

The Effect of Aerobic Exercise and Green Coffee Supplement on Adipose Tissue Thermogenesis in Pre-Diabetic Mice

Fateme Janghorbani^{1*}, Abbas Salehikia², SeyedMohammad Marandi³, Milad Abdollahi⁴,
MohammadHossein NasrEsfahani⁵

Receive 2022 December 27; Accepted 2023 May 09

Abstract

Aim: Prediabetes is a high-risk condition for type2diabetes and has a effect on fat and glucose metabolism. The aim of this study was to determine the effect of aerobic exercise and green coffee on the expression of thermogenic genes of uncoupling protein1(UCP1) and iodothyronine deiodinase2(DIO2) in the adipose tissue of prediabetic mice. **Methods:** Out of 25 male C57bl-6 mice aged 4 weeks, 5 were considered as control group and 20 were considered as prediabetes group. In the first stage, the control group was given a normal diet and the prediabetic group was given a high-fat diet for 12 weeks. After induction of prediabetes, in the second phase of the study, mice were randomly divided into groups: control(Ctrl), prediabetes(PD), prediabetes-aerobic exercise(EX), prediabetes-green coffee(GC) and prediabetes-green coffee-aerobic exercise(EX/GC). Mice of EX and EX/GC groups ran on a treadmill for 10 weeks. Also, mice in EX/GC and GC groups were subjected to green coffee gavage for 10 weeks. The expression of UCP1 and DIO2 genes in subcutaneous fat tissue was measured by real time PCR method and after quantification, gene expression values were analyzed using $\Delta\Delta Ct$ -2 formula and then t-test, ANOVA and Tukey's post hoc test. **Results:** The results showed that12weeks of high-fat diet increased fasting blood sugar and exposed mice to prediabetes. Also, the relative expression of UCP1 and DIO2 in adipose tissue of EX group was significantly increased compared to other groups($P=0/000$). **Conclusion:** The results showed that aerobic exercise and green coffee can have beneficial effects on the expression of UCP1 and DIO2 genes in the subcutaneous adipose tissue of prediabetic mice and may activate thermogenesis in this tissue and thereby reducing the risks of prediabetes.

Keywords: Prediabetes, Aerobic exercise, Green coffee, Thermogenesis, Subcutaneous adipose tissue



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

1. Department of Physical Education and Sport Science ,University of Sistan and Baluchistan, Zahedan, Iran
2. Department of Sports Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Sistan and Baluchistan, Zahedan, Iran
3. Professor of Sports Sciences Department, Faculty of Sports Sciences, Isfahan University, Isfahan, Iran
4. Department of Physical Education and Sport Science , Isfahan University, Isfahan, Iran
5. Professor of Embryology, Royan Biotechnology Research Institute, Isfahan, Iran
***(corresponding author)**
(mfj.sport@gmail.com)

Cite as: Janghorbani, Fateme. Salehikia, Abbas. Marandi, SeyedMohammad. Abdollahi, Milad. NasrEsfahani, MohammadHossein. The Effect of Aerobic Exercise and Green Coffee on Adipose Tissue Thermogenesis in Pre-Diabetic Mice. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2025; 12(2): 1-13.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28183.1527

:



Extended abstract

Background

Prediabetes is a high-risk disease for infection type 2 diabetes. One of the most important causes of pre-diabetes and type 2 diabetes is consuming a high-fat diet, obesity and lack of physical activity. In pre-diabetes, insulin resistance occurs in muscle, liver and fat tissues. Consuming a high-fat diet leads to insulin resistance, which insulin resistance disrupts the metabolism of lipids, followed by a decrease in mitochondrial function, as a result of thermogenesis and browning of adipose tissue (which is one of the coping strategies with metabolic diseases) is disrupted and inhibits the genes involved in the browning of white adipose tissue.

Endurance exercises and herbal supplements such as green coffee are suitable solutions to improve pre-diabetes conditions. Therefore, in the present study, we intend to create pre-diabetic model mice by applying a high-fat diet, and then to investigate the effect of green coffee and endurance training separately and together on the expression of thermogenic markers in the subcutaneous fat tissue.

Materials and Methods

This research was real experimental in terms of method. The statistical sample of this study was 25 C57bl/6 mice with an average weight of 14 gr at the age of 4 weeks, which were purchased from the Royan Institute of Biotechnology in Isfahan and transferred to the animal laboratory.

Experimental design

5 were considered as control group and 20 were considered as pre-diabetes group. In the first stage, the control group was given a normal diet and the pre-diabetic group was given a high-fat diet for 12 weeks. After induction of pre-diabetes, in the second phase of the study, mice were randomly divided into groups: control(Ctrl), prediabetes(PD), prediabetes-aerobic exercise(EX), prediabetes-green coffee(GC) and prediabetes-green coffee-aerobic exercise(EX/GC). The protocol of this study was approved by the ethics committee of Zahedan University of Medical Sciences and Health Services with code IR.USB.REC.1399.040.

Training protocol

Aerobic exercise protocol: Aerobic exercise was done incrementally including alternating warm-up and cool-down on a treadmill for rodents (without incline) as follows: Mice started their aerobic exercise with an intensity of 7 meters per minute and for 15 minutes per day on a treadmill, and during 1 week, the activity time gradually increased to 45 minutes per day and the intensity of activity increased to 15 meters per minute. One week of initial training was designed for this purpose, so that the mice can run on the treadmill for 45 minutes daily at an intensity of 15 meters per minute at the beginning of the training protocol. From this stage onwards, according to an increasing training protocol, the mice of the group trained, ran on the treadmill for 5 consecutive days, one session each day and each session lasted 45 minutes. The groups that were not subjected to physical training were also placed on the silent treadmill for 10 weeks, 5 sessions a week and each session for 15 minutes, so that all the conditions, including the manipulation of the mice by the researcher, were the same for all groups, and the only difference between the groups control and experiment in their training program.

Supplemental program: The supplementation program was as follows: prediabetes-green coffee and prediabetes-green coffee-aerobic exercise groups received 220 mg/kg of green coffee supplements through gavage 3 times a week.

Sacrifice mice and extract adipose tissue: 24 hours after the last training session, the mice were anesthetized after 14 hours of fasting by intraperitoneal injection of anesthetic (a combination of ketamine (30-50 mg/kg) and xylazine (3-5 mg/kg)). After the anesthesia was confirmed, the mice were sacrificed and then the subcutaneous fat tissue was quickly separated and kept at -80°C and then transferred to the laboratory.

The method of measuring biochemical variables: RNA extraction was performed using a silica membrane-based spin column method, and after reading the concentration with a nanodrop device, DNase treatment and cDNA synthesis were performed using the Biotech Rabbit kit. After designing the primer, studies on the expression of thermogenic genes UCP1 and DIO2 in subcutaneous fat tissue were measured by real time PCR method and after quantification, the gene expression values were analyzed using the $\Delta\Delta Ct-2$ formula.

Statistical analysis

After collecting data and calculating the mean and standard deviation of data using descriptive statistics, Shapiro Wilk test was used to determine the normal distribution of data. In the related variables, one-way ANOVA test was used for



comparison between groups and control group and then Tukey's post hoc test was used to compare the differences between groups.

Results

The results showed that 12 weeks of high-fat diet increased fasting blood sugar and exposed mice to prediabetes. Also, the relative expression of UCP1 and DIO2 in adipose tissue of EX group was significantly increased compared to other groups ($P=0/000$). Therefore, it seems that a high-fat diet leads to an increase in fasting blood sugar and also causes a decrease in the relative expression of the UCP1 gene and an increase in the relative expression of the DIO2 gene. In addition, aerobic training and green coffee lead to a significant increase in the expression of thermogenic genes UCP1 and DIO2 in the subcutaneous fat tissue of the groin of prediabetic model mice.

Discussion

High-fat diet reduces UCP1 gene expression, with defects in insulin signaling. Aerobic exercise and green coffee supplementation seem to increase the UCP1 gene by affecting the central nervous system, releasing catecholamines and releasing more lipids. In addition, exercise with DIO2 gene expression increases thermogenesis in adipose tissue. DIO2 catalyzes the conversion of T4 to T3, resulting in increased thermogenesis. More studies are needed on how green coffee affects DIO2 expression. In general, aerobic exercise and green coffee may have an effect on the activation of thermogenic genes, and this is a therapeutic solution to deal with metabolic syndrome.

Article message

Our results showed that aerobic exercise and green coffee supplementation can reduce fasting blood sugar in prediabetic mice. Also, the expression of the thermogenic genes UCP1 and DIO2 in the subcutaneous fat tissue of prediabetic mice is increased, and it may increase thermogenesis in the subcutaneous fat tissue, so it causes the white fat tissue to become beige, and it is possible in this way Reduce the risk of prediabetes.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال دوازدهم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱۴۰۴؛ صفحات ۱۳-۱



مقاله پژوهشی

اثر تمرین هوازی و مکمل قهوه سبز بر ترموژنز بافت چربی موش‌های پیش دیابتی

فاطمه جانقربانی^{۱*}، عباس صالحی کیا^۲، سیدمحمد مرندي^۳، میلاد عبداللهی^۴، محمدحسین نصرافشاهانی^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۹

چکیده



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

هدف: پیش دیابت یک شرایط پرخطر برای ابتلا به دیابت نوع ۲ است و بر روی متابولیسم چربی و گلوکز تأثیر به سزایی دارد. هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثر تمرین هوازی و قهوه سبز بر بیان ژن‌های ترموژنیک پروتئین جفت نشده (UCP1) و یودیترونین دیودیناز ۲ (DIO2) در بافت چربی زیرپوستی موش‌های پیش دیابتی است. **روش پژوهشی:** از تعداد ۲۵ سر موش نر نژاد C57bl-6، با سن ۴ هفته، ۵ سر به عنوان گروه کنترل و ۲۰ سر برای گروه پیش دیابت در نظر گرفته شدند. در مرحله اول به مدت ۱۲ هفته به گروه کنترل رژیم غذایی نرمال و به گروه پیش دیابت رژیم غذایی پرچرب داده شد. پس از القای پیش دیابت، در فاز دوم مطالعه موش‌ها به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC) و پیش دیابت-قهوه سبز-تمرین هوازی (EX/GC) تقسیم شدند. موش‌های گروه EX و EX/GC به مدت ۱۰ هفته بر روی تردمیل دویدند. همچنین موش‌ها در گروه‌های EX/GC و GC به مدت ۱۰ هفته تحت گاوژ قهوه سبز قرار گرفتند. بیان ژن‌های UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی به روش Real time PCR اندازه‌گیری شدند و پس از کمی سازی، مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و سپس آزمون t، آنوا و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد ۱۲ هفته رژیم پرچرب باعث افزایش قند خون ناشتا شد و موش‌ها را در شرایط پیش دیابت قرار داد، همچنین بیان نسبی UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی گروه EX نسبت به گروه‌های دیگر افزایش معناداری داشت ($P=0/000$). **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که تمرین هوازی و قهوه سبز می‌توانند اثرات مفیدی بر بیان ژن‌های UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی موش‌های پیش دیابتی داشته و ممکن است ترموژنز را در این بافت فعال کنند و از این طریق، خطرات ناشی از پیش دیابت را کاهش دهند.

واژه‌های کلیدی: پیش دیابت، تمرین هوازی، قهوه سبز، ترموژنز و بافت چربی زیرپوستی

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی / دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۲. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۵. استاد جنین شناسی، پژوهشکده زیست فناوری رویان، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول):

(mfj.sport@gmail.com)

نحوه ارجاع: جانقربانی، فاطمه، صالحی کیا، عباس. مرندي، سیدمحمد. عبداللهی، میلاد. نصر اصفهانی، محمدحسین. "اثر تمرین هوازی و قهوه سبز بر ترموژنز بافت چربی موش‌های پیش دیابتی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۴: ۱۲ (۲) ۱-۱۳.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28183.1527

:



Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

می‌شود، آنزیمی که تیروکسین (T_4) را به $3,5,3'$ -تری‌یدوتیرونین (T_3) تبدیل می‌کند و T_3 داخل سلولی را افزایش می‌دهد (۵). مطالعه‌ای نشان داد که DIO2 مسئول لیپوزنر تحریک شده توسط نوراپی نفرین در سلول‌های چربی قهوه‌ای است (۶). روی هم رفته، این داده‌ها نشان می‌دهند که لیپوزنر با واسطه T_3 برای ترموزنر مهم است و DIO2 یکی از نشانگرهای ترموزنیک است (۵، ۶).

رویکردهای فعالیت بدنی و رژیم غذایی می‌تواند یک استراتژی موفق برای کاهش خطر ابتلا به دیابت و پیش دیابت باشند. وضعیت پیش دیابت علاوه بر اینکه خطر ابتلا به دیابت را افزایش می‌دهد، موجب آسیب رساندن به کلیه‌ها، اعصاب، کبد و لوزالمعده نیز می‌شود. از این رو تشخیص و درمان به موقع وضعیت پیش دیابت بسیار اهمیت دارد. فعالیت بدنی از طریق افزایش حساسیت انسولینی و تأثیر بر قهوه‌ای شدن بافت چربی به عنوان یکی از موثرترین راه‌های درمان و پیشگیری از پیش دیابت و دیابت نوع ۲ مطرح شده (۷).

یکی دیگر از راه‌های درمان و پیشگیری از دیابت نوع ۲ استفاده از مکمل‌های گیاهی است. قهوه سبز علاوه بر عطر و طعم دلپذیر، به دلیل دارا بودن پلی‌فنول‌ها یک منبع آنتی‌اکسیدانی است. به طور کلی مواد تشکیل دهنده قهوه سبز با کاهش استرس اکسیداتیو و عوارض آن همراه هستند، می‌توان از آن‌ها برای درمان چاقی و بهبود پاسخ داخل سلولی به انسولین استفاده کرد، همچنین با افزایش جذب گلوکز و افزایش عملکرد میتوکندری، ترموزنر سلول‌های چربی قهوه‌ای را تحریک می‌کند (۸، ۹). لازم به ذکر است نتایج تحقیقات در این زمینه دارای تناقض‌های زیادی هستند و بسیاری از مکانیسم‌های سلولی و ملکولی هنوز ناشناخته مانده، بنابراین باتوجه به نتایج ضد و نقیض و مطالب بیان شده، پژوهشگر به دنبال پاسخ به این سوال است که آیا تمرین هوازی و مکمل قهوه سبز بر ترموزنر بافت چربی زیرپوستی در موش‌های پیش دیابتی تأثیری دارد؟

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی حقیقی می‌باشد. تمامی آزمایش‌ها با دستورالعمل‌های ارائه شده توسط آزمایشگاه حیوانات تجربی و با توجه به روش‌های مراقبت و استفاده از پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان انجام شد. تمام آزمایشات حیوانی با دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی مطابقت داشت.

این پژوهش در دو فاز انجام شد. در این بررسی ابتدا ۲۵ سر موش نر نژاد C57bl/6 با میانگین وزن ۱۴ گرم و سن ۴ هفته انتخاب شده و به صورت تصادفی، ۵ سر رژیم نرمال (گروه کنترل) و ۲۰ سر رژیم پرچرب (رژیم

مقدمه

دیابت نوع ۲ و پیش دیابت مهم‌ترین چالش‌های بهداشت عمومی هستند که به ترتیب ۴۶۳ و ۳۷۴ میلیون بزرگسال در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در بسیاری از موارد، رژیم غذایی نادرست و فقر حرکتی ابتدا سبب بروز اضافه وزن و چاقی، حالت پیش دیابت و سپس دیابت نوع ۲ آشکار می‌شود. وضعیت پیش دیابت با حضور هم‌زمان نقص در سیگنالینگ انسولین و اختلال در سلول‌های بتا پانکراس در ارتباط است که با اختلال گلوکز ناشتا (IFG^1) و اختلال تحمل گلوکز (IGT^2) مشخص می‌شود. براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی افرادی که غلظت گلوکز ناشتای بین ۱۰۰ تا ۱۲۶ میلی گرم بر دسی لیتر را دارند مبتلا به IFG و افرادی که غلظت گلوکز پلاسمایی ۱۲ ساعت بعد از مصرف ۷۵ گرم کربوهیدرات بین ۱۴۰ و ۱۹۹ میلی گرم بر دسی لیتر را دارند، مبتلا به IGT می‌باشند (۱). انسولین نقش اساسی در تنظیم رشد و عملکرد بافت چربی دارد. انسولین در تحریک انتقال گلوکز و اسیدهای چرب و سنتز لیپیدها و سرکوب لیپولیز نقش دارد. همچنین، آدیپوکین‌های تولید شده از بافت چربی یک تنظیم وابسته به انسولین دارند (۲). علاوه بر این انسولین می‌تواند ترموزنر را در انسان تحریک کند (۳).

ترموزنر فرایند تبدیل انرژی شیمیایی به گرما است. بافت چربی از نظر عملکردی و مورفولوژی به سه دسته بافت چربی سفید (WAT^3)، بافت چربی قهوه‌ای (BAT^4) و بافت چربی بژ تقسیم می‌شود. به دلیل نقش بافت چربی قهوه‌ای و بژ در ترموزنر و متابولیسم، افزایش آن برای مقابله با بیماری‌های متابولیک همچون چاقی و دیابت پیشنهاد شده است. ترموزنر در میتوکندری بافت چربی قهوه‌ای، توسط ژن پروتئین جفت نشده $UCP1^5$ رخ می‌دهد. $UCP1$ در غشا داخلی میتوکندری قرار دارد. هنگامی که $UCP1$ فعال می‌شود، فعالیت زنجیره تنفسی را تحریک می‌کند. گرما از طریق سوسپستراه‌های وارد شده در زنجیره انتقال الکترون تولید شده و از طریق گردش خون به بقیه بدن توزیع می‌شود. خوشه‌ای از سلول‌های چربی، بیان $UCP1$ را با ظرفیت ترموزنیک در پاسخ به محرک‌های مختلف در WAT ایجاد می‌کند که این چربی‌ها، بژ (مایل به قهوه‌ای) نامگذاری شده‌اند (۴).

جالب توجه است که هورمون تیروئید و آنالوگ‌های آن می‌توانند با تحریک فعالیت BAT و قهوه‌ای شدن، بازسازی بافت را در هر دو BAT و WAT ارتقا دهند و ترموزنر افزایش یابد. در هنگام قرار گرفتن در معرض سرما و ورزش، تحریک سمپاتیک منجر به القای یدوتیرونین دیودیناز ($DIO2^6$)

⁵ uncoupling protein

⁶ iodothyronine deiodinase2

⁷ thyroxine

⁸ 3,5,3'-triiodothyronine

¹ Impaired Fasting Glucose

² Impaired Glucose Tolerance

³ White adipose tissue

⁴ Brown adipose tissue



۵۰) و زایلایزین (۵ mg/kg -۳)) بی‌هوش شدند. پس از تأیید بی‌هوشی، موش‌ها قربانی شده و سپس بافت چربی زیرپوستی سریعاً جدا شد و در محیط ۸۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از آن به آزمایشگاه انتقال داده شد (۱۲).

روش اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی:

استخراج RNA به روش ستون چرخشی مینی بر غشای سیلیکا انجام شد و پس از خواندن غلظت با دستگاه نانودراپ، DNase treatment و سنتز cDNA با استفاده از کیت biotech rabbit انجام شد.

پس از طراحی پرایمر (جدول ۱)، مطالعات بیان ژن‌های ترموژنیک UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی به روش Real time PCR سنجش و پس از کمی‌سازی، مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $\Delta\Delta Ct-2$ تجزیه و تحلیل شدند.

از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه برای بررسی تفاوت میانگین‌های درون گروهی و بین گروهی استفاده شد. همچنین از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه دوه‌دو گروه‌ها استفاده گردید. سطح معناداری (۰/۰۵) $P=$ در نظر گرفته شده بود.

یافته‌ها

میانگین گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ هفته رژیم پرچرب و در پایان پژوهش در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد موش‌ها پس از ۱۲ هفته مصرف رژیم پرچرب در شرایط پیش‌دایات قرار گرفتند، همچنین اثر تمرین هوازی و قهوه سبز بر کاهش میزان گلوکز خون ناشتا مشاهده شد ($P=0/05$) (نمودار ۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات بیان UCP1 بافت چربی زیرپوستی کشته رانی بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($P=0/05$ ، $95\% CI = -1/286$ تا $-0/315$ ، مربع اتا، $0/643$) (نمودار ۲).

بنابراین برای تعیین اختلاف موجود بین هر یک از گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و مشاهده گردید تفاوت معناداری در بیان ژن ترموژنیک UCP1 بین گروه‌های EX-PD، GC-PD، EX-GC-PD و EX-GC می‌باشد (به ترتیب) ($P=0/000$)، ($P=0/000$)، ($P=0/000$) و ($P=0/000$). در گروه‌های EX، GC و EX/GC افزایش معنادار ژن UCP1 نسبت به گروه PD دیده شد (به ترتیب) ($P=0/000$)، ($P=0/000$) و ($P=0/000$). علاوه بر این گروه‌های EX و EX/GC نیز نسبت به گروه GC افزایش معناداری داشته‌اند (به ترتیب) ($P=0/000$) و ($P=0/004$) (نمودار ۲).

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری در بیان ژن DIO2 در بافت چربی زیر پوستی کشته رانی بین گروه‌های پنجگانه تحقیق نشان داد ($0/643$ = مربع اتا، $2/217$ تا $1/186$ ، $95\% CI =$).

پرچرب مورد استفاده در این مطالعه، رژیم حاوی ۶۰ درصد انرژی از چربی است) دریافت کردند. پس از ۱۲ هفته دریافت رژیم غذایی، پیش‌دایاتی شدن موش‌های دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب با سنجش FBS تأیید شد و سپس به پنج گروه کنترل (Ctrl)، پیش‌دایات (PD)، پیش‌دایات-تمرین هوازی (EX)، پیش‌دایات-قهوه سبز (GC) و پیش‌دایات-قهوه سبز-تمرین هوازی (EX/GC) تقسیم شدند. در طول مدت آزمایش، تمامی موش‌ها در دمای کنترل شده ۲۱ درجه سانتی‌گراد (± 2) و رطوبت ۶۵٪ (± 5) و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲-۱۲ در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند و همچنین موش‌ها دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

پروتکل تمرین هوازی

تمرین هوازی به صورت فزاینده شامل گرم کردن و سرد کردن متناوب بر روی تردمیل مخصوص جوندگان (بدون شیب) بر این اساس انجام شد:

موش‌ها تمرین هوازی خود را با شدت ۷ متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در روز بر روی نوارگردان مخصوص موش‌ها آغاز کردند و در مدت ۱ هفته، به تدریج زمان فعالیت به ۴۵ دقیقه در روز و شدت فعالیت به ۱۵ متر در دقیقه افزایش یافت. یک هفته تمرین ابتدایی برای این منظور طراحی شد تا موش‌ها در شروع پروتکل تمرینی، قادر باشند روزانه به مدت ۴۵ دقیقه و با شدت ۱۵ متر در دقیقه روی تردمیل بدوند. از این مرحله به بعد، طبق یک پروتکل تمرینی فزاینده، موش‌های گروه تمرین کرده، هر هفته ۵ روز متوالی، هر روز یک جلسه و هر جلسه ۴۵ دقیقه روی نوارگردان دویدند. به طوری که در هفته اول و دوم با شدت ۱۵ متر در دقیقه، هفته سوم و چهارم با شدت ۱۷ متر در دقیقه، هفته پنجم و ششم با شدت ۱۹ متر در دقیقه، هفته هفتم و هشتم با شدت ۲۱ متر در دقیقه و هفته نهم و دهم با شدت ۲۳ متر در دقیقه و شیب صفر درجه تمرین کردند. گروه‌هایی که تحت تمرین بدنی قرار نگرفتند، نیز به مدت ۱۰ هفته، هفته‌ای ۵ جلسه و هر جلسه به مدت ۱۵ دقیقه بر روی تردمیل خاموش قرار گرفتند تا تمام شرایط از جمله دستکاری موش‌ها توسط محقق برای تمام گروه‌ها یکسان شود و تنها تفاوت گروه‌های کنترل و تجربی در برنامه تمرینی آن‌ها باشد (۱۰).

برنامه‌ی مکمل‌دهی

برنامه مکمل‌دهی بدین شرح بود که گروه‌های پیش‌دایات-قهوه سبز و پیش‌دایات-قهوه سبز-تمرین هوازی به مدت ۳ بار در هفته و هر بار به میزان ۲۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل قهوه سبز را از طریق گاواژ دریافت کردند (۱۱).

قربانی نمودن موش‌ها و استخراج بافت چربی:

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها پس از ۱۴ ساعت ناشتایی با تزریق درون صفاقی ماده بی‌هوشی (ترکیبی از کتامین ۳۰- mg/kg)

بنابراین به نظر می‌رسد رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش قند خون ناشتا شده و همچنین موجب کاهش بیان نسبی ژن UCP1 و افزایش بیان نسبی ژن DIO2 می‌شود. علاوه بر این تمرین هوازی و قهوه سبز منجر به افزایش معنادار بیان ژن‌های ترموزنیک UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی کتاله رانی موش‌های مدل پیش دیابت می‌شود.

($P=0.05$). بنابراین برای تعیین اختلاف موجود بین هر یک از گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و تفاوت معناداری در بیان ژن ترموزنیک DIO2 بین گروه‌های EX/GC - EX و EX - GC، GC-PD و PD- EX/GC مشاهده شد. علاوه بر این بین گروه‌های EX- EX/GC، EX- EX/GC و PD- EX/GC نیز اختلاف معناداری دیده شد (به ترتیب ($P=0.000$), ($P=0.000$), ($P=0.000$)). در ادامه افزایش معنادار ژن DIO2 در گروه‌های EX/GC و EX - PD نسبت به گروه‌های Ctrl و GC بیشتر مشاهده شد (نمودار ۳).

جدول ۱. طراحی پرایمرهای 18s، UCP1 و DIO2

ژن	Forward primer	Reverse primer
18S	CGGACACGGACAGGATTG	TCGCTCCACCACTAAGAAC
UCP1	GCATTGAGAGGCAAATCAGC	GCCACACCTCCAGTCATTAAG
DIO2	CGGGAATAGCCAGAGTCACC	TGTGCATCGGATGTCGTAGG

جدول ۲. مقادیر فاصله اطمینان از میانه و میانگین برای گلوکز خون ناشتا

EX/CG	EX	GC	PD	CTRL	CI ۹۵٪
			%۹۵/۱۰	%۸۷/۵۰	سطح اطمینان واقعی
			۱۱۳/۷	۸۸/۶۰	کران پایین فاصله اطمینان از میانگین
			۱۳۴/۷	۱۰۰/۹	کران بالا فاصله اطمینان از میانگین
۱۰۱/۸	۷۵/۰۳	۹۱/۸۲	۱۳۱/۹	۸۴/۹۶	کران پایین فاصله اطمینان از میانگین
۱۱۰/۷	۱۰۷/۰	۱۰۷/۴	۱۴۸/۱	۹۴/۶۴	کران بالا فاصله اطمینان از میانگین

فاصله اطمینان (CI)، گروه‌های: کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-قهوه سبز-تمرین هوازی (EX/GC).

جدول ۳. مقادیر فاصله اطمینان از میانه و میانگین برای ژن UCP1

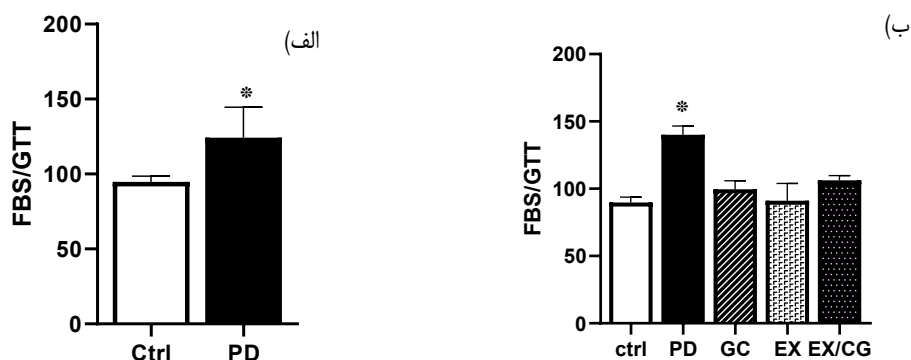
EX/CG	EX	GC	PD	CTRL	CI ۹۵٪
%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	سطح اطمینان واقعی
۱/۹۱۴	۳/۴۰۶	۲/۷۹۶	۰/۰۴۳	۰/۶۵۵	کران پایین فاصله اطمینان از میانگین
۲/۷۷۳	۴/۵۸۳	۳/۹۱۳	۰/۶۶۰	۱/۶۴۹	کران بالا فاصله اطمینان از میانگین

فاصله اطمینان (CI)، گروه‌های: کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-قهوه سبز-تمرین هوازی (EX/GC).

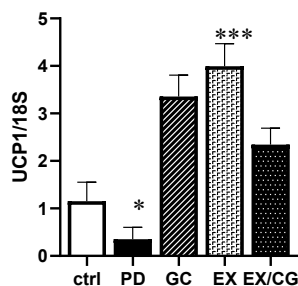
جدول ۴. مقادیر فاصله اطمینان از میانه و میانگین برای ژن DIO2

EX/CG	EX	GC	PD	CTRL	CI ۹۵٪
%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	%۹۳/۷۵	سطح اطمینان واقعی
۱/۷۸۵	۲/۸۲۸	۱/۱۰۴	۲/۴۱۵	۰/۵۳۴	کران پایین فاصله اطمینان از میانگین
۲/۴۴۷	۳/۹۶۳	۱/۳۷۱	۳/۰۹۶	۱/۵۷۳	کران بالا فاصله اطمینان از میانگین

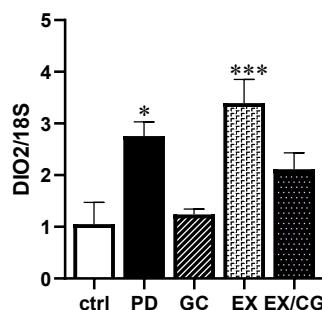
فاصله اطمینان (CI)، گروه‌های: کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX/GC).



نمودار ۱. مقادیر تست گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مختلف مطالعه. میانگین گلوکز خون ناشتا (FBS) در گروه‌های مختلف. نمودار (الف) نشان‌دهنده میزان گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب می‌باشد و نمودار (ب) میزان گلوکز ناشتا گروه‌ها را پس از اتمام مداخلات نشان داده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است. تست تحمل گلوکز (GTT)، گروه‌های: کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX/GC)، * (نشانه سطح معنی داری $P > 0.05$) نسبت به تمامی گروه‌های مطالعه، تفاوت معنی داری داشت.



نمودار ۲. بیان نسبی ژن UCP1 در گروه‌های مختلف مطالعه. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده. گروه‌های: کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX/GC)، * (نشانه سطح معنی داری $P > 0.05$)، *** (نشانه سطح معنی داری $P > 0.001$) نسبت به گروه EX نسبت به گروه PD تفاوت معنی داری داشت، همچنین نسبت به گروه Ctrl تفاوت معنی داری داشت.



نمودار ۳. بیان نسبی ژن DIO2 در گروه‌های مختلف مطالعه. مقدار P کمتر از 0.05 به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده. گروه‌های کنترل (Ctrl)، پیش دیابت (PD)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX)، پیش دیابت-قهوه سبز (GC)، پیش دیابت-تمرین هوازی (EX/GC)، * (نشانگر سطح معنی داری $P > 0.05$), *** (نشانگر سطح معنی داری $P > 0.001$). گروه EX نسبت به گروه GC تفاوت معنی داری داشت، همچنین گروه PD نسبت به گروه Ctrl تفاوت معنی داری داشت.

انسولین) در بافت چربی، تشدید لیپولیز و کاهش لیپوژنز و در نتیجه افزایش اسیدهای چرب و گلیسیرول می‌باشد (۱۹).

با افزایش ترکیباتی چون اسیدهای چرب و گلیسیرول در داخل سلول، این سیکل معیوب ادامه پیدا کرده و باعث تشدید مقاومت به انسولین در بافت چربی می‌شود. در ادامه آزادسازی بیش از اندازه اسید چرب آزاد و گلوکز، فعالیت بیش از اندازه میتوکندری‌ها و در نتیجه تولید محصولات جانبی حاصل از فعالیت میتوکندری‌ها یعنی گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) را موجب می‌شود که خود استرس اکسیداتیو نیز عامل مهمی در مقاومت به انسولین ناشی از چاقی است (۱۷). اختلال در عملکرد میتوکندری، به عنوان یک عضو اصلی در ترموژن، ممکن است باعث اختلال در ترموژن شود (۲۰).

به طور کلی در اکثر مطالعات نشان داده شده رژیم پرچرب موجب کاهش حساسیت انسولینی و در نتیجه مقاومت به انسولین در سلول‌های چربی می‌شود و به دنبال آن ترموژن کاهش پیدا می‌کند. با توجه به مطالعات قبلی به نظر می‌رسد رژیم غذایی پرچرب در موش‌ها موجب اختلال در سیگنالینگ انسولین شده و در نتیجه کاهش بیان نسبی ژن UCP1 را به دنبال داشت (۲۱، ۲۲).

همچنین نشان داد در موش‌هایی که تحت تیمار قهوه سبز قرار گرفتند، UCP1 افزایش پیدا کرد. به نظر می‌رسد قهوه سبز با اثرگذاری بر آزادسازی گلیسرول و افزایش اسید چرب، منجر به افزایش ترموژن در بافت چربی سفید زیر پوستی می‌شود و UCP1 که ژن کلیدی این روند است، افزایش

بحث

در این پژوهش اثرات تمرین هوازی و قهوه سبز بر بیان ژن‌های ترموژنیک UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی موش‌های پیش دیابتی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد بیان ژن UCP1 در چربی زیرپوستی موش‌های پیش دیابتی کاهش می‌یابد. این نتایج با مطالعات ویر و همکاران (۱۹۹۹) همخوانی داشته و با مطالعات ژانگ و همکاران (۲۰۲۰) و لی و همکاران (۲۰۱۹) ناهمخوان بوده، که احتمالاً کاهش بیان UCP1، به علت نقص در سیگنالینگ انسولین افراد پیش دیابتی است (۱۳-۱۵).

بر پایه تحقیقات انجام شده، ترموژن در میتوکندری بافت چربی قهوه‌ای و بژ، توسط ژن UCP1 رخ می‌دهد. UCP1 در غشا داخلی میتوکندری قرار دارد. هنگامی که UCP1 فعال می‌شود، مدارهای کوتاه شیب الکتروشیمیایی را به وجود می‌آورد که سنتز ATP را هدایت کرده و در نتیجه فعالیت زنجیره تنفسی را تحریک می‌کند. گرما از سوزاندن بسترهای موجود تولید شده و از طریق گردش خون به بقیه بدن توزیع می‌شود (۱۶).

به دنبال مصرف مداوم رژیم غذایی پرچرب و در نتیجه چاقی، میزان اسید چرب آزاد در خون افزایش می‌یابد که این امر تجمع لیپیدهای سمی مانند سرآمید، دی‌اسیل گلیسرول، لینولئیک اسید و فسفاتیدیک اسید را افزایش می‌دهد. این ترکیبات با فسفریلاسیون و در نتیجه فعال‌سازی فسفوکیناز C، فعال شدن آنزیم‌هایی مانند JNK را موجب می‌شوند (۱۷). JNK با فسفریله نمودن اسیدآمینه سرین IRS1 مانع از فعال‌سازی مسیر PI3K/AKT می‌شود (۱۸). یکی از پیامدهای نقص در سیگنالینگ انسولین (مقاومت به

¹ Reactive oxygen species

خون می‌شود. افزایش غلظت لاکتات در گردش نیز منجر به افزایش بیان نسبی ژن‌های ترموژنیک همچون Ucp1 و Cidea می‌شود (۳۳).

در این پژوهش اثر رژیم غذایی پرچرب بر ژن ترموژنیک DIO2 بررسی شد، همان‌طور که نشان داده شد، رژیم غذایی پرچرب این ژن را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که با مطالعات سوزا و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی داشت (۳۴). علاوه بر این تأثیر تمرین هوازی و قهوه سبز نیز بر بیان نسبی ژن DIO2 اندازه‌گیری شد. نتایج نشان می‌دهد تمرین هوازی باعث افزایش DIO2 در موش‌های پیش‌دیابتی شده که با یافته‌های نیگرو و همکاران (۲۰۲۱) و مارکو و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی دارد (۲۸، ۳۵). DIO2 تبدیل T4 به T3 را کاتالیز کرده و از این طریق ترموژن را در بافت چربی زیر پوستی فعال می‌کند (۳۶).

تمرین هوازی از طریق اثرگذاری بر هیپوتالاموس منجر به ترشح هورمون محرک غده تیروئید، تیروتروپین (TSH)، از بخش قدامی هیپوفیز می‌شود. هورمون TSH بر ترشح هورمون‌های غده تیروئید اثر گذاشته و باعث ترشح هورمون‌هایی چون T3 و T4 می‌شود و در نتیجه منجر به افزایش بیان ژن ترموژنیک DIO2 شده و ترموژن را تحریک می‌کند (۲۶، ۳۷).

پس از بررسی تأثیرات قهوه سبز بر بیان نسبی ژن DIO2، پی‌بردیم علی‌رغم مطالعات ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) و چن و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش معناداری بر بیان نسبی ژن DIO2 در گروه‌هایی که با قهوه سبز درمان شدند، نداشتیم (۲۴، ۳۸). یافته‌های ما با گویلنت و همکاران (۲۰۲۲) و نیک پیام و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی داشت (۲۳، ۳۹). به نظر می‌رسد نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه وجود دارد.

با این حال می‌توان اذعان داشت که قهوه سبز بر کاهش قند خون ناشتا تأثیرات مفیدی دارد. عصاره قهوه سبز حاوی کافئین و اسید کلروژنیک می‌باشد که خواص آن در تعدیل متابولیسم چربی مستند شده است (۲۳). اسیدکلروژنیک با فعال کردن خروجی عصبی سمپاتیک به بافت چربی، حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد، همچنین قهوه سبز دارای ترکیباتی چون اسیدهای فنلیک می‌باشد که باعث تمایز و ترموژن بافت چربی سفید و قهوه‌ای می‌شود. علاوه بر این قهوه سبز منجر به بیان UCP1 و بسیاری از ژن‌های ترموژنیک دیگر مانند PRDM16 و TBX1 در بافت چربی زیر پوستی می‌شود. و اثرات بالقوه‌ای در درمان چاقی و دیابت نوع ۲ دارد (۲۴، ۴۰). به نظر می‌رسد در صورت استفاده طولانی‌تر از قهوه سبز بتوان اثرات بیشتری از آن را در متغیرهای ترموژن مشاهده نمود.

می‌باید. این داده‌ها با نتایج مطالعات گویلنت و همکاران (۲۰۲۲) و ژانگ و همکاران (۲۰۲۱) همخوان بود (۲۳، ۲۴).

همان‌طور که گفته شد، افزایش ژن UCP1 در بافت چربی یک استراتژی درمانی برای دیابت نوع ۲ و چاقی می‌باشد (۲۵). در این‌جا اثرات تمرینات هوازی نیز برای افزایش بیان ژن ترموژنیک UCP1 در موش‌های پیش‌دیابتی ارزیابی شد. در پژوهش حاضر نشان داده شد تمرین هوازی بر افزایش بیان ژن ترموژنیک UCP1 در موش‌های پیش‌دیابتی تأثیر دارد که نتایج ما با پژوهش ایزابل و همکاران (۲۰۲۱)، واین و همکاران (۲۰۱۹) و نیگرو و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی داشت (۲۶-۲۸).

ورزش سیستم عصبی مرکزی و آزادسازی کاتکولامین مربوطه را تحریک می‌کند. مدت و شدت ورزش عوامل غالبی هستند که منجر به تحریک سیستم عصبی مرکزی می‌شود و پاسخ کاتکولامین‌ها به ورزش را تغییر می‌دهند (۲۶). بنابراین ورزش می‌تواند با افزایش عصب‌دهی سمپاتیک به بافت چربی و همچنین فعال‌سازی سیستم عصبی مرکزی و افزایش ترشح هورمون‌هایی نظیر هورمون تیروئید منجر به بیان UCP1 شود و بیوژن میتوکندری را افزایش دهد (۲۹).

همچنین مکانیسم‌هایی برای فعال‌سازی ترموژن بافت چربی وجود دارد که مستقل از سیستم عصبی مرکزی هستند، به‌ویژه گروهی از عوامل ترشحی که در طول ورزش افزایش می‌یابند. این عوامل عبارتند از پپتید-های نارتیوریتیک قلبی (NPs)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور رشد فیبروبلاست ۲۱ (FGF21) (۳۰-۳۲). NPs در پاسخ به ورزش حاد افزایش می‌یابند و سپس بیان UCP1، بیوژن میتوکندری و لیپولیز را در سلول‌های چربی انسان القا می‌کنند (۳۰). ورزش همچنین باعث آزادسازی IL-6 می‌شود، افزایش IL-6 در گردش می‌تواند فعالیت متابولیکی بافت چربی را بهبود بخشد (۳۱). FGF21 در انسان و موش با ورزش افزایش می‌یابد و افزایش سطح FGF21 در گردش با افزایش ترموژن بافت چربی مرتبط است (۳۲).

ورزش عصب‌دهی سمپاتیک را در بافت چربی زیرپوستی افزایش داده و از این طریق ترموژن را در این بافت تحریک می‌کند. همچنین یک مکانیسم بالقوه‌ای که در این زمینه علاقه زیادی ایجاد کرد این است که ورزش منجر به آزاد شدن مایوکین‌ها از عضلات اسکلتی منقبض شده، می‌شود که به بافت چربی زیرپوستی سیگنال می‌دهد تا بیان سلول‌های چربی بزرگ را القا کند. علاوه بر این ورزش باعث افزایش غلظت لاکتات در گردش

³ Fibroblast growth factor 21

⁴ thyrotropin

¹ natriuretic peptides

² Interleukin-6



تشکر و قدردانی

منابع مالی توسط محققین این مطالعه تامین شده است. این مقاله برگرفته از پایان نامه ارشد مصوب در دانشگاه زاهدان می‌باشد. پروتکل این مطالعه در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان زاهدان با کد IR.USB.REC.1399.040 به تأیید رسید. بدین‌وسیله از پژوهشکده زیست فناوری رویان اصفهان و تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نماییم. پایان نامه فاقد شماره می‌باشد.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

نتیجه‌گیری

نتایج ما نشان داد که تمرینات هوازی و مکمل قهوه سبز می‌تواند منجر به کاهش قند خون ناشتا در موش‌های پیش‌دیابتی شود. همچنین بیان ژن‌های ترموژنیک UCP1 و DIO2 در بافت چربی زیرپوستی موش‌های پیش‌دیابتی افزایش یافته و ممکن است از این طریق، ترموژنز را در بافت چربی زیرپوستی افزایش دهد، بنابراین موجب تبدیل بافت چربی سفید به بژ می‌شود و امکان دارد از این راه خطرات ناشی از پیش‌دیابت را کاهش دهد.

Reference

1. Hamoudi R, Sharif-Askari NS, Sharif-Askari FS, Abusnana S, Aljaibaji H, Taneera J, et al. Prediabetes and diabetes prevalence and risk factors comparison between ethnic groups in the United Arab Emirates. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-7.
2. Gesta S, Tseng Y-H, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*. 2007;131(2):242-56.
3. Rothwell N, Stock M. Insulin and thermogenesis. *International journal of obesity*. 1988;12(2):93-102.
4. Cheng L, Wang J, Dai H, Duan Y, An Y, Shi L, et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. *Adipocyte*. 2021;10(1):48-65.
5. Yau WW, Yen PM. Thermogenesis in adipose tissue activated by thyroid hormone. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(8):3020.
6. Bianco AC, Carvalho SD, Carvalho CR, Rabelo Rr, Moriscot AS. Thyroxine 5'-deiodination mediates norepinephrine-induced lipogenesis in dispersed brown adipocytes. *Endocrinology*. 1998;139(2):571-8.
7. Akbari A, Mohibi H, Hamid, Tabari, Alma. The effect of obesity with high-fat diet and periodic and continuous exercise on SIRT1 of visceral adipose tissue and insulin resistance in male rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2020;19(2):0.
8. Ricci A, Parpinello G, Versari A. The Nutraceutical Impact of Polyphenolic Composition in Commonly Consumed Green Tea, Green Coffee and Red Wine Beverages: A Review. *Recent Adv Food Sci Nutr Res* 2018: 12-27. DOI: <https://doi.org/10.29199/FSNR.2018;101011:3>.
9. Han X, Zhang Y, Guo J, You Y, Zhan J, Huang W. Chlorogenic acid stimulates the thermogenesis of brown adipocytes by promoting the uptake of glucose and the function of mitochondria. *Journal of Food Science*. 2019;84(12):3815-24.
10. 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.
11. Caro-Gómez E, Sierra JA, Escobar JS, Álvarez-Quintero R, Naranjo M, Medina S, et al. Green coffee extract improves cardiometabolic parameters and modulates gut microbiota in high-fat-diet-fed ApoE $^{-/-}$ mice. *Nutrients*. 2019;11(3):497.
12. Dkhil MA, Moneim AEA, Bauomy AA, Khalil M, Al-Shaebi EM, Al-Quraishy S. Chlorogenic acid prevents hepatotoxicity in arsenic-treated mice: Role of oxidative stress and apoptosis. *Molecular Biology Reports*. 2020;47(2):1161-71.
13. Weyer C, Bogardus C, Pratley RE. Metabolic factors contributing to increased resting metabolic rate and decreased insulin-induced thermogenesis during the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48(8):1607-14.
14. Zhang F, Song M, Chen L, Yang X, Li F, Yang Q, et al. Dietary Supplementation of Lauric Acid Alleviates the Irregular Estrous Cycle and the Impaired Metabolism and Thermogenesis in Female Mice Fed with High-Fat Diet (HFD). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020;68(45):12631-40.
15. Li B, Li L, Li M, Lam SM, Wang G, Wu Y, et al. Microbiota depletion impairs thermogenesis of



26. Dewal RS, Stanford KI. Effects of exercise on brown and beige adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2019;1864(1):71-8.
27. Velickovic K, Wayne D, Leija HAL, Bloor I, Morris DE, Law J, et al. Caffeine exposure induces browning features in adipose tissue in vitro and in vivo. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-11.
28. Nigro P, Middelbeek RJ, Alves CR, Rovira-Llopis S, Ramachandran K, Rowland LA, et al. Exercise Training Promotes Sex-Specific Adaptations in Mouse Inguinal White Adipose Tissue. *Diabetes*. 2021.
29. Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Gil Á, Ruiz JR. Role of exercise in the activation of brown adipose tissue. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2015;67(1):21-32.
30. Hansen D, Meeusen R, Mullens A, Dendale P. Effect of acute endurance and resistance exercise on endocrine hormones directly related to lipolysis and skeletal muscle protein synthesis in adult individuals with obesity. *Sports medicine*. 2012;42(5):415-31.
31. Dong M, Gao C, Jia Y, Xu W, Liu Y, Wen X, et al. Temporal specificity of IL-6 knockout in enhancing the thermogenic capability of brown adipose tissue. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2022:1-10.
32. Hanssen MJ, Broeders E, Samms RJ, Vosselman MJ, van der Lans AA, Cheng CC, et al. Serum FGF21 levels are associated with brown adipose tissue activity in humans. *Scientific reports*. 2015;5(1):1-8.
33. Stanford KI, Goodyear LJ. Exercise regulation of adipose tissue. *Adipocyte*. 2016;5(2):153-62.
34. de Souza CA, Gallo CC, de Camargo LS, de Carvalho PVV, Olescuck IF, Macedo F, et al. Melatonin multiple effects on brown adipose tissue molecular machinery. *Journal of pineal research*. 2019;66(2):e12549.
35. de Oca MAP-M, Garduño-Morales KL, Joseph-Bravo P. Chronic Stress During Adolescence Blunts the Exercise-Induced Expression of Thyroid Hormone-Target Genes in Metabolically Active Tissues of Male and Female Rats. *Journal of the Endocrine Society*. 2021;5(Suppl 1):A974.
36. Hussain MF, Roesler A, Kazak L. Regulation of adipocyte thermogenesis: mechanisms controlling obesity. *The FEBS journal*. 2020;287(16):3370-85.
37. Xiong Y, Wu Z, Zhang B, Wang C, Mao F, Liu X, et al. FND5 loss-of-function attenuates brown adipose tissue and browning of white adipose tissue. *Cell Reports*. 2019;26(10):2720-37. e5.
16. Vitali A, Murano I, Zingaretti MC, Frontini A, Ricquier D, Cinti S. The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *Journal of lipid research*. 2012;53(4):619-29.
17. Fazakerley DJ, Krycer JR, Kearney AL, Hocking SL, James DE. Muscle and adipose tissue insulin resistance: malady without mechanism? *Journal of Lipid Research*. 2019;60(10):1720-32.
18. Kojta I, Chacińska M, Błachnio-Zabielska A. Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients*. 2020;12(5):1305.
19. Fougerat A, Schoiswohl G, Polizzi A, Régnier M, Wagner C, Smati S, et al. ATGL-dependent white adipose tissue lipolysis controls hepatocyte PPARα activity. *bioRxiv*. 2021.
20. Bódis K, Roden M. Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans. *European journal of clinical investigation*. 2018;48(11):e13017.
21. Porksen NK, Linnebjerg H, Lam ECQ, Garhyan P, Pachori A, Pratley RE, et al. Basal insulin peglispro increases lipid oxidation, metabolic flexibility, thermogenesis and ketone bodies compared to insulin glargine in subjects with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2018;20(5):1193-201.
22. Mustafavian, Abdi, Ahmed, Mehrabani, Brari. The effect of eight weeks of increasing aerobic training with capsaicin on the changes of PGC-1α and UCP-1 gene expression in visceral adipose tissue of diet-obese Wistar rats. *Journal of Complementary Medicine*. 2020;10(2):106-17.
23. Guillemet D, Belles C, Gomes A, Azalbert V, André M, Faresse N, et al. Screening for anti-adipogenic, pro-lipolytic and thermogenic plant extracts by models associating intestinal epithelial cells with human adipose cells. *European Journal of Nutrition*. 2022:1-15.
24. Zhang K, Sun J, Fan M, Qian H, Ying H, Li Y, et al. Functional ingredients present in whole-grain foods as therapeutic tools to counteract obesity: Effects on brown and white adipose tissues. *Trends in Food Science & Technology*. 2021.
25. Yoneshiro T, Rodríguez-Rodríguez R, Betz MJ, Rensen PC. Current challenges for targeting brown fat thermogenesis to combat obesity. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:845.

exercise-induced browning of white adipose tissue in mice. The FASEB Journal. 2019;33(5):5876-86.

38. Chen L-H, Chien Y-W, Liang C-T, Chan C-H, Fan M-H, Huang H-Y. Green tea extract induces genes related to browning of white adipose tissue and limits weight-gain in high energy diet-fed rat. Food & nutrition research. 2017;61(1):1347480.

39. Nikpayam O, Najafi M, Ghaffari S, Jafarabadi MA, Sohrab G, Roshanravan N. Effects of green coffee extract on fasting blood glucose, insulin concentration and homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR): a systematic review and meta-analysis of interventional studies. Diabetology & metabolic syndrome. 2019;11(1):1-8.

40. Ghadieh HE, Smiley ZN, Kopfman MW, Najjar MG, Hake MJ, Najjar SM. Chlorogenic acid/chromium supplement rescues diet-induced insulin resistance and obesity in mice. Nutrition & metabolism. 2015;12(1):1-7.