

# The effect of a period of high-intensity interval training on gene expression of transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ 1) and the size of cells in subcutaneous adipose tissue of rats fed with high-fat diet

Shadi Fayyazi<sup>1</sup>, Reza Gharakhanlou<sup>1\*</sup>, Mahdiah Molanouri<sup>1</sup>, Mohammad Reza Kordi<sup>2</sup>

1. Department of Sports Physiology, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Department of Sport Physiology, Faculty of Sports and Health Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

\* Corresponding author e-mail: ghara\_re@modares.ac.ir

## Abstract

**Background and Objective:** The effect of exercise in reducing fat tissue and fat cell size may be related to TGF- $\beta$  1 signaling. This study aimed to investigate the effect of high-intensity interval training (HIIT) simultaneously with high-fat diet on TGF- $\beta$  1 gene expression and cell size in the subcutaneous adipose tissue of rats.

**Materials and Methods:** In this study, 24 adult male rats were randomly divided into 4 groups: ND (normal diet), HFD (high fat diet), HIIT+ND and HIIT+HFD. HIIT consisted of eight bouts of intense activity at 90% of maximum running capacity (MRC) for 2.5 minutes, with active rest periods at 50% of maximum running capacity for 2.5 minutes for 10 weeks. 48 hours after the last training session, blood was taken and subcutaneous fat was removed. qRT-PCR method was used to measure TGF- $\beta$  1 gene expression and the stereological method was used to determine the size of fat cells. Two-way ANOVA test with a significant level of  $P < 0.05$  was used to analyze the data.

**Results:** The interaction between HIIT and high-fat diet caused a significant decrease in TGF- $\beta$  1 gene expression ( $F=24.99$ ,  $P<0.001$ ), but it had no significant effect on fat cell size ( $P=0.780$ ,  $F=0.07$ ). A positive and significant correlation was observed between TGF- $\beta$  1 gene expression and fat cell size ( $r=0.896$ ,  $P<0.001$ ).

**Conclusion:** HIIT at the same time with consuming a high-fat diet prevents the increase of TGF- $\beta$  1 in the subcutaneous fat tissue and may have a preventive effect on the increase in fat cell size.

**Keywords:** High-intensity interval training, TGF- $\beta$  1, Fat cell size, High-fat diet, Subcutaneous adipose tissue

Received: Apr 05, 2023

Revised: May 24, 2023

Accepted: Jun 11, 2023

**How to cite this article:** Fayyazi SH, Gharakhanlou R, Molanouri M, Kordi MR. The effect of a period of high-intensity interval training on gene expression of transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ 1) and the size of cells in subcutaneous adipose tissue of rats fed with high-fat diet. Daneshvar Medicine 2023; 31(2):83-94. doi: 10.22070/DANESHMED.2023.17577.1341

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and build up the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

# تأثیر یک دوره تمرین تناوبی پر شدت بر بیان ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا (TGF- $\beta$ 1) و اندازه سلول‌ها در بافت چربی زیر جلدی رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب

شادی فیاضی<sup>۱</sup>، رضا قراخانلو<sup>۱\*</sup>، مهدیه ملانوری<sup>۱</sup>، محمدرضا کردی<sup>۲</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

Email: ghara\_re@modares.ac.ir

\*نویسنده مسئول: رضا قراخانلو

## چکیده

**مقدمه و هدف:** تأثیر ورزش در کاهش بافت و اندازه سلول چربی احتمال دارد با سیگنال‌دهی TGF- $\beta$  1 مرتبط باشد. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی پرشدت (HIIT) هم‌زمان با تغذیه پرچرب بر بیان ژن TGF- $\beta$  1 و اندازه سلول‌ها در بافت چربی زیرجلدی رت‌ها انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ سر موش صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی به ۴ گروه ND (تغذیه معمولی)، HFD (تغذیه پرچرب)، HIIT+ND و HIIT+HFD تقسیم شدند. HIIT هشت دوره فعالیت شدید در ۹۰ درصد حداکثر ظرفیت دویدن (MRC) به مدت ۲/۵ دقیقه، با دوره‌های استراحت فعال در ۵۰ درصد حداکثر ظرفیت دویدن به مدت ۲/۵ دقیقه به مدت ۱۰ هفته بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، خون‌گیری انجام و چربی زیرجلدی برداشته شد. برای سنجش بیان ژن TGF- $\beta$  1 از روش qRT-PCR و برای تعیین اندازه سلول‌های چربی از روش استریولوژی استفاده شد. شاخص‌های آنروپومتریک و متابولیک رت‌ها نیز اندازه‌گیری شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنوا دوطرفه با سطح معناداری  $P \leq 0/05$  استفاده شد.

**نتایج:** تعامل HIIT و رژیم غذایی پرچرب باعث کاهش معنادار بیان ژن TGF- $\beta$  1 ( $F=24/99$ ,  $P<0/001$ ) شد ولی بر اندازه سلول چربی تأثیر معنادار نداشت ( $F=0/07$ ,  $P=0/780$ ). بین بیان ژن TGF- $\beta$  1 و اندازه سلول‌های چربی همبستگی مثبت و معنادار مشاهده شد ( $r=0/896$ ,  $P<0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** HIIT هم‌زمان با مصرف رژیم غذایی پرچرب از افزایش TGF- $\beta$  1 در بافت چربی زیرجلدی جلوگیری می‌کند و می‌تواند اثر پیشگیرانه بر افزایش اندازه سلول چربی داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی پرشدت، TGF- $\beta$ 1، اندازه سلول چربی، رژیم غذایی پرچرب، بافت چربی زیرجلدی

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۱/۱۶

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۰۳

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۱

## مقدمه

ورزش سلامت و هموستاز متابولیک کل بدن را بهبود بخشیده و باعث سازگاری در بافت های مختلف بدن از جمله بافت چربی می شود. تحقیقات اخیر نشان داده اند که تمرین ورزشی تأثیرات عمیقی بر پروفایل بیان ژن در بافت چربی زیرجلدی ( $scWAT^1$ ) در موش ها دارد و بیان بیش از ۱۵۰۰ ژن را در این بافت افزایش می دهد (۱). هیپرتروفی یکی از ویژگی های شناخته شده بافت چربی است و به نظر می رسد ظرفیت ذخیره چربی یکی از عوامل مهم سازگاری جهت بقای موجودات زنده است (۲). هیپرتروفی اثرات پلیوتروپیک بر عملکرد سلول های چربی داشته و با افزایش استرس سلولی، کاهش انعطاف پذیری متابولیک و بیماری هایی مانند تصلب شرایین، دیابت، پوکی استخوان و سرطان همراه است (۳). نشان داده شده است که طی کاهش وزن، بیشترین تغییر در اندازه سلول چربی رخ می دهد (۴). بافت چربی به صورت دینامیکی حجم خود را در پاسخ به تغییرات انرژی برای ایجاد هموستاز تغییر می دهد (۵، ۶) و سطح فاکتور رشد تبدیل کننده بتا ( $TGF-\beta^2$ ) نقش مهمی در این زمینه ایفا می کند (۷-۹).  $TGF-\beta$  دارای سه ایزوفرم مختلف ( $\beta 1$ ،  $\beta 2$  و  $\beta 3$ ) است که در شرایط مختلف نقش های متفاوتی را در سلول ها و بافت های چربی ایفا می کنند (۱۰).

$TGF-\beta$  و عوامل مرتبط با آن رشد و عملکرد انواع مختلف سلول را کنترل می کنند.  $TGF-\beta$  سیگنال های خود را از طریق گیرنده های دوگانه سرین/ترئونین کیناز و فاکتورهای رونویسی به نام  $Smads^3$  منتقل می کند که  $Smad3$  به عنوان تسهیل کننده اصلی سیگنال های  $TGF-\beta$  عمل می کند. مطالعات قبلی نشان دادند که سطوح  $TGF-\beta$  با چاقی در موش و انسان همبستگی دارد (۱۱).

$TGF-\beta 1$  به عنوان تنظیم کننده کلیدی بازسازی ماتریکس خارج سلولی ( $ECM^4$ ) در بافت چربی شناخته شده و تحت شرایط تغذیه ای متفاوت میزان آن تغییر یافته و با مسیر لیپوژنیک مرتبط است (۵). همچنین توسعه فیروز

بافتی عمدتاً به  $TGF-\beta 1$  نسبت داده می شود (۱۲). بر اساس نتایج تحقیق *Toyoda* و همکاران در سال ۲۰۲۲، مهار دارویی  $TGF-\beta 1$  باعث کاهش بافت چربی و تجمع نابجای آن در کبد گردیده و با کاهش بیان ژن های مرتبط در بازسازی  $ECM$  و لیپوژنز همراه می باشد (۱۰).

مجموعه ای از شواهد نشان می دهد که تمرین ورزشی یک واسطه قوی برای لیپولیز است، از تجمع چربی جلوگیری می کند و اندازه سلول چربی را کاهش می دهد (۱۳-۱۵).

تعدیل (کم و زیاد شدن) فعالیت  $TGF-\beta$  در سلول چربی به واسطه فعالیت ورزشی نیز یک رویکرد موثر برای جلوگیری از اضافه وزن و بیماری های متابولیک مرتبط با آن است (۱۶). در معدود مطالعات انجام یافته در زمینه ارتباط تمرین ورزشی و  $TGF-\beta$  مطالعه *Kawanishi* و همکاران (۱۷) نشان داد که تمرین با تردمیل (۶۰ دقیقه در روز با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر در دقیقه، ۵ بار در هفته به مدت ۱۶ هفته) سطوح  $TGF-\beta$  mRNA بافت چربی احشایی موش هایی را که در معرض رژیم غذایی پرچرب قرار دارند کاهش می دهد. در مطالعه دیگری، جاوید و همکاران دریافتند که سطح بیان  $mRNA$  تنظیم شده  $TGF-\beta 1$  و کلاژن نوع ۱ در موش های تغذیه شده با غذای پر چرب به طور قابل توجهی با ورزش (۸ هفته دویدن روی تردمیل در طول چرخه فعال آنها، ۵ روز در هفته) کاهش می یابد و با ترکیب ورزش و رژیم غذایی معمولی بیشتر سرکوب می شود (۱۸). مطالعه *Ziegler* و همکاران نشان داد که فیروز بافت چربی اپیدیدیم ۵ و سطوح  $TGF-\beta$  mRNA در پاسخ به دویدن داوطلبانه با استفاده از قفس گردان (۱۰ هفته با مقاومت ثابت در ۱/۵ گرم در طول مداخله) با دویدن آزاد روی چرخ با مقاومت پیشرونده (۵ گرم در هفته ۱) در موش های بالغ و مسن بدون تغییر باقی ماندند (۱۹). *Maharjan* و همکاران در سال ۲۰۲۱ کوچک شدن اندازه سلول های چربی را در پی دو نوع تمرین هوازی گزارش کردند که با بهبود وضعیت متابولیک در رت ها همراه بود. همچنین ورزش هوازی باعث کاهش بیشتر اندازه چربی در بافت چربی زیر جلدی نسبت به دیگر ذخایر بافت چربی گردید (۲۰).

<sup>1</sup> Subcutaneous White Adipose Tissue

<sup>2</sup> Transforming Growth Factor Beta

<sup>3</sup> Smad Transcription Factors

<sup>4</sup> Extra Cellular Matrix

درصد از کربوهیدرات و ۲۰ درصد از پروتئین بود را مصرف نمودند (۲۱).

### برآورد ترکیب بدنی رت ها

وزن رت ها به صورت هفتگی اندازه گیری شد. برای کنترل چاقی رت ها از شاخص لی<sup>۱</sup> استفاده گردید (۲۱). این شاخص به عنوان شاخصی از ترکیب بدنی در جوانان با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

شاخص لی = ریشه مکعب وزن بدن (گرم) / قد (سانتی متر) شاخص لی در ابتدای مطالعه و قبل از اعمال مداخلات تغذیه ای و تمرین ورزشی، در هفته هشتم و پس از اتمام ۱۰ هفته در هر چهار گروه اندازه گیری و محاسبه شد.

### پروتکل ورزشی

پروتکل تمرین HIIT که همزمان با رژیم غذایی پرچرب آغاز گردید، شامل هشت دوره فعالیت شدید در ۹۰٪ MRC<sup>۲</sup> به مدت ۲/۵ دقیقه، با دوره های استراحت فعال در ۵۰٪ MRC به مدت ۲/۵ دقیقه، بود (۲۲). بدین منظور همه حیوانات به مدت یک هفته جهت آشنایی و تطابق با تردمیل (۶ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) قرار گرفتند. پس از آن، آزمون حداکثر ظرفیت دویدن (MRC) انجام شد. این تست با سرعت ۶ متر در دقیقه شروع شد و به تدریج سرعت هر ۳ دقیقه، ۳ متر در دقیقه تا زمان رسیدن به خستگی افزایش یافت. این سرعت به عنوان ناتوانی موش در رسیدن به انتهای خط تردمیل پس از تحریک با ۵ محرک مکانیکی (برس نرم) در عرض ۱ دقیقه تعریف می گردد. MRC ۱۰۰٪، به عنوان حداکثر سرعت بدست آمده در طول آزمون تعریف شد و مسافت طی شده عملکرد هوازی حیوان در نظر گرفته شد. تمرینات هر جلسه صبح، سه بار در هفته و به مدت ۱۰ هفته انجام شد. حیواناتی که در گروه تمرینی قرار نداشتند فقط در طول دوره سازگاری و انجام آزمایش MRC فعالیت دویدن را انجام دادند (۲۲).

### نمونه برداری

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه ی تمرینی و پس از اندازه گیری وزن، حیوانات با استفاده از ترکیبی از زایلین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی با رعایت اصول اخلاقی آسان کشی

با این حال سیگنال دهی TGF-β1 در شرایط مصرف انرژی اضافی مانند انجام یک دوره انجام تمرین HIIT و در شرایط دریافت کالری اضافی مانند مصرف غذای پرچرب و نقش آن در تنظیم اندازه سلول های چربی همچنان مبهم است و نیاز به بررسی بیشتری دارد. با توجه به میزان گستردگی بافت چربی زیر جلدی در بدن و نقش و اهمیت شناخته شده آن در تنظیم متابولیک، پژوهش حاضر با هدف مطالعه تاثیر یک دوره تمرین تناوبی پر شدت بر بیان ژن فاکتور رشد تغییردهنده بتا و اندازه سلول های چربی رت های تغذیه شده با غذای پرچرب طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش ها

بدین منظور تعداد ۲۴ سر رت نر بالغ سالم نژاد ویستار (۶ هفته ای) از انستیتو پاستور خریداری گردیده و به صورت ۳ تایی و در محیطی با میانگین دمای ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۴ ± ۵۵ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. پژوهش حاضر با عمل به کلیه ملاحظات اخلاقی در تمامی مراحل نگه داری و کشتار موش ها و دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته و شناسه اخلاق در پژوهش IR.MODARES.AEC.1401.006 برای آن تصویب شده است. حیوانات پس از دو هفته آشنایی با محیط جدید و با میانگین وزنی ۱۵ ± ۱۹۵ گرم قبل از شروع مطالعه، به طور تصادفی به ۴ گروه ND (تغذیه معمولی)، HFD (تغذیه پرچرب)، HIIT+ND و HIIT+HFD تقسیم شدند. گروه رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب و گروه رژیم غذایی استاندارد، غذای استاندارد (هر دو مطابق با دستورالعمل پلت سرم سازی رازی) را مصرف نمودند. مداخلات رژیم غذایی و ورزش همزمان شروع گردید و به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت. ترکیب رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد انرژی کل از چربی (مشق شده از روغن حیوانی)، ۲۰ درصد از کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود. در طول پژوهش، رت های گروه کنترل در مدت زمان اجرای تمرینات ورزشی رژیم غذایی استاندارد، شامل ۱۰ درصد انرژی دریافتی از چربی، ۷۰

1 Lee index

2 Maximal Running Capacity

TGF- $\beta$ 1 با استفاده از برنامه جین رانر<sup>۷</sup> انجام شد. واکنش زنجیره پلیمرز با استفاده از دستگاه (ABI<sup>۸</sup>) و کیت (سیناکلون، ساخت ایران) انجام گرفت. هر واکنش RT-PCR<sup>۹</sup> شامل ۲ میکرولیتر cDNA رقیق شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۵ میکرولیتر مسترمیکس ۱۰ و ۲ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز بود. اختصاصی بودن تکثیر PCR با ارزیابی منحنی تکثیر و پیک ذوب ارزیابی گردید. از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. جهت بررسی کمی-نسبی ژن TGF- $\beta$ 1 از فرمول محاسباتی  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (تغییرات CT خوانده شده ژن موردنظر نسبت به ژن کنترل داخلی) استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل ها به طور جداگانه برای گروه های نمونه انجام شد.

شده، قفسه سینه حیوانات شکافته شده و خون به طور مستقیم از قلب گرفته شد.

۵ سی سی از خون در لوله های حاوی ژل لخته<sup>۱</sup> با سرعت ۲۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شده و سرم آن ها جدا سازی و برای انجام مراحل بعدی تحقیق در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگه داری گردید. نمونه های بافت چربی زیر جلدی نیز از ناحیه کشاله ران جمع آوری شده و با محلول کلرور سدیم ۹ درصد شستشو و پس از آغشته کردن به محلول RNA later (شرکت بنهوزن ایران) به ظروف حاوی محلول نمکی بافرسفات (PBS<sup>۱</sup>) انتقال داده شد. سپس بلافاصله با نسبت (۱:۱۰) به لحاظ حجمی در PBS همگن گردیده و به مخزن نیتروژن مایع انتقال یافت. نمونه های بافتی برای انجام مراحل بعدی در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

#### استخراج RNA و بیان ژن (Real-Time PCR)

برای اندازه گیری تغییرات ژن ها از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR<sup>۳</sup>) استفاده گردید. بدین منظور پس از استخراج کل RNA با استفاده از تریزول (شرکت کایزیست، ساخت ایران)، غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودرآپ<sup>۴</sup> (ساخت کشور آمریکا) اندازه گیری شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری شده و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب نانوگرم بر میکرولیتر به دست آمد.

به منظور جلوگیری از تکثیر احتمالی مربوط به DNA ژنومی که همراه با RNA استخراج می شود، نمونه های استخراج شده با Dnase I (ترموفیشر)<sup>۵</sup> تیمار شدند. ساخت cDNA در دو مرحله با استفاده از (کیت پارس توس، ساخت ایران) انجام شد. توالی پرایمرها از پایگاه داده ای مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI<sup>۶</sup>) تهیه گردید (جدول ۱). سپس طراحی پرایمرهای ژن

7 Generunner  
8 Applied Biosystems  
9 Real time PCR  
10 Master Mix

1 Clot Gel  
2 Phosphate buffered saline  
3 Polymerase Chain Reaction  
4 Nanodrop  
5 Thermo Fisher  
6 National Center for Biotechnology Information

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

نام ژن	توالی رفت (Forward)	توالی معکوس (Reverse)	دمای ذوب (Tm)	طول قطعه PCR محصول
TGF-β1	GCCTGGGTTGGAAGTGGAT	GGGTTGTGTTGGTTGTAGAG	۸۲/۶۹	۱۳۰
GAPDH	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	۸۳/۵۲	۱۲۳

### بررسی‌های بیوشیمیایی

برای اندازه گیری میزان انسولین سرمی از روش الیزای ساندریچی با استفاده از کیت شرکت ( MyBioSource ) ساخت کشور امریکا) با حساسیت به ترتیب ۲ پیکوگرم بر میلی لیتر با شماره کاتالوگ MBS724709 مطابق با روش درج شده در بروشور کیت استفاده شد. میزان سرمی کلسترول، تری گلسیرید، کلسترول HDL (C-HDL) و کلسترول LDL (C-LDL) به وسیله دستگاه اتوآنالایزر و با استفاده از کیت های تجاری (شرکت پارس) سنجیده شدند. همچنین گلوکز نیز با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) به روش گلوکز اکسیداز با حساسیت ۵ میلی گرم در دسی لیتر اندازه گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) از حاصل ضرب مقدار گلوکز (میلی مول بر لیتر) در انسولین ناشتا (میلی واحد بین المللی در لیتر) تقسیم بر ۲۲/۵ محاسبه شد (۲۳).

### پروسه بافتی و قالب گیری و رنگ آمیزی

پس از جدا کردن بافت چربی زیرجلدی از بدن رت ها بلافاصله میزان ۱ گرم از بافت به مدت ۲۴ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. در ادامه بافت تثبیت شده پس از انجام مراحل متعدد آبیگری با الکل اتیلیک دهیداته شده و در قالب های پارافینی (شرکت مجللی، ایران) قرار داده شد. سپس با استفاده از دستگاه میکروتوم چرخان<sup>۱</sup> برش هایی با ضخامت پنج میکرومتر تهیه گردید. بدین منظور ابتدا بلوک های پارافینی حاوی نمونه های بافتی تراشیده و پس از درج شماره سریال آن ها، روی پایه نصب شدند. پس از برش های متوالی، مقاطع با کمک پنس برداشته و در حوضچه آب شناور شدند. پس از خارج نمودن از آب، لام ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در خشک کن قرار گرفتند. در ادامه، هر

برش با هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) رنگ آمیزی شد و با میکروسکوپ نوری (LABOMED) عکس برداری انجام شد. از نرم افزار تصویربرداری IMAGE G، برای انتخاب تصادفی چهار ناحیه در سراسر بخش های بافت استفاده شد.

### روش آماری

از آمار توصیفی برای توصیف داده ها و رسم نمودار (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیروویلیک و جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت میانگین متغیرهای اندازه گیری شده بین گروه های تحقیق، از آزمون آنوا دوطرفه و در ادامه از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرها از ضریب همبستگی استفاده شد. همچنین به منظور مقایسه وزن رت ها در انتهای ۱۰ هفته رژیم غذایی و انتهای پروتکل تمرینی از آزمون آنکوا و تست تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی داری ۰/۰۵ < P در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با استفاده از نسخه ۲۴ نرم افزار SPSS و برای رسم نمودار ها از نرم افزار Prism نسخه ۸،۴،۳ استفاده گردید.

### یافته‌ها

نتایج اندازه گیری های شاخص های آنترپومتریک شامل وزن و قد حیوانات (قبل و انتهای دوره تمرینی)، شاخص لی (قبل و انتهای دوره تمرینی)، و شاخص های متابولیک حیوانات (شامل پروفایل قندی و لیپیدی و آنزیم های کبدی) در جدول ۲ آورده شده است.

<sup>1</sup> Rotary microtome

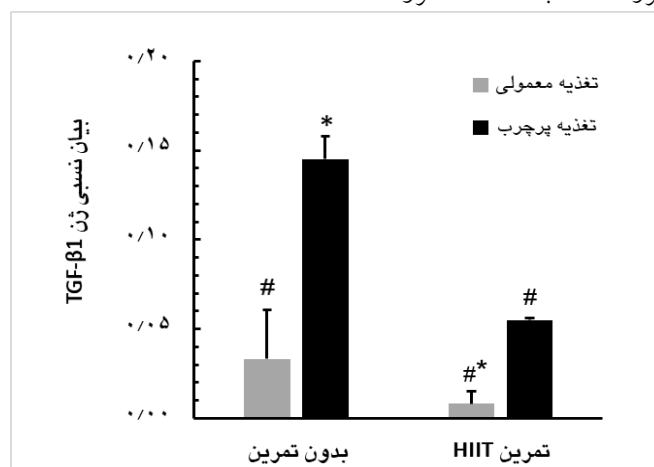
جدول ۲. مشخصات آنترپومتریک و متابولیک اندازه گیری شده در گروه های مطالعه

گروه های بدون تمرین		گروه های تمرین کرده		متغیرها
غذای معمولی	غذای پرچرب	غذای معمولی + HIIT	غذای پرچرب + HIIT	
۱۷۶/۰ ± ۴/۳	۱۹۲/۰ ± ۲۴/۰	۲۰۵/۳ ± ۱۰/۲	۲۰۶/۰ ± ۱۰/۵	وزن هفته اول (گرم)
۲۷۳/۰ ± ۱۱/۰	۴۵۱/۵ ± ۴۹/۳	۲۷۰/۳ ± ۹/۴	۲۵۸/۵ ± ۱۰/۱	وزن هفته دهم (گرم)
۲۸۳/۷ ± ۲/۷	۲۸۱/۵ ± ۰/۶	۲۸۱/۸ ± ۰/۸	۲۹۹/۷ ± ۳/۳	شاخص لی (ابتدا)
۳۰۲/۸ ± ۳/۱	۳۱۰/۵ ± ۱/۶	۲۹۹/۷ ± ۳/۳	۳۱۰/۵ ± ۱/۶	شاخص لی (انتها)
۸۷/۲ ± ۶/۲	۱۱۹/۸ ± ۶/۴	۸۵/۶ ± ۶/۰	۱۱۰/۵ ± ۲/۱	گلوکز سرمی
۱۱/۳ ± ۰/۶	۱۵/۲ ± ۰/۳	۱۱/۰ ± ۰/۶	۱۳/۰ ± ۰/۴	انسولین
۲/۴ ± ۰/۳	۴/۵ ± ۰/۳	۲/۳ ± ۰/۲	۳/۶ ± ۰/۱	HOMA-IR
۸۷/۸ ± ۳/۳	۱۷۷/۵ ± ۳/۷	۸۷/۷ ± ۳/۸	۱۳۱/۷ ± ۳/۹	تری گلیسرید
۹۳/۵ ± ۶/۹	۲۲۴/۰ ± ۵/۱	۹۶/۷ ± ۶/۲	۲۱۲/۰ ± ۴/۰	کلسترول
۳۷/۵ ± ۲/۸	۸۶/۷ ± ۳/۲	۳۸/۴ ± ۳/۲	۵۷/۳ ± ۱/۳	LDL کلسترول
۶/۴ ± ۱/۱	۲/۲ ± ۰/۵	۶/۶ ± ۰/۸	۴/۶ ± ۰/۹	HDL کلسترول
۱۷/۶ ± ۰/۷	۳۵/۵ ± ۰/۷	۱۷/۵ ± ۰/۸	۲۶/۳ ± ۰/۸	VLDL کلسترول
۱۴۲/۳ ± ۱۶/۱	۶۳۲/۲ ± ۱۲/۳	۱۵۱/۳ ± ۲۰/۴	۳۴۷/۳ ± ۱۷/۵	ALP
۵۶/۷ ± ۴/۳	۱۶۸/۵ ± ۳/۶	۵۹/۷ ± ۴/۳	۸۷/۷ ± ۲/۹	ALT
۸۹/۰ ± ۸/۵	۲۳۹/۲ ± ۱۲/۰	۹۵/۷ ± ۱۳/۸	۱۸۷/۲ ± ۹/۱	AST

# نشانه عدم معنی داری با گروه کنترل (غذای معمولی + بدون تمرین). نداشتن نشانه حاکی از معنی داری با گروه کنترل (غذای معمولی، بدون تمرین) می باشد.

اثرات غذای پرچرب و تمرین HIIT بر بیان ژن TGF- $\beta$  1 در بافت چربی زیر جلدی: بر اساس آزمون تحلیل واریانس دوطرفه اثر غذای پرچرب ( $P < 0.001$ )، اثر تمرین HIIT ( $F = 96.60$ ,  $P < 0.001$ ) و اثر تعاملی غذای پرچرب و تمرین HIIT بر بیان ژن TGF- $\beta$  1 معنی دار بود ( $F = 24.99$ ,  $P < 0.001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت بین گروه ها نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروه ND با HFD، گروه

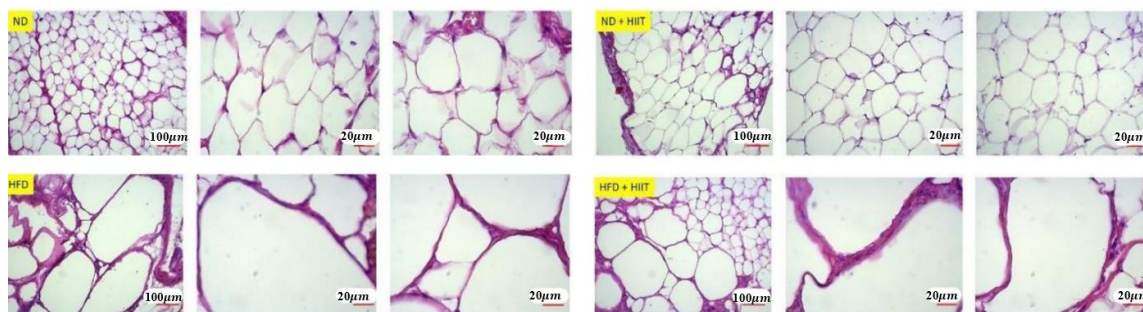
HIIT+ND با HFD و گروه HFD در مقایسه با HIIT+HFD بود ( $P < 0.001$ ). بین گروه ND با HIIT+ND در مقایسه با HIIT+HFD ( $P = 0.127$ ) و گروه ND با HIIT+HFD ( $P = 0.827$ ) و گروه HIIT+ND با HIIT+HFD ( $P = 0.080$ ) تفاوت معنی دار مشاهده نگردید (نمودار شماره ۱).



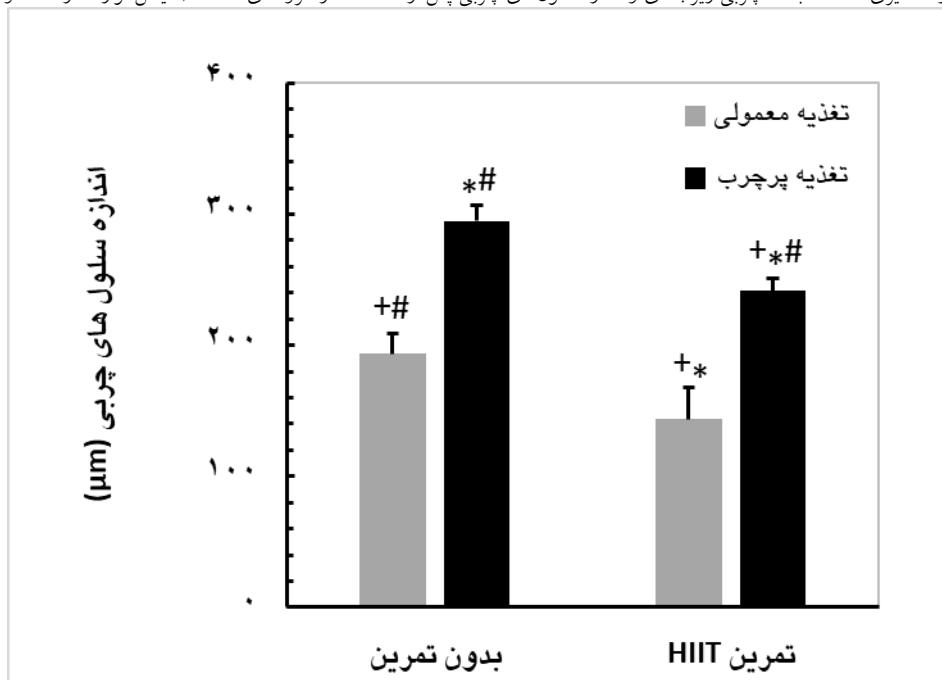
نمودار ۱. تغییرات نسبی بیان ژن TGF- $\beta$  1 در بافت چربی زیرجلدی گروه های مطالعه (اطلاعات در نمودار بر اساس انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین). \* نشانه معناداری با گروه (تغذیه معمولی بدون تمرین)، # معناداری با گروه (تغذیه پرچرب بدون تمرین) ( $P \leq 0.05$ ).

اثرات غذای پرچرب و تمرین HIIT بر اندازه سلول‌های چربی: بر اساس آزمون تحلیل واریانس دوطرفه اثر غذای پرچرب ( $F=222/06, P<0/001$ ) و اثر تمرین HIIT ( $F=58/07, P<0/001$ ) بر اندازه سلول چربی معنادار بود ولی اثر تعاملی غذای پرچرب و تمرین HIIT بر اندازه سلول چربی معنادار نبود

اثرات غذای پرچرب و تمرین HIIT بر اندازه سلول‌های چربی: بر اساس آزمون رنگ‌آمیزی H&E بافت چربی زیرجلدی و اندازه سلول‌های چربی در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین همه گروه‌ها بود ( $P<0/001$ ) (نمودار ۲).



شکل ۱. تصاویر رنگ‌آمیزی H&E بافت چربی زیرجلدی و اندازه سلول‌های چربی پس از ۱۰ هفته در گروه‌های مطالعه (مقیاس نوار اندازه ۱۰۰ و ۲۰ میکرومتر)



نمودار ۲. تغییرات اندازه سلول‌های چربی در گروه‌های مطالعه (اطلاعات در نمودار بر اساس انحراف استاندارد  $\pm$  میانگین)

\*نشانه معناداری با گروه (تغذیه معمولی بدون تمرین)، + معناداری با گروه (تغذیه پرچرب بدون تمرین)، # معناداری با گروه (تغذیه معمولی همراه با تمرین HIIT) ( $P \leq 0/05$ ).

سلول‌های چربی همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد ( $r=0/896, P<0/001$ ).

بررسی همبستگی بین متغیرها- نتایج آزمون آماری ضریب همبستگی پیرسون نشان داد بین بیان ژن TGF-β1 و اندازه

## بحث

گردید که با افزایش ۳۳۷ درصدی بیان ژن TGF-β1 و افزایش ۵۲/۲ درصدی در میانگین اندازه سلول‌های چربی همراه بود. تمرین HIIT توانست ۷۶ درصد کاهش در بیان نسبی ژن TGF-β1 و ۲۶ درصد کاهش در اندازه سلول

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۰ هفته باعث افزایش معنی دار وزن بدن (۱۳۵ درصد) و شاخص لی به میزان ۵/۹ درصد در رت‌ها



باعث افزایش چگالی مویرگی می شوند (۳۱). افزایش چگالی مویرگی با افزایش خونرسانی به بافت چربی و با کاهش عوامل فیبروتیک می تواند از افزایش حجم سلول های چربی جلوگیری نماید (۳۲).

همچنین لاکتات به عنوان یک مولکول سیگنالینگ متابولیسم بافت چربی سفید و ترشح آن را تنظیم می کند (۳۳). بر اساس نتایج یک مطالعه اخیر، لاکتات بیان TGF- $\beta$  2 را در سلول های چربی انسان و موش تحریک می کند. این احتمال وجود دارد که لاکتات افزایش یافته حین تمرین، HIIT با ورود به جریان خون و رسیدن به بافت چربی زیر جلدی و سایر بافت های متابولیک (ایجاد گفتگوی متقابل بین بافت ها) و با تاثیر بر برداشت و یا رها سازی اسیدهای چرب (۳۳) در تنظیم اندازه سلول های چربی اثر گذار باشد. از آن جا که اندازه گیری لاکتات و چگالی مویرگی در محدوده تحقیق حاضر نبود برای نتیجه گیری دقیق تر، مطالعات بیشتری در این زمینه با بررسی فاکتور های مذکور مورد نیاز است.

کاهش اندازه سلول چربی می تواند به واسطه افزایش مصرف کالری در حین تمرین یا حتی بدون آن، ایجاد گردد. در این تحقیق در گروه HIIT+HFD کاهش ۴۷ درصدی وزن و در گروه HIIT+ND کاهش ۱۵ درصدی وزن در انتهای ۱۰ هفته مشاهده گردید که با کاهش اندازه سلول های چربی و TGF- $\beta$  1 همراه بود. این یافته نشان می دهد که تاثیر تمرین تناوبی بر کاهش اندازه سلول چربی در گروهی که غذای چرب مصرف می کردند، بیشتر است. این احتمال نیز مطرح است که مصرف کالری بیشتر از طریق ورزش پر شدت با ایجاد تعادل منفی انرژی، منجر به افزایش سلول های بنیادی جدید چربی و سلول های چربی بزرگ شود که هر دو گسترش نامحدود سلول های چربی را سرکوب کرده و اثرات مطلوبی بر هموستاز متابولیک دارند (۶) که مطالعات بیشتری در این زمینه مورد نیاز می باشد.

از سویی دیگر ممکن است TGF- $\beta$  1 به عنوان فاکتور مهم تنظیم کننده فیبروز در بافت چربی، نقشی مشابه با نقش مایوستاتین داشته باشد (۹). ایجاد فیبروز به عنوان یک ویژگی تطبیقی می تواند با محدود کردن هیپرتروفی، عملکرد طبیعی سلول های چربی را حفظ کند (۳۴) و مانع

های چربی ایجاد نماید. تعامل تمرین HIIT همزمان با مصرف رژیم غذایی پرچرب باعث کاهش ۶۶ درصدی در بیان نسبی ژن TGF- $\beta$  1 و ۲۴/۸ درصدی در میانگین اندازه سلول های چربی گردید که نقش تمرین HIIT را در این تحقیق برجسته می سازد.

چندین مطالعه همسو با نتایج تحقیق حاضر افزایش اندازه سلول های چربی را در پی رژیم غذایی پرچرب و در شرایط چاقی (۲۴-۲۸) و کاهش اندازه سلول های چربی را به دنبال انجام تمرینات ورزشی گزارش نموده اند (۲۹، ۳۰). با این حال مکانیسم هایی که هیپرتروفی سلول چربی را تنظیم می کنند هنوز کاملاً شناخته نشده اند. از آن جا که همبستگی مثبت و بالا بین نسبی ژن TGF- $\beta$  1 و اندازه سلول های چربی مشاهده گردید ( $P < 0.001$ ,  $r = 0.896$ )، یکی از مکانیسم های احتمالی می تواند با تنظیم TGF- $\beta$  مرتبط باشد. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین HIIT می تواند از افزایش TGF- $\beta$  1 و اندازه سلول های چربی جلوگیری نماید.

یکی از مکانیسم های احتمالی ممانعت از افزایش اندازه سلول های چربی در پی تمرین HIIT، می تواند ناشی از تغییرات در بیان ژن TGF- $\beta$  1 و تاثیر آن بر عوامل فیبروتیک ماتریکس خارج سلولی بافت چربی باشد. سنتز و رسوب پروتئین ماتریکس خارج سلولی بافت چربی با تغییر در تعادل سیگنال های حفظ کننده و تخریب کننده TGF- $\beta$  اعمال می شود. TGF- $\beta$  به شدت رونویسی ژن کلاژن نوع I را به روشی وابسته به Smad3 تحریک می کند. علاوه بر این، TGF- $\beta$  ممکن است در اصلاح پس از ترجمه کلاژن با افزایش پایداری آن از طریق افزایش پیوند متقابل دخیل باشد (۱۲). البته اندازه گیری سایر عوامل فیبروتیک بافت چربی در محدوده تحقیق حاضر نبود و بهتر است در تحقیقات آتی مورد توجه قرار گیرند.

در رابطه با مکانیسم احتمالی دیگر در این رابطه این فرضیه نیز مطرح است که انجام تمرینات با شدت بالا منجر به افزایش سطح لاکتات و اپی نفرین خون و همچنین تخلیه ذخایر انرژی از جمله فسفو کراتین و ATP و افزایش رهایش کلسیم از شبکه سارکو پلاسمی گردیده که این سیگنال ها با تحریک و افزایش فعالیت PGC1 $\alpha$  1 احتمالاً

1 Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

رویکرد درمانی ممکن برای پیشگیری از چاقی در نظر گرفته شود لذا در مطالعات آتی بررسی اندازه سلول های چربی و اندازه گیری TGF-β1 با بررسی مسیر های سیگنال دهی و به کارگیری شیوه ها تمرینی متفاوت مانند استفاده از تمرینات قدرتی و ترکیبی و در دیگر ذخایر بافت چربی مانند بافت چربی احشایی و در صورت امکان با استفاده از نمونه های انسانی توصیه می شود.

### نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین HIIT باعث کاهش TGF-β1 و تعدیل اندازه سلول های چربی و خشی کردن اثرات مضر ناشی از تغذیه پر چرب می گردد، لذا مصرف مواد غذایی با درصد چربی بالا در رژیم غذایی افراد توصیه نمی گردد ولی با این وجود با توجه به سبک زندگی امروزی و کمبود وقت و تمایل به مصرف فست فود ها، در صورتی استفاده از این مواد غذایی، ورزش باید به برنامه زندگی افراد اضافه شود. همچنین اگرچه مصرف غذای معمولی نیز در مقایسه با غذای پرچرب از انبساط غیرطبیعی سلول چربی جلوگیری می نماید اما در ترکیب با تمرین تناوبی پرشدت برای ممانعت از افزایش سلول های چربی، کاهش TGF-β1 و بهبود شاخص های آنترپومتریکی و متابولیک کارآمدتر می باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح رساله دکتری مصوبه دانشگاه تربیت مدرس می باشد. بدینوسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته اند قدردانی می نمایم.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته ملی اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی با کد شناسه اخلاق در پژوهش IR.MODARES.AEC.1401.006 به تأیید رسیده است

### تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

از تجمع نابجای چربی در بافت های دیگر شود (۶). ورزش می تواند با جلوگیری از بیان بیش از حد TGF-β1 از انبساط بیش از حد سلول های چربی جلوگیری نماید. در این تحقیق بیشترین میزان کاهش TGF-β در گروه HIIT + ND مشاهده گردید که اهمیت انجام تمرین HIIT در افراد با تغذیه معمولی را در پیشگیری از افزایش این فاکتور برجسته می سازد. گرچه در تحقیق حاضر فیروزبافت چربی با رنگ آمیزی اختصاصی بررسی نگردید ولی تصاویر بدست آمده با رنگ آمیزی H&E نیز حاکی از ایجاد فیروز در اطراف سلول های چربی گروه تغذیه شده با غذای پرچرب بود. همچنین افزایش معنی دار کلاژن ۶ نیز در این گروه مشاهده شد (نتایج ارائه نشده) که موید این فرضیه می باشد. با در نظر گرفتن مفروضات فوق مطالعات گسترده تری در این حوزه مورد نیاز است.

و در نهایت در این تحقیق پروفایل متابولیک بهبود یافته از جمله کاهش چربی های خون و کاهش مقاومت به انسولین در گروه های تمرینی در مقایسه با گروه های غیر تمرینی مشاهده گردید. بیشترین میزان افزایش تری گلیسرید در گروه HFD مشاهده شد. قبلاً نشان داده شده است که تغییر دینامیکی اسیدهای چرب آزاد یک نشانگر زیستی مهم است که منعکس کننده تغییرات عملکرد سلول های چربی است. از آن جا که با دریافت بیش از حد انرژی، مقادیر زیادی اسیدهای چرب وارد گردش خون می شوند، این فرضیه که شاید هایپرتروفی سلول های چربی با میزان بالای اسید چرب در گردش خون مرتبط باشد، مطرح می گردد (۶).

با این حال انجام این تحقیق با محدودیت هایی نیز همراه بود که از جمله آن ها می توان به عدم اندازه گیری دیگر عوامل موثر در فیروز بافت چربی از جمله فاکتور رشد همبند (CTGF) و مهارکننده بافتی متالوپروتئینازها مانند TIMP1<sup>۲</sup> و انواع کلاژن ها را نام برد که بهتر است در مطالعات آتی مورد بررسی قرار گیرند.

از آن جا که تنظیم اندازه چربی با شناسایی اهداف مولکولی، مسیر های سیگنال دهی و پاسخ فیزیولوژیکی TGF-β1 به واسطه تمرین ورزشی ممکن است یک

<sup>1</sup> Connective Tissue Growth Factor

<sup>2</sup> TIMP Metalloproteinase Inhibitor 1

## منابع

1. Takahashi H, Alves CRR, Stanford KI, Middelbeek RJW, Nigro P, Ryan RE, et al. TGF- $\beta$ 2 is an exercise-induced adipokine that regulates glucose and fatty acid metabolism. *Nature Metabolism* 2019;1(2):291-303.
2. Stenkula KG, Erlanson-Albertsson C. Adipose cell size: importance in health and disease. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2018;315(2):R284-R95.
3. Muir LA, Neeley CK, Meyer KA, Baker NA, Brosius AM, Washabaugh AR, et al. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity* 2016;24(3):597-605.
4. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008; 783-787.
5. Chen HJ, Yan XY, Sun A, Zhang L, Zhang J, Yan YE. Adipose extracellular matrix deposition is an indicator of obesity and metabolic disorders. *The Journal of nutritional Biochemistry* 2023; 111:109159.
6. Liu F, He J, Wang H, Zhu D, Bi Y. Adipose morphology: a critical factor in regulation of human metabolic diseases and adipose tissue dysfunction. *Obesity Surgery* 2020;30:5086-100.
7. Ye RZ, Richard G, Gévry N, Tchernof A, Carpentier AC. Fat cell size: measurement methods, pathophysiological origins, and relationships with metabolic dysregulations. *Endocrine Reviews* 2022;43(1):35-60.
8. Jakab J, Miškić B, Mikšić Š, Juranić B, Čosić V, Schwarz D, et al. Adipogenesis as a potential anti-obesity target: A review of pharmacological treatment and natural products. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 2021:67-83.
9. Lee M-J. Transforming growth factor beta superfamily regulation of adipose tissue biology in obesity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2018;1864(4):1160-1171.
10. Toyoda S, Shin J, Fukuhara A, Otsuki M, Shimomura I. Transforming growth factor  $\beta$ 1 signaling links extracellular matrix remodeling to intracellular lipogenesis upon physiological feeding events. *Journal of Biological Chemistry* 2022; 298(4): 101748.
11. Yadav H, Quijano C, Kamaraju AK, Gavrilova O, Malek R, Chen W, et al. Protection from obesity and diabetes by blockade of TGF- $\beta$ /Smad3 signaling. *Cell Metabolism* 2011;14(1):67-79.
12. Biernacka A, Dobaczewski M, Frangogiannis NG. TGF- $\beta$  signaling in fibrosis. *Growth Factors* 2011;29(5):196-202.
13. Pourabdi K, Shakeriyan S, Pourabdi Z, Janbozorgi M. Effects of short-term interval training courses on fitness and weight loss of untrained girls. *Annals of Applied Sport Science* 2013;1(2):1-9.
14. Kolnes KJ, Petersen MH, Lien-Iversen T, Højlund K, Jensen J. Effect of Exercise Training on Fat Loss—Energetic Perspectives and the Role of Improved Adipose Tissue Function and Body Fat Distribution. *Frontiers in Physiology* 2021; 12:737709. doi: 10.3389/fphys.2021.737709.
15. Martland R, Mondelli V, Gaughran F, Stubbs B. Can high-intensity interval training improve physical and mental health outcomes? A meta-review of 33 systematic reviews across the lifespan. *Journal of Sports Sciences* 2020;38(4):430-69.
16. Chen H-j, Yan X-y, Sun A, Zhang L, Zhang J, Yan Y-e. Adipose extracellular matrix deposition is an indicator of obesity and metabolic disorders. *The Journal of nutritional Biochemistry* 2023;111:109159.
17. Kawanishi N, Niihara H, Mizokami T, Yano H, Suzuki K. Exercise training attenuates adipose tissue fibrosis in diet-induced obese mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2013;440(4):774-779.
18. Javid HMA, Sahar NE, ZhuGe D-L, Huh JY. Exercise inhibits NLRP3 inflammasome activation in obese mice via the anti-inflammatory effect of meteorin-like. *Cells* 2021;10(12):3480.
19. Ziegler A, Damgaard A, Mackey A, Schjerling P, Magnusson P, Olesen A, et al. An anti-inflammatory phenotype in visceral adipose tissue of old lean mice, augmented by exercise. *Scientific Reports* 2019;9(1):12069.
20. Maharjan BR, Martinez- Huenchullan SF, Mclennan SV, Twigg SM, Williams PF. Exercise induces favorable metabolic changes in white adipose tissue preventing high-fat diet obesity. *Physiological Reports* 2021;9(16):e14929.
21. Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P, Faridnia M, Tabari E. The effect of high intensity interval training and moderate intensity continuous training on mitochondrial content and pgc-1 $\alpha$  of subcutaneous adipose tissue in male rats with high fat diet induced obesity. *Journal of Sport Biosciences* 2018;10(3):297-315.
22. Martinez-Huenchullan SF, Ban LA, Olaya-Agudo LF, Maharjan BR, Williams PF, Tam CS, et al. Constant-moderate and high-intensity interval training have differential benefits on insulin sensitive tissues in high-fat fed mice. *Frontiers in Physiology* 2019;10:459.
23. Vieira VJ, Valentine RJ, Wilund KR, Woods JA. Effects of diet and exercise on metabolic disturbances in high-fat diet-fed mice.

- Cytokine 2009;46(3):339-345.
24. Gustafson B ,Nerstedt A, Smith U. Reduced subcutaneous adipogenesis in human hypertrophic obesity is linked to senescent precursor cells. *Nature Communications* 2019;10(1):2757.
  25. Heinonen S, Saarinen L, Naukkarinen J, Rodríguez A, Frühbeck G, Hakkarainen A, et al. Adipocyte morphology and implications for metabolic derangements in acquired obesity. *International journal of obesity* 2014;38(11):1423-1431.
  26. Zhang Y, Zitsman JL, Hou J, Fennoy I, Guo K, Feinberg J, et al. Fat cell size and adipokine expression in relation to gender, depot, and metabolic risk factors in morbidly obese adolescents. *Obesity* 2014;22(3):691-697.
  27. McLaughlin T, Lamendola C, Coghlan N, Liu T, Lerner K, Sherman A, et al. Subcutaneous adipose cell size and distribution: relationship to insulin resistance and body fat. *Obesity* 2014;22(3):673-80.
  28. Eiras S, Teijeira-Fernández E, Salgado-Somoza A, Couso E, García-Caballero T, Sierra J, et al. Relationship between epicardial adipose tissue adipocyte size and MCP-1 expression. *Cytokine* 2010; 51(2):207-12. doi: 10.1016/j.cyto.2010.05.009. Epub 2010 Jun 17.
  29. Kolahdouzi S, Talebi Garakani E, Hamidian G, Safarzade A. The Effects of High-Intensity Intermittent Aerobic Training on Adipose Tissue Angiogenesis in Rats Fed a High Fat Diet. *Sport Physiology* 2018;10(38):143-162.
  30. 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. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2009;297(2):E495-E504.
  31. Fayyazi S, Naghibi S, Asad M. The effect of eight weeks of high intensity interval training and moderate continuous training on PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  gene expression in subcutaneous adipose tissue of male rats. *Razi Journal of Medical Sciences* 2021; 28(5): 104-115.
  32. Kolahdouzi S, Talebi-Garakani E, Hamidian G, Safarzade A. Exercise training prevents high-fat diet-induced adipose tissue remodeling by promoting capillary density and macrophage polarization. *Life sciences* 2019;220:32-43.
  33. Ahn C, Ryan BJ, Schleh MW, Varshney P, Ludzki AC, Gillen JB, et al. Exercise training remodels subcutaneous adipose tissue in adults with obesity even without weight loss. *The Journal of Physiology* 2022;600(9):2127-46.
  34. Muir LA, Neeley CK, Meyer KA, Baker NA, Brosius AM ,Washabaugh AR, et al. Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity* 2016;24(3):597-605.