



Research Paper

The effect of 12- weeks of HIIT and L-carnitine supplementation on gene expression of some factors associated with browning of white adipose tissue and uncoupling protein-1 changes in obese male rats

Vahid Sari-Sarraf^{1*}, Mostafa Khani², Mehdi Saghi³

Received: Nov 26, 2024

Revised: Apr 05, 2025

Accepted: Apr 07, 2025

Article info

1. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Assistant Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3. Ph.D. Candidate in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

***Corresponding Author Address:**

Department of Exercise Physiology,
Faculty of Physical Education and
Sport Sciences, University of Tabriz,
Post Code: 5166616471
Email: sarraf@tabrizu.ac.ir

Extended abstract

Background and Aim: Obesity is a risk factor for metabolic and cardiovascular diseases. White adipose tissue (WAT) stores excess fat, preventing its accumulation in vital organs; however, excessive WAT accumulation can contribute to obesity and a reduced in brown adipose tissue (BAT) activity. MicroRNAs, particularly miR-455, play a critical role in regulating the differentiation of brown adipocytes, a process that counteracts obesity. MiR-455 enhances the differentiation of brown fat cells by targeting key regulators of lipogenesis and inhibiting hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 α). Inhibition of HIF-1 α activates Adenosine monophosphate-activated protein kinase-1 alpha (AMPK-1 α), leading to increased expression of Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha (PGC-1 α) and Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ), ultimately boosting mitochondrial biogenesis and thermogenesis in WAT. High-intensity interval training (HIIT) and L-carnitine supplementation are known as stimulants for converting WAT phenotype to beige and activating BAT; however, their impact on the UCP1/HIF-1 α /miR-455 axis remains unclear. The present study aims to investigate the effects of 12 weeks of HIIT and L-carnitine supplementation on the expression of this axis in obese male rats, paving the way for innovative treatments for obesity and metabolic disorders.

Materials and Methods: Thirty-six male rats were used in this experimental study. Obesity was induced by eight-week of a high-fat diet (60% fat, 20% carbohydrate, 20% protein), leading to an approximate weight of 450 g. After induction, the rats were fed a standard diet ad libitum. The rats were then randomly assigned to one of four groups: control (C), Training (T), supplementation (S), and supplementation+Training (ST). Following the induction period, all rats were fed standard chow. To determine maximal running speed, groups T and ST underwent a Bedford treadmill test. This test consisted of ten 3-min stages, beginning at 5 meters per min on a 25-degree incline, with speed increments of 5 meters per stage until exhaustion. A 12-week HIIT protocol (5 days/

Cite this article:

Sari-Sarraf V, Khani M, Saghi M. The effect of 12- weeks of HIIT and L-carnitine supplementation on gene expression of some factors associated with browning of white adipose tissue and uncoupling protein-1 changes in obese male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2026;14(37):8-23. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2025.8489.1930>



week) comprised: 5-min warm-up and cool-down (<60% max speed), followed by ten 4-min intervals at 85-90% max speed, with 2-min active recovery (50-60% max speed) between intervals. To account for potential changes in maximal speed and prevent uniform training intensity, a retest of maximal speed was performed every two weeks on a non-training day for groups T and ST. Groups S and ST received daily oral L-carnitine (30 mg/kg body weight) by gavage one hour after training; groups C and T received an equivalent volume of distilled water. Forty-eight hours post-training and following an overnight fast, rats were euthanized. Subcutaneous inguinal adipose tissue samples were collected and processed for analysis. The expression levels of miR-455, HIF-1 α , and UCP1 were determined using RT-qPCR, Western blotting, and immunofluorescence, respectively. After confirming data normality (Shapiro-Wilk test) and homogeneity of variances (Levene test), within-group comparisons were performed using paired t-tests. Between-group comparisons were performed using one-way ANOVA, with post hoc analysis using the Bonferroni correction. Statistical analyses were performed using SPSS version 26 at $p < 0.05$ level. Graphs were generated using Excel 2007.

Findings: The results of the Shapiro-Wilk test showed that the weight distribution of all rats was normal at the beginning of the study ($p = 0.13$). A dependent t-test confirmed the weight gain of all rats at the end of the eight-week high-fat diet ($p = 0.001$). After dividing the rats into four groups and implementing the respective interventions, a significant difference was observed between the weights of the groups ($p = 0.001$), such that groups T and ST had a significant decrease compared to group C ($p = 0.003$ and $p = 0.001$ respectively) and compared to group S ($p = 0.02$ and $p = 0.001$ respectively), but no significant changes were observed between groups ST and T, as well as groups S and C ($p = 0.001$). Finally, group S had lower weight compared to group C and group ST had lower weight compared to T.

Regarding the expression of miR-455, a significant difference was observed between the groups ($p = 0.001$). Group T had a significant decrease ($p = 0.001$) and group S had a significant increase ($p = 0.001$) compared to group C. Group ST did not have a significant increase compared to group C ($p = 0.07$). The difference between other pair of groups was significant ($p = 0.001$) (Figure 1).

The results for HIF-1 α expression indicated a significant difference between the groups ($p = 0.001$), such that groups T, S and ST had a significant increase compared to group C ($p = 0.001$). There was no significant difference between groups T and S ($p = 1.00$) (Figure 1).

A significant difference was also observed in the expression of UCP1 protein ($p = 0.001$), and all groups had a significant increase compared to group C ($p = 0.001$), but there was no significant difference between groups T and ST ($p = 0.08$) (Figure 1).

The study of adipose tissue images showed that group C had large white fat cells with fewer mitochondria and lower capillary density, indicating low metabolic activity and inflammation. Group T had a higher number of small brown/beige multilocular fat cells and higher capillary and mitochondrial density, indicating higher metabolic activity. Group S showed slight improvement compared to group C, while group ST showed significant improvement in metabolic parameters, although not to the same extent as group T. These findings were consistent with the observed weight changes in each group.

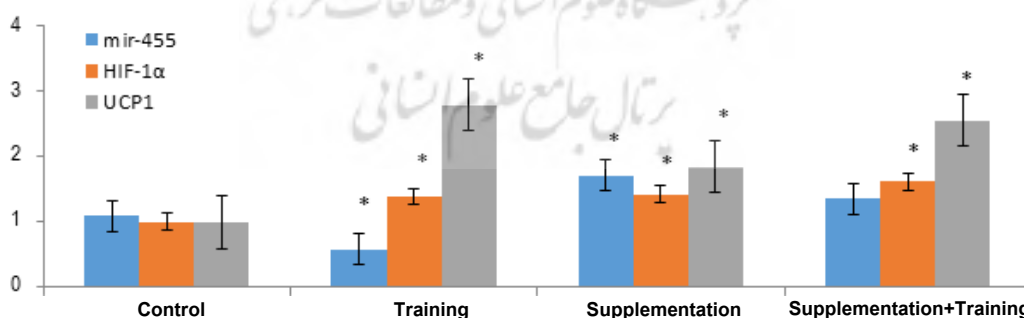


Figure 1. Comparison of miR-455 ($\mu\text{g/mL}$), HIF-1 α ($\mu\text{g/mL}$) and UCP1 (μm) between groups. *significant difference between groups at $p < 0.05$.

Conclusion: This research examined the effects of L-carnitine and HIIT on factors influencing WAT browning. L-carnitine supplementation alone elevated levels of miR-455, HIF-1 α , and UCP1, yet exerted no discernible impact on body weight. In contrast, HIIT paradoxically increased UCP1 activity while reducing miR-455 expression and stimulating alternative pathways associated with WAT-to-BAT conversion; this, coupled with the caloric expenditure inherent in training, resulted in weight loss. The combined administration of L-carnitine and HIIT synergistically activated UCP1 and augmented caloric consumption. These

findings offer potential avenues for combating obesity and provide promising evidence for promoting WAT browning. As a novel study, this research suggests that the concurrent administration of HIIT and L-carnitine may effectively modulate BAT activity, however, further research is needed to confirm these observations.

Keywords: High intensity interval training, L-carnitine, microRNA-455, Hypoxia-inducible factor 1 a inhibitor, Uncoupling protein-1.

Ethical Considerations: This study received ethical approval from the Biomedical Ethics Committee of Tabriz University (IR. TABRIZU.REC.1401.042). The research was conducted using the minimum number of rats necessary and adhered to optimal laboratory animal conditions (12:12 light-dark cycle, 50% \pm 3% relative humidity, and 22 \pm 2°C temperature). Non-invasive and low-pain methods, minimizing distress, were employed for stimulating the rats. All researchers completed mandatory training courses on animal handling and ethical principles.

Compliance with ethical guideline: Alternative methods to animal experimentation were considered whenever feasible, and laboratory procedures were designed to minimize pain and suffering.

Funding: All costs associated with this research, including analyses, materials, and publication fees, were covered by the authors. No external funding was received from any institution or organization.

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interest pertaining to this research.





مقاله پژوهشی

تأثیر ۱۲ هفته HIIT و مکمل‌دهی ال‌کارنیتین بر بیان ژن برخی عوامل مرتبط با تغییر بافت چربی سفید به قهوه‌ای و پروتئین جفت نشده نوع-۱ در رت‌های نر چاق

وحید ساری صراف*^۱، مصطفی خانی^۲، مهدی ساقی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۶

اطلاعات مقاله

چکیده

زمینه و هدف: افزایش فعالیت پروتئین جفت نشده نوع یک (UCP1) باعث کاهش عوارض چاقی می‌شود. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر دوازده هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تجویز مکمل ال‌کارنیتین بر بیان miR-455، HIF-1α و تغییرات UCP1 در بافت چربی زیر پوستی رت‌های نر چاق بود. **روش تحقیق:** ۳۶ سر رت نر ویستار پس از هشت هفته مصرف غذای پرچرب به‌طور تصادفی به چهار گروه: کنترل (C)، تمرین (T)، مکمل (S) و مکمل+تمرین (ST) تقسیم شدند. HIIT با شدت ۸۵-۹۰ درصد سرعت بیشینه روی نوارگردان، پنج روز در هفته به مدت ۱۲ هفته برای رت‌های گروه T و ST اجرا شد. رت‌های گروه S و ST به مدت سه ماه ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز با ال‌کارنیتین گاوژ شدند. بیان HIF-1α، miR-455 و UCP1 به ترتیب با استفاده از روش‌های RT-qPCR، وسترن بلات و ایمنوفلورانس ارزیابی شدند. از آزمون‌های t وابسته و آنالیز واریانس یک‌راهه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و برای تعیین جایگاه معنی‌داری، از آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد. **یافته‌ها:** وزن رت‌ها در دوره چاقی افزایش داشت ($p = 0.001$) که با تمرین ($p = 0.003$) و مکمل+تمرین ($p = 0.001$) کاهش یافت. بیان ژن miR-455 گروه‌های T کاهش معنی‌دار ($p = 0.001$)، S افزایش معنی‌دار ($p = 0.001$) و ST افزایش غیرمعنی‌داری ($p = 0.07$) در مقایسه با گروه C داشت. بیان پروتئین HIF-1α در همه گروه‌ها نسبت به گروه C افزایش معنی‌دار ($p = 0.001$) داشت. بیان پروتئین UCP1 در همه گروه‌ها نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشت ($p = 0.001$). **نتیجه‌گیری:** به‌نظر می‌رسد HIIT و همزمانی HIIT با ال‌کارنیتین استراتژی مفیدی برای مقابله با چاقی بوده و شواهد امیدوارکننده‌ای برای بهبود قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید ارائه می‌دهد. در حالی که تحقیقات بیشتری برای تعمیم این یافته‌ها از مدل‌های حیوانی به کاربردهای انسانی مورد نیاز است.

۱. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۳. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* آدرس نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه تبریز، گروه فیزیولوژی ورزش، کدپستی ۱۷۴۶۱۶۶۶۱۵؛
پست الکترونیک:
sarraf@tabrizu.ac.ir

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، ال‌کارنیتین، miR-455، عامل یک القا شونده هیپوکسی آلفا (HIF-1α)، پروتئین جفت نشده نوع-۱ (UCP1).

مقدمه

چاقی عامل اصلی سندرم متابولیک و اختلالاتی مانند دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی سرطان‌ها است، در این بین، عملکرد صحیح بافت چربی^۱ یک عامل کلیدی برای سلامت متابولیسم است و مقدار مناسب آن به کاهش عوارض چاقی منجر می‌شود. بافت چربی سفید زیر جلدی^۲ ممکن است اثرات مفیدی بر هموستاز انرژی داشته باشد (۱)، چرا که بافت چربی سفید^۳ با جمع‌آوری چربی اضافی در خون سبب کاهش تجمع چربی و آسیب در برخی اندام‌ها نظیر قلب، کبد و کلیه می‌شود (۲)، اما این افزایش تجمع چربی ممکن است باعث ایجاد التهاب و عوارض ناشی از آن شود. همچنین از بین دو نوع سلول چربی، سلول‌های چربی سفید در ذخیره سازی انرژی و سلول‌های چربی قهوه‌ای (بژ^۴ یا بریت^۵ که هر دو بیانگر پروتئین جفت نشده نوع یک^۶ (UCP1) می‌باشند) در مصرف انرژی به صورت گرمزایی نقش داشته و می‌تواند با چاقی مقابله کند (۳). در این میان عوامل بالادستی متعددی می‌توانند در تنظیم مثبت یا منفی WAT و تبدیل آن به قهوه‌ای نقش داشته باشند که شناسایی میکروآر آن‌ها^۷ (microRNA) و نوع فعالیت‌شان از آن جمله‌اند. microRNAها، دسته‌ای از RNAهای کوتاه غیر کدکننده و یک عامل مهم فرآیندهای بیولوژیکی متنوع در تنظیم بیان ژن مانند توسعه، بیماری‌ها و ایجاد هویت سلولی هستند (۴). در این بین، miR-455 از جمله microRNAهایی است که با تنظیم‌کننده‌های عوامل چربی‌زا، تمایز سلول‌های چربی قهوه‌ای را تعدیل می‌کنند. آدیپوزن قهوه‌ای فرآیند پیچیده‌ای است که نیاز به هماهنگی تنظیم‌کننده‌های متعدد و مسیرهای سیگنالینگ دارد. miR-455 که چندین تنظیم‌کننده چربی‌زای کلیدی مانند نکدین^۸، ران کس^۹ و عامل یک آلفا القا شونده با هیپوکسی^{۱۰} (HIF-1 α) را هدف قرار می‌دهد (۵). با افزایش تجمع چربی و فشرده شدن عروق و کاهش اکسیژن AT، نه تنها التهاب در WAT افزایش می‌یابد، بلکه HIF-1 α نیز برای مقابله با التهاب

و هیپوکسی افزایش خواهد یافت. از دیگر وظایف HIF-1 α می‌توان به فعالیت در تنظیم متابولیسم AT اشاره کرد (۶). miR-455 یک عامل بالا دستی HIF-1 α و تنظیم‌کننده جدید چربی‌زایی قهوه‌ای بوده که توسط سرما و پروتئین مورفوژنیک استخوان^{۱۱} (BMP7) بیان می‌شود. مطالعات آزمایشگاهی (فعال کننده‌ها^{۱۲} و بلاک کننده‌ها^{۱۳}) نشان می‌دهد که miR-455 تمایز سلول‌های چربی قهوه‌ای را از طریق مهار HIF-1 α افزایش داده و کیناز فعال شونده با آدنوزین مونوفسفات یک آلفا^{۱۴} (AMPK-1 α) را فعال می‌کند. این امر منجر به افزایش بیان دو عامل کلیدی گیرنده فعال شده با تکثیر کننده پراکسی زوم گاما کوکتیوتوریک آلفا^{۱۵} (PGC-1 α) و گیرنده گامای فعال شده با تکثیر کننده پراکسی زوم گاما^{۱۶} (PPAR- γ) در SWAT می‌شود که نتیجه آن افزایش بیوژنز میتوکندری موجود در UCP1 است که نقش آن در ترموژن و گرمزایی بدون لرز و افزایش مصرف انرژی مشهود است (۴، ۵، ۷).

عامل UCP1 در SWAT با محرک‌هایی ظاهر می‌شوند (۸). دسته‌ای از این محرک‌ها غذایی (۹)، تمرینات ورزشی (۱۰) یا دارویی (۱۱) است. مکمل‌های خوراکی مانند ال کارنیتین^{۱۷} در تغییر فنوتیپ WAT به بژ یا قهوه‌ای و افزایش فعالیت میتوکندری آنها مؤثرند. ال کارنیتین نقش اساسی در انتقال اسیدهای چرب با زنجیره طولانی به میتوکندری‌ها برای فرآیند بتا اکسیداسیون دارد که با کاهش میزان ال کارنیتین در سلول‌ها انتقال اسیدهای چرب با زنجیره طولانی برای فرآیند بتا اکسیداسیون با اختلال مواجه شده و باعث افزایش بیش از حد چربی در کبد، عضله قلب و اسکلتی شده و در نهایت، باعث میوپاتی و هیپاتومگالی می‌شود. تجویز ال کارنیتین باعث بهبود میزان بیان انتقال اسیدهای چرب با زنجیره طولانی به داخل میتوکندری شده و افزایش بیان UCP1 را در موش‌های استئاتوز احشایی در پی خواهد داشت. این امر منجر به بهبود مورفولوژیکی WAT شده و بیان UCP1 را در آن افزایش می‌دهد که از لحاظ میکروسکوپی

1. Adipose Tissue
2. Subcutaneous white adipose tissue
3. white adipose tissue
4. Beige
5. Brite
6. Uncoupling protein-1
7. microRNA

8. Necdin
9. Runx1t1
10. Hypoxia-inducible factor 1 alpha
11. Bone Morphogenetic Proteins 7
12. Activators
13. Blockers
14. Adenosine monophosphate-activated pro-

- tein kinase-1 alpha
15. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha
16. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma
17. L-carnitine

با چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی 50 ± 3 درصد و دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

روش القای چاقی: پس از یک هفته آشنایی رت‌ها با محیط آزمایشگاه، به مدت هشت هفته رژیم غذای پرچرب حاوی ۶۰٪ چربی، ۲۰٪ کربوهیدرات و ۲۰٪ پروتئین استفاده شد (۱۵) تا وزن رت‌ها به حدود ۴۵۰ گرم رسید (شکل یک). سپس رت‌ها تصادفی به چهار گروه کنترل (C)، تمرین (T)، مکمل ال کارنیتین (S) و مکمل ال کارنیتین+ تمرین (ST) تقسیم شدند. جهت تهیه غذای پرچرب روزانه پلت‌ها خرد شده، سپس با چربی دنبه مخلوط و مجدد به پلت تبدیل شد تا از اکسید شدن آن جلوگیری شود. پس از القای چاقی، رت‌ها آزادانه با غذای استاندارد حاوی ۱۰٪ چربی، ۷۰٪ کربوهیدرات و ۲۰٪ پروتئین تغذیه شدند (۱۵)، همچنین با حذف غذای پرچرب و مصرف غذای استاندارد و محدودیت کالری ناشی از آن در همه گروه‌ها میزان مصرف غذا یکنواخت در نظر گرفته شد تا شرایط برای تمامی گروه‌ها یکسان باشد. میزان غذای مصرفی با وزن‌کشی، ثبت و کنترل شد. خوراک استاندارد جوندگان از شرکت به‌پرور تهیه شد.

پروتکل تمرین: رت‌های گروه‌های T و ST به مدت پنج روز با سرعت ۱۰ متر در دقیقه از پنج تا ۱۰ دقیقه در شیب صفر تمرین کردند تا با شیوه دویدن روی نوارگردان آشنا شوند. همچنین جهت ایجاد شرایط مساوی رت‌های گروه‌های C و S به مدت پنج روز در هفته به مدت ۱۵ دقیقه بر روی نوارگردان بدون حرکت قرار گرفتند. در نهایت از آزمون استاندارد بدفورد^۵ (۱۸) جهت تعیین سرعت بیشینه استفاده شد. این آزمون شامل ده مرحله سه دقیقه‌ای بود که رت‌ها با سرعت پنج متر در دقیقه در شیب ۲۵ درجه شروع به دویدن کرده و هر مرحله پنج متر (معادل ۱/۶۷ متر در هر دقیقه) تا زمان رسیدن به واماندگی به سرعت آنان افزوده شد. شاخص واماندگی با ایجاد شوک مکرر یا امتناع رت از دویدن مشخص شد. از حداقل شوک برای تحریک رت‌ها استفاده شد. بر این اساس، سرعت رت‌ها از حدود ۱۱/۵ متر به سرعت ۲۱/۷۰ متر رسید. پروتکل اصلی HIIT پنج روز در هفته به مدت ۱۲ هفته شامل پنج دقیقه گرم کردن و پنج دقیقه سرد کردن با دویدن بر روی نوارگردان با شدت کمتر از ۶۰ درصد سرعت

WAT شبیه به BAT شده و ترموژنز و مصرف انرژی در آن افزایش خواهد یافت (۱۲)، ولی در خصوص اثر ال کارنیتین بر miR-455 و HIF-1 α کمتر شواهدی یافت شده است. از طرفی تمرینات ورزشی نه تنها یک ابزار درمانی برای کاهش عوارض بی‌حرکی مورد تأیید واقع شده (۱۳)، بلکه به‌عنوان محرک غیردارویی در کاهش وزن و عوارض چاقی و تغییر فنوتیپ WAT به بژ و فعال سازی BAT مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این بین، تمرینات تناوبی با شدت بالا^۱ (HIIT) به دلیل اثرات مفید و طولانی‌تر در دوره تمرین و بعد از آن مورد تأکید بیشتری قرار گرفته است (۱۴، ۱۵). تمرینات ورزشی با افزایش فعالیت مسیرهای گوناگونی نظیر فیبرونکتین ۳ دامنه حاوی پروتئین ۱/۵ آیرزین^۳ و AMPK-1 α - γ PPAR/PGC-1 α (۱۶) و کاهش HIF-1 α به واسطه کاهش میزان AT، موجب فعال سازی و تغییر مورفولوژیکی WAT به BAT می‌شود (۱۷)، ولی هنوز تأثیرات فیزیولوژیکی HIIT و ال کارنیتین که به واسطه آنها عملکرد بافت‌های گوناگون با مولکول‌های جدید نظیر microRNA بهبود یابد در حاله‌ای از ابهام قرار دارد. لذا هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر ۱۲ هفته انجام HIIT و مصرف ال کارنیتین بر بیان محور HIF-1 α /UCP1 در رت‌های نر چاق بود، نتایج این مطالعه ممکن است پتانسیل تبیین مکانیسم‌های جدید زیربنایی تنظیم متابولیک را با صرف حداقل هزینه و وقت داشته باشد تا راه را برای استراتژی‌های درمانی نوآورانه چاقی و اختلالات متابولیک برای بهبود فرآیند اکسایش چربی در حین تمرین و بعد از آن، در بافت چربی قهوه‌ای^۴ (BAT) هموار کند.

روش تحقیق

نمونه آماری و روش نگهداری: پژوهش حاضر توسط کمیته اخلاق زیست-پزشکی دانشگاه تبریز بررسی و با شناسه IR.TABRIZU.REC.1401.042 تأیید و ثبت گردید. این پژوهش به روش تجربی در آزمایشگاه حیوانات با ۴۰ سر رت نر ویستار (شش هفته‌ای) با میانگین وزنی 180 ± 12 گرم انجام شد و در نهایت، ۳۶ سر از رت‌ها وارد مرحله نهایی مطالعه شدند. رت‌ها در قفس‌های پلی‌کربنات (سه سر در هر قفس) در شرایط یکسان و مطلوب حیوانات آزمایشگاهی

1. High-intensity interval training

3. Irisin

5. Bedford

2. Fibronectin type III domain-containing protein 5

4. Browne Adipose Tissue

آلودگی فنولی و تعیین غلظت و خلوص RNAهای استخراج شده، اقدام به سنتز cDNA در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از کیت سیگماآلدریچ، آمریکا^۷ شد. برنامه تکثیر ریبونوکلئیک با چرخه زمانی دو دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ چرخه پنج ثانیه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۵ ثانیه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. سپس به کمک پرایمر اختصاصی ژن‌ها و بر اساس آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، اولین رشته از cDNA از روی RNAها کل استخراج شد. در نهایت برای کمی سازی بیان ژن از فرمول $C=2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد. پرایمر ژن miR-455 (ژن هدف) و U6 (ژن مرجع) به‌عنوان کنترل داخلی (لایت سایکلر، آلمان^۸) تعیین و با استفاده از نرم‌افزار اولیگو-۷^۹ طراحی گردید (جدول یک).
بیان پروتئین HIF-1 α با استفاده از روش وسترن بلات^{۱۰}: با استخراج پروتئین‌ها از بافت‌ها و کشیدن منحنی استاندارد و تهیه غلظت‌های مختلف BSA در طول موج ۶۳۰ نانومتر با روش بردفرد انجام شد. سپس پروتئین‌ها در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات^{۱۱} با الکتروفورز تفکیک شد. مرحله بلاکینگ^{۱۲} و جلوگیری از واکنش غیر اختصاصی آنتی بادی اولیه با محلول دو درصد شیر خشک بدون چربی در بافر تریس سالین با توپین^{۱۳} صورت گرفت. بعد از انتقال پروتئین‌ها بر سطح کاغذ پلیمرپلی‌وینیلیدین دی‌فلوراید^{۱۴}، مرحله انکوبه کردن با آنتی بادی اولیه بتا‌کتین^{۱۵} (sc-47778, 1: 300) به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت و جایگزینی آن با آنتی‌بادی‌های HIF-1 α (28b): sc-13515: 1:200 و انکوبه کردن با آنتی بادی ثانویه خرگوش^{۱۶} با غلظت (1:1000) انجام شد و در نهایت، بر روی فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. چگالی باندها با نرم‌افزار دانسیومتری (تصویربرداری جی، آمریکا^{۱۷}) نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲ تعیین شد (شکل سه).

بیشینه، ۱۰ وهله چهار دقیقه‌ای با ۸۵-۹۰ درصد سرعت بیشینه با استراحت فعال دو دقیقه‌ای بین هر وهله معادل ۵۰-۶۰ درصد سرعت بیشینه بر روی نوارگردان بدون شیب بود (۱۵). همچنین هر دو هفته یکبار آزمون تعیین سرعت دویدن رت‌های گروه‌های T و ST در یک روز غیر تمرین گرفته شد تا از شدت یکسان در طول جلسات تمرین جلوگیری شده و بار اضافی اعمال گردد (۱۹).

روش مصرف ال کارنیتین: ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ال کارنیتین مایع (سوسی‌فارم-ایتالیا^۱) در شبانه روز (۲۰) به مدت ۱۲ هفته یک ساعت بعد از تمرین (۲۱) بین ساعت ۱۷-۱۹ در گروه‌های S و ST گاوژ شد. برای گروه‌های C و T نیز محلول آب مقطر ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (۲۲) گاوژ شد.

روش تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی: همه رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و یک شب ناشتایی با استفاده از کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده و بدون درد با گیوتین قربانی شدند. سپس نمونه بافت چربی زیر پوستی ناحیه اینگوینال^۲ (۲۳) برداشته و به میکروتیوب منتقل و در داخل تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده شد و برای ادامه مراحل آنالیز بیوشیمیایی به آزمایشگاه انتقال یافت.

بیان mir-455 با استفاده از Real-Time qPCR: حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه دریافتی با اضافه کردن محلول تریزول^۳ و با استفاده از گرایندر هموژنیزه و در دوره‌های متفاوت با سانتریفیوژ یخچال‌دار (سیگماآلدریچ، آمریکا^۴) سانتریفیوژ شد. سپس رسوب با Dry Bath انجام شد و RNAها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شده تا در آب حل شوند. بعد از آن غلظت نمونه با استفاده از دستگاه نانودراپ^۵ (ترمو، آمریکا^۶) در طول موج ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر خوانده شد. بعد از اطمینان از عدم وجود

جدول ۱. پرایمرهای طراحی شده برای ژن هدف و ژن مرجع

primer name	forward	Reverse
miR-455	GCAGTCCACGGGCATATACACT	5'CACCACTGCCATCCCAC A-3'
U6	5'-CGCTTCGGCAGCACATATACTA-3'	5'-CGCTTCACGAATTTGC G TGTC A-3'

- So.Se PHARM, Italy
- Inguinal
- Triazole
- Sigma-Aldrich, USA
- Nano Drop
- Thermo, USA
- Sigma Aldrich, USA

- Light Cycler 96, German
- Oligo-7
- Western blot
- Sodium dodecyl sulfate
- Blocking
- Tris-Buffered Saline with Tween 20
- Polyvinylidene difluoride

- β -actin
- Anti Rabbit
- Image J, Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

آماري با نرم‌افزار SPSS₂₆ در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ انجام شد. رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel 2007 صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد که توزیع وزن تمامی رت‌ها در ابتدای مطالعه طبیعی است ($p = 0/13$)، همچنین آزمون t وابسته نشان داد که وزن تمامی رت‌ها در پایان هشت هفته مصرف غذای پرچرب نسبت به ابتدای مطالعه افزایش یافته است ($F_{(3,32)} = 109/65$, $p = 0/001$) (شکل ۱- A). پس از تقسیم تصادفی رت‌ها به چهار گروه و مداخلات مربوطه، اختلاف معنی‌داری بین وزن گروه‌ها مشاهده شد ($p < 0/05$)، $F_{(3,32)} = 12/41$)، که در این بین، وزن گروه T ($p = 0/003$) و ST ($p = 0/001$) نسبت به گروه C؛ و گروه T ($p = 0/002$) و ST ($p = 0/001$) نسبت به گروه S کاهش معنی‌داری داشتند؛ اما گروه ST ($p = 1/00$) نسبت به T و گروه S ($p = 1/00$) نسبت به گروه C، تغییرات معنی‌داری نداشتند. همچنین نتایج نشان از وزن کمتر گروه S نسبت به گروه C و گروه ST نسبت به گروه T در پایان پژوهش داشت (شکل ۱- B).

اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در بیان ژن miR-455 مشاهده شد ($F_{(3,32)} = 45/92$, $p < 0/05$)، در این میان، گروه T نسبت به گروه C کاهش معنی‌دار ($p = 0/001$) و گروه S نسبت به گروه C افزایش معنی‌دار ($p = 0/001$) داشتند؛ اما گروه ST نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری ($p = 0/007$) نداشت. همچنین اختلاف بین سایر جفت گروه‌ها معنی‌دار داشت ($p = 0/001$)، (جدول و شکل دو). از طرفی، نتایج بیان HIF-1 α حاکی از وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها بود ($F_{(3,32)} = 69/00$, $p < 0/05$) به گونه‌ای که گروه‌های T ($p = 0/001$)، S ($p = 0/001$) و ST ($p = 0/001$) نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشتند؛ همچنین بین سایر جفت گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p = 0/001$)، اما بین گروه T نسبت به گروه S اختلاف معنی‌داری ($p = 1/00$) مشاهده نشد (جدول دو، شکل سه)، همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در بیان پروتئین UCP1 مشاهده شد ($F_{(3,32)} = 152/72$, $p < 0/05$)، به طوری که همه گروه‌ها نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشتند ($p = 0/001$)، اما بین گروه T نسبت به گروه ST اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p = 0/08$). این در حالی بود که میانگین گروه T نسبت

تصویر برداری و شمارش UCP1 با استفاده از روش ایمنوفلورانس: نمونه‌های WAT تعبیه‌شده در پارافین با استفاده از میکروتوم^۱ با پنج میکرومتر برش داده شده و بر روی لام‌های شیشه‌ای نصب شدند. سپس لام‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق با پلی‌اتیلین‌آمین پوشانیده و در نهایت با H₂O استریل شستشو داده شد. بعد از خشک شدن کامل لام‌ها زیر نور UV حداقل به مدت چهار ساعت استریل برای مدت کوتاهی در بافر سالین فسفات^۲ شستشو داده شد. جهت تثبیت از پارافورمالدئید چهار درصد در PBS pH 7.4 به مدت ده دقیقه در دمای اتاق استفاده شد، سپس سلول‌ها سه بار با PBS سرد شسته شد. جهت رنگ آمیزی، لام‌ها با یک درصد BSA، ۲۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر گلیسین PBST به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند تا اتصال غیر اختصاصی آنتی بادی‌ها مسدود شود و در آنتی بادی (sc-293418) UCP1 رقیق شده یک درصد با BSA شسته، سپس با آنتی بادی ثانویه انکوبه و سه بار با PBS به مدت پنج دقیقه در تاریکی شستشو شد و در ۱٪ تریتون X نفوذ پذیر شده و در آلبومین پلاسمای گاو سه درصد در PBS انکوبه شدند. در نهایت، لام‌ها شستشو و ورقه‌ها برای جلوگیری از خشک شدن در زیر میکروسکوپ با لاک ناخن روکش شده و در تاریکی در دمای ۲۰- تا ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری و تصاویر با استفاده از میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار Image J v1.42q از هر نمونه گرفته و شمارش شد. سپس یک نمونه از هر گروه به صورت تصادفی و دستی جهت صحت سنجی بازشمارش شد تا اطمینان لازم از تصاویر و مقادیر UCP1 بدست آید (شکل چهار و پنج).

روش‌های آماری: برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۳، بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون^۴ و برای توصیف داده‌ها از میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. برای بررسی درون گروهی داده‌ها از آزمون t وابسته استفاده شد. داده‌های خام UCP1 بدست آمده با ایمنوفلورانس با روش فولد چنج^۵ به صورت نسبی با گروه C محاسبه شد. در نهایت، آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و از آزمون تعقیبی بونفرونی^۶ برای تعیین جایگاه معنی‌داری استفاده شد. کلیه روش‌های

1. Microtome
2. Phosphate-Buffered saline

3. Shapiro-Wilk
4. Levene

5. Fold change
6. Bonferroni

یافته‌تر نیست و با توجه به مصرف انرژی کمتر در این گروه، وزن بیشتری نسبت به گروه T ثبت شد (شکل B-۱)، همچنین انسجام بافتی کمتری نسبت به گروه T داشتند (شکل D-۵).

تصویر گروه ST نشان داد که نسبت به گروه C و S ضمن افزایش تعداد سلول چربی قهوه‌ای، تمرین باعث کاهش حجم سلول‌های چربی شده و سلول‌های چند حفره‌ای با حجم کمتر را به وجود می‌آورد. مویرگ‌ها در آنها افزایش یافته و قطرشان بزرگ‌تر شده و در ارتباط بیشتری با سلول بوده که موجب دفع گرما از طریق خون خواهد شد. هسته‌ها و میتوکندری‌ها بیشتر و بزرگ‌تر شده که ضمن افزایش حجم سیتوپلاسم، حاکی از فعالیت بیشتر سلول BAT و بڑ است و مصرف انرژی در آنها افزایش یافته است که تغییرات نشان از حالت کاتابولیک ناشی از تمرین و مصرف کارنیتین دارد و با کاهش وزن ثبت شده همسو است (شکل B-۱)، از طرفی این تغییرات نشان از شکل‌گیری UCP1 با درصد بیشتر نسبت به گروه C دارد و تصاویر حاکی از انسجام بافتی بیشتر نسبت به گروه S است، اما در مقایسه با گروه T، انسجام بافتی کمتری مشاهده شد (شکل E-۵).

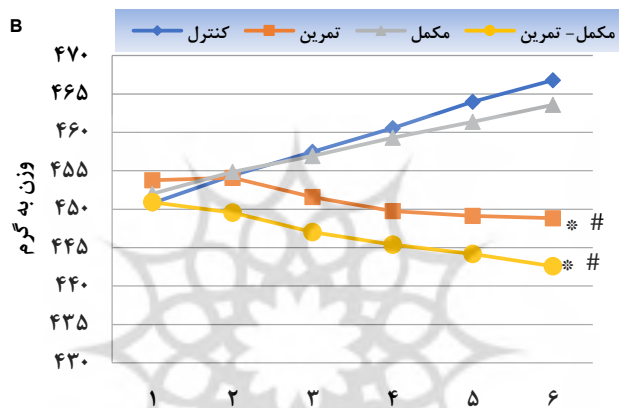
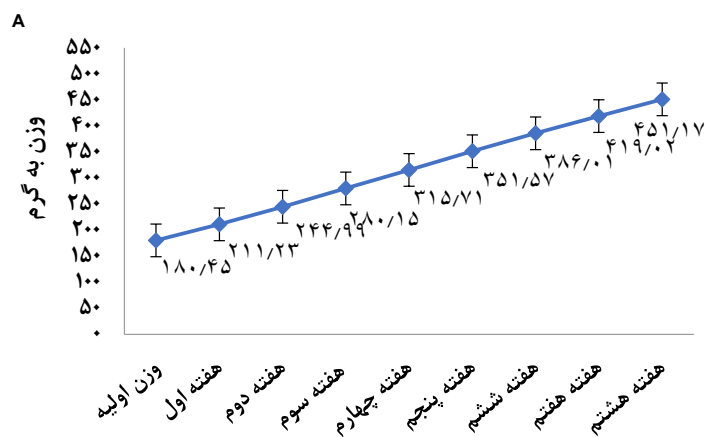
بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که HIIT منجر به کاهش سطح بیان miR-455 نسبت به گروه C، S و ST می‌شود. با توجه به محدودیت در پژوهش‌های مرتبط با miR-455 و مداخلات ورزشی، به بررسی نقش miR-455 با عوامل مرتبط با قهوه‌ای شدن AT پرداخته می‌شود. ژانگ و دیگران (۲۰۱۵) در پژوهشی با عنوان تنظیم چربی‌زایی قهوه‌ای miR-455 از طریق فرآیند HIF1 α /AMPK/PGC1 α ، نشان داده‌اند miR-455 یک تنظیم کننده کلیدی مثبت قهوه‌ای و بڑ است. با افزایش miR-455 در مسیر خود ضمن

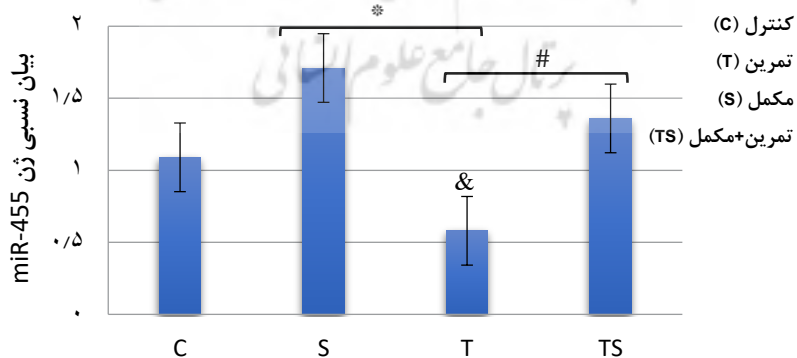
به گروه ST بالاتر بود (شکل چهار). بررسی تصاویر ایمونوفلورانس و ویژگی‌های AT گروه‌های مختلف نشان داد که گروه C حاوی سلول‌های چربی سفید با قطرات چربی بزرگ و با ماتریکس حباب مانند ناشی از تجمع چربی است و این که واکوئل خالی نشان از سلول چربی بزرگ‌تر دارد. هسته‌ها کوچک بوده و سلول‌ها میتوکندری کمتری دارند که به سمت خارج سلول رانده شده است. مویرگ‌های کوچک و با دانسیته کم مشاهده می‌شود که حاکی از فعالیت بسیار کم سلول AT است. همچنین سیتوپلاسم فشرده‌تر نشان از حجم بالای سلول چربی داشت و از هم گسیختگی غشاء در آن دیده می‌شود که این موارد نشان از تغییرات پاتولوژیک در سلول چربی دارد (شکل A-۵) و با افزایش وزن همسو است (شکل B-۱). از طرفی، تصویر گروه T نشان می‌دهد که ضمن افزایش تعداد سلول چربی قهوه‌ای و بڑ باعث کاهش حجم سلول‌های چربی نسبت به گروه C شده و سلول‌های چند حفره‌ای با حجم کمتر را به وجود می‌آورد. مویرگ‌ها در آن افزایش یافته و قطرشان بزرگ‌تر شده و در ارتباط بیشتری با سلول بوده که موجب دفع گرما از طریق خون خواهد شد. از طرفی، هسته‌ها و میتوکندری‌ها بیشتر و بزرگ‌تر شده که ضمن افزایش حجم سیتوپلاسم حاکی از فعالیت بیشتر سلول چربی بڑ و افزایش مصرف انرژی دارد که با کاهش وزن ثبت شده همسو است (شکل B-۱)، همچنین تمرین باعث انسجام بافتی بالاتر و غشاء یکنواخت شد که تغییرات منفی بر اثر چاقی را خنثی می‌کند (شکل B-۵). تصویر گروه S نشان می‌دهد که نسبت به سلول‌های AT، گروه C تکامل بیشتری یافته و سلول‌ها با قطرات چربی کوچکتر و سیتوپلاسم وسیع‌تری مشاهده می‌شود. ضمن آن که هسته‌ها و میتوکندری‌ها بیشتر شده و مویرگ‌ها با قطر بیشتر دیده می‌شود، اما نسبت به گروه T تکامل

جدول ۲. توصیف (انحراف معیار \pm میانگین) متغیرها در چهار گروه پژوهش

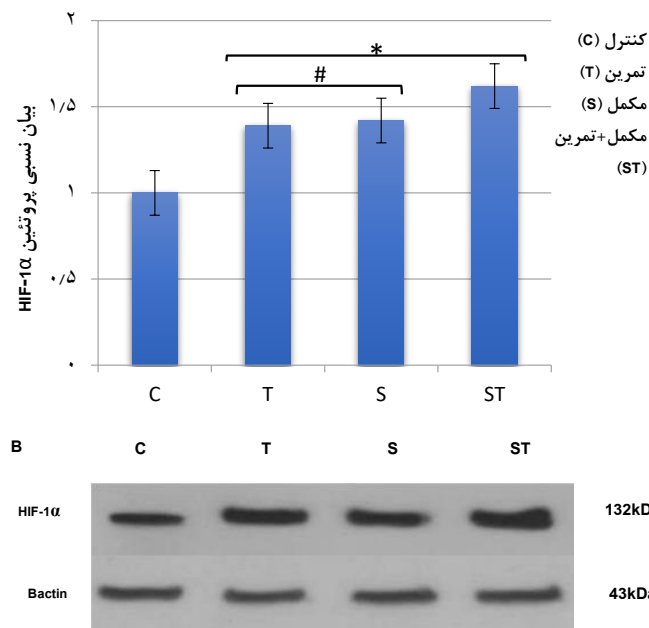
متغیرها گروه‌ها	miR-455 (میکروگرم/میلی لیتر)	HIF-1 α (میکروگرم/میلی لیتر)	UCP1 (تعداد/میکرومتر)
کنترل (C)	۱/۰۹ \pm ۰/۳۲	۱/۰ \pm ۰/۰۰	۱/۰ \pm ۰/۰۰
مکمل (S)	۱/۷۱ \pm ۰/۲۲	۱/۴۲ \pm ۰/۳۸	۱/۸۵ \pm ۰/۳۰
تمرین (T)	۰/۵۸ \pm ۰/۱۳	۱/۳۹ \pm ۰/۱۲	۲/۸۰ \pm ۰/۲۲
مکمل + تمرین (ST)	۱/۳۶ \pm ۰/۰۰	۱/۶۲ \pm ۰/۱۳	۲/۵۶ \pm ۰/۱۱



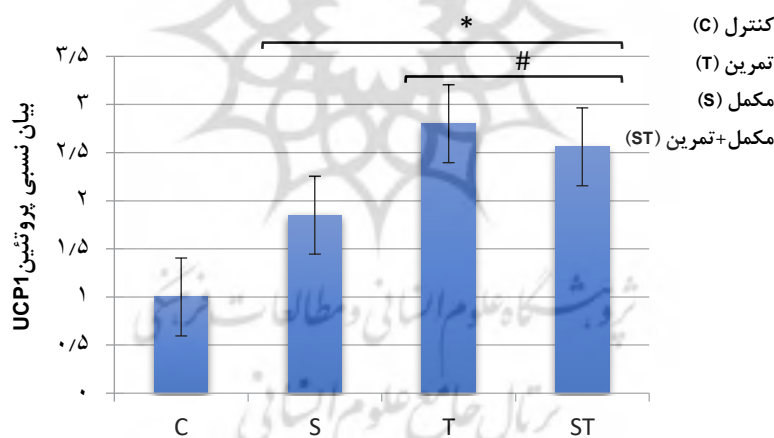
شکل ۱- (A) میانگین وزن رت‌ها در دوره چاقی (هر هفته). (B) میانگین وزن رت‌ها در دوره تمرین (هر دو هفته یک بار). * نشانه تفاوت معنی‌دار گروه‌های تمرین و مکمل+تمرین نسبت به گروه کنترل؛ # نشانه تفاوت معنی‌دار گروه‌های تمرین و تمرین+مکمل نسبت به گروه مکمل؛ سطح معنی‌داری $p < 0.05$.



شکل ۲. مقایسه تغییرات بیان ژن miR-455 بین گروه‌های شرکت کننده؛ * نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ # نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه مکمل؛ & نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه مکمل+تمرین؛ سطح معنی‌داری $p < 0.05$.



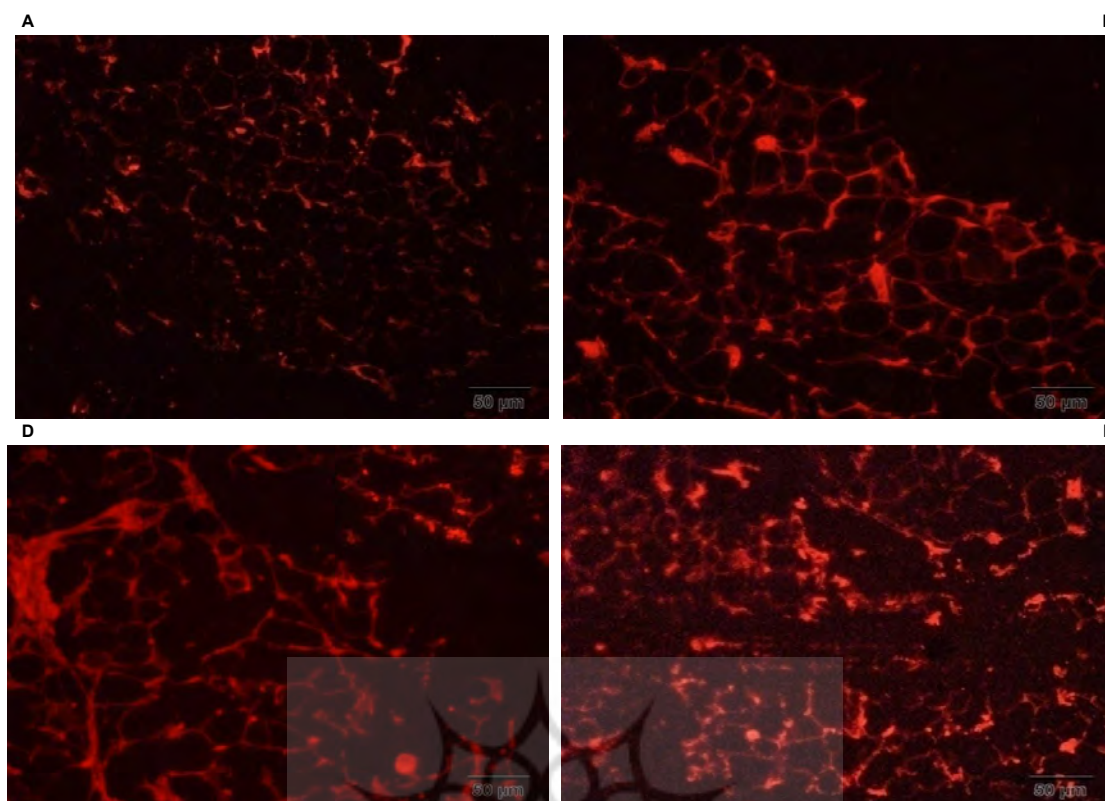
شکل ۳. اثر چاقی، HIIT و تعامل با مکمل بر بیان پروتئین HIF-1α با روش وسترن بلات و مقادیر کمی شده آن (بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر). (A) مقادیر کمی شده و مقایسه بیان پروتئین HIF-1α و بتاآکتین به عنوان کنترل داخلی. (B) تصاویر وسترن بلات HIF-1α و بتاآکتین به عنوان کنترل داخلی. * نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل؛ # نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه مکمل+تمرین؛ سطح معنی داری $p < 0.05$.



شکل ۴. مقایسه تغییرات بیان پروتئین UCP1 با روش ایمونوفلورانس. * نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل؛ # نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه مکمل؛ سطح معنی داری $p < 0.05$.

لیپولیز می شود که ناهمسو پژوهش حاضر است. یکی از علل تفاوت در میزان بیان ژن miR-455 عدم استفاده از تمرینات ورزشی در پژوهش ژانگ و دیگران (۲۰۱۵) بود. همچنین آن ها نشان دادند که به طور کلی بیان بیش از حد miR-455 در پیش آدیپوسیت های قهوه ای و سفید باعث تمایز سلولی، افزایش تجمع لیپید و بیان ژن های چربی زایی

مهار Necdin و ران کس 1t1 باعث مهار HIF-1α شده و منجر به کاهش هیدروکسیلاسیون Asn173 روی پروتئین AMPK-1α می شود و در نتیجه، آن را فعال می کند. این امر از یک طرف منجر به افزایش بیان PGC1α، PPAR-γ، بیوژنز میتوکندری و افزایش تعداد UCP1 شده و از سوی دیگر، موجب بیان ژن های دخیل در تحرک اسیدهای چرب و



شکل ۵. تصاویر UCP1 در بافت چربی با روش ایمنوفلورانس: (A) گروه کنترل (C)، (B) گروه تمرین (T)، (D) گروه مکمل (S) و (E) گروه مکمل + تمرین (ST)

این موضوع باید منجر به کاهش UCP1 و فعالیت آن شود، ولی نتایج ایمنوفلورانس نشان از افزایش فعالیت و تعداد UCP1 داشت که این تغییرات حاکی از فعالیت مسیره‌های تعاملی دیگری برای افزایش UCP1 می‌باشد. پژوهش‌های گذشته به افزایش فعالیت مسیره‌های مؤثر دیگری همچون میوکاین‌های عضله ناشی از تمرینات ورزشی نظیر آیریزین (۱۶) و مسیر سیستم عصبی مرکزی و نوراپی‌نفرین^۴ متصل به رسپتورهای بتا۱درنرژیک^۵ سلول‌های چربی اذعان داشته‌اند (۲۶)، بر این اساس در مطالعه حاضر مقادیر بدست آمده از UCP1 حاکی از افزایش معنی‌دار آن نسبت به گروه‌های C و S دارد.

یافته‌های این پژوهش همچنین نشان داد که تجویز ۱۲ هفته‌ال-کارنیتین باعث افزایش معنی‌دار miR-455 نسبت به T و ST می‌شود. در پژوهشی همسو اوزاکی و دیگران (۲۰۱۱) به بررسی اثر کارنیتین بر فعال سازی UCP1 پرداخته و بیان کردند که کارنیتین برای قهوه‌ای شدن WAT ضروری است. از طرفی کاهش فعالیت BAT منجر به کاهش حجم میتوکندری

و قهوه‌ای در بافت چربی زیر پوستی مغبنی^۱ شده و ضمن افزایش حداکثر ظرفیت گرمایی، موجب بهبود مقاومت به سرما، حساسیت به انسولین، تحمل گلوکز و افزایش کمتر وزن در رژیم غذایی پرچرب و نیم‌رخ چربی بهتر می‌شود. علاوه بر این، در رت‌هایی که miR-455 مهار شد، جرم BAT و بیان UCP1 کاهش یافت، PGC1 α و γ -PPAR در BAT و پروتئین اتصال دهنده تقویت کننده آلفا^۲ در scWAT سرکوب شدند (۵)، همچنین در مطالعه مروری قسمتی و دیگران (۲۰۲۴) ضمن بررسی انواع میکروریبونوکلئیک دخیل در بافت چربی، miR-455 را جزء اصلی در بیان هر دو نوع BAT و بژ می‌دانند که در فعالسازی UCP1 نقش مهمی دارد (۲۴). در مطالعه دیگری توسط کای^۳ و دیگران (۲۰۱۶) عنوان شد که UCP1 هدفی برای miR-455 در طی تمایز چربی‌زایی در پیش سلول‌های چربی 3T3-L1 است (۲۵). با توجه به نتایج تحقیقات یاد شده و عدم وجود مطالعه با تأثیر تمرینات ورزشی بر miR-455 و نتایج مطالعه حاضر، می‌توان بیان کرد که HIIT باعث کاهش miR-455 شده و

1. Subcutaneous white adipose tissue EBPA
2. CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/ 3. Cai

4. Norepinephrine
5. β -adrenergic receptors

ناشی از چاقی و هیپوکسی به وجود آمده در پی افزایش حجم سلول‌های چربی و کاهش حجم عروق مقابله کند (۱۷). از طرفی، در پژوهش ژانگ و دیگران (۲۰۱۵) مشخص شد مهار HIF-1 α توسط miR-455، باعث افزایش فعالیت AMPK-1 α و افزایش بیان PGC1 α ، بیوژنز میتوکندری و بیان ژن‌های دخیل در تحرک اسیدهای چرب و لیپولیز می‌شود (۵). در پژوهش پهلوانی و دیگران (۲۰۱۸)، گزارش گردید که HIF-1 α به‌عنوان یک هدف میانی بین miR-455 و Notch1 عمل می‌کند، با بیان miR-455، بیان Notch1 کاهش یافته و به نوبه خود منجر به قهوه‌ای شدن WAT و افزایش UCP1 می‌شود. علاوه بر این، miR-455 با کاهش Tgfb3 و Smad2/3 (یکی از اعضای مسیر پایین دست)، منجر به افزایش مصرف انرژی و بهبود نیم‌رخ متابولیک می‌شود (۲۹). همچنین افزایش HIF-1 α در گروه‌های S و ST نسبت به گروه C ممکن است ناشی از چاقی یا تغییر فنوتیپ سلول و افزایش فعالیت UCP1 با مصرف کارنیتین و یا هیپوکسی ناشی از تمرین باشد (۶، ۱۷)، از طرفی افزایش HIF-1 α در گروه ST بیشتر مشهود بود که ممکن است از اثرات تعامل تمرین و ال-کارنیتین باشد.

نتایج پژوهش حاضر و تصاویر بدست آمده از ایمونوفلورانس AT رت‌های گروه S نسبت به گروه C نشان از افزایش تعداد UCP1 داشت، اگر چه تعداد میتوکندری کمتری مشاهده شد و به نظر فعال شدن بیشتر آن نیاز به زمان طولانی‌تری دارد که این موضوع با مصرف انرژی بیشتر توسط UCP1 و افزایش وزن کمتری نسبت به گروه C نمایان شد. پژوهش اوزاکی و دیگران (۲۰۱۱) نشان داد که کارنیتین برای قهوه‌ای شدن AT و فعال سازی UCP1 ضروری است، همچنین با مصرف کارنیتین اسیدهای چرب با زنجیره بلند در دسترس میتوکندری قرار گرفته و از تجمع آن در اندامها جلوگیری به‌عمل می‌آورد و این موضوع می‌تواند در کاهش وزن نقش داشته باشد (۱۲). همچنین در پژوهش نظری و دیگران (۲۰۱۶ و ۲۰۲۳) مشخص شد که تغییرات microRNA با پاتوژنز ناشی از چاقی ارتباط داشته و رت‌های چاق تغذیه شده با غذای پرچرب و دریافت کننده ال کارنیتین، وزن کمتری نسبت به گروه C دارند (۲۷، ۲۰) که همسو با پژوهش حاضر است. در پژوهش حاضر تصاویر ایمونوفلورانس گروه T نسبت به

و افزایش میزان لیپید درون واکوئل‌های سلول چربی شده و در نتیجه، سطح بیان UCP1 کاهش یافته و با مصرف کارنیتین سطح بیان UCP1-mRNA افزایش می‌یابد. اگر میزان کارنیتین در سلول‌ها کاهش یابد انتقال اسیدهای چرب با زنجیره طولانی برای فرآیند بتااکسیداسیون با اختلال مواجه شده و به میوپاتی و هیپاتومگالی منجر می‌شود، اما تجویز کارنیتین باعث بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی BAT مانند افزایش حجم میتوکندری و افزایش UCP1 می‌شود (۱۲). همچنین در پژوهش نظری و دیگران (۲۰۱۶؛ ۲۰۲۳) که با هدف افزایش فعالیت چربی سوزی و بررسی تغییرات 27 و miR-143 به همراه مکمل ال کارنیتین و هشت هفته غذای پر چرب در رت‌های نر انجام شد، مشخص شد که miR-27 کاهش یافته و miR-143 افزایش دارد و در نهایت بیان کردند که چاقی و پاتوژنز ناشی از آن می‌تواند با عوامل غذایی و مکمل ال کارنیتین تعدیل شود (۲۰، ۲۷). به‌طور همسو با پژوهش حاضر، UCP1 در گروه S نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشت، همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تعامل ال-کارنیتین و HIIT در کنار هم موجب افزایش غیرمعنی‌دار miR-455 در گروه ST نسبت به گروه C می‌شود و ممکن است مصرف ال کارنیتین عاملی برای جلوگیری از کاهش بیشتر miR-455 ناشی از تمرین باشد. از طرفی، این تعامل باعث افزایش UCP1 نسبت به گروه C و S شد، ولی میانگین پایین‌تری نسبت به گروه T داشت.

در پژوهش حاضر، HIF-1 α در گروه‌های T، S و ST نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری داشت. در پژوهشی همسو ساکورای^۱ و دیگران (۲۰۱۰) رت‌های نر چاق را به مدت نه هفته برای تمرین روی نوارگردان قرار دادند و در نهایت مشخص شد که HIF-1 α در سلول چربی استرومایی افزایش یافته و تمایز سلول‌های چربی را کاهش می‌دهد (۲۸). در پژوهشی لی^۲ و دیگران (۲۰۲۱) عنوان کردند که رت‌های دریافت کننده غذا با ۶۰ درصد چربی و انجام تمرین روی نوارگردان با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۱۲ هفته، ضمن کاهش WAT میزان بیان ژن HIF-1 α نیز کاهش می‌یابد. یکی از علت‌های کاهش HIF-1 α ممکن است شدت پایین تمرین نسبت به پژوهش حاضر باشد. همچنین آنها بیان کردند که با افزایش حجم و تعداد سلول‌های چربی، HIF-1 α افزایش می‌یابد تا با التهاب

از فعالیت و کنش مسیرهای دیگری بر تبدیل WAT به BAT دارد و در کنار مصرف کالری ناشی از تمرین، باعث کاهش وزن می‌شود. همچنین تعامل مکمل ال کارنیتین با HIIT ضمن افزایش miR-455 و HIF-1 α ، باعث فعال‌سازی UCP1 و افزایش مصرف کالری و کاهش وزن شد، در نتیجه فعال‌سازی UCP1 و مصرف کالری ناشی از HIIT و تعامل آن با مکمل ال کارنیتین برای مقابله با چاقی مفید است و شواهد امیدوارکننده‌ای برای ترویج قهوه‌ای شدن WAT ارائه می‌دهد. اگر چه این جزء اولین پژوهش‌ها در بررسی اثر همزمانی HIIT و ال کارنیتین بر بیان miR-455، HIF-1 α و UCP1 است و تنظیم BAT توسط عوامل رژیم غذایی و تمرینی تا حد زیادی در سطح مکانیکی و مولکولی ناشناخته باقی مانده است. این امر نیازمند تحقیقات بیشتر با انواع پروتکل‌های تمرینی و استفاده از دوزهای متفاوت کارنیتین برای روشن‌تر شدن موضوع است تا فرآیند استفاده از این روش‌ها برای کنترل و یا کاهش وزن در انسان فراهم گردد.

تعارض منافع

هیچ تضادی بین کلیه نویسندگان در منافع این پژوهش وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

نویسندگان از آزمایشگاه تحقیقاتی سارا تشکر می‌کنند.

گروه‌های C و S نشان از افزایش تعداد میتوکندری و فعالیت بیشتر UCP1 داشت که منجر به مصرف انرژی بیشتر و کاهش وزن شد، زیرا نه تنها انجام HIIT موجب افزایش مصرف انرژی در دوره‌های تمرینی و بعد از آن شده (۱۴)، بلکه مصرف انرژی بیشتر در UCP1 نیز عاملی مؤثر برای کنترل و کاهش وزن است (۱۲). نتایج تصاویر ایمونوفلورانس گروه ST نسبت به گروه‌های C و S نشان داد که تعامل ال کارنیتین در کنار تمرین ضمن افزایش فعالیت UCP1، BAT، بیشتر در حال شکل‌گیری است و می‌تواند باعث افزایش مصرف انرژی در حین تمرین و بعد از آن شود. همسو با این وزن گروه ST نسبت به گروه‌های C و S نیز کاهش معنی‌دار، اما نسبت به گروه T کاهش غیرمعنی‌داری داشت. در پژوهش ساکورای و دیگران (۲۰۱۰) و خلفی و دیگران (۲۰۲۰) که همسو با پژوهش حاضر است، مشخص شد که فعال شدن UCP1 در کنار مصرف انرژی حاصل از تمرین، موجب کاهش و کنترل وزن می‌شود (۱۵، ۲۸).

نتیجه‌گیری: مکمل ال کارنیتین باعث افزایش miR-455، HIF-1 α و UCP1 شد، ولی تأثیری بر وزن نداشت. HIIT اثر کاهشی و معکوسی بر miR-455 داشت که این موضوع باید منجر به کاهش UCP1 می‌شد، ولی نتایج بدست آمده در این گروه ضمن تأکید بر افزایش فعالیت UCP1 نشان

منابع

1. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity. *Physiological Reviews*. 2013;93(1):359-404. <https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2011>
2. Gesta S, Kahn CR, JATb. White adipose tissue. In Michael E, editor. *Adipose tissue biology*. Switzerland AG Springer Nature. 2017. p. 149-99. https://doi.org/10.1007/978-3-319-52031-5_5
3. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*. 2004;84(1):277-359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>
4. Gharanei S, Shabir K, Brown JE, Weickert MO, Barber TM, Kyrou I, et al. Regulatory microRNAs in brown, brite and white adipose tissue. *Cells*. 2020;9(11):2489. <https://doi.org/10.3390/cells9112489>
5. Zhang H, Guan M, Townsend KL, Huang TL, An D, Yan X, et al. Micro RNA-455 regulates brown adipogenesis via a novel HIF 1 α -AMPK-PGC1 α signaling network. *EMBO Reports*. 2015;16(10):1378-93. <https://doi.org/10.15252/embr.201540837>
6. Marcondes RR, Maliqueo M, Fornes R, Benrick A, Hu M, Ivarsson N, et al. Exercise differentially affects metabolic functions and white adipose tissue in female letrozole-and dihydrotestosterone-induced mouse models of polycystic ovary syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2017;448:66-76. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.03.025>

7. Almeida MI, Reis RM, Calin GAJMRF, Mutagenesis MMo. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2011;717(1-2):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.009>
8. Guerra C, Koza RA, Yamashita H, Walsh K, Kozak LPJTJoci. Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *The Journal of Clinical Investigation*. 1998;102(2):412-20. <https://doi.org/10.1172/jci3155>
9. Brondani Lda, Assmann TS, Duarte GCK, Gross JL, Canani LH, Crispim DJABde, et al. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2012;56:215-25. <https://doi.org/10.1590/s0004-27302012000400001>
10. Knudsen JG, Murholm M, Carey AL, Biensø RS, Basse AL, Allen TL, et al. Role of IL-6 in exercise training-and cold-induced UCP1 expression in subcutaneous white adipose tissue. *PloS One*. 2014;9(1):e84910. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084910>
11. Bonet ML, Oliver P, Palou AJBeBA-M, Lipids CBo. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. (BBA)-*Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2013;1831(5):969-985. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.12.002>
12. Ozaki K, Sano T, Tsuji N, Matsuura T, Narama IJLi. Carnitine is necessary to maintain the phenotype and function of brown adipose tissue. *Nature Laboratory Investigation*. 2011;91(5):704-10. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2011.6>
13. Yaghoubi Z, Naghibi S, Vatandoust MJJoPSoBiS. Comparison of the effect of eight weeks of different aerobic training methods on the expression of angiostatic genes TSP-2 and TGF- β in the subcutaneous adipose tissue of rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2024;12(30):28-40. [In Presian]. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.5881.1753>
14. Amirsasan R, Khodaei O, Vakili JJJoAHSiSP. Effect of high intensity interval training (HIIT) and aerobic continuous training on lipid profile, physiological indicators and aerobic and anaerobic performance in sedentary male. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2017;4(1):28-36. [In Presian]. <https://doi.org/10.22049/jassp.2019.26482.1193>
15. Khalafi M, Mohebbi H, Symonds ME, Karimi P, Akbari A, Tabari E, et al. The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. *Nutrients*. 2020;12(4):925. <https://doi.org/10.3390/nu12040925>
16. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-468. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
17. Li L, Wei Y, Fang C, Liu S, Zhou F, Zhao G, et al. Exercise retards ongoing adipose tissue fibrosis in diet-induced obese mice. *Endocrine Connections*. 2021;10(3):325-335. <https://doi.org/10.1530/EC-20-0643>
18. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CVJJoAP. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of Applied Physiology*. 1979;47(6):1278-83. <https://doi.org/10.1152/jappl.1979.47.6.1278>
19. Nazari M, Saberi A, Karandish M, Neisi N, Jalali MT, Makvandi M. Influence of L-carnitine on the expression lev-

- el of adipose tissue miRNAs related to weight changes in obese rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2016;19(5):227-32. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2016.227.232>
20. Tartibian B, Rezaei B, Tayebi M. The effect of HMB-FA supplementation on hormonal responses and recovery of elite wrestlers during the simulated wrestling protocol. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2022;10(24):8-21. [In Presian]. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4451.1650>
21. Derin A, Agirdir B, Derin N, Dinc O, Güney K, Ozcaglar H, et al. The effects of l-carnitine on presbycusis in the rat model. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*. 2004;29(3):238-241. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2273.2004.00790.x>
22. Hoffmann LS, Etzrodt J, Willkomm L, Sanyal A, Scheja L, Fischer AW, et al. Stimulation of soluble guanylyl cyclase protects against obesity by recruiting brown adipose tissue. *Nature Communications*. 2015;6(1):7235. <https://doi.org/10.1038/ncomms8235>
23. Ghesmati Z, Rashid M, Fayezi S, Gieseler F, Alizadeh E, Darabi M. An update on the secretory functions of brown, white, and beige adipose tissue: Towards therapeutic applications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. 2024;25(2):279-308. <https://doi.org/10.1007/s11154-023-09850-0>
24. Cai Z, Liu J, Bian H, Cai J, Guo XJDP. MiR-455 enhances adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells through targeting uncoupling protein-1. *Die Pharmazie*. 2016;71(11):625-6288. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.09.015>
25. Collins SJFie. β -adrenoceptor signaling networks in adipocytes for recruiting stored fat and energy expenditure. *Frontiers in Endocrinology*. 2012;2:102. <https://doi.org/10.3389/fendo.2011.00102>
26. Nazari M, Jalili M, As'habi AJOR, Practice C. Conjugated linoleic acid and L-carnitine combination effects on obesity-related miRNAs in diet-induced obese rats. *Obesity Research & Clinical Practice*. 2023;17(5):378-82. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2023.08.004>
27. Sakurai T, Endo S, Hatano D, Ogasawara J, Kizaki T, Oh-ishi S, et al. Effects of exercise training on adipogenesis of stromal-vascular fraction cells in rat epididymal white adipose tissue. *Acta Physiologica*. 2010;200(4):325-338. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2010.02159.x>
28. Pahlavani M, Wijayatunga NN, Kalupahana NS, Ramalingam L, Gunaratne PH, Coarfa C, et al. Transcriptomic and microRNA analyses of gene networks regulated by eicosapentaenoic acid in brown adipose tissue of diet-induced obese mice. *(BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2018;1863(12):1523-1531. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.09.004>