



## مقایسه سه روش تمرین هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن ppar $\gamma$ 1 در بافت چربی زیر جلدی رت‌های نر نژاد ویستار

**مریم شعبانلو:** گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران.  
**علی برزگری:** استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران، (\* نویسنده مسئول) [ali\\_barzegari@pnu.ac.ir](mailto:ali_barzegari@pnu.ac.ir)  
**سعید نقیعی:** استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران.  
**معصومه حنانی:** دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی (گرایش قلب و عروق و تنفس)، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، پردیس بین‌المللی دانشگاه تهران، کیش، ایران.

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی با شدت مختلف،  
بافت چربی،  
موش‌های نر ویستار،

ppar $\gamma$ 1

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۴/۲۷

**زمینه و هدف:** پروتئین ppar $\gamma$  یکی از پروتئین‌های کلیدی در تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای می‌باشد، اما هنوز نقش تمرینات با شدت‌های متفاوت بر محتوای این پروتئین در بافت چربی زیر جلدی بررسی نشده است. لذا هدف از پژوهش حاضر تاثیر سه شیوه تمرینی HIIT، HIT و MIT بر بیان دو ژن ppar $\gamma$ 1 و ppar $\gamma$ 2 در بافت چربی زیر پوستی موش‌های نر ویستار بود.

**روش کار:** تعداد ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۴ گروه هشت‌تایی کنترل، تمرین تداومی با شدت متوسط، تمرین تداومی با شدت زیاد، تمرین تناوبی پرشدت قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها بیهوش شدند و نمونه‌ی بافت چربی زیرپوستی رت‌ها استخراج و جهت تعیین میزان بیان ژن‌های ppar $\gamma$ 1 با استفاده از روش آزمایشگاهی RT-PCR مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی تفاوت بین گروهی متغیرهای دارای توزیع طبیعی از آزمون آماری تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد، اگرچه انجام هر سه پروتکل تمرینی باعث افزایش بیان ژن‌های ppar $\gamma$ 1 نسبت به گروه کنترل شد، این حال تفاوت معناداری میان گروه‌های تمرینی در تغییرات ppar $\gamma$ 1 مشاهده نشد، ضمن آن‌که افزایش بیان این ژن در گروه‌های تداومی با شدت زیاد و قابل توجه بود.

**نتیجه‌گیری:** تمرینات ورزشی MIT و HIT و HIIT سبب افزایش بیان ژن ppar $\gamma$ 1 می‌شوند، اما افزایش بیان ژن ppar $\gamma$ 1 در بین گروه تمرینی HIT نسبت به بقیه گروه‌های تمرینی افزایش بیشتری نشان داد که به نظر می‌رسد افزایش بیان این ژن به طول مدت اجرای تمرین بستگی دارد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Shabanloo M, Barzegari A, Naghibi S, Hanani M. Comparison of Three Methods of Aerobic Exercise with Different Intensities on the Expression of Ppar $\gamma$ 1 Gene in Subcutaneous Adipose Tissue of Vistar Male Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(4): 214-223.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

## Comparison of Three Methods of Aerobic Exercise with Different Intensities on the Expression of Ppar $\gamma$ 1 Gene in Subcutaneous Adipose Tissue of Vistar Male Rats

**Maryam shabanloo:** Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN.

**Ali Barzegari:** Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN. (\* Corresponding author) [ali\\_barzegari@pnu.ac.ir](mailto:ali_barzegari@pnu.ac.ir)

**Saeed Naghibi:** Department of physical education, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697, Tehran, IRAN.

**Masoumeh Hanani:** Ph.D. Student in Exercise Physiology (Cardiovascular and respiratory), Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kish International Campus, University of Tehran, Kish, Iran.

### Abstract

**Background & Aims:** Regular exercise can improve body composition, including reducing fat or increasing muscle mass. Recent findings show that the connection and association of phenotype towards thermogenic brown cells following exercise in rats occurred mainly in subcutaneous stores. One of the sports activity protocols that have recently attracted the attention of sports physiology researchers is periodic exercises with different intensities, which include alternating very intense, intense, and moderate sports activities and active rest periods with very low intensity, which is a very efficient model in terms of It is a time for exercise and it stimulates almost the same metabolic adaptations as regular endurance exercise. Pappary protein is one of the key proteins in the conversion of white adipose tissue to brown, but the role of exercises with different intensities on the content of this protein in subcutaneous adipose tissue has not been investigated yet. Therefore, the aim of the present study was the effect of HIIT, HIT, and MIT on the expression of ppar $\gamma$ 1 and ppar $\gamma$ 2 genes in the subcutaneous fat tissue of male Wistar rats.

**Methods:** 32 male Wistar rats were randomly divided into 4 groups of 8: control, medium-intensity continuous training, high-intensity continuous training, and high-intensity intermittent training. 24 hours after the last training session, the rats were anesthetized and the samples of the subcutaneous fat tissue were extracted and analyzed to determine the expression level of ppar $\gamma$ 1 genes using RT-PCR laboratory method. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used to investigate the intergroup difference of variables with normal distribution. The MIT protocol was implemented in such a way that in the first week, 5 minutes of warming up, 5 minutes of cooling down, and 20 minutes of the main body of the training including running with an intensity of 65% of VO $_2$ max at a speed of 20 m/min were performed and the training time was increased weekly, so that in the sixth week, the training time reached 37 minutes and remained constant until the end of the eighth week. Also, the training speed was unchanged from the first week to the eighth week and was equal to 20 meters per minute. The HIT protocol in the first week included: 5 minutes of warming up, 5 minutes of cooling down, and 20 minutes of running training with 65% VO $_2$ max at a speed of 20 m/min and with an increasing incline of the treadmill. The training time was increased weekly so that the training time reached 30 minutes in the sixth week and remained constant until the end of the eighth week. On the other hand, the slope of the treadmill was 2% in the first and second week and 2% was added to the slope every 2 weeks to reach 8% in the seventh and eighth week. Also, the training speed from the first week to the eighth week was also 20 meters per minute and was kept constant.

**Results:** The results showed that although performing all three training protocols increased the expression of ppar $\gamma$ 1 genes compared to the control group, however, no significant difference was observed between the training groups in the changes of ppar $\gamma$ 1, while the increase in the expression of this gene in Continuity groups with high intensity were significant. The results of the one-way analysis of variance test showed that there is a

### Keywords

Aerobic Exercise with Different Intensities, Adipose Tissue, Vistar Male Mice, ppar $\gamma$ 1

Received: 10/05/2022

Published: 13/07/2022

statistically significant difference in the expression of the PPAR $\gamma$ 1 gene in the subcutaneous fat tissue of the rats of the research groups ( $P < 0.001$ ). The results showed that the expression of the PPAR $\gamma$ 1 gene in male Wistar rats of the HIT group has a significant difference ( $P \geq 0.001$ ) compared to the control group so that in the HIT group it increased by 0.015442 units compared to the control group. However, no significant difference was observed in the expression of PPAR $\gamma$ 1 in the HIT group compared to the MIT and HIIT groups (respectively:  $p = 0.120$ ,  $p = 0.948$ ). On the other hand, a significant difference was also observed between the MIT and control groups ( $p \geq 0.001$ ), so the MIT group increased by 0.008431 units compared to the control group, while a significant difference between the MIT group was not observed compared to HIT and HIIT groups (respectively:  $p = 0.120$ ,  $p = 0.310$ ). Also, the post-test examination in the training groups showed that there is a significant difference in the expression of the PPAR $\gamma$ 1 gene between the HIIT and control training groups ( $p \geq 0.001$ ) so that in the HIIT group it was 0.013796 units compared to The control group has increased, while no significant difference was observed between the HIIT group compared to the HIT and MIT groups (respectively:  $p = 0.948$ ,  $p = 0.310$ ).

**Conclusion:** PRDM16 protein as a complex protein can act as a two-way switch in the development of brown fat through multiple protein metabolisms. The possible compatibility of this pathway is the very important role of PRDM16 protein and its connection with PPAR $\gamma$  protein for the transformation of immature brown fat cells into mature cells. In this connection, the PPAR $\gamma$  protein, by binding to other proteins called early cell factor-2 (EBF2), leads to the expression and promotion of PRDM16 protein, and then immature brown adipose tissue cells become mature. And then they will be activated by the PGC-1 protein. MIT, HIT, and HIIT exercises increase the expression of the ppar $\gamma$ 1 gene, but the increase in the expression of the ppar $\gamma$ 1 gene among the HIT training group showed a greater increase than the rest of the training groups, which seems to increase the expression of this gene over time. The duration of the exercise depends.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Shabanloo M, Barzegari A, Naghibi S, Hanani M. Comparison of Three Methods of Aerobic Exercise with Different Intensities on the Expression of Ppar $\gamma$ 1 Gene in Subcutaneous Adipose Tissue of Vistar Male Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(4): 214-223.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

## مقدمه

تجمع چربی اضافی در بافت چربی به سلامتی آسیب می‌رساند. چاقی رابطه مستقیمی با تجمع بافت چربی دارد و از عوامل بروز سندرم متابولیک است (۱). اختلال در عملکرد بافت چربی منجر به اختلالات متابولیسمی مانند مقاومت به انسولین، فشار خون بالا و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود (۲). میزان جهانی چاقی همچنان افزایش می‌یابد و لزوماً نتیجه عدم تعادل بین دریافت و هزینه انرژی است. این نتیجه گسترش و انبساط بافت چربی به علت هایپرتروفی آدیپوسیت‌های موجود و هایپرپلازی از پیش نشان‌دهنده‌های آدیپوسیت است (۳). بنابراین مطالعات برای یافتن روشی مطمئن برای مقابله با این معضل نیز در حال افزایش است. موضوعی که امروزه مورد توجه قرار گرفته است تغییر فنوتیپ بافت چربی سفید به بافت چربی قهوه‌ای است (۴). ورزش منظم می‌تواند ترکیب بدن را از جمله کاهش چربی و یا افزایش توده عضلانی بهبود بخشد. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که اتصال و ارتباط فنوتیپ به سمت سلول‌های قهوه‌ای گرمازا به دنبال ورزش در موش‌های صحرایی به طور عمده در ذخایر زیرپوستی رخ داده است (۵). از مهم‌ترین ژن‌هایی که به تغییر فنوتیپ بافت چربی سفید به بافت چربی قهوه‌ای کمک می‌کند ژن PPAR $\gamma$  است که از تشکیل هر دو نوع چربی قهوه‌ای و سفید پشتیبانی می‌کند (۶). لیگندهای "گیرنده گامای فعال شده در پرواکسیژوم‌های در حال تکثیر" (PPAR) از محرک‌های درگیر در قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید هستند و افزایش لندک در مقدار بافت چربی قهوه‌ای، نقش مهمی در کاهش ذخیره‌ی چربی بدن انسان ایفا می‌نماید (۷). PPAR $\gamma$  از جمله پروتئین‌هایی است که در تنظیم بافت چربی در شرایط فیزیولوژیکی و متابولیسم نقش بسیار مهمی دارد، بنابراین شناخت ژن‌هایی که مسئول تغییر فنوتیپ سلول‌های چربی هستند اهمیت دارد. PPAR $\gamma$  به عنوان یک فنوتیپ اصلی در بافت چربی عمل می‌کند و سبب تمایز بافت چربی ذخیره‌تری گلیسیرید یا تیازلیدیون‌ها و داروهای ضد دیابت می‌شود (۸). حال آن که یکی از سودمندترین مزایای فعالیت ورزشی به جز بهبود شرایط فعلی بدن قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید است که نقش پروتئین PPAR $\gamma$  در این امر بسیار حیاتی است (۹). یکی از

پروتکل‌های فعالیت ورزشی که به تازگی مورد توجه پژوهشگران فیزیولوژی ورزش قرار گرفته است تمرین‌های تناوبی با شدت‌های مختلف می‌باشد که شامل تناوب فعالیت‌های ورزشی خیلی شدید، متوسط و وهله‌های استراحتی فعال با شدت خیلی کم است که مدلی بسیاری کارآمد از نظر زمانی برای تمرینات ورزشی است و تقریباً همان سازگاری‌های سوخت‌وسازی فعالیت ورزشی استقامتی منظم را تحریک می‌کند (۱۰). فاتون (Fatone) و همکاران ۲۰۱۰ گزارش کردند که به دنبال ۶ ماه تمرینات ورزشی هوازی ترکیبی با ۵۵ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تمرینات مقاومتی با شدت ۶۰ تا ۸۰ درصد یک تکرار بیشینه افزایش معنادار بیان ژن PPAR $\gamma$  به دست آمد (۵). در تحقیق کاتو (Kato) (۲۰۱۸) گزارش شده است که متعاقب یک برنامه تمرینی ۹ هفته‌ای دویدن روی تردمیل، بیان ژن PPAR $\gamma$  در موش‌های تمرینی افزایش معناداری داشته است (۱۲). در مطالعه‌ای دیگر افشاری و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که پس از هشت هفته تمرینات هوازی تداومی و تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن PPAR $\gamma$  در بافت چربی سفید موش‌های صحرایی نژاد ویستار، میزان بیان ژن PPAR $\gamma$  در دو گروه تمرین هوازی تداومی با حجم متوسط و گروه تمرین با شدت زیاد و همچنین در دو گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد با حجم متوسط و حجم نسبتاً زیاد، تفاوت معناداری در قیاس با گروه کنترل ندارد (۱۳). از آنجا که فعالیت PPAR $\gamma$  در درجه اول توسط لیگندهای آن صورت می‌گیرد و ورزش ممکن است مسیرهای سیگنالیکی وابسته PPAR $\gamma$  را تحت تأثیر قرار دهد و از آنجا که پژوهش‌گران تاکنون در خصوص اثرات این ژن و نقش فعالیت‌های ورزشی در تنظیم بافت چربی و کاهش بیماری‌های مرتبط با آن نتایج ضد و نقیضی ارائه داده‌اند، با بررسی‌های بیشتر روی این گیرنده و عملکردهای افزایش یافته یا از دست رفته آن در ناهنجاری‌ها و بیماری‌های مربوط به آن می‌توان، درک بهتری از عملکرد آن بدست آورد. با توجه به این که ژن‌های هدف PPAR $\gamma$  به متابولیسم اسیدهای چرب و آدیپوژنز مربوط هستند می‌توان امیدوار بود که بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان این ژن در درمان بسیاری از بیماری‌هایی که از هیپولیپید، چاقی و دیابت رنج

وزن‌کشی هفتگی به میزان ۱۰ گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در اختیار حیوانات قرار داده شد. آب موردنیاز حیوانات نیز به‌صورت آزاد در دسترس قرار داده شد.

**پروتکل‌های تمرین:** به‌منظور آشناسازی با شرایط آزمایشگاه و نوارگردان، حیوانات به مدت ۲ هفته، ۵ روز در هر هفته و در هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان دویدند. حداکثر اکسیژن مصرفی ( $VO_{2max}$ ) حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزآینده بر روی نوارگردان و به‌طور غیرمستقیم ارزیابی شد. جزئیات نحوه اجرای پروتکل‌های تمرینی در جدول ۱ آورده شده است.

می‌برند دستاوردهای امیدبخشی داشته باشد. لذا در این تحقیق ما به دنبال پاسخ به این سوال هستیم که آیا بین سه شیوه‌ی تمرین تداومی با شدت متوسط، تداومی پر شدت و تناوبی پر شدت بر بیان ژن  $ppary1$  در بافت چربی رت‌های نر نژاد ویستار تفاوتی وجود دارد؟

## روش کار

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود، بدین منظور ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی  $237 \pm 33$  گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه جانوری، به‌صورت گروه‌های ۴ سر موش در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف در محیطی با دمای  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد،

**جدول ۱- جزئیات پروتکل برنامه تمرین ۸ هفته‌ای برای گروه‌های مختلف تحقیق**

گروه MIT		گروه HIT		گروه HIIT		هفته	
زمان (دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)	شیب	زمان (دقیقه)	سرعت (متر/دقیقه)	سرعت در تناوب دوم (متر/دقیقه)	سرعت در تناوب اول (متر/دقیقه)	تکرار
۲۰	۲۰	٪۲	۲۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳
۲۲	۲۰	٪۲	۲۲	۲۰	۲۰	۳۰	۳
۲۵	۲۰	٪۴	۲۵	۲۰	۲۰	۳۰	۳
۲۵	۲۰	٪۴	۲۵	۲۰	۲۰	۳۰	۳
۳۰	۲۰	٪۶	۲۵	۲۰	۲۰	۳۰	۴
۳۷	۲۰	٪۶	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۴
۳۷	۲۰	٪۸	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۴
۳۷	۲۰	٪۸	۳۰	۲۰	۲۰	۳۰	۴

پروتکل MIT بدین‌صورت اجرا شد که در هفته اول ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین شامل دویدن با شدت ۶۵ درصد  $VO_{2max}$  با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه انجام شد و به‌صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به‌طوری‌که در هفته ششم زمان تمرین به ۳۷ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم بدون تغییر بوده و معادل ۲۰ متر بر دقیقه بود. پروتکل HIT در هفته اول، شامل: ۵ دقیقه گرم کردن، ۵ دقیقه سرد کردن و ۲۰ دقیقه تمرین دویدن با ۶۵ درصد  $VO_{2max}$  با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و با شیب فزآینده نوارگردان بود. به‌صورت هفتگی به زمان تمرین افزوده می‌شد، به‌طوری‌که در هفته ششم زمان تمرین

رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد و چرخه تاریکی- روشنایی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. حیوانات به‌طور تصادفی در چهار گروه شامل: گروه کنترل (Co) (۸ سر)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MIT Moderate-intensity training) (۸ سر)، تمرین تداومی شدید (High-intensity training) (۸ سر) و تمرین تناوبی شدید (HIIT) (۸ سر) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی بین‌المللی سلامت و پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد. همچنین این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه پیام نور با کد IR.PNU.REC.1398.059 تأیید گردید. طی دوره تحقیق، غذای ساخت شرکت به‌پرور به‌صورت پلت و با توجه به

**جدول ۲-** توالی پرایمرها و اندازه محصولات ژن هدف

Genes	Sequence (5'→3')
ppar $\gamma$ 1	For: 5'- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA - 3'
	Rev: 5'- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3'

به ۳۰ دقیقه رسید و تا پایان هشتم نیز ثابت ماند. از سوی دیگر، شیب نوارگردان در هفته اول و دوم ۲ درصد بود و هر ۲ هفته ۲ درصد به شیب افزوده شد تا در هفته هفتم و هشتم به ۸ درصد برسد. همچنین سرعت تمرین از هفته اول تا هفته هشتم نیز ۲۰ متر بر دقیقه بود و ثابت نگه داشته شد. پروتکل HIIT نیز شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن قبل از انجام تمرین بود، در هفته اول تا چهارم شامل ۳ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO $_2$ max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO $_2$ max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. از هفته پنجم تا هشتم نیز شامل ۴ وهله دویدن تناوبی شدید با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO $_2$ max و با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه در زمان ۴ دقیقه و ۳ وهله دویدن تناوبی کم شدت با ۵۰ تا ۶۰ درصد VO $_2$ max و با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در زمان ۳ دقیقه بود. زمان بدنه اصلی تمرین در هر تکرار به مدت ۲۸ دقیقه بود. موش‌های گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند.

**نحوه نمونه‌برداری بافتی:** جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌برداری از حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی انجام شد. بدین منظور ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق صفاقی کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شده و بعد از عمل جراحی قفسه سینه، بافت چربی زیرپوستی جدا شده و در میکروتیوب‌های مخصوص در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس برای نگهداری به فریزر دمای -۷۰ درجه

سانتی‌گراد منتقل شد. کیت سنتز cDNA توسط Thermo Scientific که با شماره کاتالوگ K1622 تولید شده است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. برای استخراج RNA و cDNA، حدود ۵۰ میلی‌گرم میلی‌گرم از بافت کبد رت‌ها به صورت جداگانه جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۲ در QIAzol Reagent Lysis هموژن گردید.

### تعیین بیان ژن‌های ppar $\gamma$ 1 به روش real-time PCR

**Real-Time PCR:** واکنش Real-Time PCR در دستگاه ای.بی.آی (ABI) ساخت کشور آمریکا انجام شد. درون هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه‌ای، مخلوطی به حجم ۲۵ میکرولیتر متشکل از ۱۲/۵ میکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین مسترمیکس (SYBR green master mix)، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، ۴ میکرولیتر از DNA ژنومی و ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد. برنامه زمانی و دمایی واکنش انجام شده در دستگاه real-time PCR مدل ABI در سه مرحله عبارت بود از: مرحله اول در یک چرخه به منظور فعال سازی آنزیم پلیمرز و دناتوره اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه؛ مرحله دوم به صورت متناوب در طول ۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد. در مرحله سوم به منظور رسم منحنی تفکیک، برنامه دمایی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه بود. در این مرحله، کاهش دما از ۹۵ درجه سانتی‌گراد به ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۰/۰۳ درجه سانتی‌گراد بر ثانیه انجام شد و حدوداً ۲۰ دقیقه طول کشید. پس از اتمام مرحله سوم، منحنی‌های تکثیر و تفکیک با استفاده از نرم‌افزار SDS ABI تحلیل شد. تفاوت Ct ژن هدف به ژن رفرنس به صورت  $\Delta Ct$  برای هر نمونه محاسبه شد. سپس برای هر مورد،  $\Delta\Delta Ct$  به دست آمد. علاوه بر این، در این آزمایش تجزیه و تحلیل منحنی ذوب جهت اطمینان از ویژگی محصول PCR انجام شد. در ابتدا توالی mRNA مربوط



آزمون های پارامتریک شامل آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری  $p \leq 0.05$  استفاده شد. انجام کلیه امور آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و EXCEL انجام شد.

### یافته‌ها

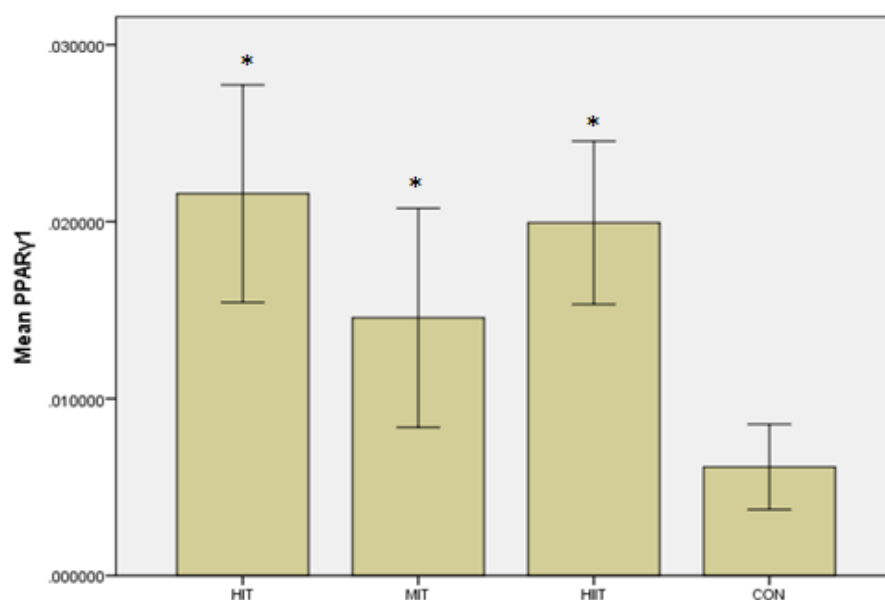
جدول ۳ میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های صحرای گروه‌های مختلف تحقیق را نشان می‌دهد. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت معناداری در وزن موش‌های گروه‌های مختلف تحقیق وجود ندارد ( $p=0.09$ ). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بیان ژن PPAR $\gamma$ 1 در بافت چربی زیرپوستی رت‌های گروه‌های تحقیق، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ( $P < 0.001$ ). نتایج نشان داد که بیان ژن PPAR $\gamma$ 1 در رت‌های نر ویستار گروه HIT نسبت به گروه کنترل تفاوت معناداری دارد ( $P \leq 0/001$ )، به طوری که در گروه HIT به میزان  $0.15442$  واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته

به ژن IGFBP-1 از سایت NCBI استخراج شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار AlleleID و توسط شرکت CinnaGen ساخته شده و پس از آن هر پرایمر توسط نرم‌افزار BLAST مورد ارزیابی قرار گرفت تا از قرارگیری جفتی پرایمرها اطمینان حاصل شود. در این تحقیق، ژن GAPDH به‌عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت. برای هر دور PCR، ۴۰ چرخه منظور گردید، به طوری که دمای هر چرخه برای ۱۵ ثانیه تا ۹۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۳۰ ثانیه تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پرایمرهای مربوط به رت‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

**روش‌های آماری:** بعد از تحلیل آزمایشگاهی نمونه‌ها، برای توصیف کمی داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف استاندارد و آمار استنباطی استفاده شد. ابتدا جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و برای تعیین تجانس واریانس از آزمون لون استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن نحوه توزیع داده‌ها، از

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار وزن در گروه‌های مختلف تحقیق

گروه‌ها	CO	MIT	HIT	HIIT
میانگین وزنی (گرم)	۳۱۲/۲۵±۸/۸	۳۱۳/۲۸±۷/۶	۳۱۰/۳۱±۳/۴	۲۹۵/۲۷±۶/۲



شکل ۱- تغییرات بیان ژن PPAR $\gamma$ 1 در رت‌های نر ویستار در گروه‌های پژوهش

گروه HIIT: تمرین هوازی تناوبی شدید، گروه HIT: تمرین هوازی تداومی شدید، گروه MIT: تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط، گروه CO: کنترل. \* نشانه تفاوت معنادار گروه‌های تمرینی و گروه کنترل در سطح  $P < 0.05$

خنثی از ظرفیت چربی‌ها بیشتر می‌شود. بکارگیری اسیدهای چرب از بافت چربی سفید با فعالیت لیپاز حساس به هورمون، مونوگلیسیرید لیپاز و لیپاز تری‌گلیسیرید چربی صورت می‌گیرد (۱۵). تمرین، لیپولیز آدیپوسیت‌ها را با فعال‌سازی HSL و ATGL بهبود می‌بخشد و سبب ایجاد هایپوترفی آدیپوسیت‌های توده بافت چربی سفید در افراد چاق می‌گردد (۱۶). پروتئین PRDM16 به عنوان یک پروتئین مرکب می‌تولند به عنوان یک سویچ دوطرفه در توسعه چربی قهوه‌ای از طریق متابولیسم‌های متعدد پروتئین عمل کند. یکی دیگر از سازوکارهای مربوط به افزایش بیان PPAR $\gamma$ 1 مربوط به آزمودنی‌های این پژوهش می‌تواند کاهش التهاب ناشی از تمرینات ورزشی باشد، چرا که التهاب یک منبع بالقوه برای سرکوب عملکرد HDL است که تحت چندین تغییر ساختاری قرار می‌گیرد که آن را تبدیل به HDL فاز حاد می‌کند که به نسبت غنی از اسید چرب و تری‌گلیسیریدها است. بهبود نیم‌رخ چربی به‌خصوص افزایش HDL خود منجر به سرکوب التهاب می‌شود و در نهایت سبب افزایش بیان ژن می‌شود. مکانیزم دقیق آن به این صورت است که افزایش HDL و نیز افزایش خروج کلسترول از سلول روی عملکرد آبشارهای سیگنالیک که سبب تحریک MAPK و NF $\kappa$ B برای تولید سایتوکاین‌های التهابی می‌شوند، تأثیر منفی گذاشته است و به این ترتیب التهاب کاهش یافته و سبب افزایش بیان این ژن می‌شود (۱۵). پروتئین PRDM16 به عنوان یک پروتئین مرکب می‌تواند به عنوان یک سویچ دوطرفه در توسعه چربی قهوه‌ای از طریق متابولیسم‌های متعدد پروتئین عمل کند. سازگاری احتمالی این مسیر به نقش بسیار مهم پروتئین PRDM16 و 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 پروتئین‌های دیگر به نام عامل اولیه سلول-2 (EBF2: Early B cell factor2)، منجر به بیان و ترویج پروتئین PRDM16 می‌شود و به دنبال آن سلول‌های بافت چربی قهوه‌ای نابالغ به بالغ تبدیل شده، و سپس توسط پروتئین PGC-1 فعال خواهند شد (۱۲). در کل، نتایج

است، با این حال تفاوت معناداری در بیان PPAR $\gamma$ 1 در گروه HIT نسبت به گروه‌های MIT و HIIT مشاهده نشد (به ترتیب:  $p=0/120$ ,  $p=0/948$ ). از سویی دیگر اختلاف معناداری نیز میان گروه‌های MIT و کنترل مشاهده شد ( $p\leq 0/001$ )، به طوری که در گروه MIT به میزان  $0/008431$  واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است، در حالی که اختلاف معناداری میان گروه MIT نسبت به گروه‌های HIT و HIIT مشاهده نشد (به ترتیب:  $p=0/120$ ,  $p=0/310$ ). همچنین بررسی آزمون تعقیبی در گروه‌های تمرینی نشان داد که اختلاف معناداری در بیان ژن PPAR $\gamma$ 1 میان گروه‌های تمرین ورزشی HIIT و کنترل وجود دارد ( $p\leq 0/001$ )، به طوری که در گروه HIIT به میزان  $0/013796$  واحد نسبت به گروه کنترل افزایش داشته است، در حالی که اختلاف معناداری میان گروه HIIT نسبت به گروه‌های HIT و MIT مشاهده نشد (به ترتیب:  $p=0/948$ ,  $p=0/310$ ).

### بحث

نتایج نشان داد که اختلاف معناداری در بیان ژن PPAR $\gamma$ 1 میان گروه‌های تمرین ورزشی HIIT و کنترل وجود دارد، در حالی که اختلاف معناداری میان گروه HIIT نسبت به گروه‌های HIT و MIT مشاهده نشد. یافته‌های تحقیق حاضر با پژوهش لی (Li) و همکاران (۲۰۱۵) (۸)، استنفورد (Stanford) و همکاران (۲۰۱۵) (۱۱) و هاکنز (Haczeyni) و همکاران (۲۰۱۵) (۴) همراستا بود. پژوهشگران معتقدند که این پروتئین می‌تولند سلول‌های سفید ذخیره‌کننده کالری را به سلول‌های چربی قهوه‌ای سوزاننده کالری تبدیل کند (۹)، در حالی که با نتایج تحقیقات شعبانی و همکاران (۲۰۱۹) (۳) و روشگه (Ruschke) و همکاران (۲۰۱۰) (۱۴) ناهمسو می‌باشد. از آنجا که موش‌های مورد مطالعه در پژوهش‌های ناهمسو با تحقیق حاضر دارای اضافه‌وزن و دیابت بوده‌اند ممکن است کاهش بیان ژن به دلایل ذکر شده باشد. سازوکار مولکولی این مسیر بدین صورت است که HDL از طریق فعالیت‌های ورزشی نیازهای مصرف انرژی تحریک می‌شود یا ذخیره TG‌های



حیوانات اشاره نمود.

### پیشنهادات:

با وجود این، پیشینه تحقیقاتی در زمینه تاثیر پروتکل‌های تمرینی تحقیق حاضر بر عملکرد PPAR $\gamma$  در بافت کبد بسیار محدود بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات ورزشی HIT، HIIT و MIT، هر سه باعث افزایش بیان ژن‌های ppar $\gamma$ 1 می‌شود. این افزایش در هر سه تمرین مشاهده شد، اما به نظر می‌رسد که افزایش بیان این ژن در تمرینات تداومی با شدت زیاد بیشتر از تداومی شدت متوسط و تناوبی پر شدت بوده است. پس می‌توان نتیجه گرفت مدت زمان اجرا تمرین در تمرینات HIT عامل مؤثر در افزایش بیان هر دو ژن بوده است، یکی از مهم‌ترین عوامل در بیان ژن ppar $\gamma$ 1، رعایت میزان شدت تمرین و کافی بودن، مدت زمان اجرای آن می‌باشد. اگرچه بررسی‌های بیشتر در این زمینه لازم است.

### References

1. Kessler, H.S., S.B. Sisson, and K.R. Short, The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sports medicine*, 2012. 42(6):489-509.
2. Fajas, L., et al., The retinoblastoma-histone deacetylase 3 complex inhibits PPAR $\gamma$  and adipocyte differentiation. *Developmental cell*, 2002. 3(6):903-910.
3. Shabani, M., et al., Effect of continuous training on the level of PPAR- $\gamma$  and PRDM16 proteins in adipose tissue in overweight diabetes rats. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 2018. 22(3):4-12.
4. Haczeyni, F., et al., Exercise improves adipose function and inflammation and ameliorates fatty liver disease in obese diabetic mice. *Obesity*, 2015. 23(9):1845-1855.
5. Fatone, C., 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):489-495.

مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی می‌تواند بیان پروتئین‌های مهم متابولیک مانند PRDM16 و PPAR $\gamma$  را تغییر دهد. سازوکار احتمالی سلولی و ملکولی این مسیر بدین‌گونه است: سیستم عصبی سمپاتیک از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، ترموژن‌سازی را در چربی قهوه‌ای کنترل می‌کند و گیرنده‌های بتا آدرنرژیک از طریق پروتئین کیناز A (PKA: Protein Kinase A)، پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن P38 (P38MAPK) را در ادیپوسیت‌ها فعال می‌کند (۹). P38MAPK فعال شده با PGC1 $\alpha$ ، عامل فعال‌کننده رونویسی ۲ (Activating Transcription Factor 2 ATF2) را فسفوریله می‌کند و بیان ژن UCP1 (Uncoupling Protein 1) را از طریق تعاملات خود با PPAR $\gamma$  کنترل می‌کند. ژن PPAR $\gamma$  فزاینده اصلی ژن UCP-1 است. فعال‌سازی ATF2 به وسیله P38MAPK به عنوان حس‌گر CAMP به کار می‌رود که میزان بیان ژن PGC1- $\alpha$  در بافت چربی قهوه‌ای افزایش می‌دهد. بنابراین، فعال شدن ژن PGC1- $\alpha$  منجر به فعال شدن PPAR $\gamma$  می‌شود که می‌تواند منجر به تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای شود (۵). این ژن برای حفظ تمایز نهایی سلول چربی مورد نیاز است، طوری که بیان منفی گسترده آن در سلول‌های تمایز یافته T3-3L1 منجر به تمایز این سلول‌ها با تجمع لیپیدی کمتر و همچنین کاهش مارکرهای ادیپوسیت می‌شود. یکی از سازوکارهای مولکولی مربوط به کاهش PPAR $\gamma$  در تحقیقات این می‌باشد که مقدار بالای لیپید منجر به کاهش ترشح ادیونکتین می‌شود. کاهش ادیونکتین باعث افزایش گلوکونوژن کبدی و کاهش گلیکوژنولیز و کاهش استفاده از گلوکز توسط عضلات اسکلتی کاهش HDL و افزایش تری‌گلیسیرید و در نتیجه مقاومت به انسولین می‌شود (۱۷). این گونه عوامل باعث اختلال در عملکرد PPAR $\gamma$  شده و منجر به کاهش بیان این ژن می‌شود.

### محدودیت‌ها:

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم کنترل میزان کالری مصرفی موش‌های صحرایی و عدم کنترل فعالیت بدنی خارج از برنامه تحقیق

generation. *Cell metabolism*, 2015. 22(4):546-559.

6. Ghossaini, M., 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):11-19.

7. Salomonsson B, Kornaros K, Sandell R, Nissen E, Lillengren P. Short-term psychodynamic infant-parent interventions at Child health centers: Outcomes on parental depression and infant social-emotional functioning. *Infant Ment Health J*. 2021;42(1):109-123.

8. Li, M., et al., Effects of exercise and conjugated linoleic acid on PPAR $\gamma$  in adolescent obese rats. *Wei Sheng yan jiu= Journal of Hygiene Research*, 2015. 44(2): 179-184.

9. Maljanen T, Knekt P, Lindfors O, Virtala E, Tillman P, Härkänen T; Helsinki Psychotherapy Study Group. The cost-effectiveness of short-term and long-term psychotherapy in the treatment of depressive and anxiety disorders during a 5-year follow-up. *J Affect Disord*. 2016;15;190:254-263.

10. Lorentzen S, Ruud T, Fjeldstad A, Høglend PA. Personality disorder moderates outcome in short- and long-term group analytic psychotherapy: A randomized clinical trial. *Br J Clin Psychol*. 2015;54(2):129-46.

11. Stanford, K.I., R.J. Middelbeek, and L.J. Goodyear, Exercise effects on white adipose tissue: being and metabolic adaptations. *Diabetes*, 2015. 64(7): 2361-2368.

12. Kato, H., et al., Effect of a 9-week exercise training regimen on expression of developmental genes related to growth-dependent fat expansion in juvenile rats. *Physiological reports*, 2018. 6(19):e13880.

13. Afshari, S., M. Mohammad-Amoli, and S. Daneshyar, Comparison of Moderate and High Volume Aerobic Training on Gene Expression of Uncoupling Protein 1 (UCP-1) in Subcutaneous White Adipose Tissue of Wistar Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2017. 19(1): 34-40.

14. Ruschke, K., et al., Gene expression of PPAR $\gamma$  and PGC-1 $\alpha$  in human omental and subcutaneous adipose tissue is related to insulin resistance markers and mediates beneficial effects of physical training. *European journal of endocrinology/European Federation of Endocrine Societies*, 2010. 162(3): 515-521.

15. Gibala, M.J., High-intensity interval training: a time-efficient strategy for health promotion? *Current sports medicine reports*, 2007. 6(4): 211-213.

16. Gil, A., et al., Is adipose tissue metabolically different at different sites? *International journal of pediatric obesity*, 2011. 6(sup1):13-20.

17. Kajimura, S., B.M. Spiegelman, and P. Seale, Brown and beige fat: physiological roles beyond heat