Original Article

The effect of high-fat diet and continuous endurance training on expression of TFEB and E2F1 transcription factors in visceral adipose tissue of mice

Daneshyar S[1,2*], Mirakhori Z[2], Forutan Z[3]

1- Department of Physical Education, Faculty of Humanities, University of Ayatollah Alozma Boroujerdi, Lorestan, I.R. Iran.
2- Department of Sport Science, Hamedan University of Technology, Hamedan, I.R. Iran.
3- Department of Sport Science, Amirkabir University of Technology, Tehran, I.R. Iran.
4- Department of Physical Education and Sport Sciences, Asad Abad Branch, Islamic Azad University, Hamadan, I.R. Iran.

Received: 2022/08/4 | Accepted: 2022/11/7

Abstract:

Background: Transcription Factor EB (TFEB) and Transcription Factor E2F1 play an important role in metabolism. This study investigated the effect of exercise training and high-fat diet on the gene expression of these factors in the visceral adipose tissue of mice.
Materials and Methods: In the experimental study, 28 male mice (C57BL/6) were assigned into four groups included Control, High-Fat Diet (HFD), Exercise Training (ET), and High-Fat Diet with Exercise Training (HFD-ET). The subjects of HFD were fed a high-fat diet for 12 weeks. The mice of ET performed continuous endurance training on a treadmill for six weeks. The mice of HFD-ET had six weeks of endurance training in addition to having the HFD. The Real-Time–PCR methods were used to measure the gene expression of TFEB and E2F1.
Results: 1) The gene expression of TFEB was increased by HFD and ET ($P<0.05$). 2) The combination of HFD and ET had an increasing effect on TFEB ($P=0.02$); However, this effect was not higher than ET and HFD, separately ($P>0.05$). 3) HFD caused an increase in E2F1 ($P=0.03$). 4) Neither ET nor combined HFD and ET significantly increased the expression of E2F1 ($P>0.05$).
Conclusion: Continuous endurance training has a similar effect (no opposite effect) to the high-fat diet on gene expression of TFEB. Further, it could be thought that this exercise training may partly negate the increasing effect of the high-fat diet on E2F1 expression.

Keywords: High-fat diet, Exercise training, Endurance training, Adipose tissue, TFEB, E2F1

***Corresponding Author**
Email: s.daneshyar@abru.ac.ir
Tel: 0098 918 819 2118
Fax: 0098 664 246 8321

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, January, 2023; Vol. 27, No 6, Pages 646-656

Please cite this article as: Daneshyar S, Mirakhori Z, Forutan Z. The effect of high-fat diet and continuous endurance training on expression of TFEB and E2F1 transcription factors in visceral adipose tissue of mice. ***Feyz*** 2023; 27(6): 646-56.

تأثیر تغذیه پرچرب و تمرین استقامتی تداومی بر بیان فاکتورهای رونویسی TFEB و E2F1 در بافت چربی احشائی موش‌های سوری

سعید دانشیار[۱،۲*]، زهرا میرآخوری[۳]، یزدان فروتن[۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: فاکتورهای رونویسی TEEB و E2F1 نقش مهمّی در متابولیسم ایفا می‌کنند. در این پژوهش، تأثیر تغذیه پرچرب و تمرین استقامتی تداومی بر بیان ژن‌های این دو عامل در بافت چربی احشائی موش‌های سوری، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش سوری نر (C57BL/6) در چهار گروهِ کنترل، غذای پرچرب، تمرین ورزشی و غذای پرچرب - تمرین ورزشی قرار گرفتند. موش‌های گروه‌های غذای پرچرب به‌مدت ۱۲ هفته غذای پرچرب مصرف کردند. موش‌های گروه‌های تمرینی به‌مدت شش هفته، تحت تمرین استقامتی بر روی نوارگردان قرار گرفتند. موش‌های گروه تمرین - غذای پرچرب علاوه‌بر مصرف غذای پرچرب، تحت تمرین ورزشی قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری بیان نسبی ژن‌های E2F1 و TFEB از روش Real Time–PCR استفاده شد.

نتایج: ۱) بر اثر تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی، میزان بیان ژن TFEB در بافت چربی احشائی افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). ۲) ترکیب تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب، بیان TFEB را افزایش داد ($P=۰/۰۲$)؛ اما این تأثیر، در قیاس با اثر جداگانه تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب بیشتر نبود ($P>۰/۰۵$). ۳) تغذیه پرچرب، میزان بیان ژن E2F1 را افزایش داد ($P=۰/۰۳$). ۴) تمرین ورزشی و ترکیب غذای پرچرب و تمرین ورزشی، هیچ‌کدام افزایش معنی‌داری در بیان E2F1 ایجاد نکردند ($P>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی تداومی، تأثیر مشابهی (و نه متضاد) با تغذیه پرچرب در بیان ژن TFEB دارد. همچنین می‌توان تصور کرد که این نوع تمرین ورزشی می‌تواند تأثیر افزایشی تغذیه پرچرب در بیان E2F1 را تا حدودی خنثی کند.

واژگان کلیدی: تغذیه پرچرب، تمرین ورزشی، تمرین استقامتی، بافت چربی، E2F1، TFEB

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۴۰۱، صفحات ۶۵۶-۶۴۶

مقدمه

تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی نقش متضادی در تجمع چربی و چاقی ایفا می‌کنند؛ به‌طوری‌که غذای پرچرب موجب دریافت انرژی بیشتر و تجمع چربی می‌شود و در مقابل تمرین ورزشی موجب افزایش مصرف انرژی و کاهش تجمع چربی می‌شود [۱]. مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند بر اثر تغذیه پرچرب، بیان ژن بسیاری از عوامل درون‌سلولی در بافت چربی دچار تغییر می‌شود [۲] که می‌تواند جنبه بدسازگاری و خوب‌سازگاری داشته باشد.

جنبه خوب‌سازگاری به این‌صورت است که قابلیت ذخیره تری‌گلسیرید در بافت چربی به‌عنوان انبار افزایش می‌یابد تا از سرریز آن به‌صورت اکتوپیک در بافت‌های نابه‌جا مثل کبد پیشگیری کند [۳]. جنبه بدسازگاری آن با افزایش عوامل التهابی در بافت چربی و التهاب سیستماتیک همراه می‌شود [۴]. در طرف مقابلِ تغذیه پرچرب، تمرین ورزشی به‌روش استقامتی - هوازی می‌تواند برنامه ژنتیکی بسیاری از عوامل درون‌سلولی را متفاوت از تأثیر تغذیه پرچرب تغییر دهد که نتیجه آن بروز سازگاری مثبت در بافت چربی است [۵]. همچنین، این نوع تمرین‌های ورزشی می‌توانند تأثیر تغذیه پرچرب را در القاء بیان بسیاری از ژن‌ها خنثی کنند [۶،۷]. در این پژوهش بررسی می‌شود که آیا تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی می‌توانند به‌صورت متضاد، دو عامل رونویسی مهم یعنی TFEB و E2F1 را در بافت چربی متأثر سازند. عامل رونویسی TFEB (Transcription factor EB) در تنظیم چرخه سلولی، بیوژنز لیزوزوم، بیوژنز میتوکندری، تنظیم آتوفاژی (میتوفاژی)، خوردن رادیکال‌های آزاد و تنظیم سیستم ایمنی و التهاب نقش دارد [۸]. همچنین مشخص شده است که این عامل از طریق رونویسی عامل دخیل در انتقال و اکسیداسیون اسیدهای چرب در کاتابولیسم چربی نقش مهمّی دارد [۹]. مهم‌تر این‌که گزارش شده است که بیش‌بیانی

۱. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت‌الله بروجردی، لرستان، ایران

۲. استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی همدان، همدان، ایران

۳. استادیار، گروه تربیت بدنی ، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۴. کارشناسی ارشد، گروه تربیت بدنی، واحد اسدآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

لرستان، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آیت‌الله بروجردی

تلفن: ۰۹۱۸۸۱۹۲۱۱۸ **دورنویس:** ۶۶۴۲۴۶۸۳۲۱

پست الکترونیک: s.daneshyar@abru.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۱۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۱/۸/۱۶

این عامل از بروز چاقی و کبد چرب جلوگیری می‌کند [۱۰]. عامل رونویسی E2F1 (transcription factor E2F1) نیز همانند TFEB، تأثیرات مختلفی را در بافت چربی رقم می‌زند؛ همچون تنظیم چرخه سلولی، آپوپتوسیس، پاسخ آسیب DNA و به‌عنوان عملکرد متابولیکی در رونویسی ژن‌های مربوط به قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید ایفای نقش می‌کند [۱۲،۱۱]. مطالعات نشان داده‌اند که بر اثر تغذیه پرچرب، این دو فاکتور رونویسی در بافت چربی احشائی موش و انسان دچار افزایش تنظیمی می‌شوند [۱۳-۱۵]. با این‌حال، تاکنون تأثیر هیچ نوع از تمرینات ورزشی بر بیان این ژن‌ها در بافت چربی سفید مطالعه نشده است. بر این اساس، هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر تمرین ورزشی (از نوع استقامتی تداومی) و تغذیه پرچرب بر بیان ژن‌های TFEB و E2F1 در بافت چربی احشائی موش بود.

مواد و روش‌ها

روش مطالعه و آزمودنی‌های تحقیق

این مطالعه به‌صورت تجربی با اِعمال مداخله‌های غذای پرچرب و تمرین ورزشی بر موش‌های آزمایشگاهی انجام شد. برای تعیین حجم نمونه از نرم‌افزار G Power استفاده شد که در آن مقدار توان و خطای آلفا به‌ترتیب ۰/۸ و ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تعداد نمونه‌های هر گروه تحقیق، هفت رأس موش و مجموع چهار گروه ۲۸ نمونه برآورد شد. برای این منظور، ۲۸ سر موش سوری نر نژاد C57BL/6 با سنّ تقریبی چهار هفته و وزن تقریبی ۱۲ گرم از مرکز مطالعات تجربی و مقایسه‌ای دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری شدند. روش نگهداری و اعمال مداخله درمورد آزمودنی‌های حیوانی این پژوهش براساس دستورالعمل کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی و تأییدیه کمیته اخلاق ذیل معاونت پژوهشی دانشگاه آیت‌الله بروجردی (شماره: ABRU.AC.IR/15664-96.38) انجام شد. نمونه‌ها تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند. در طول نگهداری حیوانات، آب و غذای استاندارد موش (شرکت خوراک دام به‌پرور کرج) به میزان دلخواه در اختیار آن‌ها گذاشته شد. پس از همسان‌سازی وزن، ۲۸ سر موش به‌صورت تصادفی به چهار گروه: ۱. کنترل (هفت سر)، ۲. تغذیه پرچرب (هفت سر)، ۳. تمرین ورزشی (هفت سر) و ۴. تغذیه - تمرین (هفت سر) تقسیم شدند. پس از یک هفته آشناسازی با محیط، از سنّ پنج‌هفتگی غذای پرچرب در دسترس نمونه‌های گروه تغذیه پرچرب قرار گرفت. گروه تغذیه - تمرین، پس از گذشت شش هفته از مصرف غذای پرچرب در سنّ ۱۱هفتگی، به‌مدت شش هفته تحت تمرین استقامتی تداومی بر روی نوارگردان قرار گرفتند. مصرف غذای پرچرب تا انتهای پروتکل ادامه یافت.

غذای پرچرب

به‌منظور افزایش وزن موش‌ها، از سنّ پنج‌هفتگی تا انتهای پروتکل پژوهش (سنّ ۱۷ هفته) یعنی ۱۲ هفته، غذای پرچرب در دسترس موش‌ها قرار گرفت. ترکیب غذای پرچرب شاملِ چربی معادل با ۴۲ درصد کیلوکالری، کربوهیدرات معادل با ۴۰ درصد کیلوکالری و پروتئین معادل با ۱۸ درصد کیلوکالری بود. به‌دلیل نبودن پلت‌های آماده غذای پرچرب، قرص‌های غذایی توسط شرکت دام و طیور به‌پرور (کرج) ساخته شد. موش‌های گروه کنترل با غذای استاندارد موش‌ها تغذیه شدند که شامل ۱۵ درصد چربی (کیلوکالری)، ۲۵ درصد پروتئین (کیلوکالری) و ۶۰ درصد کربوهیدرات (کیلوکالری) بود [۱۷،۱۶].

تمرین ورزشی

تمرین ورزشی تجویزشده در این پژوهش دربرگیرنده دویدن به‌صورت استقامتی تداومی بر روی نوارگردان ویژه موش (شرکت پیشرو اندیشه صنعت - ساخت ایران) با شیب صفر درجه، به‌مدت شش هفته بود. این پروتکل تمرینی براساس افزایش تدریجی بار تمرینی شامل شدت (سرعت) و حجم تمرین (مدت هر جلسه) طراحی شده بود؛ به‌طوری‌که موش‌ها در هفته اوّل با سرعت ۱۴ متر در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه و در هفته ششم با سرعت ۲۰ متر در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه دویدند [۲۰-۱۸].

جراحی و استخراج بافت

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از یک‌شب ناشتایی (هشت ساعت)، حیوانات ازطریق تزریق درون‌صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند [۱۷] و چربی احشائی منطقه اپیدیدیمال (Epididymal) آن‌ها برداشته شد و پس از وزن‌کشی با ترازوی Radwag (با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم) در داخل میکروتیوب قرار گرفت. سپس، میکروتیوب‌ها (حاوی نمونه‌های بافتی) به‌سرعت در داخل تانک حاوی نیتروژن مایع، قرار داده شدند تا فریز شوند. نمونه‌های بافتی ازطریق آن تانک به آزمایشگاه و در آزمایشگاه، از تانک به داخل یخچال فریزر (۸۰ - درجه سانتی‌گراد) انتقال یافتند.

سنجش میزان بیان ژن

طراحی و سنتز پرایمر: توالی پرایمر ژن‌های TFEB و E2F1 و ژن خانه‌گردان GAPDH به‌عنوان ژن کنترل از مطالعات گذشته اخذ شد [۲۱]. سپس ویژگی و کیفیت پرایمر توسط سایت بلست پرایمر (primer-blast/NCBI) و امکان تشکیل ساختارهای دایمر و

سنجاق سر توسط نرم‌افزار *اولیگوآنالیزور* - Oligo Analyzer) (1.0.2 بررسی شد و مورد تأیید قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناکلون سنتز شدند. مشخصات پرایمرها در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

استخراج RNA: RNA بافت چربی طبق دستورالعمل کیت ترایزول *(سفیرآزما/Thermo Scientific)* استخراج شد. به‌طور خلاصه: ۵۰ میلی‌گرم از نمونه بافت چربی، پس از افزودن یک میلی‌لیتر محلول ترایزول، ازطریق دستگاه همزن هموژن شد. بافت هموژن‌شده در دوره‌های متفاوت سانتریفوژ شد (در دمای ۴ درجه سلسیوس، به‌مدت ۱۵ دقیقه، با سرعت دوازده هزار دور در دقیقه) که محصول آن تشکیل رسوب حاوی RNA بود که پس از اضافه کردن آب دپس *(سفیرآزما/Thermo Scientific)* به‌مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه ترموبلاک *(KiagenTech, Canada)* در دمای ۵۵ درجه سلسیوس آنکوبه شد.

قرائت غلظت RNA: خلوص (در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر) و غلظت (در طول موج ۲۶۰ نانومتر) RNAی استخراج‌شده توسط دستگاه طیف‌سنجی نور *Pharmacia Biotech Ultrospec* (**3000**) ازطریق فرآیند جذب نوری (OD) تعیین شد و خلوص بیشتر از ۱/۶ مورد قبول قرار گرفت.

سنتز cDNA: RNA استخراج‌شده در مرحله قبل، به‌روش رونویسی معکوس، توسط دستورالعمل کیت سنتز cDNA *(سفیرآزما/Thermo Scientific)* به DNAی مکمل تبدیل شد. در طی این مرحله، مواد ذیل به‌کار گرفته شد: رَندم هگزامر *Rondom Hexamer*)، مهارکننده RNAase، آنزیم رونویس معکوس *(Revert Aid)*، بافر و بازهای سازنده‌ی DNA *(dNTPs)*.

واکنش Real Time RT-PCR: برای انجام مراحل Real Time-RT-PCR از کیت پریمکس سایبر *SYBR®Premix Ex Tag* (*TM; TaKaRa, Japan*) استفاده شد. واکنش‌ها به‌صورت دوتایی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر در پلیت‌های ۹۶چاهکی انجام شدند. مخلوط واکنش شامل سه میکرولیتر cDNA (۱۰ درصد)، نیم میکرولیتر پرایمر رفت (غلظت ۱۰ پیکومول) و نیم میکرولیتر معکوس (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۱۰ میکرولیتر سایبرپریمیکس، نیم میکرولیتر رنگ مرجع روکس و آب مقطر بود. سپس ازطریق دستگاه کوربت (*RG-6000, Corbett, Australia*)، با برنامه زمانی ذیل تکثیر انجام شد و همزمان پایش صورت گرفت.

مرحله اوّل: واسرشت‌سازی اوّلیه: ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس

مرحله دوم: واسرشت – اتصال – گسترش؛ ۴۰ چرخه: ۱) ۲۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس؛ ۲) ۳۰ ثانیه در دمای ۵۷/۵ درجه سلسیوس برای قطعه ژنی TFEB؛ ۳۳ ثانیه در دمای ۵۶ درجه سلسیوس برای قطعه ژنی E2F1؛ به‌مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سلسیوس برای قطعه ژن GAPDH

مرحله سوم: به‌منظور ترسیم دمای ذوب، در انتها، یک مرحله واکنشی شامل ۴۰ ثانیه در ۹۵ درجه سلسیوس اضافه گردید.

کمّی‌سازی میزان بیان ژن: تغییرات بیان ژن براساس «چندبرابر» (*Fold Change*) محاسبه شد. در ابتدا کارایی پرایمرها و PCR (*PCR Efficiency*) توسط نرم‌افزار LinRegPCR به‌صورت مجزا محاسبه شد. منحنی ذوب مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌هایی که نمودار آن‌ها منطبق با الگو نبود، کنار گذاشته شدند. همچنین ازطریق معادله Pffafl، بیان نسبی ژن محاسبه شد (*Genex16.1*).

جدول شماره ۱- مشخصات پرایمرهای ژن‌های مورد پژوهش

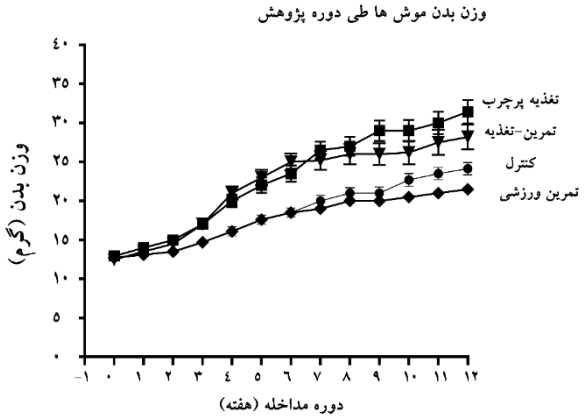
نام ژن	شماره دستیابی (Accession)	توالی رفت (Forward) 5′→3′	توالی معکوس (Reverse) 5′→3′	اندازه قطعه تکثیر(bp)	منبع
Transcription factor EB (TFEB)	NM_001161722	CCAGAAGCGAGAGCTCACAGAT دمای ذوب (Tm): ۶۲/۱۰ محتوای GC: ۵۴ درصد	TGTGATTGTCTTTCTTCTGCCG دمای ذوب (Tm): ۵۹/۱۹ محتوای GC: ۴۵ درصد	۷۱	[۲۲]
E2F transcription factor 1 (E2F1)	NM_007891	GGATCTGGAGACTGACCATCAG دمای ذوب (Tm): ۵۹/۶۴ محتوای GC: ۵۴ درصد	GGTTTCATAGCGTGACTTCTCCC دمای ذوب (Tm): ۵۸/۲۳ محتوای GC: ۵۲ درصد	۱۱۵	[۲۳]
ژن کنترل (GAPDH)	NM_001289726.1	AACACTGAGCATCTCCCTCA دمای ذوب (Tm): ۵۸/۳۵ محتوای GC: ۵۰ درصد	GTGGGTGCAGCGAACTTTAT دمای ذوب (Tm): ۵۸/۸۳ محتوای GC: ۵۰ درصد	۱۱۳	[۲۴]

روش‌های آماری

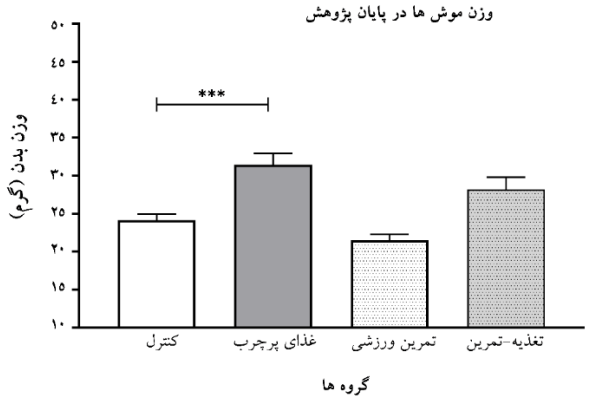
از آزمون شاپیرو - ویلک (*Shapiro-Wilk*) برای نرمال‌بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. به‌منظور مقایسه وزن آزمودنی‌ها در گروه‌های پژوهش، آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (*One Way ANOVA*) و آزمون تعقیبی توکی به‌کار رفت *SPSS* ویرایش ۲۲. برای بررسی اثر تغذیه پرچرب، تمرین ورزشی و برهم‌کنش تغذیه و تمرین بر بیان ژن‌های TFEB و E2F1 از آزمون تحلیل واریانس دوسویه *(Two-Way ANOVA)* استفاده شد و مقایسه میزان بیان ژن‌های TFEB و E2F1 در گروه‌های مورد پژوهش با تحلیل واریانس یکطرفه (*One Way ANOVA*) در محیط نرم‌افزار جنیکس صورت گرفت (*Genex16.1*). سطح معنی‌داری برای آزمون‌های آماری $P\leq$۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

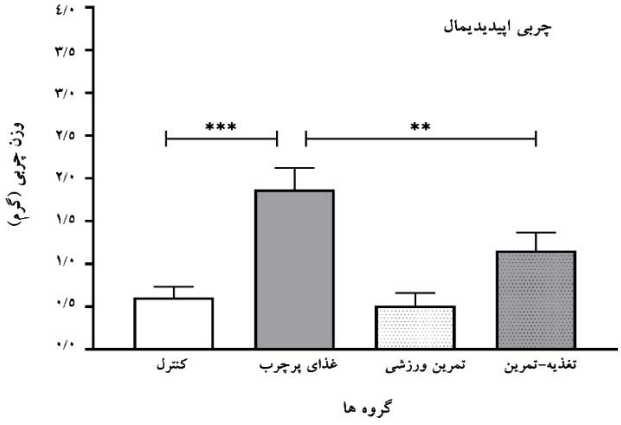
براساس آزمون شاپیرو - ویلک مشخص گردید که داده‌های مربوط به متغیرهای اندازه‌گیری‌شده در گروه‌های مورد پژوهش، دارای توزیع نرمالی هستند ($P>$۰/۰۰۱). همچنین، نتایج آزمون برون نشان داد که متغیرها در گروه‌های مورد پژوهش دارای تساوی واریانس هستند ($P>$۰/۰۰۱). داده‌های پژوهش به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند. در نمودار شماره ۱، افزایش وزن گروه‌ها طی دوره پژوهش نشان داده شده است و در نمودار شماره ۲، مقدار وزن گروه‌ها پس از پایان پروتکل مداخله با یکدیگر مقایسه شده است. براساس این مقایسه، وزن گروه غذای پرچرب در قیاس با وزن گروه کنترل بیشتر و معنادار بود ($P=$۰/۰۰۱). این یافته بیانگر این است که بر اثر تغذیه پرچرب، وزن موش‌ها افزایش بارزی یافت. همچنین مقدار وزن چربی احشائی منطقه اپیدیدیمال در نمودار شماره ۳ نمایش داده شده است که بیان می‌کند وزن چربی در گروه تغذیه پرچرب بالا بود (۰/۰۰۱ $= P$) و مقدار آن در گروه تمرین - تغذیه در قیاس با گروه تغذیه کمتر بود ($P=$۰/۰۱) و دلالت بر این دارد که بر اثر تغذیه پرچرب وزن چربی اپیدیدیمال افزایش یافت و تمرین ورزشی وزن چربی اپیدیدیمال را در موش‌های دارای تغذیه پرچرب کاهش داد.



نمودار شماره ۱- تغییرات وزن بدن موش‌های گروه‌های مورد پژوهش طی دوره مداخله تحقیق
داده‌های نمودار به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند.



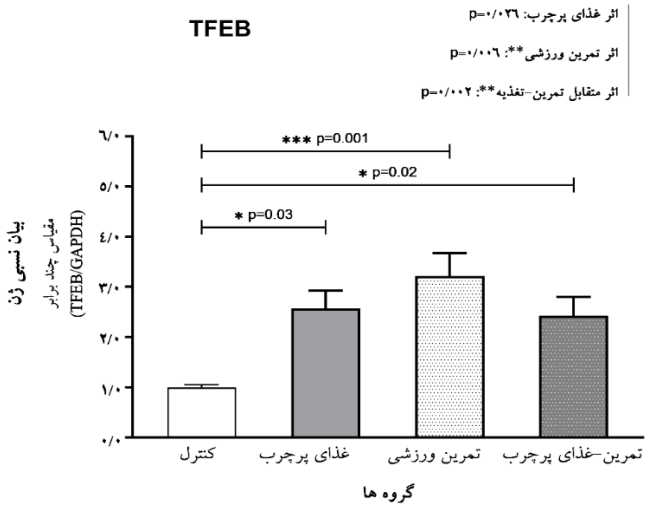
نمودار شماره ۲- مقایسه وزن بدن موش‌های گروه‌های مورد پژوهش پس از پایان مداخله
داده‌های نمودار به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند. تحلیل آماری از طریق تحلیل واریانس یک‌سویه با آزمون تعقیبی توکی انجام شده است. *** بیانگر $P<$ ۰/۰۰۱ است.



نمودار شماره ۳- مقایسه وزن چربی منطقه اپیدیدیمال موش‌ها پس از پایان مداخله

داده‌های نمودار به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» ارائه شده‌اند. تحلیل آماری از طریق تحلیل واریانس یک‌سویه با آزمون تعقیبی توکی انجام شده است. ** بیانگر $P<$ ۰/۰۱؛ *** بیانگر $P<$ ۰/۰۰۱ است.

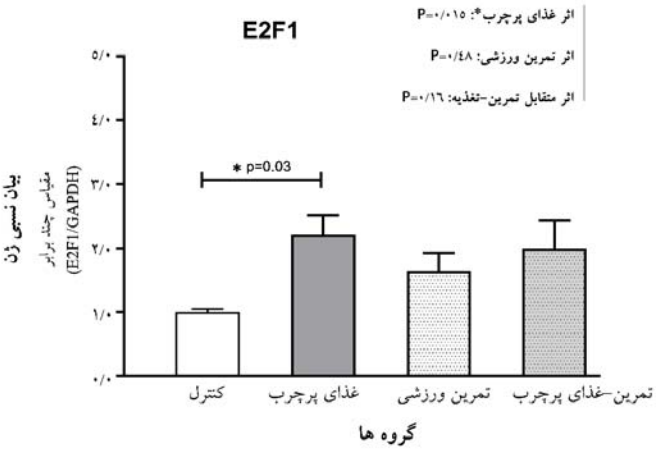
طبق نمودار شماره ۴، نتایج آزمون تحلیل واریانس دوسویه نشان داد که اثر تغذیه پرچرب بر بیان TFEB معنی‌دار نبود (P=۰/۲۶)؛ ولی اثر تمرین ورزشی (P=۰/۰۰۶) و اثر برهم‌کنش تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب (P=۰/۰۰۲) بر بیان این ژن معنی‌دار بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان TFEB در گروه تغذیه پرچرب (P=۰/۰۳)، گروه تمرین ورزشی (P=۰/۰۰۱) و گروه ترکیب تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب (P=۰/۰۲) در قیاس با گروه کنترل بالا بود (P=۰/۰۳)؛ ولی تفاوت معنی‌دار در مقدار آن بین سه گروه مداخله مشاهده نشد (۰/۰۵ P<). این یافته‌ها بیان می‌کنند که تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی موجب افزایش بیان TFEB در بافت چربی احشائی شد.



نمودار شماره ۴- بیان نسبی ژنِ TFEB در گروه‌های مورد پژوهش

داده‌های بیان ژن براساس معیار چندبرابر (Fold change) تعیین شده‌اند. داده‌های نمودار به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» نمایش داده شده‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در بالای نمودار ارائه شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی در بالای ستون‌ها نشان داده شده است.

همان‌طور که در نمودار شماره ۵ قابل مشاهده است، نتایج آزمون تحلیل واریانس دوسویه نشان داد که اثر تغذیه پرچرب بر بیان ژن E2F1 **معنی‌دار بود (*P*=۰/۰۱). ولی اثر تمرین ورزشی (*P*=۰/۴۸) و اثر برهم‌کنش تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب (*P*=۰/۱۶) بر بیان این ژن معنی‌دار نبود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان** E2F1 **در گروه تغذیه پرچرب در قیاس با گروه کنترل بالا بود (*P*=۰/۰۳)؛ ولی مقدار تفاوت بیان این ژن در بقیه مقایسه‌های بین گروهی معنی‌دار نبود (*P*>۰/۰۵). این یافته‌ها بیانگر این هستند که تغذیه پرچرب (و نه تمرین ورزشی و نه ترکیب تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب) موجب افزایش بیان ژن** E2F1 **در بافت چربی احشائی شد.**



نمودار شماره ۵- بیان نسبی ژنِ E2F1 در گروه‌های مورد پژوهش

داده‌های بیان ژن براساس معیار چندبرابر (Fold change) تعیین شده‌اند. داده‌های نمودار به‌صورت «میانگین ± خطای استاندارد از میانگین» نمایش داده شده‌اند. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در بالای نمودار ارائه شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی در بالای ستون‌ها نشان داده شده است.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بر اثر تغذیه پرچرب، میزان بیان ژن TFEB **در بافت چربی احشائی افزایش بارزی یافت. تمرین ورزشی از نوع استقامتی تداومی همانند تغذیه پرچرب، تأثیر افزایشی در بیان ژن** TFEB **داشت. همچنین، ترکیب تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب اثر افزایشی در بیان** TFEB **داشت. با این‌حال، این**

تأثیر ترکیبی، تفاوت معنی‌داری با اثر جداگانه تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب نداشت. همچنین میزان بیان ژن E2F1 بر اثر تغذیه پرچرب در بافت چربی احشائی افزایش یافت؛ با این‌حال، تمرین ورزشی و ترکیب غذای پرچرب و تمرین ورزشی هیچ‌کدام تأثیری بر بیان E2F1 نداشتند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ۱۲ هفته تغذیه پرچرب موجب افزایش بارز وزن بدن و همچنین وزن چربی اپیدیدیمال موش‌ها شد که دلالت بر چاقی ناشی از تغذیه پرچرب دارد. به‌علاوه تمرین استقامتی تداومی مقدار وزن چربی اپیدیدیمال را در موش‌های دارای تغذیه پرچرب کاهش داد؛ ولی تغییر معنی‌داری در وزن موش‌های دارای تغذیه پرچرب ایجاد نکرد. این یافته به‌طور غیرمستقیم بیانگر این است که تمرین ورزشی تجویزشده، مقدار چربی بدن موش‌های دارای تغذیه پرچرب را کاهش و احتمالاً در مقابل، وزن عضلانی آن‌ها را افزایش داده است. عامل رونویسی EB (TFEB) در تنظیم چرخه سلولی، بیوژنز لیزوزوم، بیوژنز میتوکندری، تنظیم آتوفاژی (میتوفاژی)، حذف رادیکال‌های آزاد و تنظیم سیستم ایمنی و التهاب نقش دارد [۸]. همچنین مشخص شده است که این عامل می‌تواند کاتابولیسم لیپید را تقویت کند [۹]. نتایج این پژوهش نشان داد که بر اثر تغذیه پرچرب، میزان بیان ژن TFEB در بافت چربی سفید احشائی افزایش یافت. این یافته موافق با پژوهش‌های گذشته توسط Kim و همکاران (۲۰۲۱) است که افزایش بیان ژن TFEB را در بافت چربی احشائی موش‌های چاق ناشی از تغذیه پرچرب و موش‌های چاق ژنتیکی (Ob/Ob) گزارش کرده‌اند. همچنین، میزان بالایی از بیان ژن TFEB در بافت چربی احشائی آزمودنی‌های انسانی چاق و آزمودنی‌های چاق دیابتی، مشاهده شده است [۱۳]. به نظر می‌رسد که استرس لیزوزومی و استرس شبکه اندوپلاسمی که در اثر تغذیه پرچرب بروز می‌کنند [۲۵]، در القاء بیان TFEB در بافت چربی نقش ایفا کرده باشند [۱۳]. اگر با نگاه مثبت به این تغییر توجه شود، می‌توان پنداشت که افزایش TFEB در بافت چربی موش‌های دارای تغذیه پرچرب، نشان از سازگاری مثبت یا جبرانی است. به این‌صورت که احتمالاً افزایش TFEB ناشی از تغذیه پرچرب، از طریق تقویت آتوفاژی و تنظیم بیان PPARγ موجب تمایز سلول‌های چربی و نمو بافت چربی می‌شود [۲۶،۱۰]. با رشد بافت چربی، قابلیت ذخیره تری‌گلیسرید این بافت افزایش می‌یابد تا از سرریز آن در بافت‌های اکتوپیک (نابه‌جا) که عامل بروز مقاومت انسولینی و کبد چرب هستند، پیشگیری کند [۳]. بنابراین می‌توان استدلال کرد که بافت چربی به‌منظور انبار بیشتر مولکول‌های چربی که بر اثر تغذیه چرب حاصل می‌شوند، گسترش می‌یابد که برای تحقق این سازگاری، عوامل مربوط به نمو چربی همچون TFEB افزایش می‌یابند. یافته دیگر پژوهش حاضر، این بود که تمرین ورزشی، به‌روش دویدن تداومی، همانند تغذیه پرچرب موجب افزایش بیان TFEB در بافت چربی احشائی شد. این یافته می‌تواند به‌عنوان یک یافته جدید تلقی شود، چراکه براساس جستجوهای انجام‌شده تاکنون اثر تمرین ورزشی بر میزان بیان TFEB مطالعه نشده است و تنها یک مطالعه در این زمینه یافت شد که در آن اثر فعالیت ورزشی حاد بر بیان TFEB عضله اسکلتی بررسی شده است [۲۷]. انتظار می‌رفت که بیان این ژن بر اثر تمرین ورزشی استقامتی کاهش یابد. با این استدلال که چون تغذیه پرچرب اثر افزایشی در بیان TFEB دارد، احتمالاً تمرین ورزشی با نقش متضاد، میزان آن را کاهش دهد. اما برخلاف انتظار، بیان TFEB بر اثر تمرین استقامتی افزایش یافت. براساس این یافته می‌توان گمان داشت که تأثیر دو عامل تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی استقامتی الزاماً متضاد یکدیگر نیست، بلکه تأثیر آن‌ها در برخی شرایط، بر بیان بعضی از ژن‌های درگیر در متابولیسم همچون TFEB مشابه هم است. به نظر می‌رسد، افزایش بیان TFEB ناشی از تمرین ورزشی، از طریق عامل پیام‌رسانی AMPK میانجی‌گری شده است؛ چرا که بر اثر تمرینات استقامتی، AMPK در سلول‌های چربی فعال می‌شود [۲۸] که می‌تواند نسخه‌برداری TFEB را القاء نماید [۲۹]. افزایش TFEB ناشی از تمرین ورزشی را می‌توان یک سازگاری مثبت در جهت افزایش تقویت متابولیسم در بافت چربی پنداشت؛ چرا که این عامل می‌تواند متوکندری‌زایی و کاتابولیسم لیپید را در سطح سلول و بافت چربی تقویت کند [۳۲،۹-۳۰]. در این پژوهش، آزمون واریانس دوسویه تأثیر برهم‌کنش تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب را بر بیان ژن TFEB نشان داد. از آن‌جایی که هریک از عوامل تغذیه غذای پرچرب و تمرین ورزشی دارای اثر افزایشی در بیان ژن TFEB بودند، انتظار می‌رفت که توأم‌شدن این دو متغیر موجب افزایش بیشتر در بیان TFEB شود. با این‌حال، اثر ترکیبی این دو عامل در قیاس با اثر جداگانه هریک از عوامل، بیشتر نبود. این یافته می‌تواند دلالت بر این داشته باشد که هنگامی‌که این دو عامل در کنار همدیگر تجویز می‌شوند، اثر فزاینده یا تجمیعی در افزایش بیان TFEB بر جای نمی‌گذارند. اگرچه نمی‌توان دلیل اصلی عدم بروز اثر تجمیعی تغذیه پرچرب و تمرین استقامتی را بر بیان این ژن دریافت؛ با این‌حال، این یافته نشان می‌دهد که در شرایط مختلف، تغذیه پرچرب و تمرین ورزشی تقابل پیچیده‌ای در بیان برخی از ژن‌های متابولیکی دارند. عامل رونویسی E2F1 نقش کلیدی در چرخه سلولی، آپوپتوز و پاسخ آسیب DNA دارد. همچنین اخیراً مطالعاتی نشان داده‌اند که این عامل در ادیپوژنز و قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید، ایفای نقش می‌کند [۱۲،۱۱]. نتایج این پژوهش در مورد

عامل رونویسی E2F1 نشان داد که تغذیه پرچرب موجب افزایش بیان E2F1 در بافت چربی احشائی شد. این یافته موافق با پژوهش‌های گذشته است که میزان بالای بیان E2F1 را در بافت چربی احشائی موش‌های چاق ناشی از غذای پرچرب و چاق ناشی از کمبود لپتین گزارش کرده‌اند [۱۴]. همچنین در پژوهش‌های انسانی میزان بالای E2F1 در بافت چربی احشائی افراد چاق گزارش شده است [۱۵]. به‌نظر می‌رسد این افزایش یک سازوکار جبرانی برای تولید سلول‌های چربی (ادیپوژنز) و گسترش بافت چربی باشد تا قابلیت ذخیره چربی افزایش یابد؛ چراکه نشان داده شده است E2F1 با تنظیم PPARγ و RIP140 در ادیپوژنز ایفای نقش می‌کند [۳۳]. مطالعات نشان داده‌اند که تجمع چربی ناشی از تغذیه پرچرب با افزایش رادیکال‌های آزاد و عوامل التهابی همراه می‌شود که این عوامل می‌توانند در بافت‌های مختلف به DNA آسیب وارد کنند [۳۴]. همچنین اثبات شده است که آسیب DNA می‌تواند با تحریک میانجی‌های مختلف، بیان ژن E2F1 را القاء کند [۳۵]. براساس یافته‌های این مطالعات می‌توان پنداشت که افزایش بیان E2F1 ناشی از تغذیه پرچرب احتمالاً به‌واسطه آسیب DNA ایجاد شده است. در این پژوهش مشاهده شد که تمرین استقامتی، تأثیر افزایشی معنی‌داری در بیان ژن E2F1 نگذاشت. براساس جستجوهای صورت‌گرفته، تنها یک پژوهش درخصوص اثر تمرین ورزشی بر E2F1 یافت شد که نشان داد، تمرین تناوبی با شدت متوسط موجب کاهش بیان E2F1 در کبد رت‌های ویستار شد [۳۶]. با این‌حال، پژوهشی که اثر تمرین ورزشی بر بیان E2F1 بافت چربی را بررسی کند، یافت نشد. بنابراین این یافته را می‌توان به‌عنوان یافته نو قلمداد کرد. از آن‌جایی که مطالعات نشان داده‌اند E2F1 در بیان ژن‌های درگیر در قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید نقش دارد [۱۲]؛ در این خصوص دو نظریه وجود دارد: ۱- احتمالاً در این پژوهش، قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید بر اثر تمرین ورزشی تجویزشده رخ نداده است و ۲- احتمالاً قهوه‌ای‌شدن بافت چرب سفید ناشی از این مدل تمرین ورزشی، در مکانیسمی مستقل از E2F1، بروز می‌یابد. با توجه به این‌که در این پژوهش، نشانگرهای قهوه‌ای‌شدن بافت چربی سفید سنجش نشده است، این نظریه‌ها در حدّ ظن و گمان باقی می‌مانند و برای اثبات آن‌ها به مطالعات بیشتر در آینده نیاز است. یافته آخر این پژوهش این بود که اثر ترکیبی تمرین استقامتی و تغذیه پرچرب بر بیان E2F1 معنی‌دار نبود؛ درحالی‌که تغذیه پرچرب به‌تنهایی اثر افزایشی در بیان این ژن داشت. براساس این یافته می‌توان گمان داشت که تمرین ورزشی تجویزشده اثر افزایشی ناشی از تغذیه پرچرب در بیان ژن E2F1 را خنثی کرده است. اثبات شده است که تمرین ورزشی با القاء مسیرهای پیام‌رسانی درون‌سلولی باعث ترمیم DNA می‌شود و از آسیب DNA جلوگیری می‌کند [۳۸،۳۷]؛ همچنین کاهش وزن ناشی از تمرین ورزشی به‌عنوان استراتژی برای مقابله با آسیب DNA ناشی از چاقی تلقی شده است [۳۹]. همان‌طور که در پاراگراف‌های بالا ذکر شد، آسیب DNA در القاء بیان E2F1 نقش مؤثری دارد [۳۵]. بنابراین می‌توان پنداشت که تمرین ورزشی از طریق مکانیسم ذکرشده، افزایش بیان E2F1 ناشی از تغذیه پرچرب را تعدیل می‌کند. کاستی پژوهش حاضر این بود که معیارهای متابولیکی عمومی در گردش خون (همچون قند و چربی خون) مورد سنجش قرار نگرفت تا تأثیر متابولیکی تمرین ورزشی و تغذیه پرچرب بهتر بررسی شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تمرین ورزشی از نوع استقامتی تداومی و تغذیه پرچرب در بیان ژن TFEB به‌صورت متضاد عمل نمی‌کنند؛ بلکه تمرین ورزشی تجویزشده و تغذیه پرچرب خورده‌شده در الگوی مشابه موجب افزایش بیان TFEB در بافت چربی شدند. همچنین براساس یافته‌های این مطالعه می‌توان استدلال کرد که تمرین استقامتی تداومی در ترکیب با غذای پرچرب موجب تعدیل بیان E2F1 ناشی از تغذیه پرچرب می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آیت‌الله‌العظمی بروجردی در قالب طرح پژوهشی انجام شده است (کد سمات: ۱۵۶۶۴ - ۱۳۸۲۹). بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر فاطمه جلالی مقیم در همراهی برای اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی و از جناب آقای دکتر علی پوینده به‌سبب ارائه مشاوره‌های سازنده در اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی قدردانی می‌شود.

References:

[1] Caudwell P, Gibbons C, Finlayson G, Näslund E, Blundell J. Physical Activity, Energy Intake, and Obesity: The Links Between Exercise and Appetite. ***Curr Obes Rep*** 2013; 2(2): 185-90.

[2] Cummins TD, Holden CR, Sansbury BE, Gibb AA, Shah J, Zafar N, et al. Metabolic remodeling of white adipose tissue in obesity. ***Am J Physiol Endocrinol*** 2014; 307(3): E262-77.

[3] He MQ, Wang JY, Wang Y, Sui J, Zhang M, Ding X, et al. High-fat diet-induced adipose tissue expansion occurs prior to insulin resistance in C57BL/6J mice. ***Chronic Dis Transl Med*** 2020; 6(3): 198-207.

[4] van der Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC, Hommelberg PP, Kor D, Kloosterhuis NJ, et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. ***Aging*** 2015; 7(4): 256-68.
[5] McKie GL, Wright DC. Biochemical adaptations in white adipose tissue following aerobic exercise: from mitochondrial biogenesis to browning. ***Biochem J*** 2020; 477(6): 1061-81.
[6] Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. ***Am J Physiol Endocrinol*** 2009; 297(2): E495-504.
[7] Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gonçalves IO, Moreira A, Maciel E, Santos S, et al. Impact of physical exercise on visceral adipose tissue fatty acid profile and inflammation in response to a high-fat diet regimen. ***Int J Biochem Cell Biol*** 2017; 87: 114-24.
[8] Napolitano G, Ballabio A. TFEB at a glance. ***J Cell Sci*** 2016; 129(13): 2475-81.
[9] Settembre C, De Cegli R, Mansueto G, Saha PK, Vetrini F, Visvikis O, et al. TFEB controls cellular lipid metabolism through a starvation-induced autoregulatory loop. ***Nat Cell Biol*** 2013; 15(6): 647-58.
[10] Salma N, Song JS, Kawakami A, Devi SP, Khaled M, Cacicedo JM, et al. Tfe3 and Tfeb transcriptionally regulate peroxisome proliferator-activated receptor γ2 expression in adipocytes and mediate adiponectin and glucose levels in mice. ***Mol Cell Biol*** 2017; 37(15): e00608-16.
[11] Denechaud PD, Fajas L, Giralt A. E2F1, a novel regulator of metabolism. ***Front Endocrinol*** 2017; 8: 311.
[12] Xiong M, Hu W, Tan Y, Yu H, Zhang Q, Zhao C, et al. Transcription Factor E2F1 Knockout Promotes Mice White Adipose Tissue Browning Through Autophagy Inhibition. ***Front Physiol*** 2021; 12.
[13] Kim J, Kim SH, Kang H, Lee S, Park SY, Cho Y, et al. TFEB–GDF15 axis protects against obesity and insulin resistance as a lysosomal stress response. ***Nat Metab*** 2021; 3(3): 410-27.
[14] Choi Y, Jang S, Choi M-S, Ryoo ZY, Park T. Increased expression of FGF1-mediated signaling molecules in adipose tissue of obese mice. ***J Physiol Biochem*** 2016; 72(2): 157-67.
[15] Haim Y, Blüher M, Slutsky N, Goldstein N, Klöting N, Harman-Boehm I, et al. Elevated autophagy gene expression in adipose tissue of obese humans: a potential non-cell-cycle-dependent function of E2F1. ***Autophagy*** 2015; 11(11): 2074-88.
[16] Shirkhani S, Marandi SM, Kazeminasab F, Esmaeili M, Ghaedi K, Esfarjani F, et al. Comparative studies on the effects of high-fat diet, endurance training and obesity on Ucp1 expression in male C57BL/6 mice. ***Gene*** 2018; 676: 16-21.
[17] Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, and Rülicke T. Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. ***Comp Med*** 2001; 51(5): 443-56.
[18] Teixeira-Coelho F, Fonseca CG, Barbosa NHS, Vaz FF, Cordeiro LMdS, Coimbra CC, et al. Effects of manipulating the duration and intensity of aerobic training sessions on the physical performance of rats. ***PloS One*** 2017; 12(8): e0183763.
[19] Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, and Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. ***Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*** 2007; 14(6): 753-760.
[20] Wang Y, Wisloff U, Kemi OJ. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. ***Physiol Res*** 2010; 59(5): 633.
[21] Deng Y, Xu J, Zhang X, Yang J, Zhang D, Huang J, et al. Berberine attenuates autophagy in adipocytes by targeting BECN1. ***Autophagy*** 2014; 10(10): 1776-86.
[22] Chao X, Wang S, Yang L, Ni HM, and Ding WX. Trehalose activates hepatic transcription factor EB (TFEB) but fails to ameliorate alcohol-impaired TFEB and liver injury in mice. ***Alcohol Clin Exp Res*** 2021; 45(10): 1950-64.
[23] Flowers S, Xu F, and Moran E. Cooperative activation of tissue-specific genes by pRB and E2F1. ***Cancer research*** 2013; 73(7): 2150-8.
[24] Parousis A, Carter HN, Tran C, Erlich AT, Mesbah Moosavi ZS, Pauly M, et al. Contractile activity attenuates autophagy suppression and reverses mitochondrial defects in skeletal muscle cells. ***Autophagy*** 2018; 14(11): 1886-97.
[25] Castro G, Areias MF, Weissmann L, Quaresma PGF, Katashima CK, Saad MJA, et al. Diet-induced obesity induces endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the amygdala of rats. ***FEBS Open Bio*** 2013; 3: 443-9.
[26] Ferhat M, Funai K, Boudina S. Autophagy in adipose tissue physiology and pathophysiology. ***Antioxid Redox Signal*** 2019; 31(6): 487-501.
[27] Erlich AT, Brownlee DM, Beyfuss K, and Hood DA. Exercise induces TFEB expression and activity in skeletal muscle in a PGC-1α-dependent manner. ***Am J Physiol, Cell Physiol*** 2018; 314(1): C62-C72.
[28] Steinberg GR, Carling D. AMP-activated protein kinase: the current landscape for drug development. ***Nat Rev Drug Discov*** 2019; 18(7): 527-51.
[29] Paquette M, El-Houjeiri L, L CZ, Puustinen P, Blanchette P, Jeong H, et al. AMPK-dependent phosphorylation is required for transcriptional activation of TFEB and TFE3. ***Autophagy*** 2021; 17(12): 3957-3975.
[30] Evans TD, Zhang X, Jeong SJ, He A, Song E, Bhattacharya S, et al. TFEB drives PGC-1α

expression in adipocytes to protect against diet-induced metabolic dysfunction. ***Sci Signal*** 2019; 12(606): eaau2281.
[31] Wang S, Chen Y, Li X, Zhang W, Liu Z, Wu M, et al. Emerging role of transcription factor EB in mitochondrial quality control. ***Biomed Pharmacother*** 2020; 128: 110272.
[32] Mansueto G, Armani A, Viscomi C, D'Orsi L, De Cegli R, Polishchuk EV, et al. Transcription Factor EB Controls Metabolic Flexibility during Exercise. ***Cell Metab*** 2017; 25(1): 182-96.
[33] Nautiyal J, Christian M, Parker MG. Distinct functions for RIP140 in development, inflammation, and metabolism. ***Trends Endocrinol Metab*** 2013; 24(9): 451-9.
[34] Włodarczyk M, Nowicka G. Obesity, DNA damage, and development of obesity-related diseases. ***Int J Mol Sci*** 2019; 20(5): 1146.
[35] Stevens C, Thangue NB. The emerging role of E2F-1 in the DNA damage response and checkpoint control. ***DNA Repair*** 2004; 3(8-9): 1071-9.
[36] Barzegari A, Kazari S, Satvati Niri Z, Alizadeh Mirashrafi MA. Comparison of the effect of different intensities of aerobic exercise on the expression of transcription factors E2F1 and E2F4 in liver tissue of Wistar rats. ***RJMS*** 2022; 29(1): 48-59. [in Persian]
[37] Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, et al. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. ***Pflügers Arch*** 2002; 445(2): 273-8.
[38] Soares JP, Silva AM, Oliveira MM, Peixoto F, Gaivão I, Mota MP. Effects of combined physical exercise training on DNA damage and repair capacity: role of oxidative stress changes. ***Age*** 2015; 37(3): 1-12.
[39] Setayesh T, Mišík M, Langie SAS, Godschalk R, Waldherr M, Bauer T, et al. Impact of Weight Loss Strategies on Obesity-Induced DNA Damage. ***Mol Nutr Food Res*** 2019; 63(17): e1900045.