

The effect of 4 weeks High-Intensity Interval Training (HIIT) on the content of PPAR γ and PRDM16 in adipose tissue of diabetic obese male rats

Hashemi-Taklimi MS¹, Shabani M², Shadmehri S^{3*}, Sherafati-Moghadam M², Fathalipour M⁴

1- Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. Iran.

2- Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, I.R. Iran.

3- Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahr-e Ray Branch, Tehran, I.R. Iran.

4- Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, I.R. Iran.

Received: 2019/01/15 | Accepted: 2019/06/1

Abstract:

Background: Today, important proteins and pathways have been identified that lead to the regulation of the white adipose tissue and converting it to brown adipose tissue, the proteins PPAR γ and PRDM16 are key proteins in this setting. Diabetes is one of the major causes of obesity and complications that can interfere in the function of these two proteins. This study aimed to investigate the effect of 4 weeks High-Intensity Interval Training (HIIT) on the content of PPAR γ and PRDM16 proteins in subcutaneous adipose tissue of diabetic obese male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 16 Sprague-Dawley male rats (mean weight of 300 \pm 20 gr) were selected and after induction of diabetes by injection of STZ and nicotinamide was randomly assigned into two groups: diabetic training and diabetic control. The experimental group performed HIIT training for 4 weeks, accordance with the training program for 4 weeks, while the control group did not have any training program. Independent T-test was used to analyze the data.

Results: Significant change was not observed in the content of PPAR γ ($P=0.16$) and PRDM16 ($P=0.83$) proteins in HIIT training group compared to the control group.

Conclusion: According to the results of this study, HIIT training has not led to significant change the content of PPAR γ and PRDM16 proteins. It seems to the intensity of HIIT training be a major contributor to the result that should be taken into consideration.

Keywords: Diabetes, High-Intensity Interval Training (HIIT), PPAR γ , PRDM16, White fat tissue

*Corresponding Author:

Email: saeedehsh61@gmail.com

Tel: 0098 912 314 5412

Fax: 0098 215 522 9297

Conflict of Interests: *No*

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2019; Vol. 23, No 4, Pages 389-397

Please cite this article as: Hashemi-Taklimi MS, Shabani M, Shadmehri S, Sherafati-Moghadam M, Fathalipour M. The effect of 4 weeks High-Intensity Interval Training (HIIT) on the content of PPAR γ and PRDM16 in adipose tissue of diabetic obese male rats. *Feyz* 2019; 23(4): 389-97.

تأثیر ۴ هفته تمرین HIIT بر محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به دیابت

مریم‌السادات هاشمی تکلیمی^۱، مریم شعبانی^۲، سعیده شادمهری^{۳*}، محمد شرافتی مقدم^۲، محمد فتحعلی‌پور^۴

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه پروتئین‌ها و مسیرهای سلولی مهمی شناسایی شده‌اند که منجر به تنظیم بافت چربی سفید و تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای می‌شوند که پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 پروتئین‌های کلیدی در این تنظیم هستند. دیابت از عوامل مهم چاقی و ایجاد عوارض می‌باشد که می‌تواند در عملکرد این دو پروتئین اختلال ایجاد کند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT; High-Intensity Interval Training) بر محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به دیابت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی (با میانگین وزن 30 ± 20 گرم) انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق تزریق STZ و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه تمرین دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند؛ گروه تمرینی ۴ روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته به فعالیت ورزشی پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t-مستقل استفاده شد.

نتایج: تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های PPAR γ ($P=0/16$) و PRDM16 ($P=0/83$) به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: باتوجه به نتایج تحقیق حاضر، تمرین HIIT منجر به تغییر معنی‌دار محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 نشده است. به نظر می‌رسد شدت تمرین ورزشی HIIT عامل مهمی در این نتیجه باشد که باید به آن توجه کرد.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین تناوبی با شدت بالا، PPAR γ ، PRDM16، بافت چربی سفید

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۴، مهر و آبان ۹۸، صفحات ۳۹۷-۳۹۰

مقدمه

دیابت نوع ۲ که بیش از ۹۰ درصد موارد ابتلا به دیابت را تشکیل می‌دهد؛ عوارض طولانی‌مدت متعددی از جمله: کاهش حساسیت به انسولین، عدم تحمل گلوکز و عوارض قلبی-عروقی را در مبتلایان موجب می‌شود که علاوه بر کاهش کیفیت زندگی و تحمیل هزینه‌های درمانی، خطر مرگ‌ومیر را نیز در این افراد ۲ تا ۴ برابر می‌افزاید [۱]. افزایش بافت چربی موجب ایجاد شرایط التهابی مزمن می‌شود که نقش مهمی در پیشرفت مقاومت به انسولین و ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ دارد.

مقاومت به انسولین که به‌عنوان کاهش پاسخ بافت‌های محیطی به عملکرد انسولین تعریف می‌شود؛ از عوامل اصلی در گسترش دیابت نوع ۲ و عوارض طولانی‌مدت آن به شمار می‌رود [۲]. بافت چربی قهوه‌ای (BAT; Brown Adipose Tissue)، توانایی ایجاد گرمایی، محافظت در برابر چاقی با پاک کردن تری‌گلیسیریدها و کاهش مقاومت به انسولین است [۳]. بافت چربی سفید (WAT; White adipose tissue)، از سوی دیگر انرژی اضافی را ذخیره می‌کند و برخی از عوامل غدد درون‌ریز مانند آدیپوکاین‌ها را برای تنظیم ترشح می‌کند [۴]. برای دهه گذشته توجه بیشتری به توسعه بافت چربی قهوه‌ای باتوجه به اثرات مفید آن بر اختلالات متابولیکی شده است [۵]. بافت چربی قهوه‌ای نسبت به بافت چربی سفید راه چاقی و اختلالات مربوط به چاقی را محدود می‌کند. عوامل مهمی وجود دارد که در تبدیل بافت چربی قهوه‌ای به سفید نقش دارند. از جمله: (۱) اسید بتا آمینیزوآباتیک (BAIBA)؛ (۲) گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA; gamma-aminobutyric acid)؛ (۳) گیرنده فعال‌شده تکثیرکننده پراکسیزوم γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma)؛ (۴) مهار مسیر JAK، (۵) آیزین و (۶) دامنه PR حاوی ۱۶ (PR domain; PRDM16)

۱. مربی، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲. استادیار، واحد هشتگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران

۳. استادیار، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴. استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، شهر ری

دوره‌نویس: ۰۲۱۵۵۲۲۹۲۹۷

تلفن: ۰۹۱۳۳۱۴۵۴۱۲

پست الکترونیک: saeedehsh61@gmail.com

کارت پستی: ۱۳۹۸/۳/۱۱

کارت پستی: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵

است. همچنین هنوز تأثیرات فیزیولوژیکی تمرینات HIIT که به واسطه‌ی آن‌ها عملکرد بهبود می‌یابد، به‌خوبی درک نشده‌است [۱۸]. در تحقیقی Petridou و همکاران (۲۰۰۷) تأثیر دویدن در چرخ‌گردان را بر فعالیت PPAR- γ و PPAR- α در عضلات/دوقلو، کبد و بافت چربی موش‌های صحرایی به مدت ۸ هفته بررسی کردند. نتایج نشان داد که فعالیت اختیاری داخل چرخ‌گردان منجر به تغییر معنی‌داری در بیان ژن PPAR- γ و PPAR- α در موش‌های تمرین‌کرده نمی‌شود [۱۹]. در پژوهشی دیگر Ringholm و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی فعالیت ورزشی بر بیان ژن PRDM16 در بافت چربی اپیدیدیمال و کشاله‌رانی موش‌های صحرایی مبتلا به نقص در پروتئین پراکسیزوم تکثیرکننده-فعال‌شده گیرنده گاما سازنده-1-آلفا (PGC1- α ; Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) پرداختند. تمرین ورزشی شامل یک دوره فعالیت ورزشی کوتاه‌مدت ۵ روزه و هر روز دو دوره ۱۰ دقیقه (هر دوره تمرین ۱۰ دقیقه شامل: ۲ دقیقه با سرعت ۸ متر در دقیقه، ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، ۴ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه و ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه با شیب ثابت ۱۰ درصد) دویدن بر روی تردمیل بود. نتایج افزایش بیان ژن PRDM16 را در هفته‌های ۲ و ۶ نشان داد؛ اما در هفته دهم بیان ژن PRDM16 کاهش چشمگیری یافته‌بود [۲۰]. هنوز نقش تمرین HIIT بر پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- γ و تنظیم این دو پروتئین در بافت چربی به‌خوبی مشخص نشده‌است. همچنین نقش این پروتئین‌ها در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع ۲، پرفشاری خونی، بیماری‌های قلبی و سرطان ناشناخته مانده است؛ بنابراین تحقیقات بیشتری بر روی پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- γ در بافت چربی موردنیاز است. از طرفی تاکنون پژوهش‌های بسیار محدودی تأثیر تمرین HIIT بر تنظیم PRDM16 و PPAR- γ را بررسی کرده‌اند. باتوجه به نقش‌های بسیار مهم ذکرشده این دو پروتئین در تنظیم بافت چربی در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین HIIT بر میزان پروتئین‌های PRDM16 و PPAR- γ در بافت چربی زیر پوستی موش‌های صحرایی نر اسپراگوداولی دیابتی نوع ۲ دارای اضافه‌وزن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی- بنیادی می‌باشد که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۶ سر موش صحرایی نر ۸ هفته از نژاد اسپراگوداولی از حیوان‌خانه

(containing 16). همچنین در تحقیقات اخیر تمرین ورزشی یکی از عوامل بسیار مهم در این تبدیل گزارش شده‌است [۶]. PPAR- γ یکی از اعضای سوپرخانواده گیرنده هسته‌ای از فاکتورهای رونویسی وابسته به لیگاند است که به‌عنوان عامل اصلی تنظیم، تمایز و متابولیسم آدیپوسیت‌ها عمل می‌کند [۷]. PPAR- γ برای تمایز آدیپوسیت‌ها، تنظیم حساسیت به انسولین، لیپوژنز و بقا و عملکرد آدیپوسیت‌ها موردنیاز است [۸]. PPAR- γ در تمایز هر دو سلول چربی سفید و قهوه‌ای نقش دارد، اگرچه آن‌ها مسیرهای رونویسی مشابهی دارند [۹]. PPAR- γ یک عامل بسیار کلیدی در درمان مقاومت به انسولین است؛ زیرا لیگاندهای این گیرنده به عنوان افزایش‌دهنده حساسیت به انسولین، مورد استفاده در درمان دیابت نوع ۲ می‌باشد. این فاکتور رونویسی در آدیپوسیت‌ها باعث تنظیم گلوکز و هموستاز چربی می‌شود [۱۰]. PRDM [تنظیم‌کننده مثبت دامنه I- عامل اتصالی ۱ (PRDMI-BFI) و پروتئین تعاملی روی انگشتی ریتوبلاستوما ژن ۱ (RIZ1)] خانواده‌ای از پروتئین‌ها هستند که در طیف وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی شامل تعیین سلول و تحریک سلول دخالت دارند. این خانواده از ۱۷ عضو تشکیل شده‌است. مطالعات نقش حیاتی PRDM16 در تعیین و عملکرد چربی قهوه‌ای را نشان داده‌اند [۱۱]. این پروتئین به‌طور انتخابی در سلول‌های چربی قهوه‌ای نسبت به سفید بیان می‌شود [۱۲]. همچنین PRDM16 برای تمایز چربی و حفظ سرنوشت بافت چربی قهوه‌ای در موش‌های جوان موردنیاز است [۱۳]. PRDM16 ژن‌هایی مانند UCP1 (UCP1; Uncoupling Protein 1) را که به میزان بالا در آدیپوسیت‌های قهوه‌ای نسبت به سفید بیان می‌شوند، بیان می‌کند [۱۴]. یکی از سودمندترین مزایای فعالیت ورزشی، به جز بهبود شرایط کلی بدن، قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید است که دو پروتئین PPAR- γ و PRDM16 در این امر بسیار مهم هستند [۱۵]. همچنین فعالیت ورزشی منظم تأثیرات مفیدی بر سلامت بدنی افراد دارد و نقش فعالیت ورزشی در درمان و پیشگیری از بیماری‌های متابولیک مانند چاقی و دیابت نوع ۲ به خوبی شناخته شده‌است. تمرین ورزشی، هموستاز گلوکز کل بدن را بهبود بخشیده، حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهد که این تأثیرات را مربوط به سازگاری‌های عضله اسکلتی، بافت چربی و... می‌دانند [۱۶]. تمرینات ورزشی منظم، عامل کاربردی مؤثری برای کنترل و درمان دیابت و کاهش مقاومت به انسولین است. نکته مهم، حجم، مدت و شدت تمرین‌ها است [۱۷]. امروزه تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT; High-Intensity Interval Training) به عنوان یکی از روش‌های تمرینی سودمند مورد توجه قرار گرفته

دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. موش‌های صحرایی به مدت ۴ هفته تحت غذای کنترل‌شده پرچرب به صورت پلت (خریداری شده از شرکت به‌پرور؛ ترکیبی از پودر غذای استاندارد موش (۳۶۵ گرم / کیلوگرم)، چربی گوسفندی (۳۱۰ گرم / کیلوگرم)، مخلوط ویتامین‌ها و مواد معدنی (۶۰ گرم / کیلوگرم)، DL میتوین (۳ گرم / کیلوگرم)، پودر مخمر (۱ گرم / کیلوگرم) و کلرید سدیم (۱ گرم / کیلوگرم)) جهت اضافه‌وزن به میانگین وزن 20 ± 30 گرم رسیدند [۲۱]. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری می‌شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب موردنیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.SUMS.REC.1396.S1061) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز موردتوجه قرار گرفت. در هفته دهم بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (Streptozotocin; STZ) (حل‌شده در بافر سترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵ به صورت داخل صفاقی و فقط یک‌مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق شد [۲۲]. جهت اطمینان از دیابتی‌شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی‌شدن در نظر گرفته شد [۲۳]. پس از القای دیابت، موش‌های صحرایی به‌روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۸ سر) و کنترل دیابتی (۸ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان (مدل A1400Y10، شرکت پیپرو اندیشه صنعت، ساخت ایران) به مدت یک‌هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت ۴ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه، شامل ۶ دقیقه گرم‌کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۵ دوره تمرین ۴ دقیقه‌ای با تناوب شدید (۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت)، ۴ دوره تمرین ۳ دقیقه تمرین با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت) و ۶ دقیقه سردکردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) بود. شیب

نوارگردان صفر درجه و در ۴ هفته تغییری نداشت [۲۴]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل‌کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بیهوش شدند. سپس بافت چربی زیرجلدی از مکان لایه چربی اپیدیدیمال (Epididymal Fat Pad) بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده، سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد (از بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد) و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر (مدل AFR-80، شرکت آرمینکو، ساخت ایران) گذاشته شد. با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا هموژنه‌ی بافت چربی زیرجلدی در لیز بافر RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتیفریژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط‌کردن با سمپل Loading بافر، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا انتقال داده‌شده، بعد از بلوکه‌کردن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک‌ساعت در دمای آزمایشگاه با آنتی‌بادی اولیه‌ی خرگوشی (sc-130243) anti-PRDM16 و anti-PPAR γ (ab209350) رقیق‌شده (۱/۵۰۰) در محلول بلاکینگ به مدت یک‌شب در دمای ۴ درجه پروب شدند. پس از سه‌بار شستشو با بافر فسفات نمکی توین‌دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی کونژوگه با (sc-2004) HRP در دمای اتاق به مدت یک‌ساعت مجاور شدند. کمپلکس‌های ایمنی ایجادشده با روش کمی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه‌شدن در مقابل لودینگ کنترل (بتا اکتین) به صورت چندبرابر گروه کنترل ارائه شدند [۲۵]. ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t-وابسته و t-مستقل برای مقایسه گروه‌ها استفاده شده‌است. اطلاعات در قالب جدول مربوطه ارائه شده‌است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار

تأثیر ۴ هفته تمرین HIIT بر محتوای پروتئین‌های، ...

هفته اول تغییر معنی‌داری را نشان داد ($P=0/010$). از طرفی قندخون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) موش‌های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری داشت ($P=0/0001$)؛ اما، قندخون موش‌های گروه تمرین به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، نسبت به هفته اول تغییر معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/14$) (جدول شماره ۱).

SPSS ویرایش ۱۹ انجام گرفته‌است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شده‌است.

نتایج

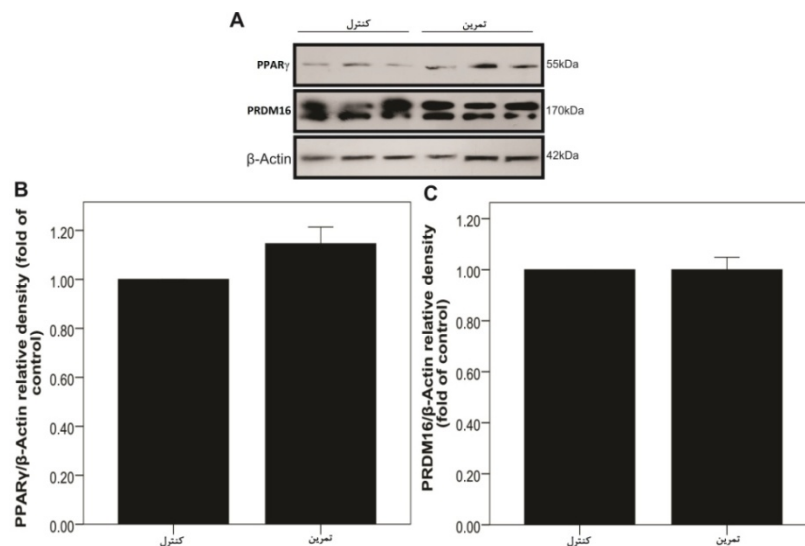
در پایان پژوهش، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که وزن (گرم) موش‌های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری دارد ($P=0/0001$)؛ همچنین، وزن موش‌های گروه تمرین به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، نسبت به

جدول شماره ۱- نتایج آماری t-وابسته برای متغیرهای وزن (گرم) و قندخون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار t	سطح معناداری
وزن (گرم)	کنترل (هفته اول)	۳۱۶/۵۰	۴/۷۲	۹/۰۰	۰/۰۰۰۱
	کنترل (هفته چهارم)	۳۵۸/۳۳	۱۲/۰۴		
	تمرین (هفته اول)	۳۱۸/۸۳	۵/۵۶	۴/۰۶	
	تمرین (هفته چهارم)	۳۲۶/۸۳	۴/۰۲		
قندخون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کنترل (هفته اول)	۲۲۴/۱۷	۲۱/۳۶	۱۳/۷۱	۰/۰۰۰۱
	کنترل (هفته چهارم)	۳۲۸/۵۰	۱۹/۷۵		
	تمرین (هفته اول)	۲۳۵/۵۰	۱۹/۸۵	۱/۷۱	
	تمرین (هفته چهارم)	۲۴۴/۱۷	۱۶/۴۳		

پروتئین PRDM16، بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی نشد ($P=0/83$). محتوای β -actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت چربی زیرجلدی نیز به دنبال چهار هفته تمرین تناوبی تغییر معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/35$) (شکل شماره ۱).

در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به دنبال چهار هفته تمرین HIIT، تفاوت معنی‌داری میان محتوای پروتئین $PPAR\gamma$ در بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی وجود ندارد ($P=0/16$). همچنین، چهار هفته HIIT منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای



شکل شماره ۱- مقایسه محتوای پروتئین‌های $PPAR\gamma$ و PRDM16 در گروه‌های مورد مطالعه.

A، شکل‌های ایمونوبلائینگ پروتئین‌های $PPAR\gamma$ و PRDM16 و β -actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت چربی زیرجلدی. B، نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین $PPAR\gamma$ در مقابل لودینگ کنترل که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده‌است. C، نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین PRDM16 در مقابل لودینگ کنترل که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده‌است.

بحث

نتایج، تغییر معنی داری را بین گروه‌های تمرین و کنترل در محتوای پروتئین PRDM16 نشان نداد؛ همچنین، تغییر معنی داری در محتوای پروتئین PPAR γ گروه تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. تاکنون پژوهش‌های بسیار کمی به بررسی تمرین ورزشی بر پروتئین PPAR γ پرداخته‌اند و هنوز نقش تمرین ورزشی بر این پروتئین مبهم مانده است. با این حال، در تحقیقی Haczeyni و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی برای بهبود عملکرد بافت چربی و التهاب در موش‌های دیابتی چاق پرداختند. تمرین ورزشی به صورت داوطلبانه بر روی چرخ‌گردان انجام شد. در این مطالعه بیان ژن PRDM16 و PPAR- γ در هفته‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ اندازه‌گیری شد که فقط در هفته‌های ۱۰ و ۱۴ بیان ژن این دو پروتئین افزایش معنی داری یافته بود [۲۶]. نتایج تحقیق Haczeyni و همکاران در هفته‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا است، زیرا در هر دو تحقیق محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 تغییر معنی داری نکرده است. با این حال در تحقیق Haczeyni و همکاران محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 در هفته‌های ۱۰ و ۱۶ افزایش معنی داری را نشان داده است که با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا نیست. از عوامل مهم تأثیرگذار در این نتایج ضد و نقیض می‌توان به نوع تمرین ورزشی اشاره کرد؛ در تحقیق Haczeyni و همکاران نوع تمرین ورزشی هوازی و داوطلبانه بوده است و این در حالی است که موش‌های تحقیق حاضر تمرین HIIT را دادند. همچنین شدت تمرین ورزشی از عوامل بسیار مهم دیگر است؛ زیرا تمرین HIIT با شدت بالا انجام می‌شود و در تحقیق Haczeyni و همکاران شدت تمرین ورزشی بر اساس توان موش انجام می‌شود که می‌تواند از راه رفتن تا دویدن در چرخ‌گردان باشد. این دو عامل یعنی مدت‌زمان و شدت تمرین ورزشی نیز در نتایج تحقیق حاضر و تحقیق Haczeyni و همکاران بسیار حائز اهمیت است؛ زیرا در تمرین ورزشی تحقیق هکزین و همکاران شدت و مدت‌زمان تمرین ورزشی توسط آزمودنی‌ها کنترل می‌شوند که در تمرین تحقیق حاضر چنین نیست. در کل نشان داده شده است که تمرینات ورزشی می‌توانند تنظیم‌کننده پروتئین PPAR γ باشند. در همین راستا Liu و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی به بررسی فعالیت ورزشی داوطلبانه، در موش‌های چاق شده با رژیم پرچرب که التهاب کولون داشتند، پرداختند. نتایج افزایش معنی دار محتوای پروتئین PPAR γ را به دنبال انجام فعالیت ورزشی داوطلبانه نشان داد. این محققان بیان کردند که تمرین ورزشی داوطلبانه، مانع از

التهاب کولون در موش چاق توسط تنظیم فعالیت PPAR γ می‌شود [۲۷]. در تحقیقی دیگر Turgut و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تمرین ورزشی بر بیان PPAR γ در کبد و عضله موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین ورزشی دویدن موش‌ها بر روی تردمیل به مدت ۶ هفته / ۵ روز در هفته و هر جلسه تمرینی به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر بر دقیقه بود. نتایج، افزایش بیان ژن پروتئین PPAR γ را در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نشان داد. این مطالعه ارتباط نزدیک بین پروتئین PPAR γ و فاکتورهای چربی خون و آنزیم‌های کبدی را نشان داد [۲۸]. فرضیه‌های متعددی برای مکانیزم‌های مولکولی قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید از طریق پروتئین PPAR γ پیشنهاد شده است. به عنوان مثال، به دلیل این که تمرین ورزشی به عنوان افزایش‌دهنده عصب‌رسانی سمپاتیک در بافت چربی زیرپوستی، شناخته می‌شود، افزایش عصب‌رسانی سمپاتیک می‌تواند به قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی کمک کند [۲۹]. سازوکار احتمالی سلولی و مولکولی این مسیر به این گونه است که سیستم عصبی سمپاتیک از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های بتا-آدرنژیک ترموژن سازشی را در چربی قهوه‌ای کنترل می‌کند. گیرنده‌های بتا-آدرنژیک از طریق پروتئین کیناز A (PKA; Protein Kinase A)، پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن p38 (p38MAPK) را در آدیپوسیت‌ها تحریک می‌کند [۳۰]. P38MAPK (P38 mitogen-activated protein kinases) فعال شده، PGC1 α (PGC1- α ; coactivator 1-alpha) و فاکتور فعال‌کننده رونویسی ۲ (ATF2; Activating transcription factor 2) را فسفوریله می‌کند و بیان ژن UCP1 را از طریق تعاملات خود با PPAR γ کنترل می‌کند. PPAR γ افزایشدهنده اصلی ژن UCP1 است. فعال‌سازی ATF2 به وسیله p38MAPK به عنوان حس‌گر cAMP (cyclic Adenosine Monophosphate) به کار می‌رود که میزان بیان ژن PGC1 α را در بافت چربی قهوه‌ای افزایش می‌دهد؛ بنابراین، فعال شدن PGC1 α منجر به فعال شدن پروتئین PPAR γ می‌شود که می‌تواند باعث تبدیل بافت سفید چربی به قهوه‌ای یا بالغ شدن سلول‌های نابالغ بافت چربی قهوه‌ای شود [۳۱]. یکی از عوامل بسیار مهم و تأثیرگذار بر محتوای پروتئین PRDM16 تمرین ورزشی می‌باشد که تاکنون به درستی انواع فعالیت ورزشی و خصوصیات آن از قبیل: شدت، مدت‌زمان و دیگر عوامل بررسی نشده است. در این زمینه پژوهش‌های بسیار اندکی وجود دارد. با این حال در کل در بیشتر پژوهش‌ها فعالیت ورزشی توانسته است سطوح پروتئین PRDM16 را افزایش دهد.

محتوای لیپید در بافت چربی زیرپوستی که با تمرین ورزشی رخ می‌دهد، باعث کاهش عایق بدن می‌شود که مستلزم افزایش تولید حرارت از طریق قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی می‌شود [۳۸،۲۹]. سازگاری‌های ناشی از تمرین ورزشی در دیگر بافت‌ها ممکن است مسؤول قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی باشد. یک مطالعه به این نتیجه رسیده‌است که قهوه‌ای یا بژ شدن ناشی از تمرین ورزشی در پاسخ به افزایش ترشح فاکتورهای نوروتروفیک هیپوتالاموسی مشتق از مغز رخ می‌دهد [۳۷]. باین وجود اگر در تحقیق حاضر پروتئین‌های دیگر و مهم که در روند تبدیل بافت سفید چربی به بافت چربی قهوه‌ای مانند: UCP1 و PGC1 α اندازه‌گیری می‌شد محققان به درک بهتری از مسیرهای مهم دست می‌یافتند و بهتر می‌توانستند نتیجه‌گیری کنند. همچنین در تحقیق حاضر، امکان اندازه‌گیری محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 بر روی موش‌های سالم نبود که همه این موارد از کاستی‌های این تحقیق می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در نهایت، باتوجه به نتایج تحقیق حاضر تمرین HIIT نتوانست محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 را تغییر معنی‌داری دهد؛ بنابراین در طراحی تمرینات ورزشی عوامل مهمی مانند: نوع، مدت‌زمان و شدت تمرین ورزشی باید به‌گونه‌ای تنظیم شود که نتایج مثبتی برای آزمودنی‌های انجام‌دهنده داشته‌باشد. باین‌حال افزایش محتوای پروتئین‌های PPAR γ و PRDM16 در طی تمرینات تأثیرگذار می‌تواند منجر به تبدیل بافت سفید چربی به بافت قهوه‌ای شود و ویژگی‌های بافت چربی قهوه‌ای از قبیل: ترموزنیک، داشتن تعداد زیاد میتوکندری و افزایش سوخت‌وساز را در پی داشته‌باشد؛ اما تمرین ورزشی HIIT نتوانست از افزایش بیش از حد قندخون موش‌ها جلوگیری کند که می‌تواند عامل مهمی برای کاهش مقاومت به انسولین باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری اساتید دانشگاه علوم پزشکی شیراز و تمام افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تقدیر و قدردانی می‌شود.

References:

[1] Ghaffari M, Salemi Z, Goodarzi M, Ghaasemi M, Rafee E. comparison of serum visfatin levels in restricted diet rats, type2 diabetic rats and insulin

در این راستا در پژوهشی Stanford و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر روی پروتئین PRDM16 در بافت چربی پرداختند. فعالیت ورزشی توانست سطوح پروتئین PRDM16 را در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی تمرین‌کرده نسبت به بی‌تحرك افزایش معنی‌داری دهد [۳۲]. نتایج این تحقیق نیز با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا نمی‌باشد؛ زیرا تمرین ورزشی HIIT منجر به تغییر معنی‌دار در محتوای پروتئین PRDM16 نشد؛ اما نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق افشاری و همکاران (۲۰۱۸) که به بررسی اثر تمرینات هوازی تداومی و تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن PRDM16 در بافت چربی سفید موش‌های صحرایی و یستار پرداختند، هم‌راستا است [۳۳]. نتایج هر دو تحقیق منجر به تغییر (افزایش) محتوای پروتئین PRDM16 نشد که از شباهت‌های هر دو تحقیق می‌توان به نوع برنامه تمرینی یعنی برنامه HIIT اشاره کرد. این نشان‌دهنده این مطلب است که تمرینات HIIT به علت شدت بالا نمی‌توانند منجر به تغییرات مطلوب پروتئین PRDM16 شوند. از طرفی در تحقیق حاضر، آزمودنی‌ها، مبتلا به دیابت نوع ۲ و چاق بودند؛ در کل نظر کلی بر این است که تمرینات ورزشی عامل بسیار مهم برای تنظیم و افزایش پروتئین PRDM16 است که افزایش این پروتئین می‌تواند منجر به تنظیم بافت چربی و تبدیل بافت چربی سفید به قهوه‌ای شود. در واقع، به نظر می‌رسد PRDM16 به عنوان یک پروتئین مرکب عمل می‌کند که می‌تواند به عنوان یک سوئیچ دوطرفه در توسعه چربی قهوه‌ای از طریق متابولیسم‌های متعدد پروتئین عمل کند [۳۴]. سازوکار احتمالی دیگر جهت افزایش پروتئین PRDM16 ارتباط آن با پروتئین PPAR γ می‌باشد که این ارتباط در بالغ شدن سلول‌های چربی قهوه‌ای نابالغ به سلول‌های بالغ مهم است. پروتئین PPAR γ با اتصال به پروتئین دیگری به نام Ebf2 منجر به بیان و ترویج پروتئین PRDM16 می‌شود و این امر باعث بالغ شدن سلول‌های چربی قهوه‌ای می‌شود [۳۵]. در پژوهشی دیگر انجام ۳ تا ۴ هفته تمرین ورزشی بر روی چرخ‌گردان منجر به قهوه‌ای شدن سلول‌ها در بافت چربی زیرپوستی با علائم افزایش PRDM16 شده‌است [۳۷،۳۶]. اگرچه عملکرد قهوه‌ای شدن در نتیجه تمرین ورزشی به‌طور کامل درک نشده‌است، اما یک فرضیه این است که کاهش اندازه سلول و

resistance rats with normal rats. *JFUMS* 2015; 5(3): 435-43. [in Persian]

[2] Reddy KJ, Singh M, Bangit JR, Batsell RR. The role of insulinresistance in the pathogenesis of

- atherosclerotic cardiovascular disease: an updated review. *J Cardiovasc Med* 2010; 11(9):633-47.
- [3] Gil A, Olza J, Gil-Campos M, Gomez-Llorente C, Aguilera CM. Is adipose tissue metabolically different at different sites? *Int J Pediatr Obes* 2011; 6(1): 13-20.
- [4] Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. Energy balance and obesity. *Circulation* 2012; 126(1):126-32.
- [5] Lee JJ, Britton KA, Pedley A, Massaro JM, Speliotes EK, Murabito JM, et al. Adipose tissue depots and their cross-sectional associations with circulating biomarkers of metabolic regulation. *J Am Heart Assoc* 2016; 5(5): 1-13.
- [6] 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.
- [7] Lefterova MI, Haakonsson AK, Lazar MA, Mandrup S. PPAR γ and the global map of adipogenesis and beyond. *Trends Endocrin Metab* 2014; 25(6): 293-302.
- [8] Siersbæk R, Nielsen R, Mandrup S. PPAR γ in adipocyte differentiation and metabolism—Novel insights from genome-wide studies. *FEBS Lett* 2010; 584(15): 3242-9.
- [9] Lo KA, Sun L. Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Biosci Rep* 2013; 33(5): 711-9.
- [10] Janani C, Kumari BR. PPAR gamma gene—a review. *Diabetes Metab Syndr* 2015; 9(1): 46-50.
- [11] Chi J, Cohen P. The multifaceted roles of PRDM16: adipose biology and beyond. *Trends Endocrinol Metab* 2016; 27(1): 11-23.
- [12] Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest* 2011; 121(1): 96-105.
- [13] Cohen P, Levy JD, Zhang Y, Frontini A, Kolodin DP, Svensson KJ, et al. Ablation of PRDM16 and beige adipose causes metabolic dysfunction and a subcutaneous to visceral fat switch. *Cell* 2014; 156(1): 304-16.
- [14] Harms MJ, Lim HW, Ho Y, Shapira SN, Ishibashi J, Rajakumari S, et al. PRDM16 binds MED1 and controls chromatin architecture to determine a brown fat transcriptional program. *Genes Dev* 2015; 29(3): 298-307.
- [15] Heydari M, Freund J, Boutcher SH. The effect of high-intensity intermittent exercise on body composition of overweight young males. *J Obes* 2012; 1-8.
- [16] Porcari J, Bryant C, Comana F. Exercise physiology. *FA Davis* 2015; 36-62.
- [17] Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care* 2010; 33(12): 2692-6.
- [18] Khoramshahi S. Effect of five weeks of high-intensity interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in gastrocnemius muscles of diabetic male rats. *Iran J Endo Metab* 2017; 18 (5): 361-7. [in Persian]
- [19] Petridou A, Tsalouhidou S, Tsalis G, Schulz T, Michna H, Mougios V. Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ in rat adipose tissue. *Metab* 2007; 56(8): 1029-36.
- [20] Ringholm S, Knudsen JG, Leick L, Lundgaard A, Nielsen MM, Pilegaard H. PGC-1 α is required for exercise- and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PLoS one* 2013; 8(5): e64123.
- [21] Fathi R, Ebrahimi M, Sanami SK. Effects of High Fat Diet and High Intensity Aerobic Training on Interleukin 6 Plasma Levels in Rats. *Pathobiol Res* 2015; 18(3):109-16. [in Persian]
- [22] Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *Korean J Physiol Pharmacol* 2018; 22(5): 493-501.
- [23] Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *J Asian nat prod Res* 2017; 19(10):1011-21.
- [24] Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO $_2^-$, NO $_3^-$). *Iran J Public Health* 2015; 44(9): 1270-6. [in Persian]
- [25] Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 α content and endurance exercise performance in rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14 (1): 1-8.
- [26] Haczeyni F, Barn V, Mridha AR, Yeh MM, Estevez E, Febbraio MA, et al. Exercise improves adipose function and inflammation and ameliorates fatty liver disease in obese diabetic mice. *Obes* 2015; 23(9): 1845-55.
- [27] Liu WX, Wang T, Zhou F, Wang Y, Xing JW, Zhang S, et al. Voluntary exercise prevents colonic inflammation in high-fat diet-induced obese mice by up-regulating PPAR- γ activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 459(3): 475-80.
- [28] Turgut M, Cinar V, Pala R, Tuzcu M, Orhan C, Telceken H, et al. Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2018; 15(1):45.

- [29] Nedergaard J, Cannon B. The browning of white adipose tissue: some burning issues. *Cell Metab* 2014; 20(3): 396-407.
- [30] Inagaki T, Sakai J, Kajimura S. Transcriptional and epigenetic control of brown and beige adipose cell fate and function. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2016; 17(8): 480-95.
- [31] Wang S, Dougherty EJ, Danner RL. PPAR γ signaling and emerging opportunities for improved therapeutics. *Pharmacol Res* 2016; 111:76-85.
- [32] Stanford KI, Middelbeek RJ, Goodyear LJ. Exercise effects on white adipose tissue: beiging and metabolic adaptations. *Diabet* 2015; 64(7): 2361-8.
- [33] Afshari S, Kordi MR, Mohammad-Amoli M, Daneshyar S. The Effect of Continuous Aerobic Training (CAT) and High Intensity Interval Training (HIIT) on Gene Expression of positive regulatory domain-containing protein 16 (PRDM16) in White Adipose tissue of Wistar Rats. *J Sport Biosci* 2018; 201-10. [in Persian]
- [34] Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest* 2011; 121(1): 96-105
- [35] Kajimura S, Spiegelman BM, Seale P. Brown and beige fat: physiological roles beyond heat generation. *Cell Metab* 2015; 22(4): 546-59.
- [36] Cao L, Choi EY, Liu X, Martin A, Wang C, Xu X, et al. White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis. *Cell Metab* 2011; 14(3):324-38.
- [37] Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nat* 2012; 481(7382):463.
- [38] Hirata M, Suzuki M, Ishii R, Satow R, Uchida T, Kitazumi T, et al. Genetic defect in phospholipase C δ 1 protects mice from obesity by regulating thermogenesis and adipogenesis. *Diabet* 2011; 1926-37.