

تاثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های دخیل در آدیپوژنز بافت چربی موش‌های تغذیه شده با

رژیم غذایی پرچرب

ژایلا وطن خواه^۱، مهدی بوستانی^۲

چکیده

اهداف: آدیپوژنز، تبدیل سلول‌های پیش ساز چربی به سلول‌های بالغ چربی است که منجر به انباشت چربی و در نتیجه اضافه وزن و چاقی می‌شود. از این رو هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین هوازی متعاقب دوازده هفته رژیم غذایی پرچرب بر میزان بیان ژن‌های REBC, KLF4 و PPAR γ در بافت چربی احشایی موش‌های نر نژاد ویستار بود.

روش مطالعه: بیست و هشت سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هشت هفته و وزن اولیه 220 ± 20 گرم به طور تصادفی در دو گروه رژیم غذایی استاندارد ($n=7$) و رژیم غذایی پرچرب ($n=21$) تقسیم شدند. پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و حصول اطمینان از ایجاد چاقی توسط ارزیابی شاخص‌های ترکیب بدنی، موش‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب به صورت تصادفی به سه گروه کنترل+رژیم پرچرب، تمرین هوازی+رژیم پرچرب و تمرین هوازی+رژیم استاندارد تقسیم شدند. برنامه تمرین هوازی به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه براساس اصل اضافه بار تدریجی انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بیان ژن‌های REBC, KLF4 و PPAR γ به روش Real-time PCR در بافت چربی احشایی اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه با آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان ژن‌های REBC, KLF4 و PPAR γ در گروه کنترل+ رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل+رژیم استاندارد بطور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.05$). با این حال، در گروه‌های تمرین هوازی + رژیم پرچرب و تمرین هوازی +رژیم استاندارد به نسبت گروه کنترل+رژیم پرچرب میزان بیان ژن‌های فوق کاهش معنی داری یافته بود ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد تمرین هوازی با کاهش میزان بیان ژن‌های تحریک کننده آدیپوژنز از انباشت چربی در بدن و در نتیجه از بروز چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن جلوگیری می‌کند.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، آدیپوژنز، چاقی، موش صحرایی

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

^۲ استادیار گروه تربیت بدنی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. نویسنده مسئول: bostanim@yahoo.com

مقدمه

بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت بیش از ۳۹ درصد افراد بالای ۱۸ سال به چاقی و یا اضافه وزن مبتلا هستند (Puska et al., 2003). چاقی خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت نوع ۲، کبد چرب غیر الکلی، آسم، برخی از انواع سرطان‌ها و بیماری‌های عضلانی اسکلتی را افزایش می‌دهد (Zhao et al., 2022). در سال‌های اخیر، با تأثیر همه‌گیری جهانی بیماری کرونا، شواهد در حال ظهوری وجود دارد که چاقی همچنین یک عامل خطر برای عوارض شدید کووید-۱۹ است (Demeulemeester et al., 2021). همه این شواهد نشان می‌دهد که چاقی بار فزاینده‌ای بر سیستم‌های بهداشتی و اقتصادی کشورها تحمیل می‌کند. چاقی اختلالی چند عاملی است و نتیجه کنش بین عوامل ژنتیکی و محیطی است (Hruby & Hu, 2015). عوامل محیطی نقش عمده‌ای در افزایش چشمگیر شیوع جهانی چاقی داشته‌اند. چندین مطالعه نشان داده‌اند که چاقی ناشی از عدم تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی است (Finer, 2015; Moseti et al., 2016). افزایش دریافت کالری و کاهش فعالیت بدنی منجر به ذخیره انرژی در بدن به شکل چربی و در نتیجه اضافه وزن و چاقی خواهد شد. چاقی با افزایش تعداد سلول‌های چربی یا آدیپوزن و افزایش اندازه سلول‌های چربی یا هایپرتروفی بافت چربی مشخص می‌شود (Ambele et al., 2020).

آدیپوزن فرآیندی است که طی آن پیش سازهای مزانشیمی، یعنی پیش آدیپوسیت‌ها یا سلول‌های پیش ساز چربی به سلول‌های چربی بالغ یا آدیپوسیت‌ها (ACs) تبدیل می‌شوند که این عمل منجر به ذخیره انرژی خیلی زیادی در بدن می‌شود (McGregor & Choi, 2011; Bahmad et al., 2020). آدیپوزن توسط ژن‌ها، عوامل و مسیرهای پیام‌رسانی متعددی میانجی‌گری می‌شوند که مسیر پیام‌رسانی $\text{PPAR}\gamma^1$ یکی از مهم‌ترین این مسیرها است. $\text{PPAR}\gamma$ بیان شبکه ژن‌های درگیر در آدیپوزن، تمایز آدیپوسیت‌ها، متابولیسم گلوکز و لیپید، التهاب و سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی را کنترل می‌کند. $\text{PPAR}\gamma$ به وفور در بافت چربی بیان می‌شود و برای تمایز سلول‌های چربی ضروری است (Moseti et al., 2016).

از تنظیم‌کننده‌های مثبت آدیپوزن که منجر به تحریک و فعال‌سازی $\text{PPAR}\gamma$ و در نتیجه تمایز و تکثیر سلول‌های چربی می‌شوند می‌توان به CREB^2 و KLF4^3 اشاره کرد. چندین فاکتور رونویسی KLF وجود دارد که در طول آدیپوزن در پری آدیپوسیت‌های 3T3-L1 ایجاد می‌شوند. KLF4 یک نشانگر اولیه آدیپوزن است که در ۳۰ دقیقه اول پس از قرار گرفتن سلول‌های 3T3-L1 در معرض یک کوکتیل آدیپوزنیک بیان می‌شود (Birsoy, Chen, & Friedman, 2008). KLF4 قادر است پروموتور $\text{C/EBP}\beta$ را فعال کند و منجر به مهار تمایز سلول‌های پیش ساز چربی به سلول‌های بالغ چربی شود (Xu et al., 2021). بیان CREB توسط کوکتیل آدیپوزنیک تحریک می‌شود که می‌تواند برای شروع تجمع چربی و بیان $\text{PPAR}\gamma$ و پروتئین متصل به اسید چرب FABP^4 کافی باشد (Reusch, Colton, & Klemm, 2000). همچنین نشان داده شده است که CREB در ایجاد مقاومت به انسولین ناشی از چاقی نیز نقش مهمی دارد (Yoon et al., 2021).

از گذشته تاکنون نقش فعالیت‌های ورزشی بعنوان یک روش موثر جهت کنترل وزن مورد توجه محققان بوده است. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که ورزش هوازی با تأثیر بر مسیر $\text{SRA/p38/JNK/PPAR}\gamma$ و ژن‌های

¹ Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma

² Camp Response Element Binding

³ Kruppel-Like Factor 4

⁴ Fatty Acid Binding Protein

هدف پایین دست، چاقی را بهبود می‌بخشد (Wu et al., 2022). ویو و همکاران (Wu et al., 2022) نشان دادند که پس از هشت هفته مداخله ورزش هوازی، موش‌های چاق بهبود قابل توجهی در وزن بدن، وزن چربی سفید، سطوح چربی و شاخص لی نشان دادند. ورزش هوازی به طور قابل توجهی با مهار بیان SRA، فعال سازی مسیر سیگنالینگ p38/JNK و مهار بیان ژن PPAR γ و ژن‌های پایین دست آن، چاقی را بهبود بخشید. مداخله ورزش هوازی متابولیسم چربی‌ها را در موش‌های چاق بهبود بخشید و این تغییرات با تنظیم مسیر سیگنالینگ LncSRA/p38/JNK/PPAR γ مرتبط است. همچنین کاوانیشی و همکاران (Kawanishi, Mizokami, Yada, & Suzuki, 2018) نشان دادند که تمرین ورزشی با سرکوب بیان PPAR γ و CD36 منجر به کاهش التهاب و آدیپوژنز می‌شود. با وجود مطالعات گسترده در زمینه چاقی و نقش فعالیت‌های ورزشی در آن، با این حال تاثیر فعالیت‌های ورزشی هوازی بر ژن‌های تحریک کننده آدیپوژنز کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به اینکه مسیر پیام رسانی PPAR γ و ژن‌های فعال کننده آن منجر به افزایش آدیپوژنز، انباشت چربی در بدن و در نتیجه بروز چاقی و اضافه وزن می‌شود، بنابراین مطالعه عوامل اثرگذار بر بیان این ژن‌ها با هدف کنترل چاقی اهمیت اساسی دارد. از این رو در پژوهش حاضر تاثیر شش هفته تمرین هوازی بر میزان بیان ژن‌های تحریکی آدیپوژنز CREB و KLF4 و PPAR γ در بافت چربی موش‌های نروبیستار چاق مورد مطالعه قرار گرفت.

روش‌شناسی تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد. ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته، وزن بدن بین ۲۲۰-۲۰۰ گرم از دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری شد و به مدت یک هفته در قفس‌های استاندارد پلی اتیلن (سه موش در هر قفس) تحت یک چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت/۱۲ ساعت، دمای محیط ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت 55 ± 10 درصد قرار گرفتند و در طول این یک هفته، موش‌ها به طور آزاد آب و رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند. در ابتدا موش‌ها به صورت تصادفی به دو گروه تغذیه نرمال (۷ سر موش) و رژیم غذایی پرچرب (۲۱ سر موش) تقسیم شدند. موش‌های این دو گروه به مدت ۱۲ هفته بر اساس رژیم غذایی تعریف شده تغذیه شدند. رژیم غذایی نرمال شامل ۴ گرم چربی در هر ۱۰۰ گرم رژیم غذایی بود. رژیم غذایی پرچرب شامل ۲۰ گرم چربی در هر ۱۰۰ گرم رژیم غذایی بود. در پایان هر هفته وزن موش‌ها و سطح گلوکز خون آنها اندازه‌گیری شد و جهت ارزیابی القای چاقی نیز در پایان هفته دوازدهم، شاخص‌های ترکیب بدنی موش‌ها اندازه‌گیری شد. قابل ذکر است با استفاده از دستگاه گلوکومتر check-Accu مدل Active ساخت کارخانه Roche آلمان و با اخذ یک قطره خون از طریق ورید دم، سطح گلوکز خون موش‌ها اندازه‌گیری شد. سپس موش‌های تغذیه شده با رژیم پرچرب به صورت تصادفی به سه گروه کنترل+ رژیم پرچرب، تمرین هوازی+ رژیم پرچرب و تمرین هوازی+ رژیم استاندارد تقسیم شدند. پس از القای چاقی، گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته تمرین هوازی انجام دادند. بر اساس پروتکل تمرین جهت آشنایی حیوان با تردمیل، یک هفته تمرین با شدت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه با تواتر ۵ جلسه در هفته انجام شد. سپس برنامه تمرینی به مدت هشت هفته و بر اساس اصل اضافه بار تدریجی از ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول به ۲۵ متر بر دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید (Rocha-Rodrigues et al., 2016). جهت رسیدن به حالت یکنواخت، تمام متغیرهای تمرین در دو هفته پایانی ثابت نگه داشته شدند. خلاصه برنامه تمرین هوازی در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱: برنامه تمرین هوازی در هشت هفته			
هفته	شدت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	تواتر در هفته
آشنایی	۱۰	۵	۵
اول	۱۵	۳۰	۵
دوم	۱۶	۳۵	۵
سوم	۱۸	۴۰	۵
چهارم	۲۰	۴۵	۵
پنجم	۲۱	۵۰	۵
ششم	۲۳	۵۵	۵
هفتم	۲۵	۶۰	۵
هشتم	۲۵	۶۰	۵

تمامی موش‌های چهار گروه، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و همزمان با هم ابتدا با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) بی‌هوش و سپس تشریح شدند. نمونه خونی مستقیماً از قلب گرفته و سانتریفیوژ شد و سرم آنها برای آزمایشات بعدی در دمای ۸۰- نگهداری شد. سپس بافت چربی احشایی از ناحیه چربی بین صفاقی استخراج و با PBS شست و شو داده شد. در ادامه بافت چربی استخراج شده در نیتروژن مایع قرار داده شد و تا زمان بررسی آزمایشات نهایی در دمای ۸۰- نگهداری شد.

برای تعیین وزن بدن هر موش در هر گروه قبل از شروع مداخله (هفته صفر) و همچنین پس از هر هفته از مداخله و در پایان هفته دوازدهم از یک ترازوی دیجیتال با حساسیت ۰/۰۱ گرم و ظرفیت ۳۲۰۰ گرم استفاده شد. در پژوهش حاضر میزان HDL و کلسترول سرم به روش آنزیمی فتومتریک و تری گلیسیرید سرم نیز به روش آنزیمی رنگ سنجی با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب برای HDL ۲ درصد و ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، کلسترول ۱/۲ درصد و ۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و تری گلیسیرید ۲/۲ درصد و ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. میزان LDL-C نیز با استفاده از معادله فریدوالد و همکاران (Friedewald, Levy, & Fredrickson, 1972) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$LDL = TC - (HDL + TG/5) \text{ (mg/dL)}$$

حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت چربی احشایی جهت استخراج RNA کل به نسبت ۱ به ۱۰ با استفاده از کیت QIAzol Lysis Reagent هموژن گردید. برای انجام روش Real-time PCR باید بهترین غلظت cDNA برآورد شود. از این رو غلظت‌های مختلف cDNA بررسی و نهایتاً غلظت مناسب دو میکرو لیتر برای Real-time PCR لحاظ شد. واکنش Real-time PCR برای همه نمونه‌ها سه بار تکرار شد. اندازه‌گیری با استفاده از کیت PCR Master Mix SYBR Green شرکت تاکارا و دستگاه ABI Applied ساخت کشور آمریکا انجام شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) برای هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش لیواک میزان بیان ژن‌های CREB، KLF4 و PPAR γ نسبت به بیان GAPDH اندازه‌گیری و محاسبه شد.

جدول ۲. مشخصات توالی پرایمرهای ژن‌های مورد استفاده در پژوهش				
نام ژن	شماره (Accession)	توالی رفت (5'-3' Forward)	توالی معکوس (5'-3' Reverse)	طول باز
PPAR γ	NM_001145367.1	CACTTTCTGACCGGACT GTGT	TGTCAAAGGAATG GGAGTGGTC	200
KLF4	NM_053713.1	GAAGGGAGAAGACACT GCGT	TTGAACTCCTCGG TCTCCCT	205
CREB	NM_031017.2	AAGCAGTGACGGAGGA GCTT	CATGGATACCTGG GCTAATGTGG	160

در پژوهش حاضر برای توصیف داده‌ها از میانگین \pm انحراف معیار استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپرو و ویلک و همگی واریانس‌ها با آزمون لون ارزیابی شد. همچنین جهت مقایسه متغیرها در گروه‌های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک راه همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده‌ها توسط نرم افزار SPSS-23 در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

تغییرات وزن موش‌ها؛ برای بررسی تغییرات وزن موش‌های صحرایی اندازه‌گیری وزن در ۲۱ زمان مختلف (قبل از شروع مداخله و در پایان هر هفته از مداخله) انجام شد، جهت مقایسه وزن موش‌ها در گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری در وزن اولیه موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه وجود نداشت ($P=0.02$)، اما در پایان هفته دوازدهم، میانگین وزن گروه رژیم غذایی پرچرب نسبت به وزن اولیه آنها به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). همچنین میانگین وزن این گروه نسبت به گروه کنترل که رژیم غذایی استاندارد دریافت کرده بودند نیز افزایش معنی‌داری داشت. افزایش وزن موش‌های گروه کنترل رژیم پرچرب تا هفته بیستم به طور خطی افزایش یافت اما در گروه‌های رژیم پرچرب تمرین و رژیم استاندارد تمرین که به مدت هشت هفته تمرین هوازی انجام دادند از هفته سیزدهم تا بیستم کاهش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$) یعنی تمرین هوازی مانع افزایش وزن بیشتر موش‌ها در گروه‌های تمرین شد. در جدول ۳، وزن موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه در سه مرحله زمانی مختلف از مداخله آورده شده است.

جدول ۳: وزن (گرم) موش‌های چهار گروه در سه مرحله زمانی مختلف از مداخله

گروه‌ها	هفته صفر	هفته دوازدهم	هفته بیستم
کنترل+ رژیم استاندارد	۲۱۵/۲۵ \pm ۶	۲۴۶/۳۷ \pm ۹	۲۶۰/۳۳ \pm ۱۲
کنترل+ رژیم پرچرب	۲۱۱/۱۴ \pm ۵	۳۱۹/۴۵ \pm ۲۳ *	۳۶۵/۷۱ \pm ۳۴ *
تمرین+ رژیم پرچرب	-	۳۲۵/۹۴ \pm ۲۱	۲۹۲/۳۰ \pm ۲۵ \dagger
تمرین+ رژیم استاندارد	-	۳۱۰/۱۶ \pm ۲۷	۲۷۸/۶۳ \pm ۲۲ \dagger

کلیه مقادیر جدول به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد می‌باشند. * اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل+ رژیم استاندارد ($P < 0.05$). \dagger اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل+ رژیم پرچرب ($P < 0.05$).

تغییرات پروفایل لیپیدی: در جدول شماره ۴، تغییرات پروفایل لیپیدی بین گروه‌های تحقیق در هفته پایانی پژوهش ارائه شده است.

جدول ۴: مقادیر (میانگین \pm انحراف استاندارد) لیپیدهای سرم در گروه‌های پژوهش

متغیرها	کنترل+رژیم استاندارد	کنترل+رژیم پرچرب	تمرین+رژیم پرچرب	تمرین+رژیم استاندارد
TG (mg/dL)	۷۴/۱۲ \pm ۳۲/۶۵	۱۲۲/۲۶ \pm ۴۷/۱۹*	۹۸/۱۸ \pm ۶۲/۵۴ [†]	۷۵/۱۴ \pm ۲۳/۷۰ [†]
HDL-C (mg/dL)	۲۷/۲ \pm ۲۲/۵۸	۴۱/۱۵ \pm ۱۹/۳*	۷۱/۲۹ \pm ۲۴/۴ [†]	۳۲/۸۴ \pm ۲۸/۳ [†]
LDL-C (mg/dL)	۲۷/۱۰ \pm ۱۷/۳۴	۵۲/۱۵ \pm ۴۷/۶۲*	۸۱/۵۵ \pm ۳۷/۱۲ [†]	۳۷/۶۸ \pm ۲۶/۹ [†]
Chol (mg/dL)	۶۶/۱۲ \pm ۳۵/۴۷	۱۳۲/۲۵ \pm ۲۸/۸۰*	۹۸/۱۶ \pm ۵۲/۲۷ [†]	۶۱/۱۰ \pm ۴۲/۰۳ [†]

* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل+رژیم استاندارد ($P < 0.05$). [†] اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل+رژیم پرچرب ($P < 0.05$).

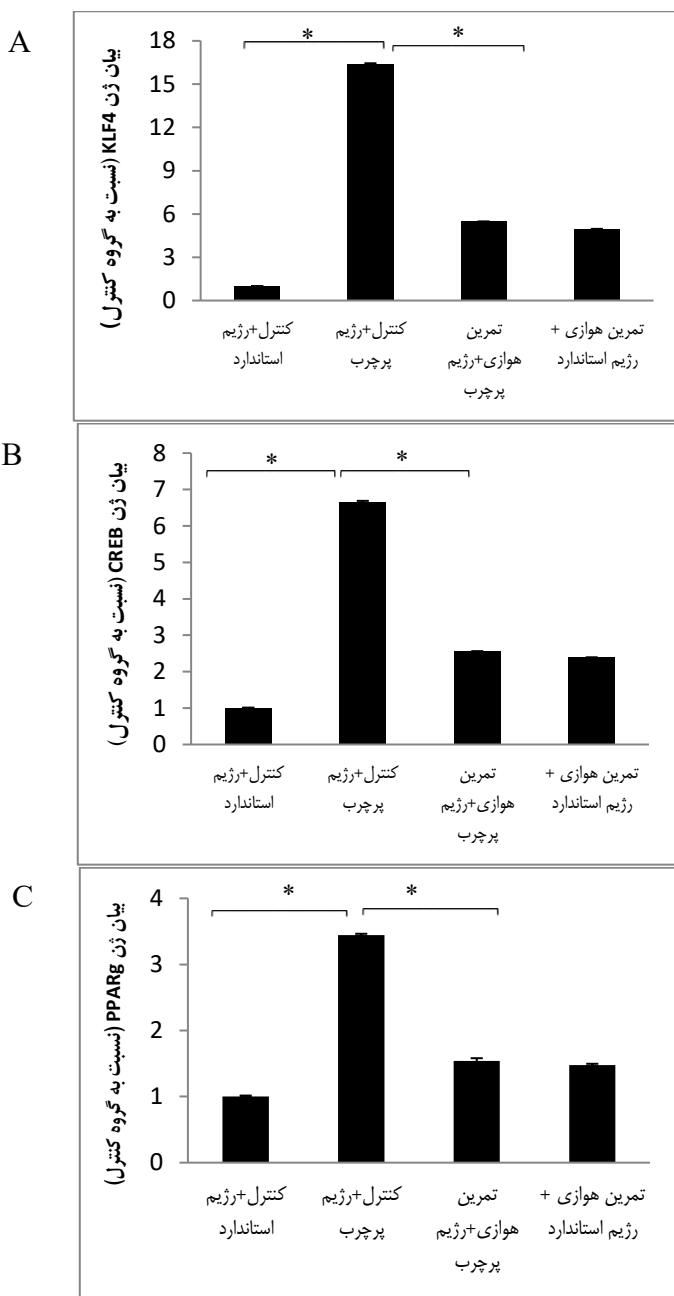
تغییرات ژن‌های دخیل در آدیپوزنز: نتایج آزمون توکی نشان داد که میزان بیان ژن CREB در گروه کنترل رژیم پرچرب به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل رژیم استاندارد بود ($P = 0.008$). همچنین میزان بیان این ژن در گروه‌های تمرین رژیم پرچرب و تمرین رژیم استاندارد نسبت به گروه کنترل رژیم پرچرب کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب $P = 0.024$ و $P = 0.001$) (شکل ۱).

میزان بیان ژن KLF-4 در گروه کنترل رژیم پرچرب به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل رژیم استاندارد بود ($P = 0.019$). همچنین میزان بیان این ژن در گروه‌های تمرین رژیم پرچرب و تمرین رژیم استاندارد نسبت به گروه کنترل رژیم پرچرب کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب $P = 0.035$ و $P = 0.004$) (شکل ۱).

همچنین میزان بیان ژن PPAR γ در گروه کنترل رژیم پرچرب به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل رژیم استاندارد بود ($P = 0.001$). همچنین میزان بیان این ژن در گروه‌های تمرین+رژیم پرچرب و تمرین+رژیم استاندارد نسبت به گروه کنترل رژیم پرچرب کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب $P = 0.028$ و $P = 0.004$) (شکل ۱).

بحث و بررسی:

در میان مدل‌های چاقی حیوانی، مدل‌هایی که فنوتیپی شبیه‌تر به فیزیوپاتولوژی انسان ایجاد می‌کنند، آنهایی هستند که توسط رژیم غذایی ایجاد می‌شوند. همچنین مطالعات نشان داده است که رژیم‌های غذایی پرچرب با غلظت‌های بالای اسیدهای چرب اشباع نتایج بهتری می‌دهد، زیرا این رژیم‌ها مستقیماً بر متابولیسم بدن تأثیر می‌گذارند، خوش طعم هستند و دارای کالری بیشتری هستند و در نتیجه منجر به افزایش وزن و توده چربی بدن می‌شوند. برای انتخاب مدل حیوانی جهت مطالعه چاقی ناشی از رژیم غذایی، نژادهای مختلف موش‌ها به این نوع رژیم غذایی واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند.



شکل ۱: میزان بیان ژن‌های دخیل در آدیپوژنز؛ *تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$)

علاوه بر این، جنسیت و سن، پاسخ به رژیم غذایی منجر به چاقی را تحت تاثیر قرار می‌دهد، به طوری که حیوانات جوان و نر نسبت به بیماری‌های مرتبط با چاقی حساس‌تر هستند و بهتر پاسخ می‌دهند (de Moura e Dias et al)

al., 2021). نشان داده شده است که رژیم غذایی پرچرب تکثیر سلول‌های چربی را در بافت چربی سفید افزایش می‌دهد، همچنین این رژیم غذایی منجر به افزایش جذب سلول‌های چربی کوچک‌تر در بافت چربی می‌شود. از طرف دیگر هاپیروتروفی سلول‌های قدیمی چربی نیز بر اثر مصرف رژیم پرچرب رخ می‌دهد. بنابراین هم هاپیروپلازی و هم هاپروتروفی بافت چربی بر اثر رژیم غذایی پرچرب افزایش می‌یابد (Bilal et al., 2021).

PPAR γ ، بعنوان عضوی از خانواده گیرنده هسته‌ای فاکتورهای رونویسی القا شونده با لیگاند، نقش مهمی در فرآیند آدیپوژنز ایفا می‌کند (Ahmadian et al., 2013). بسیاری از مسیرهای سلولی درگیر در آدیپوژنز با مهار یا تحریک PPAR γ نقش خود را اعمال می‌کنند. مسیر سیگنالینگ Wnt با مهار PPAR γ ، پری‌آدیپوسیت‌ها را در حالت تمایز نیافته نگه می‌دارد و در نتیجه منجر به مهار آدیپوژنز می‌شود (Rosen & MacDougald, 2006). با این حال افزایش سطوح PPAR γ ، آنزیم‌های لیپوژنیک مانند اسیدچرب سنتتاز (FAS) و آدیپوسیت پروتئین ۲ (aP2) را فعال می‌کند و منجر به تحریک آدیپوژنز و افزایش انباشت چربی در بافت‌های بدن می‌شود.

در مطالعات گذشته نشان داده شده است که فعال سازی CREB یک مرحله ضروری در رشد سلول‌های چربی می‌باشد و بعنوان یک محرک اولیه برای آدیپوژنز شناخته شده است (Reusch et al., 2000). علاوه بر این CREB یکی از مهم‌ترین مسیرهای درگیر در آدیپوژنز (mTOR) را فعال می‌کند. همچنین در فرآیند چربی زایی، CREB بیان C/EBP α و PPAR γ را تنظیم می‌کند (Musri, Gomis, & Parrizas, 2007). در سلول چربی تحت شرایط چاقی فعال می‌شود که در این حالت مقاومت به انسولین نیز بر روی آن تأثیرگذار است و با بیان عامل سرکوب کننده رونویسی ATF3 منجر به تنظیم پایین هورمون آدیپونکتین و همچنین GLUT4 می‌شود (Ghorbani, 2015). همچنین اتصال CREB به برخی توالی DNA به نام CRE موجب افزایش یا کاهش رونویسی ژن‌های پایین دست می‌شود (Kandel, 2012). مسدود کردن فعالیت CREB در سلول‌های چربی از توسعه‌ی نفوذهای التهابی در سلول چربی و نیز مقاومت به انسولین سیستمیک تحت شرایط چاقی پیشگیری می‌کند. KLF 4 با تنظیم مثبت بیان C/EBP β در مراحل اولیه آدیپوژنز باعث افزایش چربی زایی می‌شود، در حالی که حذف KLF4 باعث مهار چربی‌زایی می‌شود (Birsoy et al., 2008). همچنین KLF4 به طور غیرمستقیم بیان PPAR γ را راه اندازی می‌کند (Ambele et al., 2020). فعالیت‌های بدنی اثرات مفید متعددی روی بیولوژی بافت چربی بدن دارند. فعالیت‌های بدنی نه تنها توده بافت چربی بدن را کاهش می‌دهند، بلکه بر بیان آدیپوکاین‌های مختلفی که از بافت چربی ترشح می‌شود نیز تأثیر می‌گذارد (Sakurai et al., 2012; Sakurai et al., 2013). تمرینات هوازی از طریق استفاده از اسیدهای چرب به عنوان منبع انرژی، منجر به کاهش توده چربی سفید بدن می‌شوند (Sakurai et al., 2013). به کارگیری اسیدهای چرب از بافت چربی توسط فعالیت لیپاز حساس به هورمون (HSL)، مونوگلیسرید لیپاز (MGL) و آدیپوز تری گلیسرید لیپاز (ATGL) تنظیم می‌شود (Zechner et al., 2009). از آنجایی که ورزش با فعال کردن HSL و ATGL باعث افزایش لیپولیز در سلول‌های چربی می‌شود، لذا بخش زیادی از کاهش ژن‌های تحریک کننده آدیپوژنز بر اثر فعالیت‌های ورزشی به افزایش آنزیم‌های فوق نسبت داده می‌شود (Ogasawara et al., 2010; Ogasawara et al., 2012).

ساکورائی و همکاران تاثیر نه هفته تمرین ورزشی هوازی روی ترمیم را روی برخی از ژن‌های مرتبط با آدیپوژنز در موش‌های نر ویستار مطالعه کردند. آنها در نتایج خود کاهش بیان ژن PPAR γ و mRNA CREB بر اثر

تمرین ورزشی را گزارش کردند (Sakurai et al., 2010) که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر همسو است. یو و همکاران، تاثیر هشت هفته تمرین هوازی را بر شاخص‌های ترکیب بدنی و آدیپوژنز موش‌های تحت رژیم پرچرب را مطالعه کردند، آنها در نتایج خود بهبود قابل توجهی در وزن بدن، درصد چربی و شاخص لی مشاهده کردند. همچنین بیان ژن PPAR γ و پایین دست آن بر اثر تمرین هوازی کاهش یافت (Wu et al., 2022). همچنین نشان داده شده است که ورزش با کاهش فسفوریلاسیون پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (MAPK) نقش مهمی در کاهش ژن‌های تحریک کننده آدیپوژنز و در نتیجه جلوگیری از تجمع چربی و بهبود چاقی در بدن ایفا می‌کند (Pauli et al., 2014).

نتیجه گیری:

آدیپوژنز تبدیل سلول‌های پیش ساز چربی به سلول‌های بالغ چربی است که منجر به تجمع بافت چربی سفید، اضافه وزن و چاقی خواهد شد. عوامل و ژن‌های مختلفی منجر به مهار یا تحریک این فرآیند می‌شوند. در مطالعه حاضر شماری از ژن‌های تحریکی آدیپوژنز در چاقی و تاثیر فعالیت‌های ورزشی هوازی بر آنها مورد مطالعه قرار گرفت. مشاهده شد که بر اثر چاقی ایجاد شده توسط رژیم غذایی پرچرب، میزان بیان ژن‌های تحریک کننده آدیپوژنز افزایش می‌یابد ولی یک دوره تمرین هوازی می‌تواند این روند را معکوس کرده و با کاهش این ژن‌ها از انباشت چربی در بدن و در نتیجه بروز چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز می‌باشد، بدینوسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از مسؤولین پژوهشی دانشگاه اعلام می‌نمایند.

تضاد منافع

این پژوهش هیچ گونه تضاد و تعارض منافی ندارد.

منابع.

- A McGregor, R., & S Choi, M. (2011). Micrnas in the regulation of adipogenesis and obesity. *Current molecular medicine*, 11(4), 304-316.
- Ahmadian, M., Suh, J. M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A. R., Downes, M., & Evans, R. M. (2013). Ppar γ signaling and metabolism: The good, the bad and the future. *Nature medicine*, 19(5), 557-566 .
- Ambele, M. A., Dhanraj, P., Giles, R., & Pepper, M. S. (2020). Adipogenesis: A complex interplay of multiple molecular determinants and pathways. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4283.
- Bahmad, H. F., Daouk, R., Azar, J., Sapudom, J., Teo, J. C., Abou-Kheir, W., & Al-Sayegh, M. (2020). Modeling adipogenesis: Current and future perspective. *Cells*, 9(10), 2326.
- Bilal, M., Nawaz, A., Kado, T., Aslam, M. R., Igarashi, Y., Nishimura, A., . . . Miwa, H. (2021). Fate of adipocyte progenitors during adipogenesis in mice fed a high-fat diet. *Molecular metabolism*, 54, 101328 .
- Birsoy, K., Chen, Z., & Friedman, J. (2008). Transcriptional regulation of adipogenesis by klf4. *Cell metabolism*, 7(4), 339-347.

- de Moura e Dias, M., Dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Sediya, C. M. N. d. O., Pereira, S. S., de Oliveira, L. L., . . . Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: Points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13, 1-14 .
- Demeulemeester, F., de Punder, K., van Heijningen, M., & van Doesburg, F. (2021). Obesity as a risk factor for severe covid-19 and complications: A review. *Cells*, 10(4), 933.
- Estadella, D., Oyama, L. M., Dâmaso, A. R., Ribeiro, E. B., & Do Nascimento, C. M. O. (2004). Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*, 20(2), 218-224.
- Finer, N. (2015). Medical consequences of obesity. *Medicine*, 43(2), 88-93.
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499-502.
- Ghorbani, M. (2015). A review of type 2 diabetes and obesity. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 5(18), 9-14 .
- He, C., Cheng, D., Peng, C., Li, Y., Zhu, Y., & Lu, N. (2018). High-fat diet induces dysbiosis of gastric microbiota prior to gut microbiota in association with metabolic disorders in mice. *Frontiers in microbiology*, 9, 639.
- Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The epidemiology of obesity: A big picture. *Pharmacoeconomics*, 33, 673-689.
- Kandel, E. R. (2012). The molecular biology of memory: Camp, pka, cre, creb-1, creb-2, and cpeb. *Molecular brain*, 5, 1-12.
- Kawanishi, N., Mizokami, T., Yada, K., & Suzuki, K. (2018). Exercise training suppresses scavenger receptor cd36 expression in kupffer cells of nonalcoholic steatohepatitis model mice. *Physiological Reports*, 6(23), e13902 .
- Moseti, D., Regassa, A., & Kim, W.-K. (2016). Molecular regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules. *International journal of molecular sciences*, 17(1), 124 .
- Musri, M. M., Gomis, R., & Parrizas, M. (2007). Chromatin and chromatin-modifying proteins in adipogenesis. *Biochemistry and cell biology*, 85(4), 397-410.
- Ogasawara, J., Nomura, S., Rahman, N., Sakurai, T., Kizaki, T., Izawa, T., . . . Ohno, H. (2010). Hormone-sensitive lipase is critical mediators of acute exercise-induced regulation of lipolysis in rat adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 400(1), 134-139.
- Ogasawara, J., Sakurai, T., Kizaki, T., Ishibashi, Y., Izawa, T., Sumitani, Y Ohno, H. (2012). Higher levels of atgl are associated with exercise-induced enhancement of lipolysis in rat epididymal adipocytes. *PLoS one*, 7(7), e40876.
- Pauli, L. S. S., Ropelle, E. C. C., de Souza, C. T., Cintra, D. E., da Silva, A. S. R., de Almeida Rodrigues, B., . . . Katashima, C. K. (2014). Exercise training decreases mitogen-activated protein kinase phosphatase-3 expression and

- suppresses hepatic gluconeogenesis in obese mice. *The Journal of physiology*, 592(6), 1325-1340 .
- Puska, P., Nishida, C., Porter, D., & Organization, W. H. (2003). Obesity and overweight. *World Health Organization*, 1-2.
- Reusch, J. E., Colton, L. A., & Klemm, D. J. (2000). Creb activation induces adipogenesis in 3t3-l1 cells. *Molecular and cellular biology*, 20(3), 1008-102
- Rocha-Rodrigues, S., Rodríguez, A., Gouveia, A. M., Gonçalves, I. O., Becerril, S., Ramirez, B., . . . Magalhães, J. (2016). Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life sciences*, 165, 100-108 .
- Rosen, E. D., & MacDougald, O. A. (2006). Adipocyte differentiation from the inside out. *Nature reviews Molecular cell biology*, 7(12), 885-896 .
- Sakurai, T., Endo, S., Hatano, D., Ogasawara, J., Kizaki, T., Oh-ishi, S. . . ., Ohno, H. (2010). Effects of exercise training on adipogenesis of stromal-vascular fraction cells in rat epididymal white adipose tissue. *Acta physiologica*, 200(4), 325-338
- Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Ishibashi, Y., Sumitani, Y., Takahashi, K. . . . Haga, S. (2012). Preventive and improvement effects of exercise training and supplement intake in white adipose tissues on obesity and lifestyle-related diseases. *Environmental health and preventive medicine*, 17(5), 348-356 .
- Sakurai, T., Ogasawara, J., Kizaki, T., Sato, S., Ishibashi, Y., Takahashi, M., . . . Takahashi, K. (2013). The effects of exercise training on obesity-induced dysregulated expression of adipokines in white adipose tissue. *International journal of endocrinology*, 2013.
- Wu, B., Ding, J., Chen, A., Song, Y., Xu, C., Tian, F., & Zhao, J. (2022). Aerobic exercise improves adipogenesis in diet-induced obese mice via the Incra/p38/jnk/ppary pathway. *Nutrition Research*, 105, 20-32 .
- Xu, Q., Li, Y., Lin, S., Wang, Y., Zhu, J., & Lin, Y. (2021). Klf4 inhibits the differentiation of goat intramuscular preadipocytes through targeting c/ebpβ directly. *Frontiers in Genetics*, 12, 663759 .
- Yoon, Y.-S., Liu, W., Van de Velde, S., Matsumura, S., Wiater, E., Huang, L., & Montminy, M. (2021). (Activation of the adipocyte creb/crtc pathway in obesity. *Communications Biology*, 4(1), 1214.
- Zechner, R., Kienesberger, P. C., Haemmerle, G., Zimmermann, R., & Lass, A. (2009). Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism of cellular fat stores. *Journal of lipid research*, 50(1), 3-21
- Zhao, J., Zhou, A., & Qi, W. (2022). The potential to fight obesity with adipogenesis modulating compounds. *International journal of molecular sciences*, 23(4), 2299.

The Effect of Aerobic Training on the Expression of Genes Involved in Adipogenesis in Adipose Tissue of Rat Fed with High-Fat Diet

Zhila Vatankhah¹, Mehdi Bostani²

Department of Physical Education, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author: bostanim@yahoo.com

Abstract

Objectives: Adipogenesis is the conversion of fat precursor cells into mature fat cells, which leads to fat accumulation and, as a result, weight gain and obesity. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of aerobic training followed by twelve weeks of high-fat diet on the expression of REBC, KLF4, and PPAR γ genes in visceral adipose tissue of male Wistar rats.

Methods: Twenty-eight male Wistar rats, eight weeks old and weighing 220 ± 20 g, were randomly divided into two groups: standard diet ($n = 7$) and high-fat diet ($n = 21$). After 12 weeks of high-fat diet and ensuring the development of obesity by assessing body composition indices, rats fed the high-fat diet were randomly divided into three groups: control + high-fat diet, aerobic training + high-fat diet, and aerobic training + standard diet. The aerobic training program was performed for eight weeks, five sessions per week, based on the principle of progressive overload. 48 hours after the last training session, the expression of REBC, KLF4, and PPAR γ genes was measured in visceral adipose tissue by Real-time PCR. One-way analysis of variance with Tukey's post hoc test was used for statistical analysis of data at a significance level of $P < 0.05$.

Results: The results showed that the expression of REBC, KLF4 and PPAR γ genes was significantly higher in the control + high-fat diet group than in the control + standard diet group ($P < 0.05$). However, in the aerobic training + high-fat diet and aerobic training + standard diet groups, the expression of the genes was significantly reduced compared to the control + high-fat diet group ($P < 0.05$).

Conclusion: The results showed that \neg Aerobic training prevents fat accumulation in the body and, consequently, the occurrence of obesity and related diseases by reducing the expression of adipogenesis-stimulating genes.

Key words: Aerobic Training, Adipogenesis, Obesity, Rats