

## تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا روی محتوای پروتئین‌های گیرنده فعال شده تکثیرکننده پراکسیژم گاما و دامنه PR حاوی ۱۶ در بافت چربی موش‌های صحرایی نر اسپراگوداولی مبتلا به دیابت نوع ۲ دارای اضافه وزن

نویسندگان:

مریم شعبانی<sup>۱</sup>، محسن ثالثی<sup>۲</sup>، فرهاد دریانوش<sup>۳\*</sup>

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران  
 ۲- دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.4, Winter 2019

### چکیده:

**مقدمه:** پروتئین‌های PPAR- $\gamma$  (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) و PRDM16 (PRdomaincontaining16) پروتئین‌های کلیدی در تنظیم بافت چربی و تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای هستند. دیابت نوع ۲ می‌تواند در عملکرد این دو پروتئین اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش فعالیت عملکردی آن‌ها شود. هنوز نقش تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT; high-intensity interval training) بر این دو پروتئین در بافت چربی زیرجلدی بررسی نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر HIIT بر محتوای این دو پروتئین در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی نر اسپراگوداولی مبتلا به دیابت نوع ۲ دارای اضافه وزن است.

**روش کار:** در این مطالعه، شانزده سر موش صحرایی نر دو ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن  $270 \pm 20$  گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء STZ و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به دو گروه، تمرین (۸ سر) و کنترل (۸ سر) تقسیم شدند. گروه تمرینی چهار روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی به مدت هشت هفته به فعالیت ورزشی پرداختند و گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل استفاده شد.

**یافته‌ها:** افزایش معنادار محتوای پروتئین PRDM16 ( $p < 0/001$ ) در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده شد، اما این افزایش در محتوای پروتئین PPAR- $\gamma$  معنادار نبود ( $p = 0/26$ ).

**نتیجه‌گیری:** با توجه نتایج پژوهش حاضر، HIIT باعث افزایش معنادار محتوای پروتئین PRDM16 شده است که نقش بسیار مهمی در تبدیل سلول‌های چربی سفید به قهوه‌ای دارد. بنابراین، امید است از این راه بینش جدیدی در مورد ریشه، تمایز و نگهداری بافت چربی سفید و تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای به دست آید.

**واژگان کلیدی:** بافت چربی سفید، تمرین تناوبی با شدت بالا، PPAR- $\gamma$ ، PRDM16

Pars J Med Sci 2019;16(4):1-9

### مقدمه:

عملکرد بافت چربی یک عامل کلیدی در سلامت متابولیسم است. عدم تعادل مداوم انرژی (مصرف انرژی در برابر هزینه آن) می‌تواند افزایش بیش از حد بافت چربی را باعث شده و عملکرد طبیعی آن را کاهش دهد [۱]. شیوه زندگی مدرن عامل مهم بی‌تحرکی و از عوامل مهم در افزایش چاقی و ایجاد اختلالات متابولیسم است. فعالیت ورزشی می‌تواند راه حل مناسبی برای

\* نویسنده مسئول، نشانی: شیراز، میدان ارم، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، بخش علوم ورزشی.  
 تلفن تماس: ۰۹۱۷۳۰۱۴۰۳۲  
 پست الکترونیک: daryanoosh@shirazu.ac.ir

اصلاح: ۹۷/۷/۲۳ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۳

دریافت: ۹۷/۵/۲۴

هستند. نشان داده شده است که این وضعیت توسط لیگاندهای PPAR- $\gamma$  بهبود یافته [۱۳] و همچنین باعث افزایش ذخایر اسید چرب در بخش‌های چربی و تنظیم بیان هورمون‌های مترشحه از آدیپوسیت‌ها می‌شود که روی هموستاز گلوکز تأثیر می‌گذارد. از این رو، نتیجه خالص اثر پلیوتروپیک (چندنمودی) لیگاندهای PPAR- $\gamma$  باعث بهبود حساسیت به انسولین می‌شود. این بررسی نشان می‌دهد که نقش PPAR- $\gamma$  در تنظیم بیان ژن بیماری‌های متعدد از جمله چاقی، دیابت و سرطان نقش برجسته‌ای دارد [۱۴]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که علاوه بر تمرینات طولانی‌مدت هوازی که باعث بهبود عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و کاهش وزن می‌شوند، تمرینات تناوبی با شدت بالا نیز که مدت‌زمان کمتری برای اجرای آن‌ها مورد نیاز است، می‌توانند در کاهش توده چربی بدن مؤثر بوده و مورد استفاده قرار گیرند. برای مثال، دوازده هفته HIIT، باعث کاهش توده چربی و افزایش توده بدون چربی بدن افراد مبتلا به سندرم متابولیک می‌شود [۱۵]. همچنین دوازده هفته تمرین هوازی و HIIT، اثرات مشابهی را بر شاخص‌های سلامتی نوجوانان چاق نشان داد [۱۶].

یکی از سودمندترین مزایای فعالیت ورزشی، به جز بهبود شرایط کلی بدن، قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید است که دو پروتئین مهم PPAR- $\gamma$  و PRDM16 در این امر بسیار مهم هستند [۱۷]. همچنین فعالیت ورزشی منظم تأثیرات مفیدی بر سلامت بدنی افراد دارد و نقش فعالیت ورزشی در درمان و پیشگیری از بیماری‌های متابولیک مانند چاقی و دیابت نوع ۲ به خوبی شناخته شده است. تمرین ورزشی، هموستاز گلوکز کل بدن را بهبود بخشیده و حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد، که این تأثیرات را مربوط به سازگاری‌های عضله اسکلتی، بافت چربی و... می‌دانند [۱۸].

در پژوهشی در سال ۲۰۱۰ فانون و همکاران گزارش کردند که تمرین ترکیبی (تمرین هوازی با ۵۵-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرین مقاومتی دایره‌ای با شدت ۶۰-۸۰ درصد حداکثر قدرت) باعث افزایش معنادار بیان ژن PPAR- $\alpha$  پس از شش و دوازده ماه در عضله اسکلتی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌شود. این در حالی است که بیان ژن PPAR- $\gamma$  فقط پس از شش ماه افزایش پیدا کرد [۱۹]. در مقابل در پژوهشی دیگر پتریدیو و همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر دویدن در چرخ‌گردان را بر فعالیت PPAR- $\gamma$  و PPAR- $\alpha$  در عضلات/دوقلو، کبد و بافت چربی موش‌های صحرائی به مدت هشت هفته بررسی کردند. نتایج نشان داد که فعالیت اختیاری داخل چرخ‌گردان منجر به تغییر معناداری در بیان این دو ژن در موش‌های تمرین کرده نمی‌شود [۲۰]. در پژوهشی دیگر ریتقوالم و همکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی فعالیت ورزشی بر بیان ژن PRDM16 در بافت چربی

کاهش اختلالات حاصل از چاقی باشد [۲]، بنابراین، بافت چربی سالم و میزان مناسب آن، منجر به کاهش عوارض چاقی می‌شود و چربی زیرپوستی ممکن است برای هموستاز انرژی مفید باشد [۳]. از سوی دیگر، رابطه مهمی بین چربی احشایی و اختلالات متابولیکی مانند دیابت نوع ۲ وجود دارد [۴،۳]. این رابطه به تأثیر بیش از حد مواد مغذی در ایجاد استرس چربی و التهاب ناشی از آن و همچنین ظرفیت محدودی از چربی برای پراکندگی لیپید مربوط است [۵،۱]. دیابت نوع ۲ یک گروه از اختلالات متابولیک رایج است که فوتوتیپ قند خون بالا و چربی بیش از حد را به همراه دارد. دیابت نوع ۲ به وسیله تعامل پیچیده ژنتیک و عوامل محیطی ایجاد می‌شود [۶]. عوارض دیابت نوع ۲ شامل کاهش ترشح انسولین، مقاومت به انسولین، کاهش مصرف گلوکز و افزایش تولید گلوکز است. اختلال متابولیکی مرتبط با دیابت موجب تغییرات پاتوفیزیولوژیک ثانویه در سیستم‌های چندگانه می‌شود که فشار زیادی را بر فرد مبتلا به دیابت و سیستم مراقبت‌های بهداشتی وارد می‌کند [۷].

دامنه PR حاوی ۱۶ یک تنظیم‌کننده رونویسی انگشتی شکل است که ۱۴۰ کیلو دالتون وزن دارد و موجب افزایش چربی قهوه‌ای زیر جلدی و افزایش انرژی بدن از طریق آدیپوسیت‌های قهوه‌ای غنی از میتوکندری می‌شود [۸]. شناسایی PRDM16 به عنوان یک عامل رونویسی کلیدی بافت چربی قهوه‌ای است که منجر به درک بیشتر از زیست‌شناسی چربی قهوه‌ای شده است. پیش از این هیچ عامل رونویسی برای تعیین مشخصات مناسب چربی قهوه‌ای مشخص نشده بود. توانایی PRDM16 برای فعال کردن کامل ژن عوامل ترموژنیک در سلول‌های چربی سفید و حتی سلول‌های غیر چربی، فرصت‌هایی برای کشف تکامل مولکولی بافت چربی قهوه‌ای را فراهم کرده است [۹]. PRDM16 ژن‌هایی مانند پروتئین جداکننده-۱ (UCP1; Uncoupling Protein 1) و PPARs را بیان می‌کند که به میزان بالا در آدیپوسیت‌های قهوه‌ای نسبت به سفید بیان می‌شوند [۱۰].

گیرنده فعال شده تکثیرکننده پراکسیژم گاما یک عامل بسیار کلیدی در درمان مقاومت به انسولین است؛ زیرا لیگاندهای این گیرنده به عنوان افزایش‌دهنده حساسیت به انسولین، مورد استفاده در درمان دیابت نوع ۲ است. سه نوع ایزوفرم PPAR- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$  1-3) در کنترل بیان ژن نقش مهمی در ذخیره‌سازی و بسیج لیپیدها، متابولیسم گلوکز، مورفوژنز و پاسخ التهابی ایفا می‌کنند [۱۱]. پیشرفت‌های اخیر نشان‌دهنده کشف ژن‌های جدید است که توسط PPAR- $\gamma$  تنظیم می‌شوند [۱۲]. این عامل رونویسی غالب در آدیپوسیت‌ها باعث تنظیم گلوکز و هموستاز چربی می‌شود. افزایش میزان آزادسازی اسیدهای چرب آزاد و تجمع چربی در بافت‌های غیر چربی در توسعه مقاومت به انسولین دخیل

حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

در هفته دهم بعد از به وزن رسیدن موش‌ها، برای ایجاد دیابت نوع ۲ در آن‌ها، محلول استرپتوزوتوسین (Streptozotocin; STZ) حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵، به صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق شد [۲۳]. قند خون موش‌های صحرایی، برای اطمینان از دیابتی شدن، ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek، ساخت آلمان) و نمونه خونی گرفته‌شده از سایه‌رگ دمی آن‌ها اندازه‌گیری شد. قند خون بیش از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد [۲۴]. پس از القاء دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به دو گروه شامل گروه تمرین (۸ سر) و گروه کنترل (۸ سر) تقسیم شدند.

موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان (مدل A1400Y10، شرکت پیشرو اندیشه صنعت، ساخت ایران) به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت هشت هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه، شامل ۶ دقیقه گرم کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۵ دوره تمرین ۴ دقیقه‌ای با تناوب شدید (۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت)، ۴ دوره تمرین ۳ دقیقه تمرین با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت) و ۶ دقیقه سرد کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) بود. شیب نوارگردان در تمام چهار هفته مطالعه به مقدار صفر درجه ثابت نگاه داشته شد [۲۵]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین در طول دوره پژوهش نداشتند.

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از گذشت ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین، با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس بافت چربی زیر جلدی از مکان لایه چربی اپیدیدیمال بدن حیوان برداشته و در سرم فیزیولوژیک شستشو شد. بافت‌های شستشو شده بلافاصله با استفاده از مایع ازت (تهیه شده از بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز) منجمد و برای سنجش‌های بعدی در فریزر با دمای ۸۰- (مدل AFR-80، شرکت آرمینکو، ساخت ایران) گذاشته شد.

اپیدیدیمال و کشاله‌رانی موش‌های صحرایی مبتلا به نقص در پروتئین پراکسیزوم تکثیرکننده-فعال شده گیرنده گاما سازنده-۱-آلفا (PGC1- $\alpha$ ; Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) پرداختند. تمرین ورزشی شامل یک دوره فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت پنج روزه دویدن روی تردمیل بود. هر دوره تمرین ۱۰ دقیقه‌ای شامل: ۲ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه، ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، ۴ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب ثابت ۱۰ درصد بود. نتایج افزایش بیان ژن PRDM16 را در هفته‌های دوم و ششم نشان داد، اما در هفته دهم بیان این ژن با کاهش چشمگیری همراه بود [۲۱].

هنوز اثرات پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- $\gamma$  و نقش HIIT در تنظیم این دو پروتئین در بافت چربی به خوبی مشخص نشده است. همچنین نقش این پروتئین‌ها در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع ۲، پرفشار خونی، بیماری‌های قلبی و سرطان ناشناخته مانده است. بنابراین، پژوهش‌های بیشتری روی این دو پروتئین در بافت چربی نیاز است. از طرفی تاکنون پژوهش‌های بسیار محدودی تأثیر فعالیت ورزشی HIIT بر تنظیم PRDM16 و PPAR- $\gamma$  را بررسی کرده‌اند. با توجه به نقش مهم این دو پروتئین در تنظیم بافت چربی در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات HIIT بر میزان پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- $\gamma$  در بافت چربی زیر پوستی موش‌های صحرایی نر اسپراگوداولی دیابتی نوع ۲ دارای اضافه وزن انجام شد.

## روش کار:

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی روی دو گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت. در این پژوهش، ۱۶ سر موش صحرایی نر شش هفته‌ای از نژاد اسپراگوداولی از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. موش‌های صحرایی به مدت چهار هفته با غذای کنترل‌شده پرچرب به صورت پلت (خریداری شده از شرکت به‌پرور) برای افزایش وزن تغذیه شدند و به میانگین وزنی  $270 \pm 20$  گرم رسیدند [۲۲]. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری می‌شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.SUMS.REC.1396.S1061) مطالعه مطابق با اصول کار با

دانشیته باندها توسط نرم افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه گیری شد و نتایج بعد از نرمال کردن در مقابل کنترل داخلی (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه از کنترل ارائه شدند [۲۶]. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده های پژوهش از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع متغیرها، از آزمون پارامتریک  $t$  مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. اطلاعات در قالب جدول ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. سطح معناداری پژوهش حاضر،  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

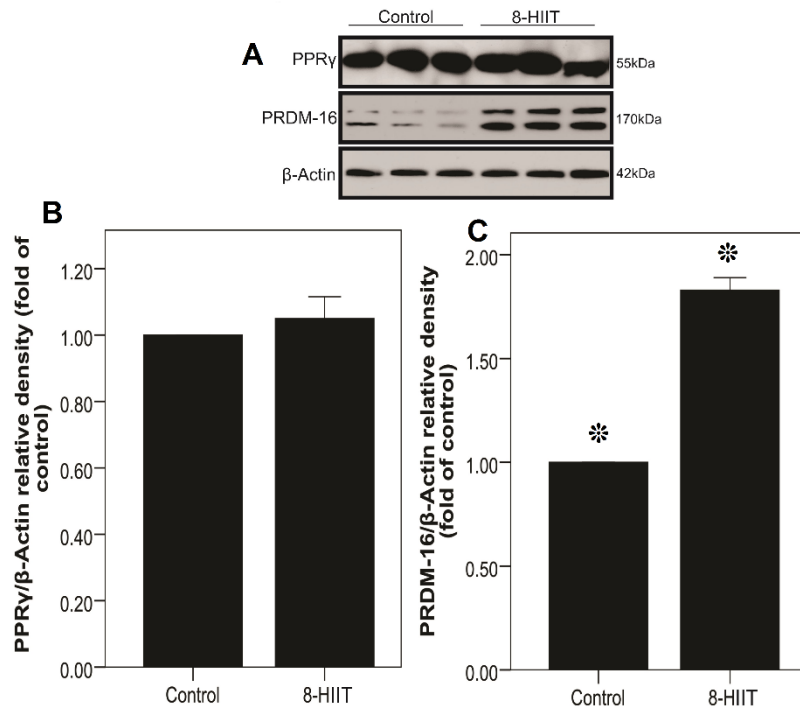
### یافته ها:

نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، تفاوت معناداری در محتوای پروتئین  $\gamma$ -PPAR بین گروه های تمرین و کنترل وجود ندارد ( $P < 0.026$ ). در مقابل، هشت هفته تمرین تمرین تناوبی با شدت بالا منجر به افزایش معناداری در محتوای پروتئین PRDM16 در بین گروه های تمرین و کنترل شد ( $P < 0.001$ ) (جدول ۱ و شکل ۱).

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه گیری شدند. در این روش، ابتدا مخلوط بافت چربی زیرجلدی در لیزکننده RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با محلول نمونه، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی روی غشا ترانسفر شده (غشاء دیفوریید پلی وینیلیدین Polyvinylidene difluoride (PVDF) (membrane sigma) و بعد از پوشاندن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه در معرض آنتی بادی اولیه ی خرگوشی anti-PRDM16 (sc-130243) و anti-PPAR- $\gamma$  (ab209350) رقیق شده (۱/۵۰۰) در محلول پوشاننده به مدت یک شب در دمای ۴ درجه قرار داده شدند. پس از سه بار شستشو با محلول فسفات نمکی توین دار با آنتی بادی ثانویه ضد خرگوشی متصل به HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور شدند. ایمون کمپلکس های ایجاد شده با روش پرتوزایی شیمیایی و استفاده از فیلم رادیوگرافی ظهور شدند.

جدول ۱: نتایج آماری  $t$ -مستقل برای محتوای پروتئین های  $\gamma$ -PPAR و PRDM16

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار $t$	$p$
وزن (گرم)	کنترل (هفته اول)	۲۶۱٫۸۳	۱۲٫۴۶	۳٫۴۰	۰٫۰۱
	کنترل (هفته هشتم)	۳۱۵٫۰۰	۲۷٫۹۲		
	تمرین (هفته اول)	۲۸۲٫۵۰	۱۲٫۹۱	۲٫۰۱	۰٫۱۰
	تمرین (هفته هشتم)	۳۱۶٫۸۳	۴۷٫۴۱		
$\gamma$ -PPAR	کنترل	۱٫۰۰	۰٫۰۱	۱٫۱۷	۰٫۲۶
	تمرین	۱٫۰۴	۰٫۱۰		
PRDM16	کنترل	۱٫۰۰	۰٫۰۱	۲۱٫۲۷	۰٫۰۰۱
	تمرین	۱٫۸۲	۰٫۰۹		



شکل ۱: مقایسه محتوای پروتئین‌های  $\text{PPAR-}\gamma$  و PRDM16 در گروه‌های مورد مطالعه.

A، تصاویر وسترن بلات پروتئین‌های  $\text{PPAR-}\gamma$  و PRDM16 و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت چربی زیر جلدی. B، نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باند‌های پروتئین  $\text{PPAR-}\gamma$  در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است. C، نمودار ستونی نشان دهنده مقادیر کمی شده باند‌های پروتئین PRDM16 در مقابل کنترل داخلی که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است. \* وجود تفاوت معنادار بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل.

## بحث:

زیاد، تفاوت معناداری در قیاس با گروه کنترل ندارد [۲۹]. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر هم راستا نیست. نتایج پژوهش افشاری به دنبال هشت هفته تمرین تناوبی و حجم نسبتاً زیاد تفاوتی را در بیان ژن PRDM16 نشان نداد، اما در پژوهش حاضر محتوای این ژن افزایش معناداری را به دنبال هشت هفته HIIT نشان داد. عوامل مهمی در این تفاوت می‌تواند نقش داشته باشد که می‌توان به نوع، شدت تمرین ورزشی و بیمار بودن آزمودنی‌های پژوهش حاضر اشاره کرد. آزمودنی‌های پژوهش حاضر، مبتلا به دیابت نوع ۲ و دارای اضافه وزن بودند که پروتکل تمرینی را با شدت ۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت انجام می‌دادند. با توجه به افزایش محتوای پروتئین PRDM16 در پژوهش حاضر، می‌توان گفت که تمرین ورزشی می‌تواند عامل بسیار مهمی برای تغییر بافت سفید چربی سفید به قهوه‌ای باشد که این بافت فواید بسیار مفیدی نسبت به بافت سفید چربی دارد. در همین راستا در پژوهشی استنفورد و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی تأثیر تمرین ورزشی روی پروتئین PRDM16 در بافت چربی پرداختند. تمرین ورزشی توانست بیان این ژن را در بافت چربی زیرجلدی

نتایج، افزایش معناداری را بین گروه‌های کنترل و تمرین در محتوای پروتئین PRDM16 نشان داد، اما این افزایش در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در محتوای پروتئین  $\text{PPAR-}\gamma$  معنادار نبود.

پژوهشگران معتقدند این دو پروتئین می‌توانند سلول‌های چربی سفید ذخیره‌کننده کالری را به سلول‌های چربی قهوه‌ای سوزاننده چربی تبدیل کنند [۲۷]. پروتئین PRDM16 می‌تواند داروی ضد چاقی برای آیندگان باشد. ترکیباتی که این پروتئین را فعال می‌کنند، می‌توانند در سوزاندن سریع چربی به افراد کمک کند. هرچه مقدار چربی قهوه‌ای در بدن فعال‌تر باشد، میزان چربی ذخیره و اضافه وزن بدن کاهش بیشتری می‌یابد [۲۸].

در پژوهشی در سال ۲۰۱۸، افشاری و همکاران به بررسی اثر هشت هفته تمرینات هوازی تناوبی و شدت بالا بر بیان ژن PRDM16 در بافت چربی سفید موش‌های صحرائی ویستار پرداختند. نتایج نشان داد که میزان بیان این ژن در دو گروه تمرین هوازی تناوبی با حجم متوسط و گروه تمرینی با حجم زیاد و در دو گروه تمرین تناوبی با شدت بالا با حجم متوسط و حجم نسبتاً

و همکاران افزایش معناداری داشت که با نتایج پژوهش حاضر هم راستا نیست. از علل این تناقض می‌توان به نوع تمرین ورزشی اشاره کرد. در پژوهش حاضر، نوع تمرین، HIIT و از نوع اجباری روی تردمیل بوده است، اما در پژوهش هاگزن و همکاران نوع تمرین ورزشی اختیاری بوده است. از این رو، این امکان وجود دارد که موش‌ها در پژوهش هاگزن و همکاران در یک هفته مدت زمان بیشتری روی چرخ‌گردان به فعالیت ورزشی پرداخته باشند و در هفته‌های دیگر کمتر. با توجه به این که فقط در بعضی از هفته‌ها افزایش معنادار مشاهده شده است، این مورد قابل تامل خواهد بود. همچنین علاوه بر نوع تمرین ورزشی، شدت تمرین در ورزش اجباری نسبت به فعالیت اختیاری بسیار بالاتر بوده که می‌تواند یکی از دلایل تغییر محتوای پروتئین PRDM16 و PPAR- $\gamma$  در پژوهش حاضر نسبت به پژوهش هاگزن و همکاران باشد.

سازوکار احتمالی سلولی و ملکولی این مسیر بدین گونه است: سیستم عصبی سمپاتیک از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های بتا-آدرنژیک ترموژن سازشی را در چربی قهوه‌ای کنترل می‌کند. گیرنده‌های بتا-آدرنژیک از طریق پروتئین کیناز A (PKA; Protein Kinase A)، پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن p38 (p38MAPK; P38 mitogen-activated protein kinases) را در آدیپوسیت‌ها تحریک می‌کند [۳۴]. P38MAPK فعال شده، PGC1 $\alpha$  و عامل فعال‌کننده رونویسی-2 (ATF2; Activating transcription factor 2) را فسفوریله می‌کند و بیان ژن UCP1 را از طریق تعاملات خود با PPAR $\gamma$  کنترل می‌کند. PPAR- $\gamma$  افزایشدهنده اصلی ژن UCP-1 است. فعال‌سازی ATF2 به وسیله p38MAPK به‌عنوان حسگر cAMP به کار می‌رود که میزان بیان ژن PGC1 $\alpha$  را در بافت چربی قهوه‌ای افزایش می‌دهد. بنابراین، فعال شدن PGC1 $\alpha$  منجر به فعال شدن پروتئین PPAR- $\gamma$  می‌شود که می‌تواند منجر به تبدیل بافت سفید چربی به قهوه‌ای یا بالغ شدن سلول‌های نابالغ بافت چربی قهوه‌ای شود [۳۵].

از سوی دیگر، عوارض ژنتیکی ایجاد شده توسط دیابت نوع ۲ نیز می‌تواند در عملکرد PPAR- $\gamma$  اختلال ایجاد کرده و منجر به کاهش عملکرد این ژن شود [۳۶]. آلل SNP (Single Nucleotide Polymorphism) در PPAR- $\gamma$  با مقاومت به انسولین در دیابت نوع ۲ و به طور متناقضی با چاقی در ارتباط است. بنابراین، آلل SNP می‌تواند خطر ژنتیکی برای افراد دیابت نوع ۲ باشد [۳۷]. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که در افراد چاق حامل آلل آلانین در PPAR- $\gamma$ ، میزان کلسترول و HDL کاهش و میزان تری‌گلیسیریدها افزایش خواهند داشت. هر دو این موارد، عوامل خطر محسوب می‌شوند. مقدار بالاتر لیپیدها در موارد چاق احتمالاً

موش‌های صحرایی تمرین کرده نسبت به بی‌تحرك را افزایش معناداری دهد [۳۰]. در واقع، به نظر می‌رسد PRDM16 به عنوان یک پروتئین مرکب می‌تواند به عنوان یک سوئیچ دو طرفه در توسعه چربی قهوه‌ای از طریق متابولیسم‌های متعدد پروتئین عمل کند [۳۱].

سازوکار احتمالی دیگری که به نقش بسیار مهم پروتئین PRDM16 می‌پردازد، ارتباط آن با پروتئین PPAR- $\gamma$  برای تبدیل سلول‌های چربی قهوه‌ای نابالغ به سلول‌های بالغ است. در این ارتباط، پروتئین PPAR- $\gamma$  با اتصال به پروتئین دیگری به نام عامل-2 (EBF2; Early B cell Factor 2) سلول B اولیه سلول B به بیان و ترویج پروتئین PRDM16 می‌شود که به دنبال آن سلول‌های بافت چربی قهوه‌ای نابالغ به بالغ تبدیل شده و سپس توسط پروتئین PGC-1 $\alpha$  فعال خواهند شد [۲۸].

بنابراین، تمرینات ورزشی با افزایش پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- $\gamma$  علاوه بر تبدیل بافت سفید به بافت قهوه‌ای، منجر به تبدیل سلول‌های چربی قهوه‌ای نابالغ به سلول‌های بالغ می‌شود. در کل، نتایج مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌تواند بیان پروتئین‌های مهم متابولیک مانند PPAR- $\gamma$ ، PRDM16 در پژوهش حاضر و UCP1 و PGC-1 $\alpha$  در دیگر پژوهش‌ها را تغییر دهد. از دیگر سازگاری‌های متابولیک برای بافت چربی که در پی افزایش محتوای پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- $\gamma$  رخ می‌دهد کاهش وزن است [۳۲]. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، HIIT منجر به کنترل وزن شده است و در واقع موش‌هایی که HIIT را انجام داده‌اند نسبت به موش‌های گروه کنترل افزایش معناداری را در وزن نشان نداده‌اند. بنابراین، سازوکار احتمالی دیگر، کنترل وزن از طریق تمرین ورزشی خواهد بود که به همراه کاهش وزن می‌تواند باعث افزایش محتوای دو پروتئین نام برده نیز شود.

در سال ۲۰۱۵ در پژوهشی دیگر، هاگزن و همکاران به بررسی تأثیر تمرین ورزشی برای بهبود عملکرد بافت چربی و التهاب در موش‌های دیابتی چاق پرداختند. تمرین ورزشی روی چرخ‌گردان مخصوص جوندگان و به صورت اختیاری انجام شد. در این مطالعه بیان ژن PRDM16 و PPAR- $\gamma$  در هفته‌های ۲، ۴، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ اندازه‌گیری شد که فقط در هفته‌های ۱۰ و ۱۴ بیان ژن این دو پروتئین افزایش معناداری داشت [۳۳]. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش ذکر شده در هفته‌های ۱۰ و ۱۴ که افزایش معناداری را در بیان ژن PRDM16 مشاهده کرده بودند در یک راستا است. از طرفی دیگر، بیان ژن اندازه‌گیری شده PPAR- $\gamma$  در هفته‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ با نتایج پژوهش حاضر در یک راستا است و هر دو مطالعه تغییر معناداری را در این پروتئین در این هفته‌ها و هشت هفته پژوهش حاضر گزارش نکرده‌اند. با این وجود، پروتئین PPAR- $\gamma$  در هفته‌های ۱۰ و ۱۴ در پژوهش هاگزن

کاهش بافت چربی از طریق تمرین ورزشی می‌تواند راه‌حل درمانی بسیار مفیدی باشد. بنابراین، با توجه به نتایج پژوهش حاضر امید بر این است که بینش جدیدی در مورد تنظیم بافت چربی سفید و تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای و بژ به دست آید.

### تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از همکاری اساتید دانشکده علوم پزشکی دانشگاه شیراز و تمام افرادی که در این پژوهش نویسندگان مقاله را یاری کرده اند تقدیر و قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع:

هیچ‌گونه تعارض منافع در اجرای این طرح وجود نداشته است.

به دلیل کاهش عملکرد PPAR- $\gamma$  در فعال‌سازی ژن‌های هدف است [۳۶]. از طرفی، PPAR- $\gamma$  برای حفظ مرحله تمایز نهایی سلول چربی نیز مورد نیاز است، طوری که بیان منفی گسترده آن در سلول‌های تمایز یافته 3T3-L1 منجر به تمایز این سلول‌ها با تجمع لیپیدی کمتر و همچنین کاهش بیان مارکرهای آدیپوسیت می‌شود [۳۸].

### نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، HIIT نتوانست محتوای پروتئین PPAR- $\gamma$  را تغییر معناداری دهد؛ اما منجر به افزایش محتوای پروتئین PRDM16 شده که به تنهایی می‌تواند عاملی برای تبدیل بافت سفید چربی به قهوه‌ای باشد. همچنین با توجه به نگرانی‌های هشداردهنده درباره چاقی و بیماری دیابت نوع ۲،

## References:

- Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *The Journal of clinical investigation* 2011;121(6):2094-101.
- Zafriir B. Brown adipose tissue: research milestones of a potential player in human energy balance and obesity. *Horm Metab Res* 2013; 45(11): 774-85.
- Tchernof A, Després JP. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiological reviews* 2013; 93(1):359-404.
- Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annual review of immunology* 2011; 29: 415-45.
- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease primers* 2015; 1-22.
- Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382):463-468.
- Enteshary M, Esfarjani F, Reisi J. The Comparison of 8 week combined training with two different intensity on level of serum Irisin, and glycemic indices of type 2 diabetic women. *medical journal of mashhad university of medical sciences* 2018; 61(2):971-84.
- Ishibashi J, Seale P. Functions of Prdm16 in thermogenic fat cells. *Temperature* 2015; 2(1):65-72.
- Harms MJ, Ishibashi J, Wang W, Lim HW, Goyama S, Sato T, et al. Prdm16 is required for the maintenance of brown adipocyte identity and function in adult mice. *Cell metabolism* 2014; 19(4):593-604.
- Harms MJ, Lim HW, Ho Y, Shapira SN, Ishibashi J, Rajakumari S, et al. PRDM16 binds MED1 and controls chromatin architecture to determine a brown fat transcriptional program. *Genes Dev* 2015; 29(3): 298-307.
- Koppen A, Kalkhoven E. Brown vs white adipocytes: the PPAR $\gamma$  coregulator story. *FEBS Lett* 2010; 584(15): 3250-3259.
- Lo KA, Sun L. Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Biosci Rep* 2013; 33(5): 711-719.
- Janani C, Kumari BR. PPAR gamma gene—a review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2015; 9(1):46-50.
- Xu L, Ma X, Verma NK, Wang D, Gavrilova O, Proia RL, et al. Ablation of PPAR  $\gamma$  in subcutaneous fat exacerbates age-associated obesity and metabolic decline. *Aging cell* 2018; 17(2):1-10.
- Tjønnå AE, Lee SJ, Rognmo Ø, Stølen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* 2008; 118(4):346-354.
- Corte de Araujo AC1, Roschel H, Picanço AR, do Prado DM, Villares SM, et al. Similar health benefits of endurance and high-intensity interval training in obese children. *PLoS One*. 2012; 7(8): 1-8.
- Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effect of high-intensity intermittent exercise on body composition of overweight young males. *Journal of Obesity* 2012; 1-8.
- Porcari J, Bryant C, Comana F. Exercise physiology. *FA Davis* 2015; 36-62.
- Fatone C, Guescini M, Balducci S, Battistoni S, Settequattrini A, Pippi R, et al. Two weekly sessions of combined aerobic and resistance exercise are sufficient to provide beneficial effects in subjects with Type 2 diabetes mellitus and metabolic

- syndrome. *Journal of endocrinological investigation* 2010; 33(7):489-95.
20. Petridou A, Tsalouhidou S, Tsalis G, Schulz T, Michna H, Mougios V. Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in rat adipose tissue. *Metabolism* 2007; 56(8): 1029-1036.
  21. Ringholm S, Knudsen JG, Leick L, Lundgaard A, Nielsen MM, Pilegaard H. PGC-1 $\alpha$  is required for exercise-and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PLoS one* 2013; 8(5): 1-6.
  22. Fathi R, Ebrahimi M, Sanami SK. Effects of High Fat Diet and High Intensity Aerobic Training on Interleukin 6 Plasma Levels in Rats. *Pathobiology Research* 2015; 18(3):109-16.
  23. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean J Physiol Pharmacol* 2018; 22(5):493-501.
  24. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *J Asian nat prod Res* 2017; 19(10):1011-21.
  25. Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO $_2^-$ , NO $_3^-$ ). *Iranian journal of public health* 2015; 44(9):1270-1276.
  26. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 $\alpha$  content and endurance exercise performance in rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14(1): 1-8.
  27. Kajimura S, Seale P, Tomaru T, Erdjument-Bromage H, Cooper MP, Ruas JL, Chin S, Tempst P, Lazar MA, Spiegelman BM. Regulation of the brown and white fat gene programs through a PRDM16/CtBP transcriptional complex. *Genes & development*. 2008; 22(10):1397-409.
  28. Kajimura S, Spiegelman BM, Seale P. Brown and beige fat: physiological roles beyond heat generation. *Cell metabolism*. 2015; 22(4):546-59.
  29. Afshari S, Kordi M.R, Mohammad-Amoli M, Daneshyar S. The Effect of Continuous Aerobic Training (CAT) and High Intensity Interval Training (HIIT) on Gene Expression of positive regulatory domain-containing protein 16 (PRDM16) in White Adipose tissue of Wistar Rats 2018; 201-210.
  30. Stanford KI, Middelbeek RJ, Goodyear LJ. Exercise effects on white adipose tissue: beiging and metabolic adaptations. *Diabetes* 2015; 64(7):2361-2368.
  31. Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *The Journal of clinical investigation* 2011; 121(1):96-105.
  32. Jeremic N, Chaturvedi P, Tyagi SC. Browning of white fat: novel insight into factors, mechanisms, and therapeutics. *Journal of cellular physiology* 2017; 232(1):61-8.
  33. Haczeyni F, Barn V, Mridha AR, Yeh MM, Estevez E, Febbraio MA, et al. Exercise improves adipose function and inflammation and ameliorates fatty liver disease in obese diabetic mice. *Obesity* 2015; 23(9):1845-1855.
  34. Inagaki T, Sakai J, Kajimura S. Transcriptional and epigenetic control of brown and beige adipose cell fate and function. *Nature reviews Molecular cell biology* 2016; 17(8):480-495.
  35. Wang S, Dougherty EJ, Danner RL. PPAR $\gamma$  signaling and emerging opportunities for improved therapeutics. *Pharmacological research* 2016; 111:76-85.
  36. Ghasemi S, Ghaedi K, Nasr EM, Esmaeili A. Characterization and molecular function of PPAR gamma transcription factor in human. *Modern Genetics Journal* 2011; 2 (25): 5-12.
  37. Ghossaini M, Meyre D, Lobbens S, Charpentier G, Clément K, Charles MA, et al. Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population. *BMC medical genetics* 2005; 6(1):111-118.
  38. Hilton C, Karpe F, Pinnick KE. Role of developmental transcription factors in white, brown and beige adipose tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 2015; 1851(5):686-696.



## The Effect of High-Intensity Interval Training on the Level of Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and PR domain containing 16 Proteins in Adipose Tissue in Overweight Type 2 Diabetic Male Sprague-Dawley Rats

Maryam Shabani<sup>1</sup>, Mohsen Salesi<sup>1</sup>, Farhad Daryanoosh<sup>1\*</sup>

Received: 2018.08.15

Revised: 2018.10.15

Accepted: 2019.02.02

1. Department of Physical Education, School of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.4, Winter 2019

Pars J Med Sci 2019;16(4):1-9

### *Abstract:*

#### **Introduction:**

PPAR- $\gamma$  and PRDM16 proteins are key proteins in the adipose tissue regulation and the white tissue conversion to the brown and beige adipose tissue. Type 2 diabetes can interfere with the function of these two proteins and, functionally, leads to reduced activity of these proteins. The role of exercise on these two important proteins has not been studied yet in subcutaneous adipose tissue. The purpose of the present study was to investigate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on the level of PPAR- $\gamma$  and PRDM16 proteins in adipose tissue in overweight type 2 diabetic male Sprague-Dawley rats with diabetes.

#### **Materials & Methods:**

In this study, 16 two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of  $270 \pm 20$  g were selected. After diabetic induction with STZ and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, training (8 heads) and control (8 heads). The training group trained for 4 days a week in accordance with the training program for 8 weeks, while the control group did not have any training program. The independent t-test was used to analyze the data of PPAR- $\gamma$  and PRDM16 proteins.

#### **Results:**

There was a significant rise in PRDM16 protein content ( $p < 0.001$ ) in the training group compared to control, though this rise was not meaningful in PPAR- $\gamma$  protein content ( $p = 0.26$ ).

#### **Conclusions:**

HIIT training has led to a significant increase in the content of the PRDM16 protein, which plays a vital role in the conversion of white to brown fat cells. Hence, it is expected that a new insight into the root, differentiation, and preservation of the white adipose tissue and its conversion into brown adipose tissue will be achieved.

**Keywords:** Adipose Tissue, High-Intensity Interval Training, PPAR- $\gamma$ , PRDM16

\* Corresponding author Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir