین ۹ درصد مشابه تحقیقات گذشته (با این تفاوت که بافت چربی مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت) اعمال شد [۱۵].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

برنامه تمرینی به مدت چهار هفته و با شدت متوسط بر روی نوارگردان حیوانی برای موش‌های صحرایی در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی و مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین انجام پذیرفت. شدت تمرین در هفته اول ۵۰ درصد vo2maxو در هفته آخر به ۶۵ درصد vo2max رسید. به منظور سازگاری تمرینی، موش‌ها قبل از شروع برنامه اصلی تمرینی یک هفته تمرین سازگاری با سرعت ۹ متر بر دقیقه، به مدت ۲۰ دقیقه انجام دادند. مدت زمان تمرین بر اساس ۲۰ دقیقه ثابت بوده و شدت تمرین از روز اول ۱۶ متر بر دقیقه و در روز آخر به ۲۶ متر بر دقیقه رسید. برای شروع تمرین ۵ دقیقه با سرعت ۷ متر بر دقیقه گرم کردن و پس از تمرین اصلی ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه سرد کردن در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است در طول برنامه تمرینی از هیچ‌گونه شوک تمرینی استفاده نشد و در صورت لزوم با استفاده از دست و یا ایجاد محرک صوتی بر روی درپوش ریل‌های نوارگردان، حیوانات مجبور به ادامه تمرین شدند [۱۷].

در پایان هفته چهارم از پروتکل تمرینی و مصرف مکمل اکتاپامین (۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی)، موش‌ها با تزریق اکتامین (۷۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلارین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس بافت چربی قهوه‌ای موش‌ها از ناحیه کتف به طول دو سانتی‌متر قطع گردید و در پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت از مرحله تثبیت اولیه، برش ۵ میکرومتری از ناحیه بافت چربی قهوه‌ای تهیه و رنگ آمیزی H&E برای ارزیابی‌های بافتی انجام شد [۱۸]. ارزیابی کیفی تصاویر توسط پاتولوژیست انجام شد.

جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. برای این کار، میزان ۲۰۰ لاندا کیازول به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰- انکوبه (مدلICO50T2K6T6، Memmert، آلمان) شد. پلاک موجود در کرایوتیوب در حالت نیمه انجماد خرد شد و به منظور لیز نمونه‌ها میزان ۱۰۰ لاندا کلروفرم به مدت ۱ دقیقه به آنها اضافه شد. محلول حاصل، با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Centric322، دامل، آمریکا) گردید. مایع شفاف قسمت بالایی لوله که حاوی RNA بود به آرامی برداشته و در یک میکروتیوب DEPC شده قرار داده شد. ۱ میلی لیتر ایزوپروپانول بر روی RNA شفاف ریخته شد و به مدت ۱ دقیقه با دست به هم زده شد. نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس مایع رویی دور ریخته شد و روی رسوب آن ۱ میلی لیتر الکل ۷۰ درصد اضافه گردید. پس از Vortex کردن، مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۷۵۰۰ قرار گرفت. مایع رویی تخلیه گردید و پلاک در داخل میکروتیوب خشک شد. میزان ۲۰ لاندا آب مقطر ۶۰ درجه بر روی پلاک ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه بر روی صفحه ۶۰ درجه قرار داده شد. پس از استخراج RNA با خلوص و

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری سطوح بیان nlrp3، aim2 و کاسپاز ۹ از روش کمی Real time-PCR انجام شد. طراحی پرایمرها بر اساس اطلاعات ژن‌های nlrp3، aim2، کاسپاز۹ و GAPDH در بانک ژنی NCBI و توسط شرکت ماکروژن انجام شد. از ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول ΔΔCT- 2 به روش زیر محاسبه شد [۱۹].

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

(ΔCt= Ct Target-Ct Housekeeping)

در مرحله بعد، عدد به‌دست آمده از دلتا Ct هر نمونه را از نمونه‌ای که نسبت به آن نیاز بود مقایسه شود کم کرده، منفی عدد به دست آمده را به توان دو رسانده و بیان نسبی ژن NLRP1 را به دست می‌آوریم [۲۰].

(ΔΔCt=ΔCt Target-ΔCt Reference) ΔΔCt- E= 2

توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ زیر گزارش شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرها مورد استفاده برای Real time PCR

GAPDH F	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG
GAPDH R	CATACTCAGCACCAGCATCACC
Caspase9 R	CAG GAG ACA AAA CCT GGG AA
Caspase9 F	AGC CAG ATG CTG TCC CAT AC
Aim2 F	TGATGAGTTGGGCATGGGATGGT
Aim2 R	TAAAGGGTGGGGGTGGCAAGA
Nlrp3 F	GGAGTGGATAGGTTTGCTGG
Nlrp3 R	GGTGTAGGGTCTGTTGAGGT

حیوانات پس از طی زمان مذکور (۴ هفته) و تزریق درون صفاقی کتامین و زایلارین بی‌هوش شده و قسمتی از بافت چرب قهوه‌ای آن‌ها بلافاصله استخراج و در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از تثبیت نمونه‌ها، بافت‌های قالب‌گیری شده در پارافین توسط دستگاه میکروتوم (مدل KD-3390، چین) برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر گرفته شد. برش‌های به دست آمده به منظور بازیابی آنتی‌ژنی، در بافر TBS1X (pH=۹/۲) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس تریتون ۰/۳ درصد به مدت ۳۰ دقیقه به منظور نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها استفاده گردید پس از شست و شو با PBS، سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه به منظور بلوک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه به صورت رنگ اضافی زمینه اضافه شد. آنتی‌بادی اولیه (NBP2-12446SS، آمریکا) رقیق شده ضد

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

NLRP3 (۱ به ۱۰۰) با PBS به مدت یک شب به نمونه اضافه گردید و در دمای ۲ تا ۸ درجه انکوبه شد. پس از شست و شو با PBS آنتی‌بادی ثانویه متصل شده با رنگ FITC اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت در تاریکی انکوبه گردید. در نهایت به منظور رنگ‌آمیزی هسته، به نمونه ها DAPI اضافه شد. در مرحله آخر نمونه توسط میکروسکوپ فلوروسنت (مدل Olympus، آلمان) با لنز ۴۰۰ برای تأیید مارکرها مشاهده شدند [۲۱]. برای کمی کردن تصاویر نیز از نرم افزار Image J استفاده شد.

در این تحقیق برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل (مایکروسافت آفیس ۲۰۱۳) استفاده شده است. در همه نمودارها، داده‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین گزارش شده است. آنالیز آماری داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها آزمون طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس با استفاده از آزمون لون مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس سطح معناداری مشاهده شده توزیع دادها برای بیان ژن NLRP3(p=۰/۰۷۷)، AIM3 (p=۰/۲۰۰)، کاسپاز ۹ (p=۰/۱۶۹) و بیان پروتئین NLRP3 (p=۰/۰۶۵) همگی از ۰/۰۵ بزرگ‌تر بوده و طبیعی بودن توزیع دادها مورد تأیید قرار گرفت. هم‌چنین نتایج آزمون لون نیز نشان داد سطح معنی‌داری برای بیان ژن NLRP3 (p=۰/۱۴۲)، AIM3 (p=۰/۱۵۶)، کاسپاز ۹ (p=۰/۱۱۴) و بیان پروتئین NLRP3 (p=۰/۷۳۱) نیز بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بوده لذا همگنی واریانس‌ها نیز مورد تأیید قرار گرفت. با توجه به تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها و همگنی واریانس‌ها، جهت مقایسه اثر تمرین و مکمل اکتاپامین بر متغیرهای پژوهش از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد و به دنبال آن برای مقایسه چندگانه از آزمون Bonferroni استفاده گردید. هم‌چنین از مجذور اتا (□) برای نشان دادن اندازه اثر برای آزمون تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. سطح معنی‌داری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای کمی کردن تصاویر نیز از نرم‌افزار Image J استفاده شد.

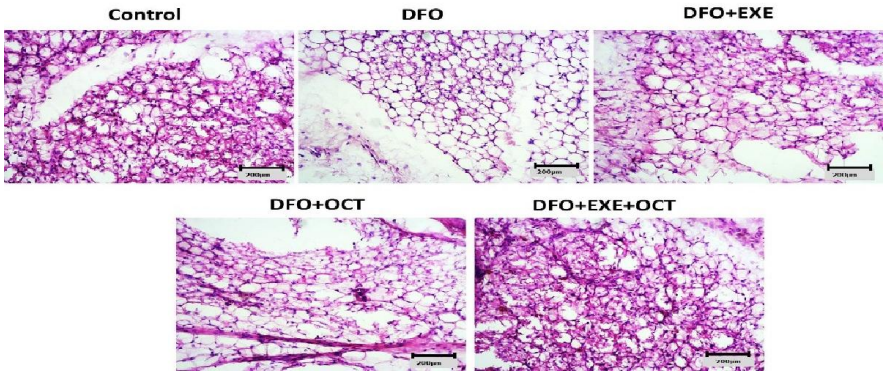
نتایج

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

هم‌چنین بر اساس این نتایج میزان جمعیت سلول‌های چربی سفید در گروه‌های مسموم + تمرین هوازی و مسموم

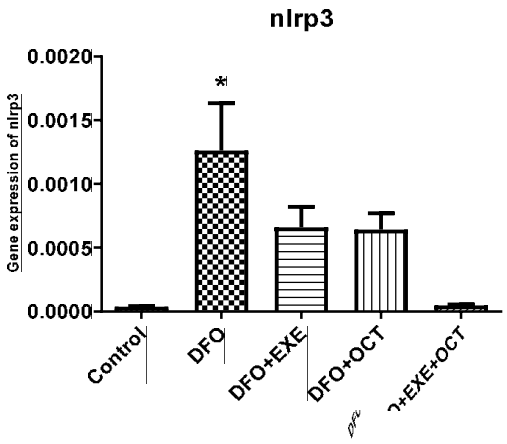
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

+ اکتاپامین نسبت به گروه کنترل مسموم کاهش قابل توجه داشته است. این در حالی بود که این دو گروه نسبت به گروه کنترل سالم جمعیت سلولی چربی قهوه‌ای کم‌تری دارند. در گروه مسموم + تمرین هوازی + اکتاپامین نیز جمعیت سلول های چربی قهوه‌ای زیاد بوده و نسبت به گروه کنترل نرمال تفاوت قابل توجهی را نشان نداد.



شکل ۱- تغییرات بافت چربی قهوه‌ای به دنبال تمرین ورزشی و مکمل اکتاپامین در موش‌های مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق (تصاویر H&E با بزرگ‌نمایی 200um). گروه DFO بیش‌ترین نفوذ سلول‌های چربی سفید را نشان می‌دهد که گروه DFO مصرف کننده مکمل و تمرین ورزشی بیش‌ترین مهار نفوذ چربی سفید را دارد. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.

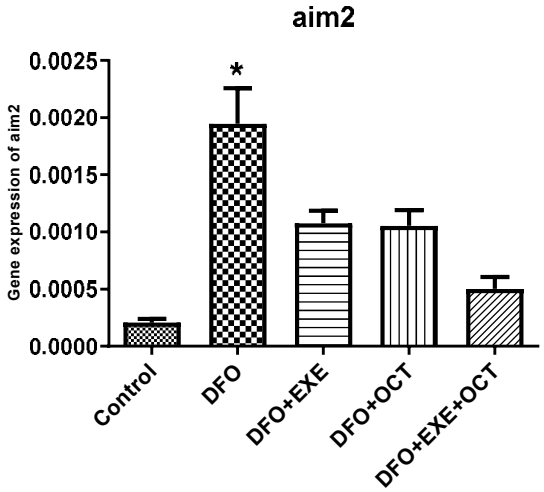
تغییرات بیان ژنی nlrp3 در نمودار ۱ نشان داده شده است بر اساس این نتایج، در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان ژن NLRP-3 به طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱) (نمودار ۱). در مقابل تمرین کاهش معنی‌داری بر بیان ژن nlrp3 داشت (□=۰/۲۸۵ و p=۰/۰۱۰ و F=۷/۹۹۱). دریافت مکمل اکتاپامین نیز موجب کاهش معنی‌داری بر بیان ژن nlrp3 شد (□=۰/۲۹۷ و p=۰/۰۰۹ و F=۸/۴۶۰)، با وجودی که کم‌ترین میزان بیان ژن nlrp3 مربوط به گروه تمرین و مکمل اکتاپامین بود، ولی اثر متقابل تمرین و اکتاپامین از نظر آماری معنی‌دار نبود (□=۰/۰۰۱ و p=۰/۹۸۶ و F=۰/۰۰۱) (نمودار ۱).



نمودار ۱- مقایسه بیان ژن nlrp3 در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.

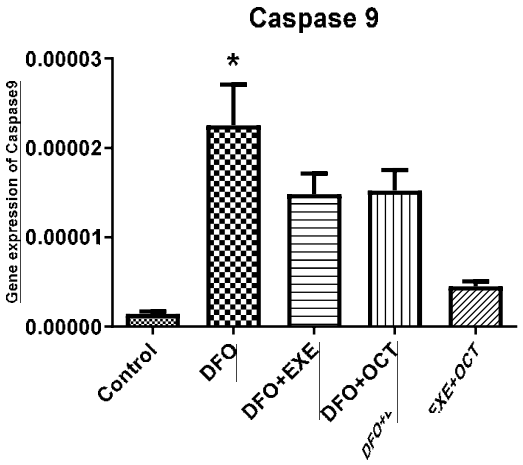
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

تغییرات بیان ژنی aim2 در نمودار ۲ نشان داده شده است بر اساس این نتایج، در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان ژن aim2 به طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱) (نمودار ۲). تمرین موجب کاهش معنی‌داری بر بیان ژن aim2 شد (□=۰/۴۲۴ و p=۰/۰۰۱ و F=۱۴/۷۴۳). دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش معنی‌دار بیان ژن aim2 را به همراه داشت (□=۰/۴۴۱ و p=۰/۰۰۱ و F=۱۵/۷۵۷). با وجودی که کم‌ترین میزان بیان ژن aim2 مربوط به گروه تمرین و مکمل اکتاپامین بود، ولی اثر متقابل تمرین و اکتاپامین از نظر آماری معنی‌دار نبود (□=۰/۰۳۶ و p=۰/۳۹۲ و F=۰/۷۵۵) (نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه بیان ژن aim2 در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق (الف و ب). اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.

تغییرات بیان ژنی کاسپاز ۹ در نمودار ۳ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان ژن کاسپاز ۹ به طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱) (نمودار ۳). تمرین موجب کاهش معنی‌داری در بیان ژن کاسپاز ۹ شد (□=۰/۳۴۷ و p=۰/۰۰۴ و F=۱۰/۶۰۶). دریافت مکمل اکتاپامین نیز موجب کاهش معنی‌داری بر بیان ژن کاسپاز ۹ شد (□=۰/۳۲۵ و p=۰/۰۰۶ و F=۹/۶۳۳). با وجودی که کم‌ترین میزان بیان ژن کاسپاز ۹ مربوط به گروه تمرین و مکمل اکتاپامین بود، ولی اثر متقابل تمرین و اکتاپامین از نظر آماری معنی‌دار نبود (□=۰/۰۰۱ و p=۱/۰۰۰ و F=۰/۰۰۱) (نمودار ۳).



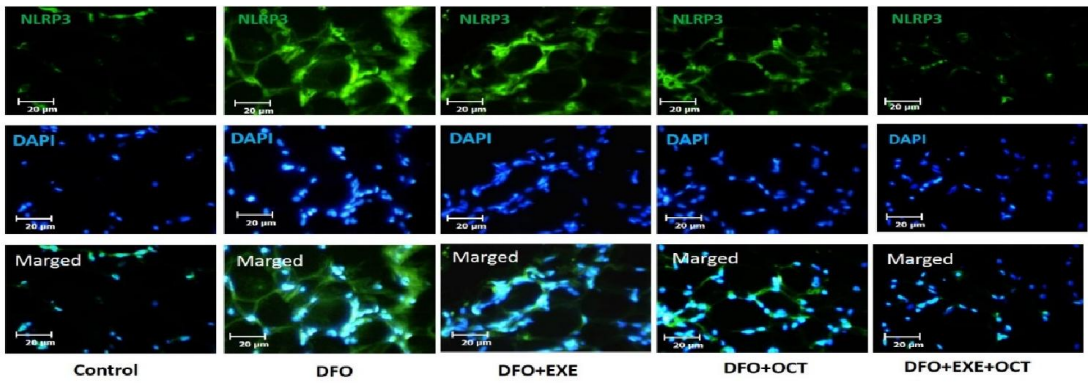
نمودار ۳- مقایسه بیان ژن کاسپاز ۹ در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.

تغییرات بیان پروتئینی NLRP-3 در شکل ۲ و نمودار ۴ نشان داده شده است، بر اساس این نتایج، در اثر مسمومیت با روغن حرارت دیده عمیق بیان پروتئین NLRP-3 به طور معنی‌داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۱). تمرین موجب کاهش

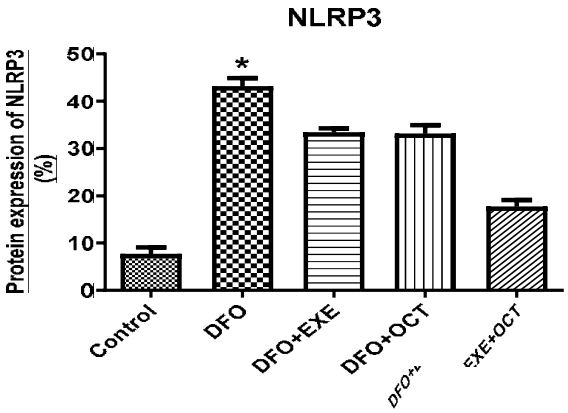
[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

معنی‌داری بر بیان پروتئین NLRP-3 شد (□=۰/۹۱۹ و p=۰/۰۰۱ و F=۲۲۷/۸۵). دریافت مکمل اکتاپامین نیز کاهش معنی‌داری بر بیان پروتئین NLRP-3 را به همراه داشت (□=۰/۹۲۳ و p=۰/۰۰۱ و F=۲۳۹/۰۱). اثر متقابل تمرین و مکمل اکتاپامین نیز بر بیان پروتئین NLRP-3 معنی‌دار بود و کاهش معنی‌داری در پروتئین NLRP3 ایجاد کرد (□=۰/۳۴۸ و p=۰/۰۰۲ و F=۱۲/۴۴۰). (شکل ۲ و نمودار ۴).

الف)



شکل ۲- تغییرات بیان پروتئین NLRP3 در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق با روش IHC (بزرگنمایی 20um). گروه DFO بیشترین بیان پروتئین NLRP3 را نشان می‌دهد. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.



نمودار٤- مقایسه بیان پروتئین NLRP3 در گروه‌های سالم و مسموم شده با روغن حرارت دیده عمیق. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است. *نشانه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم. Control: گروه کنترل سالم، DFO: گروه مسموم شده با روغن سوخته، روغن حرارت دیده عمیق + EXE: گروه مسموم روغن حرارت دیده عمیق + تمرین ورزشی، DFO+OCT: گروه مسموم DFO+ اکتاپامین، DFO+EXE+OCT: گروه مسموم DFO+ تمرین ورزشی+ اکتاپامین.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف روغن حرارت دیده با تغییرات افزایشی اینفلامازوم‌های nlrp3، aim2 و کاسپاز۹ بافت چرب قهوه‌ای همراه بود که این تغییرات با تخریبات بافت چربی و سفید شدن آن نیز ارتباط داشت. چندین مطالعه نشان می‌دهد که محصولات تولید شده از طریق اکسیداسیون روغن می‌توانند منجر به تخریب ساختاری روغن و سرطان‌زا باشند [۲۲]. سرخ شدن طولانی باعث افزایش قابل توجه غلظت مالون‌دی‌آلدهید (Malondialdehyde; MDA) می‌شود. MDA در حین سرخ کردن کنترل نمی‌شود. مشخص شد که MDA باعث ایجاد سرطان در موش‌های صحرایی می‌شود و باعث ایجاد ارتباط

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

متقابل با گروه‌های آمینه محلول Deoxyribonucleic acid (DNA) می‌شود [۲۳]. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر نیز افزایش MDA و شاخص‌های اکسایشی در افزایش فاکتورهای اینفلامازوم مطالعه حاضر نیز مؤثر بوده باشد که می‌تواند بر القاء مرگ سلولی بافت چرب قهوه‌ای نیز مؤثر باشد با این وجود در این مطالعه تغییرات شاخص‌های اکسایشی اندازه‌گیری نشد.

افزایش خود چربی‌های آزاد مضر در جریان خون و تجمع آن‌ها در بافت چربی می‌توانند در القاء کمپلکس اینفلامازوم نیز مؤثر باشند. در این رابطه بیان شده که استفاده مکرر از روغن‌های سرخ کردنی ممکن است به دلیل تبادل اسیدهای چرب بین غذای سرخ شده و روغن و همچنین درجه حرارت بالا و فرآیند طولانی سرخ کردن، غلظت Total fatty acid (TFA) را افزایش دهد. به عنوان مثال، افزایش غلظت ایزومرهای ترانس C18: 1 در روغن‌های گیاهی مختلفی که برای سرخ کردن گوشت گاو استفاده می‌شود، دیده شده است. سرخ شدن مکرر در روغن آفتاب‌گردان هم‌چنین منجر به افزایش غلظت ایزومر TFA C18: 2 شد [۲۴]. این یافته‌ها به دلیل تأثیرات احتمالی آن‌ها در ارتباط احتمالی بین مصرف غذای سرخ شده و فرکانس بیماری‌های قلبی، می‌تواند از اهمیت بالایی برخوردار باشد. از جمله عواملی که می‌تواند در کنترل عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی نقش داشته باشد انجام تمرینات هوازی و یا مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدآنتی‌می‌باشد [۲۷-۲۵].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد انجام تمرین ورزشی به تنهایی و یا مصرف مکمل به تنهایی کاهش معنی‌داری را در ژن nlrp3، aim2 و کاسپاز ۹ ایجاد کرد؛ هم‌چنین تعامل تمرین و اکتاپامین کاهش معنی‌داری را پروتئین NLRP3 ایجاد کرد. در رابطه با تأثیرات تمرین ورزشی به نظر می‌رسد انجام مرتب تمرینات ورزشی با افزایش و بهبود متابولیسم چربی TFA (ناشی از روغن حرارت دیده عمیق) و تخریبات ناشی از آن را به حداقل می‌رساند زیرا که در مطالعات مختلف نشان داده شده تمرین ورزشی قادر به بهبود پروفایل لیپیدی می‌باشد [۲۸]. تغییرات کاهشی در چربی‌های جریان خون بعد تغذیه نادرست، می‌تواند میزان تجمع و آسیب آن‌ها بر بافت چرب به ویژه قهوه‌ای را به حداقل برساند با کاهش این چربی‌ها لذا کاهش فاکتورهای اینفلامازوم و هم‌چنین کاسپاز۹ مطالعه حاضر نیز معقول به نظر می‌رسد.

همسو با نتایج مطالعه حاضر نیز اخیراً Kim و همکاران نشان دادند که انجام تمرین ورزشی با شدت متوسط تأثیرات مثبت و کنترلی بر بیان ژن‌های اینفلامازومی و نفوذ ماکروفاژهای MI و M2 در بافت چربی قهوه‌ای داشت که این تغییرات با تمرینات تناوبی شدید مغایر نبود [۲۹]. این در حالی بود که تمرینات مطالعه حاضر نیز از نوع تداومی بود که با کاهش اینفلامازوم‌های nlrp3 و aim2 همراه بود. گزارش شده است که ناکوت اینفلامازوم nlrp3 در موش مایس از فعال شدن ماکروفاژ مرتبط با چاقی در بافت چربی محافظت می‌کند که این امر باعث کاهش فعال شدن ماکروفاژ M1 مانند در بافت چربی و افزایش بیان سیتوکین M2 مانند می‌شود [۳۰]. ماکروفاژهای موجود در بافت چربی نقش مهمی در ایجاد شرایط التهابی مزمن و اختلال عملکرد

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

متابولیکی دارند [۳۱]. لذا تمرین ورزشی با کنترل این اینفلامازوم‌ها سلامت متابولیکی را نیز تضمین می‌کند.

در رابطه با تأثیر مکمل اکتاپامین نیز به نظر می‌رسید به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدآنتی‌بالا در تقلیل تخریبات اینفلامازوم‌ها به ویژه aim2 بر DNA مؤثر بوده باشد. اکتاپامین علاوه بر نقش آن به عنوان یک آمین بیوژنیک، به عنوان یک جزء فعال مهم در محصولات گیاهی Citrus aurantium [۱۲] و سایر گونه‌های مرکبات شناخته شده است [۳۲]. میوه C. aurantium که معمولاً به نارنج معروف است، گاهی اوقات به عنوان غذا استفاده می‌شود، اما بیش‌تر به عنوان مکمل دارویی یا غذایی بلعیده می‌شود. ادعا شده است که عصاره‌های C. aurantium باعث کاهش وزن می‌شوند. مواد فعال C. aurantium شامل آلکالوئیدهای مختلف با فعالیت آدرنرژیک، از جمله سینفرین و اکتاپامین است [۱۲]. از نظر ساختاری، این اجزای فعال در C. aurantium ارتباط نزدیکی با انتقال دهنده‌های عصبی درون زا و افدرین دارند. سینفرین از نظر ساختاری مشابه اپی‌نفرین است و اکتاپامین مشابه نوراپی‌نفرین است [۳۳]. شباهت به ترکیبات شناخته شده آدرنرژیک و وجود ماده مؤثره C. aurantium که برای اهداف کاهش وزن استفاده می‌شود، منجر به مطالعاتی در مورد فعالیت لیپولیتیک اکتاپامین در سلول‌های چربی شد مشخص شد که سلول‌های چربی قهوه‌ای موش صحرایی با افزایش مصرف اکسیژن و لیپولیز به اکتاپامین پاسخ می‌دهند [۳۴]. اخیراً نشان داده شده است که اکتاپامین و سینفرین لیپولیز را در موش‌های صحرایی و سلول‌های چربی انسانی فعال می‌کنند [۳۵]. لذا با افزایش لیپولیز مانع از تجمع چربی ناشی از مواد غذایی مضر نظیر DFO می‌شوند که در مطالعه حاضر نیز تغییرات کاهشی nlrp3 و aim2 با مصرف اکتاپامین می‌تواند به کنترل بهتر لیپولیز نسبت داده شود زیرا که شواهدی هم ارائه شده است که اکتاپامین یک آنتاگونیست β3 در سلول‌های چربی پستانداران است [۳۶]، که تمام این عوامل در تأثیرات مثبت اکتاپامین می‌توانند نقش داشته باشند.

از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان اشاره کرد به: میزان غذای مصرفی حیوانات، میزان جذب دقیق اکتاپامین بعد از گاواژ، اندازه‌گیری تمام اجزاء و ترکیبات روغن که می‌تواند متابولیسم بافت چرب و التهاب آن را تحت تأثیر قرار دهد و بر نتایج تأثیرگذار باشد. که در این مطالعه مقدار غذای مصرفی حیوانات تا حدودی کنترل شد اما سایر موارد با توجه عدم وجود ابزارهای اندازه‌گیری در کشور ارزیابی نشد. لذا پیشنهاد می‌شود سایر محققان تا حد ممکن این محدودیت‌ها را در مطالعات خود کنترل و بررسی نمایند. هم‌چنین برای مطالعات آتی اندازه‌گیری شاخص‌های پیروپتوز همراه با اینفلامازوم‌ها به دنبال تمرین ورزشی هوازی و مصرف مکمل اکتاپامین در بافت چرب قهوه‌ای پیشنهاد می‌شود. علاوه بر موارد ذکر شده برای اطمینان از تاثیر اکتاپامین بر روی بافت‌های بدن پیشنهاد می‌شود دوزهای مختلف این مکمل با گروه‌های مختلف ارزیابی شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در مقایسه با گروه مصرف کننده روغن حرارت دیده عمیق، ۴ هفته تمرین هوازی همراه با مکمل اکتاپامین سبب تنظیم منفی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

اینفلامازوم‌ها nlrp3 و aim2، کاهش کاسپاز ۹ و گسترش بافت چرب قهوه شد که تمام این تغییرات می‌تواند در کنترل عوامل خطر ناشی از بافت چربی بعد از مسمومیت با روغن‌های حرارت دیده عمیق نظیر بیماری‌های التهابی، مقاومت به انسولین و بیماری‌های قلبی ـ عروقی مؤثر باشد. در این زمینه نیاز به مطالعات بیش‌تر به ویژه بر روی نمونه‌های انسانی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج است. از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد سنندج جهت حمایت‌های معنوی سپاس‌گزاری می‌شود.

References

[1] Cui Y, Hao P, Liu B, Meng X. Effect of traditional Chinese cooking methods on fatty acid profiles of vegetable oils. *Food Chem* 2017; 2 (33): 77-84.

[2] Amin MN, Hussain MS, Sarwar MS, Moghal MMR, Das A, Hossain MZ, et al. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. *Diabetes Metab Syndr* 2019, 13(2): 1213-24.

[3] de-Lima-Júnior JC, Souza GF, Moura-Assis A, Gaspar RS, Gaspar JM, Rocha AL, et al. Abnormal brown adipose tissue mitochondrial structure and function in IL10 deficiency. *EBioMedicine* 2019; 39: p. 436-47.

[4] Wires ES, Trychta KA, Bäck S, Sulima A, Rice KC, Harvey BK. High fat diet disrupts endoplasmic reticulum calcium homeostasis in the rat liver. *J Hepatol* 2017; 67(5):1009-17.

[5] Cavaliere G, Trinchese G, Penna E, Cimmino F, Pirozzi C, Lama A, et al. High-fat diet induces neuroinflammation and mitochondrial impairment in mice cerebral cortex and synaptic fraction. *Front Cell Neurosci* 2019; 13 (2): 509-15.

[6] Giordano A, Murano I, Mondini E, Perugini J, Smorlesi A, Severi I, et al. Obese adipocytes show ultrastructural features of stressed cells and die of pyroptosis. *J Lipid Res* 2013, 54(9): 2423-36.

[7] Tsuchiya, K. Inflammasome associated cell death: Pyroptosis, apoptosis, and physiological implications. *J Microbiol & Immunol* 2020; 64(4): 252-69.

[8] Lian Q, Xu J, Yan S, Huang M, Ding H, Sun X, et al. Chemotherapy-induced intestinal inflammatory responses are mediated by exosome secretion of double-strand DNA via AIM2 inflammasome activation. *Cell Res* 2017; 27(6): 784-800.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

[9] Cunha LD, Silva AL, Ribeiro JM, Mascarenhas DP, Quirino GF, Santos LL, et al. AIM2 engages active but unprocessed caspase-1 to induce noncanonical activation of the NLRP3 inflammasome. *Cell Rep* 2017; 20(4): 794-805.

[10] Kim C-S, Park S, Kim J. The role of glycation in the pathogenesis of aging and its prevention through herbal products and physical exercise. *J Exe Nutr Biochem* 2017; 21(3): 55-61.

[11] De Oliveira AL, De Paula MN, Comar JF, Vilela VR, Peralta RM, Bracht A. Adrenergic metabolic and hemodynamic effects of octopamine in the liver. *Int J Mol Sci* 2013; 14(11): 21858-72.

[12] Koh AHW, Chess-Williams R, Lohning AE. HPLC-UV-QDa analysis of Citrus aurantium-labelled pre-workout supplements suggest only a minority contain the plant extract. *J Pharm Biomed Anal* 2021; 19(3): 1137-46.

[13] Roeder, T. The control of metabolic traits by octopamine and tyramine in invertebrates. *J Exp Biol* 2020; 223(7): 27-39.

[14] Abdollahi S, Mohamadzadeh Salamat K, Azizbeigi K, Etemad Z. The effect of 4 weeks of aerobic training and Octopamine on the levels of malondialdehyde and caspase 3 in brown adipose tissue in rats received deeply heated oils treatment. *JJUMS* 2020; 7(2): 394-403.(Farsi).

[15] Kianmehr P, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Synergic effects of exercise training and octopamine on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1a and uncoupling protein 1 mRNA in heart tissue of rat treated with deep frying oil. *BB Reports* 2020; 22 (4): 1027-35.

[16] Zhou Z, Wang Y, Jiang Y, Diao Y, Strappe P, Prenzler P, et al. Deep-fried oil consumption in rats impairs glycerolipid metabolism, gut histology and microbiota structure. *Lipids Health Dis* 2016; 15(1): 86-94.

[17] Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. The effects of aerobic exercise training with octopamine supplementation on cardiomyocyte apoptosis induced by deep frying oil: the role of caspase and pro-Caspase. *BBRC* 2020; 35(2): 86-63.

[18] Fernández Vázquez G, Reiter RJ, Agil A. Melatonin increases brown adipose tissue mass and function in Zücker diabetic fatty rats: implications for obesity control. *J Pineal Res* 2018; 64(4): 12472-80.

[19] Almeida-Oliveira F, Leandro JG, Ausina P, Sola-Penna M, Majerowicz D. Reference genes for quantitative PCR in the adipose tissue of mice with

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

metabolic disease. *Biomed Pharmacother* 2017; 88 (2): 948-55.

[20] Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the 2ˆ (–delta delta CT) method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics & Biomathematics* 2013; 3(3): 71-78.

[21] Lin C, Chao H, Li Z, Xu X, Liu Y, Bao Z, et al. Omega-3 fatty acids regulate NLRP3 inflammasome activation and prevent behavior deficits after traumatic brain injury. *Exp Neurol* 2017; 290 (4): 115-22.

[22] Rey-García J, Guallar-Castillón P, Donat-Vargas C, Moreno-Iribas C, Barricarte A, Rodriguez-Barranco M, et al. Fried-Food Consumption Does Not Increase the Risk of Stroke in the Spanish Cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Study. *J Nutr* 2020; 150(12): 3241-48.

[23] Rašić I, Rašić A, Akšamija G, Radović S. The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer. *Acta Clin Croat* 2018; 57(3): 411-16.

[24] Aro A, Van Amelsvoort J, Becker W, van Erp-Baart M-A, Kafatos A, Leth T, et al. TransFatty acids in dietary fats and oils from 14 European countries: the TRANSFAIR study. *J Food Compost Anal* 1998; 11(2): 137-49.

[25] Barton M, Cardillo C. Exercise is medicine: key to cardiovascular disease and diabetes prevention. *Cardiovasc Res* 2020; 27(4.): 138-43.

[26] Ingles DP, Rodriguez JBC, Garcia H. Supplemental vitamins and minerals for cardiovascular disease prevention and treatment. *Curr Cardiol Rep* 2020; 22(4): 1-8.

[27] Abdollahi S, Mohamadzadeh Salamat K, Azizbeigi K, Etemad Z. The Simultaneous Effects of Aerobic Training and Octopamine on the Mitophagy of the Brown Adipose Tissue after the Induction of Intoxication by Deeply Heated Oil in Male Wistar Rats. *JNFH* 2020; 8(3): p. 151-58.

[28] Nybacka Å, Hellström PM, Hirschberg AL. Hirschberg, Increased fibre and reduced trans fatty acid intake are primary predictors of metabolic improvement in overweight polycystic ovary syndrome—Substudy of randomized trial between diet, exercise and diet plus exercise for weight control. *Clin Endocrinol* 2017; 87(6): 680-88.

[29] Kim Y-A, Pitriani P, Park H-G, Lee W-L. Moderate Intensity Exercise Has More Positive Effects on The

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

Gene Expression of Inflammasome, M1, M2 Macrophage Infiltration and Brown Adipocyte Markers Compared to High Intensity Exercise in Subcutaneous Adipose of Obese Mice Induced By High Fat Diet. *Immun Res* 2019; 29(3): 303-10.

[30] Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med* 2013; 19(10): 1252-63.

[31] Bai Y, Sun Q. Macrophage recruitment in obese adipose tissue. *Obes Rev* 2015. 16(2): 127-36.

[32] Koh AHW, Chess-Williams R, Lohning AE. Differential mechanisms of action of the trace amines octopamine, synephrine and tyramine on the porcine coronary and mesenteric artery. *Sci Rep* 2019; 9(1): 1-9.

[33] Wu SF, Jv XM, Huang JM, Gao CF. Molecular features and expression profiles of octopamine receptors in the brown planthopper, Nilaparvata lugens. *Pest Manag. Sci* 2019; 75(10): 2663-71.

[34] Carpéné C, Galitzky J, Fontana E, Atgié C, Lafontan M, Berlan M. Selective activation of β3-adrenoceptors by octopamine: comparative studies in mammalian fat cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1999; 359(4): 310-21.

[35] Mercader J, Wanecq E, Chen J, Carpéné C. Isopropylnorsynephrine is a stronger lipolytic agent in human adipocytes than synephrine and other amines present in Citrus aurantium. *J Physiol Biochem* 2011; 67(3): 443-52.

[36] Shokri F, Azarbayjani MA, Peeri M, Ghazalian F. The Effect of Octopamine and Aerobic Exerciseand on Genes Affecting Angiogenesis of Visceral Adipose Tissue in Rats Fed with Deep-Fried Oil. *JNFH* 2020; 8(3): 192-98.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]

The Effect of Aerobic Exercises and Octopamine Consumption on Changes in Gene Expression of Caspase-9, NLRP3, AIM2 in Brown Adipose Tissue of Rats after Intoxication with Deep Fried Oil: An Experimental Study

N. Darvishzadeh[1], K. Azizbeigi[2], Z. Etemad[3]

Received:11/01/21 Sent for Revision: 01/02/21 Received Revised Manuscri pt:28/02/21 Accepted: 03/03/21

Background and Objectives: Regular aerobic exercises along with herbal supplements can control inflammation. The aim of this study was to investigate the effect of aerobic exercises and octopamine consumption on gene changes of NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3), absent in melanoma 2 (AIM2) and caspase 9 in brown adipose tissue in rats after consuming deep fried oil.

Materials and Methods: The present study was an experimental study. Forty male Wistar rats were randomly divided into groups of 8 included: healthy control, control poisoned with fried oil, poisoned + aerobic exercise, poisoned + octopamine, and poisoned + aerobic exercise + octopamine. The fried oil was fed orally to rats for 4 weeks. The dose of Octopamine was 81µmol/kg. The aerobic exercise groups also trained on the treadmill with increasing intensity for four weeks. Real time PCR and IHC methods were used to determine changes in NLRP3, AIM2, caspase 9 genes as well as changes in NLRP3 protein expression, respectively. Two-way analysis of variance was used to analyze the data.

Results: Aerobic exercise caused a significant decrease in NLRP3 (p=0.010) and AIM2 (p=0.001) gene expression compared to the poisoned control group. Octopamine supplementation also significantly reduced NLRP3 (p=0.009) and AIM2 (p=0.001) gene expression. The interaction of exercise and aerobic exercise caused a significant decrease in NLRP3 protein (p=0.001).

Conclusion: Applying 4 weeks of exercise or taking octopamine alone by controlling the inflammasome complex reduces cell death in brown adipose tissue, which is effective in browning and making adipose tissue more efficient.

Key words: Apoptosis, NLRP3, AIM2, Brown adipose tissue, Aerobic exercise, Octopamine, Deep fried oil

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Sannandaj University approved the study (IR.MUK.REC.1398.242).

How to cite this article: Darvishzadeh N, Azizbeigi K, Etemad Z. The Effect of Aerobic Exercises and Octopamine Consumption on Changes in Gene Expression of Caspase-9, Nlrp3, Aim2 in Brown Adipose Tissue of Rats after Intoxication with Deep Fried Oil: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2021; 20 (1): 37-52. [Farsi]

1- PhD Student, Dept. of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ORCID: 0000-0001-7393-7142
2- Associate Prof., Dept. of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ORCID: 0000-0002-5963-2323
(Corresponding Author) Tel: (087) 33288661, Fax: (087) 33288661, E-mail: kazizbeigi@gmail.com
3- Assistant Prof., Dept. of Physical Education, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran, ORCID: 0000-0001-5109-9571

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-11-25]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1400.20.1.8.8]
[DOI: 10.52547/jrums.20.1.37]