

Research Paper

Effect of Endurance Training on Gene Expression of Homeobox C8 and Homeobox C9 in Adipose Tissue of Male Wistar Rats**S. Daneshyar¹, M.R. Kordi², S. Afshari³, M. Kadivar⁴**

1. Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Humanities, University of Ayatollah Aozma Boroujerdi, Boroujerd (Corresponding Author)
2. Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Master of Science, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Associate Professor, Department of Biochemistry, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

Received: 2017/04/17**Accepted: 2017/10/17****Abstract**

Homeobox C8 (HOXC8) and Homeobox C9 (HOXC9) are hemoproteins involving in white adipose tissue (WAT) development. The current study aimed to investigate the effect of endurance training on gene expression of HOXC8 and HOXC9 in subcutaneous WAT. For this, 16 Wistar rats (8 weeks old, an average of 210 gram) were divided into 1) control (n=8), and 2) endurance training (n=8) groups. The subjects of the training group underwent continuous endurance training (by the average speed of 25 m/min; the average duration of 25 min) on the treadmill for eight weeks (5 sessions per week). Real-time PCR was used to measure the gene expression of subcutaneous tissue. Data showed that uncoupling protein 1 (UCP1) expression was significantly higher in the trained group than control ($P=0.018$). However, the gene expression of HOXC8 and HOXC9 was not significantly different between trained and control groups ($P_{\text{hoxc8}}=0.36$; $P_{\text{hoxc9}}=0.52$). The results of the present study indicated that the endurance training did not change the gene expression of HOXC8 and HOXC9 in subcutaneous WAT, likely representing that the endurance training could not change the features regarding to whitening and browning of WAT.

Keywords: Exercise Training, Browning of White Adipose Tissue, Homeoprotein

1. Email: s.daneshyar@yahoo.com

2. Email: mrkordi@ut.ac.ir

3. Email: s_afshari86@yahoo.com

4. Email: kadivar@pasteur.ac.ir

Extended Abstract

Background and Purpose

Browning of white adipose tissue (WAT) plays an essential role in energy expenditure and, thus, in protection against obesity (1). Homeobox C8 (HOXC8) as a white-fat regulatory factor and homeobox C9 (HOXC9) as a brite-fat regulatory factor are complicated in gene expression related to the browning of WAT (2).

Although the role of exercise training on the expression of uncoupling protein 1 (UCP1) and browning of WAT has been established (3), the effect of exercise training on HOXC8 and HOXC9 has not yet been determined. This study aimed to investigate the effect of endurance training on gene expression of HOXC8 and HOXC9 in subcutaneous in WAT.

Methods

Sixteen male Wistar rats (eight weeks old) were used as study subjects. The rats were randomly assigned into 1) control (n=8), and 2) endurance training (n=8) groups.

The rats of the endurance training group were subjected to aerobic training for eight weeks (five sessions per week). The aerobic training was done as a continuous running protocol on a rodent treadmill at 0% inclination. The training load was progressively increased from 20 min per session at 15 m/min in the first week to 35 min at 30 m/min in the last week of the protocol. The animals were euthanized 48 h after the last session of exercise training to avoid exercise-related acute effects.

After fasting overnight, the animals were euthanized, and the subcutaneous (inguinal) WAT depots were quickly dissected out.

Relative gene expression of UCP1, HOXC8, and HOXC9 was measured by a real-time PCR method that consists of multiple stages, including RNA extraction, cDNA synthesis, primers design, real-time PCR, and quantification of gene expression.

Data of gene expression were analyzed using an independent t-test by SPSS 22. A p-value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Data showed that the gene expression of UCP1 was significantly higher in the trained group than control ($P=0.018$). However, the gene expression of HOXC8 and HOXC9 were not significantly different between trained and control groups ($P_{\text{hoxc8}}=0.36$; $P_{\text{hoxc9}}=0.52$). These results indicated that endurance training could increase UCP1 gene expression and could regulate the browning of WAT. However, endurance training could not affect the HOXC8 and HOXC9 gene expression.

Conclusion

HOXC8 and HOXC9 play a critical role in changing the WAT phenotype (4). Indeed, HOXC8 mediates the transcription of genes related to the whitening of WAT (5). However, HOXC9 regulates the transcription of the genes associated with the browning of WAT (2). Therefore, HOXC8 is recognized as a marker of white adipose tissue; however, HOXC9 is considered a brite adipose tissue marker (2).

The finding of this study showed that endurance training could induce transcription of the UCP1 gene but not the HOXC8 or HOXC9 genes, indicating that endurance training could induce the browning of WAT by a mechanism independent of HOXC8 and HOXC9.

Keywords: Endurance Training, UCP1, HOXC8, HOXC9, White Adipose Tissue

References

1. Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Gene Dev.* 2013;27(3):234-50.
2. Walden TB. Regulatory factors that reveal three distinct adipocytes : the brown, the white and the brite. Stockholm: The Wenner-Gren Institute, Stockholm University;2010. p. 89.
3. Afshari S, Mohammad-Amoli M, Daneshyar S. 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. (In Persian).
4. Mori M, Nakagami H, Rodriguez-Araujo G, Nimura K, Kaneda Y. Essential role for miR-196a in brown adipogenesis of white fat progenitor cells. *PLoS Biol.* 2012;10(4):e1001314.
5. Nakagami H. The mechanism of white and brown adipocyte differentiation. *Diabetes Metab J.* 2013;37(2):85-90.

اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های هموباکس سی هشت (HOXC8) و سی نه (HOXC9) در بافت چربی موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار

سعید دانش‌یار، محمدرضا کردی^۱، سمانه افشاری^۲، مهدی کدیور^۴

۱. استادیار، گروه تربیت‌بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت الله العظمی بروجردی (ره)، بروجرد (نویسنده مسئول)

۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران

۳. کارشناسی‌ارشد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران

۴. دانشیار، گروه بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۸

چکیده

پروتئین‌های هموباکس سی هشت (HOXC8) و سی نه (HOXC9) پروتئین‌هایی هستند که در نمو بافت چربی نقش دارند. این پژوهش با هدف بررسی اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های هموباکس سی هشت و سی نه در بافت چربی سفید زیرپوستی انجام شد. شانزده موش صحرائی نژاد ویستار (با سن هشت هفته و میانگین وزن ۲۲۰ گرم) به صورت تصادفی به دو گروه شامل گروه کنترل (هشت سر) و گروه تمرین استقامتی (هشت سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه تمرینی به مدت هشت هفته، هفته‌ای پنج جلسه، تحت تمرین استقامتی تداومی روی نوار گردان (با میانگین سرعت ۲۵ متر در دقیقه و با میانگین مدت ۲۵ دقیقه) قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری بیان نسبی ژن‌های هدف در بافت چربی زیرپوستی از روش ریل تایم (Real Time-PCR) استفاده شد. یافته‌ها نشان داد بیان نسبی ژن پروتئین غیر جفت‌کننده یک (UCP1) در گروه استقامتی در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری بیشتر بود ($P = 0.018$); با این حال، بیان نسبی ژن‌های هموباکس سی هشت و سی نه در گروه استقامتی در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری تفاوت معناداری نداشت ($P_{hoxc9} = 0.52$; $P_{hoxc8} = 0.36$). یافته‌های این مطالعه نشان داد که تمرین استقامتی تغییری در بیان ژن‌های هموباکس سی هشت و سی نه در بافت چربی زیرپوستی ایجاد نمی‌کند. این مطلب احتمالاً بیانگر این است که تمرین استقامتی استفاده‌شده در این مطالعه تغییری در ویژگی بافت چربی سفید از نظر قهوه‌ای شدن یا سفید شدن بافت چربی سفید ایجاد نمی‌کند.

واژگان کلیدی: تمرین ورزشی، قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید، هموپروتئین.

1. Email: s.daneshyar@yahoo.com

2. Email: mrkordi@ut.ac.ir

3. Email: s_afshari86@yahoo.com

4. Email: kadivar@pasteur.ac.ir

مقدمه

بدن انسان دارای سه نوع بافت چربی است: بافت چربی سفید، بافت چربی قهوه‌ای و بافت چربی بژ یا برایت (شبه‌قهوه‌ای)^۱ (۱). بافت چربی سفید که در ذخایر چربی احشائی و زیرپوستی واقع است، به‌عنوان جایگاه ذخیره چربی و تنظیم‌کننده متابولیسم انرژی شناخته می‌شود (۲)، اما درمقابل، بافت چربی قهوه‌ای که به میزان بسیار اندک در بدن بزرگسالان وجود دارد، به‌عنوان اتلاف انرژی (از طریق فرایند گرمزایی غیر لرزشی) شناخته می‌شود (۱). بافت چربی شبه‌قهوه‌ای یا بریت که در نواحی چربی زیرپوستی واقع شده است، خصوصیت دوگانه بینابینی مربوط به دو نوع بافت چربی را (سفید و قهوه‌ای) دارد (۳). درواقع، بافت چربی بژ بافت چربی سفیدی است که علاوه بر سلول‌های چربی (ادیپوسایت)، دارای ادیپوسایت‌های شبه‌قهوه‌ای است (۴)؛ از این رو براساس شرایط محیط، هم به‌عنوان مخزن چربی و هم به‌عنوان مصرف‌کننده انرژی می‌تواند عمل کند (۶، ۵). ویژگی مصرف‌کنندگی انرژی در بافت چربی قهوه‌ای و شبه‌قهوه‌ای، محصول گرمزایی ناشی از عملکرد پروتئین غیرجفت‌کننده یک^۲ (UCP1) است (۷).

سلول‌های شبه‌قهوه‌ای درست همانند سلول‌های سفید دارای سطوح کمی از بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک و فعالیت گرمزایی هستند؛ باوجوداین، در پاسخ به محرک مناسب همانند محرک بتا‌آدرنرژیک و سرما به‌سرعت تحریک می‌شوند و ویژگی ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی بافت چربی قهوه‌ای را به‌نمایش می‌گذارند؛ به‌طوری‌که سطح بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک، تنفس میتوکندریایی و انرژی مصرفی به سطوح مربوط به سلول‌های قهوه‌ای کلاسیک نزدیک می‌شود. این فرایند به قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید^۳ معروف است (۹، ۸، ۶)؛ بنابراین گفته می‌شود این سلول‌ها در پی تحریک مناسب، قابلیت تجدید ساختار (ریمودلینگ) از جایگاه ذخیره لیپید به جایگاه مصرف‌کنندگی انرژی یا گرمزایی را دارند (۱۰، ۶، ۵).

در مطالعات متعددی نقش بافت چربی قهوه‌ای در پیشگیری از افزایش وزن و چاقی نشان داده شده است (۱۱، ۱). گمان می‌رود که قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید با افزایش اتلاف انرژی در مقابله با افزایش وزن، نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۲، ۳).

-
1. Brown-Like Adipocyte (Brite) Beige
 2. Uncoupling Protein 1
 3. Browning WAT

تنظیم‌کننده‌های متعددی در نمو و تغییر فنوتیپ بافت چربی شبه‌قهوه‌ای نقش دارند. مجموعه‌ای از تنظیم‌کننده‌های مهم که در این زمینه نقش دارند، پروتئین هموتیک^۱ (هم پروتئین^۲ یا هوکس پروتئین^۳) هستند. پروتئین‌های هموتیک از طریق مجموعه‌ای از ژن‌های تنظیمی به نام ژن‌های هموتیک^۴ رمزگردانی می‌شوند (۱۳، ۱۴). این پروتئین‌ها عوامل رونویسی دارای همودومین^۵ یا عوامل رونویسی هموتیکی^۶ هستند. این عوامل رونویسی قادرند به توالی‌های تقویت‌کننده^۷ که در فعال کردن یا مهار کردن بیان ژن‌ها نقش دارند، اتصال یابند و بدین ترتیب بیان یک ژن را فعال کنند و از سوی دیگر بیان ژن دیگری را مهار کنند (۱۵).

هموتیک ژن‌ها یا ژن‌های نمو به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های جدید در تولید سلول چربی (ادیپوژنز) شناخته شده‌اند. به‌نظر می‌رسد این ژن‌ها از طریق تنظیم سلول‌های بنیادی در تمایز سلول‌های اجدادی نقش دارند (۱۶). سازوکاری که هوکس ژن‌ها در تولید سلول چربی دخالت دارند، هنوز مشخص نیست؛ با این حال، تصور می‌شود از طریق تحریک بیان ژن گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسی زوم گاما (PPAR γ)^۸ و پروتئین متصل به عامل رشد شبه‌انسولینی (IGFBP)^۹ و با تعامل با رتینویک اسید در نمو و تمایز بافت چربی ایفای نقش می‌کنند (۱۷، ۱۸).

دو هموتیک پروتئین یعنی هموباکس (هوکس پروتئین) سی هشت (هموباکس سی هشت^{۱۰}) و هموباکس (هوکس پروتئین) سی نه (HOXC9)^{۱۱} در نمو و تمایز بافت چربی سفید و شبه‌قهوه‌ای نقش دارند. هموباکس سی هشت در سلول‌های اجدادی چربی سفید^{۱۲} یا سلول‌های استرومال مشتق از بافت چربی (ADSCs)^{۱۳} انسان وجود دارد (۱۶، ۱۹). هموباکس سی هشت به‌عنوان نشانگر مهم بافت چربی سفید و تنظیم‌کننده منفی مهم در القای نمو ادیپوسایت قهوه‌ای در سلول‌های اجدادی بافت چربی عمل می‌کند؛ به‌گونه‌ای که از طریق مهار بیان ژن پروتئین اتصال‌ی به عنصر

-
1. Homeotic Protein
 2. Homeoprotein
 3. HOX Protein
 4. Homeotic Gene
 5. Homeodomain
 6. Homeotic Transcriptional Factors
 7. Enhancer
 8. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR)
 9. Insulin-Like Growth Factor Binding Protein
 10. Homeobox C8
 11. Homeobox C9
 12. WAT-progenitor cells
 13. Adipose Tissue-Derived Stromal Cells (ADSC)

پاسخی آ-ام-پی حلقوی (C/EBP β)^۱ (تنظیم‌کنندهٔ نمو ادیپوسایت قهوه‌ای) موجب مهار بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کنندهٔ یک و مهار نمو سلول‌های شبه‌قهوه‌ای در بافت چربی سفید می‌شود (۱۹، ۱۶)؛ از این رو هموباکس سی هشت به‌عنوان عامل تنظیمی سفید^۲ قلمداد می‌شود (۴). از سوی دیگر، هموباکس سی نه به میزان زیاد در بافت چربی بریت (شبه‌قهوه‌ای) و در مقابل به میزان بسیار اندک در بافت چربی سفید بیان می‌شود و در سازوکاری نامشخص موجب تحریک افزایش ادیپوسایت‌های قهوه‌ای در بافت چربی سفید می‌شود (۲۱، ۲۰)؛ از این رو هموباکس سی نه به‌عنوان نشانگر بافت چربی شبه‌قهوه‌ای (بریت) و عامل تنظیمی بریت^۳ شناخته می‌شود (۴).

مطالعات نشان داده‌اند که عوامل محیطی، دارویی و تغذیه‌ای متعددی در قهوه‌ای شدن بافت سفید نقش دارند (۸). مهم‌ترین این عوامل، مواجههٔ طولانی‌مدت با سرما، مصرف غذای پرچرب، افزایش هورمون‌های کاتاکولامینی، افزایش هورمون تیروئید و افزایش شبه‌هورمون آیریزین^۴ است (۲۲، ۶). به‌تازگی تمرینات ورزشی محرکی مناسب برای قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید مطرح شده‌اند (۲۳)؛ به‌طوری‌که مطالعات ایمنو‌هیستوشیمی نشان داده‌اند، هشت هفته تمرین استقامتی (۲۴) و ۱۱ روز تمرین هوازی روی چرخ دوار (۲۵) موجب قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید به‌ترتیب در بافت چربی سفید احشائی و زیرپوستی می‌شود. از سوی دیگر، مطالعات روی نشانگر مهم قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید یعنی پروتئین غیرجفت‌کنندهٔ یک همین یافته را تأیید کرده‌اند (۲۴-۳۰).

همان‌طور که در پاراگراف‌های قبل بیان شد، هموباکس سی هشت به‌عنوان عامل تنظیمی سفید و هموباکس سی نه به‌عنوان عامل تنظیمی بریت شناخته شده است (۴)؛ با این حال، تاکنون مطالعه‌ای یافت نشده است که نشان دهد تمرینات ورزشی می‌توانند سطوح بیان این تنظیم‌کننده‌های مهم نمو بافت چربی را (هموباکس سی هشت و هموباکس سی نه) که در فرایند قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید دخالت دارند، تغییر دهند. به‌علاوه تاکنون ارتباط افزایش بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کنندهٔ یک ناشی از تمرین ورزشی با این دو عامل (هموباکس سی هشت و هموباکس سی نه) بررسی نشده است؛ بنابراین مشخص نیست آیا افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کنندهٔ یک ناشی از تمرین ورزشی با تغییرات بیان هموباکس سی هشت و هموباکس سی نه هم‌راستاست یا خیر؛ از این رو برای پاسخ به سؤال‌های مطرح‌شده، در این پژوهش اثر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های

1. cAMP Response Element Binding Protein
2. White Regulatory Factor
3. Brite Regulatory Factor
4. Irisin

پروتئین غیرجفت‌کننده یک، هموباکس سی هشت و هموباکس سی نه در بافت چربی زیرپوستی مطالعه شده است.

روش پژوهش

آزمودنی‌های پژوهش

شانزده سر موش صحرائی نر نژاد ویستار (در سن هشت هفته و با میانگین وزنی 25 ± 220 گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند و در آزمایشگاه حیوانات (دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه تهران) نگهداری شدند. موش‌ها براساس دستورالعمل انجمن حمایت از حیوانات آزمایشگاهی برای انجام‌دادن اهداف علمی و آزمایشگاهی نگهداری شدند. نمونه‌ها تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای 3 ± 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری می‌شدند. در طول نگهداری حیوانات، آب و غذا به‌صورت دسترسی آزاد در اختیار آن‌ها گذاشته می‌شد. آزمودنی‌ها پس از همسان‌سازی وزن به‌صورت تصادفی به دو گروه شامل گروه کنترل (هشت سر) و گروه تمرین استقامتی (هشت سر) تقسیم شدند. نمونه‌های گروه تمرینی پس از دو هفته آشناسازی با محیط و نوار گردان، به‌مدت هشت هفته تحت تمرین استقامتی قرار گرفتند.

پروتکل تمرین استقامتی

تمرین استقامتی تجویز شده در این پژوهش دربرگیرنده دویدن روی نوار گردان با شیب صفر درجه، به‌مدت هشت هفته و هفته‌ای پنج جلسه بود. این پروتکل تمرینی براساس افزایش تدریجی بار کاری شامل شدت (سرعت) و طول (مدت) تمرین طراحی شده است (۳۱) که جزئیات بیشتر آن در جدول شماره یک ارائه شده است.

جدول ۱- پروتکل تمرین استقامتی روی تردمیل با شیب صفر درجه

Protocol of endurance training on treadmill at 0 degree of incline

مدت Duration (دقیقه-min)	سرعت speed (متر در دقیقه m/min)	
20	15	هفته اول First week
20	20	هفته دوم Second week
25	20	هفته سوم Third week
25	25	هفته چهارم Fourth week
25	25	هفته پنجم Fifth week
30	25	هفته ششم Sixth week
30	30	هفته هفتم Seventh week
35	30	هفته هشتم Eighth week

استخراج بافت

چهل‌وهشت ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از یک شب ناشتایی، حیوانات از طریق تزریق درون‌صفاقی زایلانین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند (۳۲، ۳۳) و چربی زیرپوستی ناحیه ران آن‌ها برداشته شد و در داخل میکروتیوب قرار گرفت. سپس میکروتیوب‌ها (حاوی نمونه‌های بافتی) به سرعت در داخل تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده شدند تا فریز شوند. نمونه‌های بافتی از طریق آن تانک به آزمایشگاه انتقال داده شدند و در آزمایشگاه به داخل یخچال فریزر (۸۰- درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند.

اندازه‌گیری آزمایشگاهی

برای اندازه‌گیری بیان ژن UCP1 از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بی‌وقفه (Real Time- PCR) استفاده شد که مراحل آن بدین صورت بود: طراحی و سنتز پرایمر، استخراج ریبونوکلئیک (RNA) از بافت چربی، سنتز مکمل داوکسی ریبونوکلئیک (cDNA)، انجام دادن واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) برای سنجش صحت مکمل داوکسی ریبونوکلئیک (cDNA)، تکثیر ژن و پایش آن توسط دستگاه ریل تایم-پی‌سی‌آر (Real Time- PCR).

طراحی و سنتز پرایمر

پرایمر ژن‌های UCP1، HOXC8 و HOXC9 و ژن گلیسرآلدئید سه فسفات دهیدروژناز (GAPDH)^۱ به‌عنوان ژن خانه‌گردان^۲ توسط شرکت تکاپو زیست سنتز شد. توالی پرایمرها در جدول شماره دو ذکر شده است.

1. Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
2. Housekeeping

جدول ۱- توالی پرایمرهای ژن های هدف و کنترل

The sequence of primers of target and control genes

name	Forward 5'--3'	Reverse 5'--3'	Melt temperature
پروتئین غیر جفت کننده یک UCP1	CAAAGTCCGCCTCAGATC	TGGTGATGGTCCCTAAGAC	49
هوکس سی-۸ HOXC8	ATCTCCCAGCCTCATGTTTC C	GTCTGATACCGGCTGTAAGT TTGT	57
هوکس سی-۹ HOXC9	TGTAGCGATTTTCCGTCCTG TAG	CCGTAAGGGTGATAGACCAC AGA	58
ژن مرجع GAPDH	ATGGGGAAGGTGAAGGTCG -	GGGGTCATTGATGGCAACA	55

UCP1: Uncoupling Protein 1 ; HOXC8: Homeobox C8 ; HOXC9: Homeobox C9 ;
GAPDH: Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

استخراج ریبونوکلئیک (RNA)

ریبونوکلئیک (RNA) بافت چربی طبق دستورالعمل کیت آر-آن-ایکس پلاس (فرمنتاز-آلمان)^۱ استخراج شد. مقدار ۵۰ میلی گرم از نمونه بافت چربی هموزن شده در داخل میکروتیوب حاوی یک میلی لیتر محلول آر-آن-ایکس (RNX) قرار داده شد. دو سیست میکرولیتر کلروفوم به محلول اضافه شد. این محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (با قدرت g ۱۲۰۰۰) شد. سپس بخش شناور از محلول سانتریفیوژ شده خارج شد و سپس حجم برابری از ایزوپروپانول به باقی مانده محلول اضافه شد. برای رسوب ریبونوکلئیک، محلول حاصل دوباره به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (با قدرت g ۱۲۰۰۰) شد. بخش شناور از محلول سانتریفیوژ شده خارج شد و سپس یک میلی لیتر اتانول ۷۵ درصد به محلول باقی مانده اضافه شد. برای رسوب بیشتر ریبونوکلئیک، محلول حاصل دوباره به مدت هشت دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (با قدرت g ۷۵۰۰) شد. محلول شناور از محلول سانتریفیوژ خارج شد و سپس میزان ۵۰ میکرولیتر آب دیس^۲ به باقی مانده محلول اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه ترموبلاک (کیاژن-کانادا)^۳ با دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در

1. RNX-pluse: Fermentase, German
2. DEPC-Treated Water
3. Kiagen Tech, Canada

مرحله آخر، کمیت و کیفیت ریبونوکلئیک استخراج‌شده توسط دستگاه نانودراپ (ترمو؛ آمریکا)^۱ تعیین شد.

سنتز مکمل داوکسی ریبونوکلئیک (cDNA)

ریبونوکلئیک استخراج‌شده در مرحله قبل به روش رونویسی معکوس توسط دستورالعمل کیت سنتز cDNA (ویوانتیس، مالزی)^۲ به مکمل داوکسی ریبونوکلئیک تبدیل شد. اجزای کیت سنتز مکمل داوکسی ریبونوکلئیک شامل بافر (به میزان دو میکرولیتر)، رندوم هگزامر (به میزان نیم میکرولیتر) و دی اوکسی ریبو نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs)^۳ (به میزان ۰/۵ میکرولیتر) در درون یک میکروتیوب با یکدیگر مخلوط شدند.

از ریبونوکلئیک‌های رقیق‌شده (حجم ۱۵ میکرولیتر با غلظت ۵۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر) به میزان دو میکرولیتر به درون میکروتیوب ریخته شد. میزان سه میکرولیتر از محلول تهیه‌شده از مرحله قبل به ریبونوکلئیک‌های همسان‌شده اضافه شد. ترکیب به‌دست‌آمده از مرحله قبل، پس از اسپین کردن در داخل دستگاه پی‌سی‌آر (PCR) (به مدت پنج دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. ترکیب دیگری از بقیه اجزای کیت سنتز مکمل داوکسی ریبونوکلئیک شامل بافر (به میزان یک میکرولیتر)، آنزیم رونویس معکوس (۲۵ صدم میکرولیتر و آب (سه و هفت‌دهم میکرولیتر) تولید شد و این ترکیب به میکروتیوب‌هایی که از دستگاه پی‌سی‌آر خارج شدند، اضافه شدند. ترکیب حاصل با برنامه زمانی دیگری (به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه، یک ساعت در دمای ۴۲ درجه و پنج دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد) در داخل دستگاه پی‌سی‌آر قرار داده شد. ترکیب به‌دست‌آمده شامل ۱۰ میکرولیتر مکمل داوکسی ریبونوکلئیک است.

روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بی‌وقفه (Real Time-PCR)

برای انجام دادن مراحل روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بی‌وقفه از مکمل داوکسی ریبونوکلئیک سنتز‌شده، پرایمر رفت و برگشت ژن‌های هدف و کنترل، کیت مسترمیکس سایبرگرین (امپلیکون، دانمارک)^۴ که حاوی آنزیم داوکسی ریبونوکلئیک پلیمرز و نمایانگر سایبرگرین بود، استفاده شد. سپس از طریق دستگاه کوربت (استرالیا)^۵ با برنامه زمانی زیر، تکثیر مکمل داوکسی ریبونوکلئیک

-
1. Thermo, USA
 2. ViVANTis, Malaysia
 3. Deoxyribonucleotide Triphosphates (dNTPs)
 4. SYBR®Premix Ex Tag TM; Ampliqon, Denmark
 5. RG-6000, Corbett, Australia

پایش شد: ده دقیقه در دمای °C ۹۵ (واسرشت‌سازی اولیه)، ۴۵ چرخه پنج ثانیه‌ای در دمای °C ۹۵ و ۴۰ ثانیه‌ای در دمای °C ۶۴ استفاده شد.

کمی‌سازی میزان بیان ژن

پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، چرخه آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد. آستانه ژن‌های هدف (Ct_{target}) هر نمونه از سیکل آستانه ژن خانه‌گردان GAPDH (Ct_{GAPDH}) همان نمونه کم شد.

$$\Delta Ct = Ct_{HOXC8 \& HOXC9} - Ct_{GAPDH}$$

در مرحله بعد، تفاضل آستانه چرخه (ΔCt) هر نمونه تمرین‌کرده از تفاضل آستانه چرخه (ΔCt) نمونه کنترل (شاهد) کم شد.

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{Trained} - \Delta Ct_{Control}$$

در مرحله آخر، منفی عدد به دست آمده تفاضل آستانه چرخه ($-\Delta\Delta Ct$) را به نمای دو رساند و بدین ترتیب بیان نسبی (E) ژن‌های هدف به دست آمد.

$$E = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

روش‌های آماری

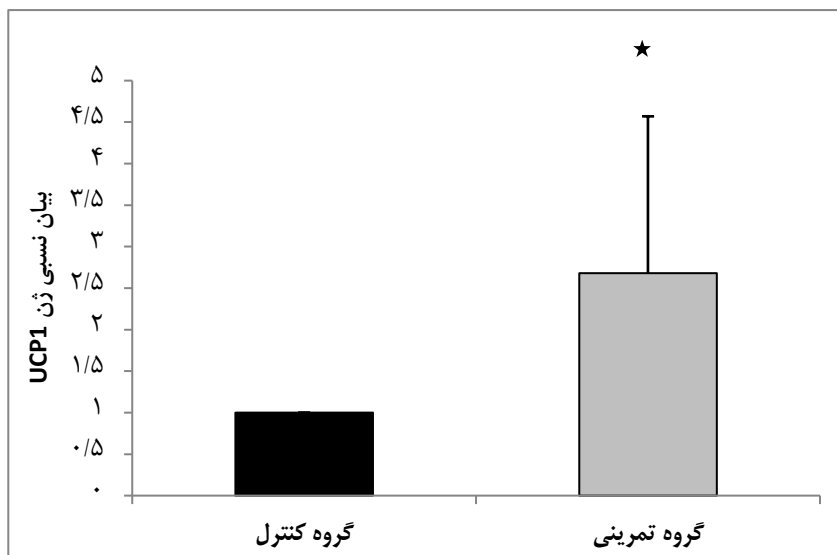
از آزمون شاپیرو-ویلک^۲ برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون لون^۳ برای ارزیابی تجانس واریانس متغیرها در گروه‌ها و از آزمون تی مستقل^۴ برای مقایسه متغیرهای وزن و بیان ژن در گروه‌های پژوهش استفاده شد. در تحلیل آماری از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس^۵ نسخه ۲۳ استفاده شد. سطح معنا داری برای آزمون‌های آماری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

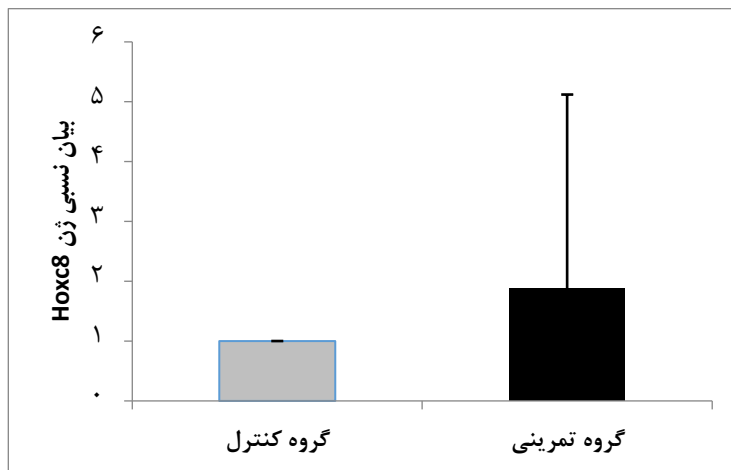
میانگین و خطای استاندارد از میانگین وزن در انتهای پروتکل پژوهش، در گروه‌های کنترل و استقامتی به ترتیب $30.7 \pm 9/66$ و $29.9 \pm 9/31$ گرم بود. براساس آزمون تی مستقل، مقدار وزن گروه‌های تمرین‌کرده در مقایسه با گروه کنترل از نظری آماری تفاوت معناداری نداشت ($P = 0.13$). براساس آزمون تی مستقل، مشخص شد که بیان نسبی ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک در گروه استقامتی در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری بیشتر بود ($2/68 \pm 1/89$) در مقابل $1/10$ ؛ ($P = 0.018$) (شکل شماره یک). یافته‌های دیگر این مطالعه این بود که بیان نسبی ژن هموباکس

-
1. Threshold Cycle
 2. Shapiro-Wilk
 3. Levene
 4. T-Test
 5. SPSS

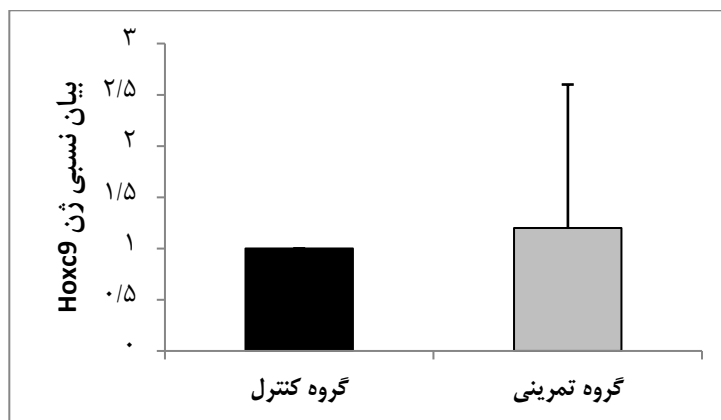
سی هشت و هموباکس سی نه در گروه استقامتی در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری تفاوت معناداری نداشت ($P_{HOXC8}=0.36$; $P_{HOXC9}=0.52$) (شکل‌های شماره دو و شماره سه).



شکل ۱- بیان نسبی ژن پروتئین غیر جفت کننده یک در گروه تمرین کرده و کنترل داده‌های شکل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شده است.
* بیانگر معنادار بودن اختلاف در مقایسه با گروه کنترل است ($P < 0.05$).
UCP1: پروتئین غیر جفت کننده یک



شکل ۲- بیان نسبی ژن هموباکس سی هشت در گروه‌های تمرین کرده و کنترل داده‌های شکل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شده است.
Figure 2. Relative gene expression of HOXC8 in trained and control groups
 داده‌های شکل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شده است.
 HOXC8: هموباکس سی هشت



شکل ۳- بیان نسبی ژن هموباکس سی نه در گروه‌های تمرین کرده و کنترل داده‌های شکل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شده است.
Figure 3- Relative gene expression of HOXC9 in trained and control groups
 داده‌های شکل به صورت میانگین \pm خطای استاندارد از میانگین ارائه شده است.
 HOXC9: هموباکس سی نه

بحث و نتیجه‌گیری

اولین یافته مطالعه حاضر نشان داد که تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک (نشانگر قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید) شد. این یافته همسو با یافته‌های پژوهش‌های مشابه در گذشته است؛ به‌صورتی که در این پژوهش‌ها افزایش بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک پس از هشت هفته تمرین استقامتی در بافت چربی خلف صفاق موش‌های صحرایی (۳۴)، پس از هشت هفته تمرین هوازی در بافت چربی سفید احشائی منطقه‌ی اپیدیدمال موش‌ها (۲۴)، پس از پنج هفته تمرین استقامتی در بافت چربی احشائی موش (۲۶)، پس از شش هفته تمرین شنا در بافت چربی زیرپوستی (۳۵)، پس از سه هفته تمرین روی چرخ دوار در بافت چربی زیرپوستی موش (۳۶) و پس از هشت هفته تمرین هوازی در بافت چربی زیرپوستی موش‌های صحرایی (۳۰) گزارش شده است؛ باین‌حال، مطالعاتی نیز وجود دارد که در آن‌ها پس از ۱۰ روز تمرین ترکیبی (استقامتی-قدرتی) (۳۷)، پس از سه هفته تمرین ترکیبی اینتروال و هوازی (۳۸)، پس از هشت هفته تمرین هوازی با حجم زیاد (۶۰ دقیقه در هر جلسه) (۳۰) و همچنین در ورزشکاران که به‌مدت دو سال تمرین داشتند (۳۹)، افزایش معناداری در پروتئین غیرجفت‌کننده یک مشاهده نشد.

درباره تفاوت در یافته‌های این پژوهش‌ها از منظر تجویز تمرینی می‌توان بحث کرد. برنامه تمرینات تجویز شده در پژوهش‌هایی که در آن‌ها افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک مشاهده نشده است، در مقایسه با تمرینات تجویز شده در پژوهش‌هایی که در آن‌ها افزایش بیان مشاهده شده است، متفاوت است (تمرین با حجم زیاد (۳۰)، ترکیب تمرین هوازی با اینتروال (۳۸)، ترکیب تمرین هوازی و قدرتی (۳۷) و تمرینات ورزشی ورزشکاران (۳۹)) و همچنین طول مدت تمرین در پژوهش‌های که افزایش بیان گزارش شده است، بین پنج تا هشت هفته است؛ در حالی که طول تمرین در پژوهش‌هایی که افزایش بیان مشاهده نشده است، یا کوتاه‌مدت (۱۰ روز (۳۷) و سه هفته (۳۸)) یا بسیار طولانی‌مدت بوده است (دو سال) (۳۹).

یکی از عوامل تنظیمی بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک و قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید در شرایطی که محرک بتا آدرنرژیک اعمال شود، هموباکس سی هشت است. هموباکس سی هشت به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ای منفی در القای نمو ادیپوسایت قهوه‌ای در سلول‌های اجدادی بافت چربی عمل می‌کند؛ به‌گونه‌ای که از طریق مهار بیان ژن پروتئین اتصال‌ی به عنصر پاسخی آ-ام-پی حلقوی (تنظیم‌کننده نمو ادیپوسایت قهوه‌ای) موجب مهار بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک و مهار نمو سلول‌های شبه‌قهوه‌ای در بافت چربی سفید می‌شود (۱۹، ۱۶).

تصور بر این بود که در مطالعه حاضر تمرین استقامتی می‌تواند بر بیان ژن هموباکس سی هشت تأثیر بگذارد؛ به عبارت ساده‌تر، تصور می‌شد که افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک ناشی از تمرین ورزشی، از طریق مهار بیان هموباکس سی هشت حاصل می‌شود؛ باوجوداین، در این مطالعه تغییر معناداری در بیان ژن هموباکس سی هشت پس از هشت هفته تمرین استقامتی مشاهده نشد. این یافته در کنار یافته‌های مطالعات گذشته بیانگر این نکته است که هموباکس سی هشت در افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک ناشی از محرک بتا‌آدرنژیک نقش کلیدی دارد؛ بااین‌حال، تصور می‌شود این عامل رونویسی (هموباکس سی هشت) در افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک ناشی از تمرین استقامتی نقش تأثیرگذاری ندارد.

هموباکس سی هشت در بافت چربی احشائی (چربی نواحی اپیدیدمال، خلفی صفاقی، پری‌رنال) به میزان بسیار زیاد، در بافت چربی زیرپوستی (بافت چربی بریت یا شبه‌قهوه‌ای) در حد متوسط و در چربی قهوه‌ای به میزان بسیار اندک بیان می‌شود (۴۰، ۵)؛ بر همین اساس، هموباکس سی هشت به‌عنوان نشانگر مهم بافت چربی سفید قلمداد شده است (۱۹). در واقع افزایش بیان هموباکس سی هشت دلالت بر سفیدتر شدن^۱ بافت چربی سفید دارد. بر اساس این یافته که افزایشی در بیان هموباکس سی هشت پس از تمرین ورزشی مشاهده نشد، می‌توان بیان کرد تمرین ورزشی تغییری در سفیدتر شدن بافت چربی سفید ایجاد نمی‌کند.

هموباکس سی نه در بافت چربی بریت به میزان زیاد و در بافت چربی سفید به میزان بسیار اندک بیان می‌شود؛ بااین‌حال، در بافت چربی قهوه‌ای مطلقاً بیان نمی‌شود (۲۱، ۲۰)؛ از این رو این عامل به‌عنوان نشانگر بافت چربی شبه‌قهوه‌ای (بریت) (۲۱) و نشانگر افزایش ادیپوسیت شبه‌قهوه‌ای (بریت) شناخته شده است (۲۰). در واقع افزایش بیان هموباکس سی نه بر قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید دلالت دارد. یافته این مطالعه نشان داد که تمرین استقامتی افزایش معناداری در بیان ژن هموباکس سی نه ایجاد نکرد که بر این مطلب دلالت دارد که تمرین استقامتی میزان این نشانگر را در سلول‌های چربی قهوه‌ای (بریت) افزایش نمی‌دهد و به عبارت بهتر، احتمالاً این نوع تمرین موجب قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید نمی‌شود.

یافته ذکر شده بیانگر تغییر نکردن سلول‌های چربی قهوه‌ای (بریت) پس از تمرین استقامتی در بافت چربی سفید زیرپوستی است؛ باوجوداین، هنوز نمی‌توان به‌سادگی این نتیجه را برداشت کرد که تمرین استقامتی تغییری در قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید ایجاد نمی‌کند؛ چراکه یافته‌های مطالعات گذشته به‌وضوح قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید را (افزایش سلول‌های شبه قهوه‌ای) پس از تمرین استقامتی نشان داده‌اند (۲۴، ۲۵). به‌علاوه در این مطالعه افزایش بیان ژن پروتئین

1. Whitening

غیرجفت‌کننده یک به‌عنوان نشانگر قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید مشاهده شده است. تصور بر این است که هموباکس سی نه نشانگر استاندارد برای قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید در شرایط محرک تمرین ورزشی است؛ باوجوداین، شاید هشت هفته تمرین مدت زمان کافی برای القای تغییر در بیان این ژن نبوده است؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود پژوهش‌هایی درباره اثر فعالیت ورزشی در مدت زمان‌های طولانی‌تر بر این ژن انجام شود.

عوامل متعددی در قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید نقش دارند که برخی از آن‌ها عبارت‌اند از: فعالیت عصب سمپاتیک، پروستاگلاندین‌ها^۱، پپتید ضد ادراری قلبی^۲، لیگاندهای گیرنده‌های گامای فعال‌شده در پروکسیزوم‌های در حال تکثیر^۳، رتینوئیدها^۴، هورمون‌های تیروئیدی، فعال‌کننده‌های آم.پی.کی.^۵، آیریزین/اف.ان.دی.سی.پنج^۶، عامل رشد فیبروبلاست^۷، پروتئین ریخت-ژنی استخوان هفت^۸، هم‌فعالگر پی.پی.ای.آر.^{۱۰}، اینترلوکین شش و عوامل دیگر (۲۲، ۹، ۸، ۶). از این بین نقش شب‌هورمون آیریزین (۲۸)، هم‌فعالگر پی.پی.ای.آر. (۲۶) و اینترلوکین شش (۲۷) در سازوکار اثر تمرین ورزشی در افزایش بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک و قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید آشکار شده است؛ بااین‌حال، برای مشخص‌شدن نقش عوامل دیگر در سازوکار بیان ژن پروتئین غیرجفت‌کننده یک و قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید ناشی از تمرینات ورزشی به انجام‌دادن مطالعات بیشتری نیاز است.

در نتیجه‌گیری این پژوهش باید گفت یافته‌ها نشان داد تمرین استقامتی تغییری در بیان هموباکس سی هشت (نشانگر سفیدشدن بافت چربی سفید) و هموباکس سی نه (نشانگر قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید) در بافت چربی سفید ایجاد نمی‌کند. این یافته‌ها بر این مطلب دلالت دارند که در این پژوهش تمرین استقامتی تغییری در ماهیت بافت چربی سفید از حیث قهوه‌ای‌شدن یا سفیدشدن بافت چربی سفید ایجاد نمی‌کند.

-
1. Prostaglandin (PGE)
 2. Cardiac Natriuretic Peptides (CNP)
 3. PPAR γ
 4. Retinoid
 5. AMP-Activate Protein Kinase (AMPK)
 2. Fibronectin Type III Domain Containing 5 (FNDC5)/Irisin
 3. FGF21
 4. Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21)
 5. Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP7)
 6. PGC1- α

پیام مقاله

بر اساس مطالعه حاضر توصیه می‌شود، عوامل کلیدی غیر از هموباکس سی هشت و هموباکس سی نه، که در افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک و قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید نقش دارند، مطالعه شوند.

منابع

1. Fruhbeck G, Becerril S, Sainz N, Garrastachu P, Garcia-Velloso MJ. BAT: a new target for human obesity? *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(8):387-96.
2. Wronska A, Kmiec Z. Structural and biochemical characteristics of various white adipose tissue depots. *Acta Physiol (Oxf)*. 2012;205(2):194-208.
3. Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*. 2013;19(10):1252-63.
4. Walden TB. Regulatory factors that reveal three distinct adipocytes : the brown, the white and the brite. Stockholm: The Wenner-Gren Institute, Stockholm University;2010. p. 89.
5. Walden TB, Hansen IR, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J. Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown, "brite," and white adipose tissues. *Am J Physiol-Endoc M*. 2012;302(1):E19-E31.
6. Wu J, Cohen P, Spiegelman BM. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Gene Dev*. 2013;27(3):234-50.
7. Nedergaard J, Golozoubova V, Matthias A, Asadi A, Jacobsson A, Cannon B. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2001;1504(1):82-106.
8. Bonet ML, Oliver P, Palou A. Pharmacological and nutritional agents promoting browning of white adipose tissue. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1831(5):969-85.
9. Lo KA, Sun L. Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Bioscience Reports*. 2013;33(5):711-39.
10. Bartelt A, Heeren J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(1):24-36.
11. Cypess AM, Kahn CR. Brown fat as a therapy for obesity and diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2010;17(2):143-9.
12. Warner A, Mittag J. Breaking BAT: can browning create a better white? *J Endocrinol*. 2016;228(1):R19-29.
13. Gehring W, Hiromi Y. Homeotic genes and the homeobox. *Annu Rev Genet*. 1986;20(1):147-73.
14. Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. *Cell*. 1994;78(2):191-201.
15. Gehring WJ, Affolter M, Burglin T. Homeodomain proteins. *Annu Rev Biochem*. 1994;63(1):487-526.
16. Nakagami H. The mechanism of white and brown adipocyte differentiation. *Diabetes Metab J*. 2013;37(2):85-90.
17. Procino A, Cillo C. The HOX genes network in metabolic diseases. *Cell Biology International*. 2013;37(11):1145-8.

18. Cantile M, Procino A, D'Armiento M, Cindolo L, Cillo C. HOX gene network is involved in the transcriptional regulation of in vivo human adipogenesis. *Journal of Cellular Physiology*. 2003;194(2):225-36.
19. Mori M, Nakagami H, Rodriguez-Araujo G, Nimura K, Kaneda Y. Essential role for miR-196a in brown adipogenesis of white fat progenitor cells. *PLoS Biol*. 2012;10(4):e1001314.
20. Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, Timmons JA, Cannon B, and Nedergaard J. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J Biol Chem*. 2010;285(10):7153-64.
21. Waldén TB, Hansen IR, Timmons JA, Cannon B, and Nedergaard J. Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown, “brite,” and white adipose tissues. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2012; 302:E19-E31.
22. Jeremic N, Chaturvedi P, Tyagi SC. Browning of white fat: novel insight into factors, mechanisms, and therapeutics. *J Cell Physiol*. 2017;232(1):61-8.
23. De Matteis R, Lucertini F, Guescini M, Polidori E, Zeppa S, Stocchi V, et al. Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2013;23(6):582-90.
24. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(5):R1115-25.
25. Stanford KI, Middelbeek RJW, Goodyear LJ. Exercise Effects on white adipose tissue: beiging and metabolic adaptations. *Diabetes*. 2015;64(7):2361-2368.
26. Ringholm S, Grunnet Knudsen J, Leick L, Lundgaard A, Munk Nielsen M, Pilegaard H. PGC-1alpha is required for exercise-and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PLoS One*. 2013;8(5):e64123.
27. Knudsen JG, Murholm M, Carey AL, Bienso 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.
28. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
29. Reisi J, Rajabi H, Ghaedi K, Marandi S-M, Asady Samani Z, Kazemi Nasab f. Effect of 8 weeks resistance training on plasma irisin protein level and muscle FNDC5 and adipose tissue UCP1 genes expression in male rats. *Sport Physiology*. 2016;7(28):117-30. (In Persian).
30. Afshari S, Mohammad-Amoli M, Daneshyar S. 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. (In Persian).

31. Nikooie R, Rajabi H, Gharakhanlu R, Atabi F, Omidfar K, Aveseh M, et al. Exercise-induced changes of MCT1 in cardiac and skeletal muscles of diabetic rats induced by high-fat diet and STZ. *J Physiol Biochem*. 2013;69(4):865-77.
32. Galbes O, Goret L, Caillaud C, Mercier J, Obert P, Candau R, et al. Combined effects of hypoxia and endurance training on lipid metabolism in rat skeletal muscle. *Acta Physiologica*. 2008;193(2):163-173.
33. Ropper AE, Thakor DK, Han I, Yu D, Zeng X, Anderson JE, et al. Defining recovery neurobiology of injured spinal cord by synthetic matrix-assisted hMSC implantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(5):E820-E829.
34. Daneshyar S, Kordi MR, Gaeni AA, Kadivar M, Afshari S. The Effect of endurance training on gene expression of uncoupling protein 1(UCP-1) in retroperitoneal white adipose tissue of male wistar rats. *Razi Journal of Medical Sciences*. 2015;22(136):35-45. (In Persian).
35. Trevellin E, Scorzeto M, Olivieri M, Granzotto M, Valerio A, Tedesco L, et al. Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms. *Diabetes*. 2014;63(8):2800-2811.
36. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
37. Camera DM, Anderson MJ, Hawley JA, Carey AL. Short-term endurance training does not alter the oxidative capacity of human subcutaneous adipose tissue. *Eur J Appl Physiol*. 2010;109(2):307-16.
38. Pino MF, Parsons SA, Smith SR, Sparks LM. Active individuals have high mitochondrial content and oxidative markers in their abdominal subcutaneous adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)*. 2016;24(12):2467-70.
39. Vosselman MJ, Hoeks J, Brans B, Pallubinsky H, Nascimento EB, van der Lans AA, et al. Low brown adipose tissue activity in endurance-trained compared with lean sedentary men. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(12):1696-702.
40. Yamamoto Y, Gesta S, Lee KY, Tran TT, Saadatirad P, and Kahn CR. Adipose depots possess unique developmental gene signatures. *Obesity (Silver Spring)*. 2010;18(5):872-8.

استناد به مقاله

دانش‌یار سعید، کردی محمدرضا، افشاری سمانه، کدیور مهدی. اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های هموباکس سی هشت (HOXC8) و سی نه (HOXC9) در بافت چربی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۴۰۰؛ ۱۳(۴۹): ۱۷-۳۸. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.3986.1541

Daneshyar S, Kordi M. R, Afshari S, Kadivar M. The Effect of Endurance Training on Gene Expression of Homeobox C8 (HOXC8) and Homeobox C9 (HOXC9) in Adipose Tissue of Male Wistar Rats. Sport Physiology. Spring 2021; 13 (49): 17-38. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2017.3986.1541