

The Effects of Aerobic Training with Different Intensity on FoxO1 and STRA13 Genes Expression in Subcutaneous Fat Tissue of Male Wistar Rat

Tashakkori-Ghanbarian M*, Naghibi S, Shariatzadeh-Jonaidi M, Ansari SH

Department of Physical Education and Sport Sciences, Payam Noor University (PNU), Alborz, Iran.

* *Corresponding author*. Tel: +989213831106, Fax: +982635741150, E-mail: tashakorimehrdad7@gmail.com

Received: Jun 6, 2022

Accepted: Sep 11, 2022

ABSTRACT

Background & objective: FoxO1 and STRA13 proteins play an important role in duplication and cellular metabolism, regulation of cell differentiation, apoptosis and reducing the spread of fat tissue in the body. The aim of this study was to investigate the effect of different intensities of aerobic training on the expression level of FoxO1 and STRA13 genes in subcutaneous adipose tissue of male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 32 male Wistar rats with a mean age of 8 weeks and weight of 237 ± 33 gr were selected, and they were randomly divided into 4 equal groups including moderate-intensity aerobic training (MIT), high-intensity aerobic training (HIT), high-intensity interval aerobic training (HIIT) and control group. The training program was implemented 8 weeks and 5 sessions per week for the experimental groups. Adipose tissue biopsy was performed 48 hours after the last training session to evaluate FoxO1 and STRA13 gene expression using RT-PCR method. Data were analyzed using One-way analysis of variance test using SPSS 24 software at the significance level of $p<0.05$.

Results: The results showed that there was a significant difference in the FoxO1 gene expression level in the subcutaneous tissue of male Wistar rats between HIT and control groups ($p=0.0001$). However, no significant difference was observed between experimental groups. In addition, there was a significant difference in STRA13 gene expression level in the subcutaneous tissue between MIT ($p=0.008$), HIT ($p=0.0001$) and HIIT ($p=0.009$) groups and control group.

Conclusion: According to the results, aerobic exercise with variety of intensity is effective in controlling the genes expression rate involved in fat metabolism and by reducing the FoxO1 and STRA13 genes expression, they cause the duplication and reduce the expansion of fat tissue.

Keywords: Aerobic Training; FoxO1 Gene; STRA13 Gene; Fat Tissue; Rat

تاثیر تمرین هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13 بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

مهرداد تشکری قنبریان*، سعید نقیعی، محمد شریعت زاده، شهرزاد انصاری

گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، کرج، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۲۱۳۸۳۱۱۰۶ فاکس: ۰۲۶۳۵۷۴۱۱۵۰ پست الکترونیک: tashakorimehrdad7@gmail.com

چکیده

زمینه و هدف: پروتئین‌های FoxO1 و STRA13 نقش مهمی در تکثیر و متابولیسم سلولی، تنظیم تمایز سلولی، آپوپتوز و کاهش گسترش بافت چربی در بدن دارند. هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر ۸ هفته تمرین هوازی با شدت‌های متفاوت بر بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13 در بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۸ هفته و وزن 237 ± 33 گرم انتخاب و به صورت تصادفی در ۴ گروه مساوی؛ تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)، تمرین هوازی شدید (HIT)، تمرین هوازی تناوبی شدید (HIIT) و کنترل جایگزین شدند. برنامه تمرینی گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته اجرا شد. بافت‌برداری از بافت چربی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی برای بررسی بیان ژن FoxO1 و STRA13 به روش RT-PCR انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه با نرم‌افزار SPSS-24 در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج پژوهش نشان داد که تفاوت معناداری بین بیان ژن FoxO1 در بافت چربی زیر جلدی موش صحرایی گروه HIT با گروه کنترل وجود دارد ($p=0/0001$)، ولی بین گروه‌های تجربی با یکدیگر تفاوت معناداری مشاهده نشد. همچنین تفاوت معناداری در بیان ژن STRA13 در بافت چربی زیر جلدی بین گروه کنترل با گروه‌های MIT ($p=0/008$)، HIIT ($p=0/009$) و HIT ($p=0/0001$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهد، تمرینات هوازی با شدت‌های متفاوت در کنترل میزان بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی موثر بوده و می‌تواند از طریق کاهش بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13، موجب تمایز و کاهش گسترش بافت چربی گردد.

واژه‌های کلیدی: تمرینات هوازی، ژن FoxO1، ژن STRA13، بافت چربی، موش صحرایی

پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۰

دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۶

مقدمه

بافت چربی صرفاً نه به‌عنوان یک انبار ذخیره چربی بلکه به عنوان یک اندام اندوکراین فعال شناخته

شده‌است که مولکول‌های بیواکتیو^۱ (آدیپوکاین) که در تنظیم هموستاز متابولیک مشارکت دارند را ترشح می‌کند [۱]. تحقیقات نشان داده‌اند که عدم تعادل بین آدیپوسایتوکاین‌های پیش التهابی و ضد التهابی در

^۱ Bioactive Molecules

می‌شود. بنابراین، استیله‌شدن آن می‌تواند اثر فسفوریلاسیون AKT را برای مهار بیشتر فعال‌سازی رونویسی توسط FoxO1 تقویت کند [۸]. با توجه به این شرایط، به‌خوبی تصور می‌شود که FoxO1 در تنظیم چرخه‌سلولی در مسیر تمایز چربی‌ها نقش موثری دارد [۹].

علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که FoxO1 فعال شده می‌تواند لیپوژنز را از طریق PPAR γ مهار کند [۱۰]. در مقابل این افزایش بیان FoxO1 که منجر به چاقی در بدن می‌شود، بیان ژن‌هایی دیگر سعی در سرکوب و مهار FoxO1 دارند [۱۱]. یکی از این ژن‌ها مهارکننده، پروتئین STRA13^۴ است. STRA13 یک فاکتور رونویسی bHLH^۵ است که در تعدادی از انواع سلول‌ها بیان می‌شود [۱۲]. بیان این ژن توسط چندین محرک در انواع سلول‌های مختلف القا می‌شود و با افزایش فعالیت در سلول‌ها، در تنظیم تمایز سلولی، تغییر چرخه‌سلولی، پاسخ به استرس و آپوپتوز نقش موثری دارد [۱۱] و گسترش بافت چربی در بدن را کاهش می‌دهد [۱۳]. اگرچه بافت چربی موجب ترشح آدیپوسایتوکاین‌های پایش التهابی؛ نظیر اینترلوکین-۶، فاکتور نکروز دهنده تومور-آلفا و لپتین می‌شود [۱۴]، اما این ماکروفاژهای مستقر در بافت چربی هستند که منبع اولیه سایتوکاین‌های التهابی در چاقی به حساب می‌آیند [۱۵]. به نظر می‌رسد، برنامه‌های تمرینی با کاهش تعداد سلول‌های چربی، بهبود عملکرد ترشحی سلول‌های چرب و کاهش محتوای ماکروفاژهای بافت چربی [۱۶]، در تعدیل سطوح آدیپوکاین‌های ترشح شده از بافت چربی نقش به‌سزایی داشته‌باشد [۱۷]. فعالیت ورزشی تبدیل بافت چربی سفید به چربی قهوه‌ای که دو پروتئین PRDM16^۶ و PPAR- γ در این امر نقش مهمی دارند را تسهیل می‌کند [۱۸]. این سازگاری‌های ناشی

بافت چربی نقش مهمی در گسترش عوارض وابسته به چاقی ایفا می‌کند [۲،۳]. همچنین مطالعات زیادی در رابطه با تمایز و نقش سلول‌های چربی سفید [۳]، که قادر به ذخیره و آزادسازی لیپیدها و آزادسازی هورمون‌ها (آدیپوکین‌ها) هستند، و سلول‌های چربی قهوه‌ای که قادر به سوزاندن انرژی هستند، انجام شده‌است [۴]. یکی از عوامل ژنی موثر بر این فرایندها FoxO1^۱ است. این ژن از خانواده فاکتورهای رونویسی FoxO (Forkhead Box O) است که نقش مهمی در هر دو شکل چربی قهوه‌ای و سفید ایفا می‌کند. FoxO1 رونویسی ژن‌های تسهیل‌کننده مسیر متابولیک را تنظیم می‌کند. بی‌نظمی در بیان FoxO1 به بسیاری از شرایط متابولیک، به‌ویژه چاقی منجر می‌شود [۵].

از طرف دیگر، عوامل هورمونی از طریق پروتئین FoxO β به هسته منتقل می‌شوند تا برنامه رونویسی را که باعث توزیع و مصرف چربی می‌شود، فعال کنند. فاکتور رونویسی FoxO1 توسط انسولین از طریق محاصره هسته‌ای فسفوریلاسیون وابسته به Akt^۲ تنظیم می‌شود. FoxO1 یکی از اهداف پایین دست AKT است و در کنترل چرخه‌سلولی، آپوپتوز، متابولیسم و تمایز چربی شرکت می‌کند. از این‌رو، فاکتورهای رونویسی خانواده FOXO نقش مهمی در تمایز، تکثیر و متابولیسم سلولی بازی می‌کنند [۶].

FoxO1 به‌طور معمول در بافت‌ها و اندام‌های دارای انسولین مانند کبد، بافت چربی و لوزالمعده بیان می‌شود [۷] و شامل سه بخش فسفوریلاسیون بسیار محافظت‌شده، T24، S253 و S316 می‌باشد که توسط AKT فسفریله می‌شوند. فسفوریلاسیون FoxO1 در این بخش‌ها توسط AKT مانع فعال‌سازی رونویسی با واسطه FoxO1 می‌شود و به‌طور مشابه، استیله‌شدن FoxO1 میل به اتصال DNA آن را ضعیف می‌کند و باعث انتقال آن از هسته به سیتوپلاسم

³ Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ

⁴ Stimulated with Retinoic Acid 13

⁵ Basic Helix-Loop-Helix

⁶ PR Domain Containing 16

¹ Forkhead Box O1

² Protein Kinase B

از تمرینات ورزشی باعث افزایش لیپولیز بافت چربی می‌شود [۱۹].

همچنین تغییرات در بیان ژن FoxO1 قادر به تاثیر در بسیاری از فعالیت‌های هورمونی و ژنتیکی در بافت چربی است [۹]. گزارش شده است که تمرین ورزش، بر فعالیت این چرخه تاثیر گذار است. به‌عنوان مثال؛ یافته‌های مطالعه اسلاپک^۱ و همکاران نشان داد که تمرین استقامتی به تغییر معنادار پروتئین و بیان ژن FoxO1 در عضله اسکلتی موش‌ها منجر گردید [۲۰]. به‌علاوه، رژیم‌های غذایی پرچرب، مقادیر لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL)^۲، کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما (TG)^۳ را افزایش داده [۲۱] و منجر به تجمع لیپید و اختلال متابولیسم چربی‌ها می‌شوند [۲۲]. تمرین و فعالیت بدنی، میزان اکسیداسیون کل بدن را افزایش داده و از این طریق انرژی لازم برای عضلات را فراهم می‌کند [۲۳] و نیمرخ لیپیدی را بهبود می‌بخشد [۲۴]. هرچند برخی از مطالعات، عدم تغییر نیمرخ لیپید به دنبال هشت هفته تمرین هوازی را گزارش کرده اند [۲۵]. با این وجود، نوع و شدت فعالیت بدنی اثرات متفاوتی را بر متابولیسم چربی‌ها ایفا می‌کند [۲۴]. تمرینات هوازی شدید در مقایسه با تمرینات هوازی با شدت کم مزایای سودمندی را بر فاکتورهای خطرری متابولیسمی دارند [۲۶]. ضمن این‌که، شدت فعالیت ورزشی در مقابل حجم فعالیت، عاملی موثرتر بر بهبود بیماری‌های متابولیکی می‌باشد [۲۷].

از این رو، با عنایت به مطالب عنوان‌شده و با توجه به محدود بودن مطالعات و نتایج ضد و نقیض گزارش

شده، برای کسب اطلاعات بیشتر در زمینه متابولیسم چربی ناشی از بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13، به دنبال تمرینات هوازی با شدت‌های متفاوت، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر تمرینات هوازی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13 در بافت چربی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد.

روش کار

پژوهش حاضر تجربی با طرح پس‌آزمون با سه گروه تجربی و یک گروه کنترل بود (جدول ۱). ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و میانگین وزن 237 ± 33 گرم از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی خریداری شد. (در جدول ۳ مشخصات توصیفی موش‌ها در گروه‌های مختلف به تفصیل آمده است). موش‌ها در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت 55 ± 4 درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی‌کربنات به ارتفاع ۴۳ و طول ۲۷ و عرض ۲۵ سانتی‌متر نگهداری شدند. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. غذای موش‌ها، تولید شرکت خوراک دام به‌پروور بود. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پروتکل اخلاقی کاربروری حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید و مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق به شناسه IR.PNU.REC.1399.081 قرار گرفت.

¹ Slopak

² Low Density Lipoprotein

³ Triglycerides

جدول ۱. نمای کلی طرح پژوهش

گروه	آزمودنی‌ها	متغیر مستقل	پس‌آزمون
تمرین MIT	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۸ سر)	X1	T1
تمرین HIT	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۸ سر)	X2	T1
تمرین HIIT	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۸ سر)	X3	T1
کنترل	موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۸ سر)	-	T1

T1: ارزیابی در مرحله پس‌آزمون و برآورد متغیرها؛ X1: هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط (MIT)؛ X2: هشت هفته تمرین هوازی شدید (HIT)؛ X3: هشت هفته تمرین هوازی تناوبی شدید (HIIT)

جهت اجرای برنامه تمرینی ابتدا آشناسازی موش‌ها با تمرینات ورزشی به مدت ۲ هفته، ۵ جلسه در هر هفته و هر جلسه ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر انجام شد. سپس موش‌ها به‌طور تصادفی ساده به ۴ گروه مساوی (هر گروه ۸ سر): تمرین هوازی با شدت متوسط^۱، تمرین هوازی شدید^۲، تمرین هوازی تناوبی شدید^۳ و کنترل تقسیم شدند. پروتکل تمرینی گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته و هر جلسه به حدود ۴۵ دقیقه اجرا شد. گروه کنترل در این مدت برنامه تمرینی نداشتند، ولی در شرایط مشابه گروه‌های تجربی نگهداری شدند.

پروتکل‌های تمرینی

الف) پروتکل تمرین گروه MIT: پروتکل تمرین MIT شامل ۵ دقیقه گرم کردن، ۳۷ دقیقه دویدن روی نوارگردان با شدت ۶۵ درصد VO2max و ۵ دقیقه سردکردن در انتها بود.

ب) پروتکل تمرین گروه HIT: این پروتکل شامل: ۷ دقیقه گرم کردن، ۳۰ دقیقه دویدن با شدت ۶۵ درصد VO2max روی نوارگردان با شیب فزاینده (به‌طور تدریجی از صفر شروع شد و هر هفته به میزان ۲ درصد به شیب اضافه گردید) و ۵ دقیقه سرد کردن در انتها بود.

ج) پروتکل تمرین گروه HIIT: پروتکل تمرین HIIT شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن، ۴ و هله تمرین شدید با

زمان ۴ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO2max و ۴ و هله تمرین کم شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در ۵۰ تا ۶۰ درصد VO2max و ۵ دقیقه سرد کردن بود که در مجموع ۴۳ دقیقه به‌طول انجامید.

حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل هویدال^۴ و همکاران (۲۰۰۷) و به‌طور غیرمستقیم ارزیابی شد. ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۴۰ تا ۵۰ درصد VO2max انجام شد. سپس موش‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند، و هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سرحد واماندگی سرعت افزایش یافت (عدم توانایی دویدن روی نوارگردان و رفتن به فضای انتهایی نوارگردان). بعد از به پایان رسیدن آزمون ورزشی سرعتی که موش‌ها در آن دویدند (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت گردید و با استفاده از معادله $y=162x-1$ میزان VO2max اندازه‌گیری شد (y، نمایانگر اکسیژن مصرفی میلی‌لیتر در دقیقه به ازای کیلوگرم وزن بدن، x نمایانگر سرعت دویدن متر در ثانیه) و بدین ترتیب شدت تمرینی هفته اول هر گروه مشخص شد [۲۸].

روش نمونه‌برداری و تعیین کمی مقادیر بیان ژن: پس از پایان برنامه تمرینی، موش‌ها ۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ناشتایی شبانه (۱۲ ساعت)، با ترکیبی از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای

¹ Moderate-Intensity Training, MIT

² High-Intensity Training, HIT

³ High-Intensity Interval Training, HIIT

⁴ Höydaal

استفاده از سایت NCBI استخراج و پرایمرها توسط نرم افزار کامپیوتری Allel ID ساخته شد. سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت. پرایمرها توسط شرکت سیناژن ساخته شد (جدول ۲). آزمایشات جهت بررسی هر ژن، دو بار انجام شد.

هر کیلوگرم وزن) و زیلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) بیهوش شدند [۲۹] و بافت برداری چربی زیر جلدی انجام شد. نمونه های بافتی بلافاصله وارد محلول نیتروژن مایع شد و در دمای ۸۰- درجه فریز گردید.

بیان ژن های FoxO1 و STRA13 با روش Real-Time PCR^۱ مورد بررسی قرار گرفت. توالی mRNA ی مربوط به ژن های FoxO1 و STRA13 با

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده

Genes	Primer sequence
FoxO1	For: 5'- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA -3' Rev: 5'- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3'
STRA13	For: 5'- AGAAGAGGAAGGCAAGGATAGG -3' Rev: 5'- GAAGAGGGAGAAGATGAAGAGGA -3'
GAPDH	For: 5'- GACATGCCCGCTGGAGAAAC -3' Rev: 5'- AGCCCAGGATGCCCTTAGT -3'

تجزیه و تحلیل داده ها

برای کمی سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. مقایسه میانگین تغییرات در هر گروه با سایر گروه ها با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معنای $p \leq 0.05$ با نرم افزار SPSS-24 انجام شد.

یافته ها

با توجه به نتایج جدول ۴ مشاهده می شود که تفاوت بین میانگین بیان ژن FoxO1 در بافت چربی موش های صحرایی نر و بیستار در گروه ها، در سطح $p \leq 0.05$ معنادار است.

نتایج جدول ۵ نشان می دهد که تفاوت معنادار فقط بین گروه کنترل و گروه تمرین HIT وجود دارد، ولی این تفاوت بین سایر گروه معنادار نیست.

با توجه به نتایج جدول ۶ مشاهده می شود که تفاوت بین میانگین بیان ژن STRA13 در بافت چربی موش های صحرایی نر و بیستار در گروه ها، در سطح $p \leq 0.05$ معنادار است.

برای استخراج RNA از اتانول ۷۵٪، ایزوپروپانول ۱۰۰٪ (سرد)، کلروفرم (سرد)، گلیکوژن، آب سترون استفاده شد. غلظت و خلوص RNA استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر نانودراپ بررسی شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری شده و غلظت آن براساس ضریب رقت برحسب $ng/\mu l$ به دست آمد. معمولاً RNA استخراج شده به DNA ژنومی آلوده می باشد و این آلودگی در آزمایشات qPCR که برای بررسی بیان ژن استفاده می شود، اختلال ایجاد می کند. برای از بین بردن این آلودگی از روش تیمار RNA استخراج شده با DnaseI استفاده شد. برای سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA، RNA تیمار شده با DnaseI، میکروتیوب $200 \mu l$ ، ترموسایکلر، با DEPC، سمپلر و سرسمپلر استفاده شد. هم چنین از غلظت $1ng/\mu l$ از RNA برای سنتز cDNA استفاده شد.

¹ Applied Biosystems, Sequence Detection Systems

نتایج جدول ۷ نشان می‌دهد که تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی وجود دارد، ولی این تفاوت بین گروه‌های تجربی با یکدیگر معنادار نیست.

جدول ۳. مشخصات توصیفی موش‌ها در گروه‌های مختلف

گروه	تعداد (سر)	سن (هفته)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	FoxO1 (واحد)	STRA13 (واحد)
تمرین MIT	۸	۸	۲۳۴±۱۳	۲۴۰±۲۲	۰/۰۰۶۸±۰/۰۰۳۱	۰/۰۰۴۴±۰/۰۰۱۹
تمرین HIT	۸	۸	۲۳۸±۲۸	۲۴۱±۳۴	۰/۰۰۴۷±۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۳۰±۰/۰۰۱۲
تمرین HIIT	۸	۸	۲۴۰±۴۱	۲۵۸±۱۲	۰/۰۰۶۵±۰/۰۰۴۳	۰/۰۰۴۴±۰/۰۰۲۵
کنترل	۸	۸	۲۳۶±۱۹	۲۹۶±۳۲	۰/۰۱۱۸±۰/۰۰۴۷	۰/۰۰۷۸±۰/۰۰۲۱

جدول ۴. نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه بر روی میانگین تغییرات بیان ژن FoxO1 در بافت چربی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

گروه	(میانگین ± انحراف معیار)	F	سطح معناداری
تمرین MIT	۰/۰۰۶۸±۰/۰۰۳۱	۵/۳۶۸	۰/۰۰۵
تمرین HIT*	۰/۰۰۴۷±۰/۰۰۱۶		
تمرین HIIT	۰/۰۰۶۵±۰/۰۰۴۳		
کنترل	۰/۰۱۱۸±۰/۰۰۴۷		

* تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $p \leq 0.05$ جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی (مقادیر p) در بیان ژن FoxO1 برای مقایسه دو به دو گروه‌های پژوهش

گروه	تمرین MIT	تمرین HIT	تمرین HIIT	کنترل
تمرین MIT	-	۰/۹۰۱	۰/۷۳۴	۰/۰۶۹
تمرین HIT*	-	-	۰/۶۱۸	۰/۰۰۴
تمرین HIIT	-	-	-	۰/۰۵۱

* تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $p \leq 0.05$

جدول ۶. نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه بر روی میانگین تغییرات بیان ژن STRA13 در بافت چربی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

گروه	(میانگین ± انحراف معیار)	F	سطح معناداری
تمرین MIT*	۰/۰۰۴۴±۰/۰۰۱۹	۹/۳۱۶	۰/۰۰۰۱
تمرین HIT*	۰/۰۰۳۰±۰/۰۰۱۲		
تمرین HIIT*	۰/۰۰۴۴±۰/۰۰۲۵		
کنترل	۰/۰۰۷۸±۰/۰۰۲۱		

* تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $p \leq 0.05$ جدول ۷. نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی (مقادیر p) در بیان ژن STRA13 برای مقایسه دو به دو گروه‌های پژوهش

گروه	تمرین MIT	تمرین HIT	تمرین HIIT	کنترل
تمرین MIT*	-	۰/۸۷۷	۱/۰۰۰	۰/۰۰۲
تمرین HIT*	-	-	۰/۸۴۳	۰/۰۰۰۱
تمرین HIIT*	-	-	-	۰/۰۰۳

* تفاوت معناداری با گروه کنترل در سطح $p \leq 0.05$

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در بیان ژن FoxO1 در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه تمرین HIT وجود دارد، ولی این تفاوت بین سایر گروه معنادار نبود. به عبارتی دیگر بیان ژن FoxO1 زیر پوستی در پاسخ به مداخله تمرین هوازی شدید کاهش معناداری یافت، با این وجود در دیگر گروه‌های تجربی اگر چه کاهش بیان ژن مشاهده شد، ولی این کاهش معنادار نبود.

همسو با این نتایج، رضایی و همکاران در پژوهشی با هدف بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن FoxO1 در موش‌های صحرایی دیابتی گزارش کردند که تمرین تناوبی شدید باعث کاهش معنادار بیان ژن FoxO1 می‌شود [۳۰]. نتایج مطالعه سهیلی و همکاران هم نشان داد که دوره تمرینات هوازی ۶ هفته‌ای، سبب کاهش بیان ژن FoxO1 در موش‌های صحرایی می‌گردد [۳۱]. اکبری و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند [۳۲]. در مطالعه‌ای دیگر هم کاهش معنادار بیان ژن FoxO1 بعد از اجرای تمرینات استقامتی طولانی مدت مشاهده شد [۳۳].

علاوه بر این، لی^۱ و همکاران با بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر فعالیت AKT-eNOS و بیان Ref-1 توسط فعالیت FoxO1 در موش‌ها به این نتیجه رسیدند که فسفریلاسیون FoxO1 در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل به‌طور چشم‌گیری کاهش یافت [۳۴]. مارف^۲ و همکاران هم پس از یک وهله فعالیت بدنی طولانی مدت تا رسیدن به درماندگی در بافت عضله قلبی و اسکلتی موش‌ها، کاهش رونویسی FoxO1 را گزارش کردند [۳۵]. با این وجود، اسلاپک و همکاران افزایش معنادار پروتئین و بیان ژن FoxO1 را متعاقب با یک جلسه تمرین استقامتی در عضله اسکلتی موش‌ها

گزارش کردند [۲۰]. در همین راستا، آزاد و همکاران عنوان کردند که هر دو تمرین کوتاه و طولانی مدت دویدن روی تردمیل با شیب منفی به تغییر معنادار FoxO1 در عضله منجر می‌شود، با این تفاوت که تمرین کوتاه مدت بیان ژن FoxO1 را افزایش و تمرینات طولانی بیان این ژن را کاهش می‌دهند [۳۶]. این مطالعات نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی به‌ویژه تمرینات استقامتی طولانی مدت بر کاهش بیان ژن FoxO1 موثر هستند.

FoxO1 یک تنظیم‌کننده مرکزی متابولیسم در چندین نوع سلول از جمله سلول‌های چربی است. اگرچه این ژن در سلول‌های چربی به وفور یافت می‌شود، ولی عملکردهای بیولوژیکی آن در این سلول‌ها تا حد زیادی ناشناخته مانده است [۳۷]. با این حال، حذف FoxO1 در سلول‌های چربی 3T3-L1 (معمولاً به‌عنوان یک سیستم مدل تمایز چربی برای بررسی مکانیسم‌های مولکولی تنظیم چربی استفاده می‌شود) باعث کاهش بیان ATGL^۳ و کاهش لیپولیز پایه و ایزوپروترونول می‌شود [۳۸]. برخی از تحقیقات نیز نشان می‌دهد که فعالیت FoxO1 از طریق ممانعت سلول‌ها از افزایش کلون‌سازی ژن 3T3-F422A از تمایز سلول پیش‌ساز چربی جلوگیری می‌کند [۳۹].

به‌نظر می‌رسد، مکانیسم‌های مختلفی در تنظیم فعالیت FoxO1 نقش دارد، که بر تمایز سلول‌های چربی تأثیر گذار هستند. به‌علاوه، FoxO1 می‌تواند لیپوژنز را از طریق PPAR γ و چرخه سلولی چربی‌ها از طریق p21 و p27 (پروتئین‌های مسئول کنترل چرخه سلولی) تنظیم کند [۱۰]. هم‌چنین در سلول‌های چربی 3T3-L1، انسولین شاتلینگ هسته سیتوپلاسمی FoxO1 را کنترل می‌کند و فعل و انفعالات آن را با پروموتورهای ATGL درون‌زا تنظیم می‌کند. حذف FoxO1 در سلول‌های چربی 3T3-L1 باعث کاهش بیان ATGL و کاهش لیپولیز پایه و ایزوپروترونول

³ Adipose Triglyceride Lipase

¹ Li

² Marfe

در این زمینه، زو^۳ و همکاران نشان دادند که FoxO1 نمی‌تواند سلول‌های چربی را که به طور معکوس با عملکرد آن مرتبط هستند، فسفریله کند. از این رو، یک توالی پیش و پس‌رونده بر اساس زمان افزایش فعالیت FoxO1 و تأثیر بازدارنده‌ها در مسیر تمایز سلول‌های چربی ایجاد می‌شود که می‌تواند در برابر رویدادهای رونویسی بیشتر مقاومت کند. فعالیت ورزشی طولانی‌مدت به‌عنوان عامل دارای عملکرد همسو با FoxO1، با تبدیل چربی‌های سفید به چربی قهوه‌ای و تنظیم منفی FoxO1 منجر به کاهش چربی‌های زیر جلدی خواهد شد [۴۲].

علاوه بر این نتایج این مطالعه نشان داد که در بیان ژن STRA13 در بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی (HIT، MIT و HIIT) در جهت کاهش بیان ژن وجود دارد، ولی این تفاوت بین گروه‌های تجربی با یکدیگر معنادار نبود.

تا آن‌جا که نویسندگان مقاله حاضر می‌دانند، این اولین مطالعه‌ای است که تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان ژن STRA13 را بررسی کرده است. بنابراین در مورد یافته‌های حاصل نمی‌توان استدلال روشنی ارائه نمود. اما مطالعات نشان داده‌اند، بیان STRA13 در بسیاری از پاسخ‌های بیولوژیکی از جمله توقف چرخه سلولی، تمایز و آپوپتوز نقش دارد [۴۳]. STRA13 از خانواده bHLH یکی از مهارکنندهای فاکتورهای رونویسی از جمله FoxO1 می‌باشد و با فعال‌سازی آن چربی‌زایی با واسطه هیپوکسی^۴ (کم‌اکسیژنی) مهار می‌شود [۱۲]. STRA13 می‌تواند از طریق HIF-1 α ^۵، که قادر به جلوگیری از تمایز سلول‌های چربی است، تنظیم شود. در واقع، ممکن است که STRA13 به‌عنوان یک عامل HIF واسطه برای اثر هیپوکسی بر تمایز عمل کند، زیرا فشار اکسیژنی تمایز سیتوتروفوبلاست^۶،

می‌شود [۴۰]. بنابراین، FoxO1 با کنترل بیان ATGL ممکن است نقش مهمی در تنظیم لیپولیز در سلول‌های چربی داشته باشد [۱۱]. همه این سازگاری‌ها زمانی اتفاق می‌افتد که مکانیزم بیان FoxO1 تنظیم شود. احتمالاً اجرای تمرینات ورزشی با کاهش بیان FoxO1 این مکانیسم را تنظیم و تسهیل می‌کنند.

عوامل رونویسی FoxO1 حین تمرین ورزشی به‌طور موقت تنظیم می‌شوند که با تغییرات در بیان پروتئین قشری آنژیواستاتیک ترومبوزپوندین (THBS1)^۱ همسو می‌باشند. براساس شواهد، حذف FoxO1 اندوتلیال، افزایش در mRNA THBS1 ناشی از فعالیت بدنی را از بین برده و موجب تسریع پاسخ آنژیوژنیک به فعالیت ورزشی می‌شوند. بر این اساس، پروتئین‌های FoxO تنظیم‌کنندگان فیزیولوژیکی THBS1 در عضله اسکلتی هستند و از همه مهم‌تر تنظیم منفی پروتئین‌های FoxO اندوتلیال در پاسخ به فعالیت بدنی، ظرفیت شبکه مویرگی برای وقوع آنژیوژنز را بالا می‌برند [۲۰].

از طرفی، برخی مطالعات آشکار نموده‌اند کاهش بیان ژن FoxO1 دارای نقش مهمی در سازگاری عضله اسکلتی به تمرین استقامتی است. به‌طوری که مهار فعالیت FoxO1 به افزایش ظرفیت اکسایشی عضلات در پاسخ به تمرینات استقامتی منجر می‌شود [۳۳].

این یافته‌ها نشان می‌دهد، تمرینات طولانی مدت به کاهش نقش عملکردی پروتئین FoxO1 منجر می‌شود. کاهش هرچه بیشتر FoxO1 باعث افزایش هزینه ATP^۲ در بافت چربی قهوه‌ای می‌گردد، به این معنا که مهار FoxO1 در سلول‌های چربی سفید و یا قهوه‌ای می‌تواند یک عامل مهم برای حفظ هموستاز بدن باشد [۴۱].

^۱ Thrombospondin 1

^۲ Adenosine Triphosphate

^۳ Zou

^۴ Hypoxia

^۵ Hypoxia-Inducible Factor-1 α

^۶ Cytotrophoblast

از مهم‌ترین محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به نوع آزمودنی‌های و محدوده تمرینات ورزشی و همچنین عدم بررسی تغییرات متابولیکی در طی دوره تمرین و پس از آن، عدم امکان اندازه‌گیری میزان استرس و اضطراب وارد شده به موش‌ها اشاره نمود.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که به دنبال اجرای تمرینات هوازی با شدت‌های متفاوت، بیان ژن‌های FoxO1 و STRA13 کاهش معناداری می‌یابد. این سازگاری‌ها تنظیم متابولیسم چربی زیر پوستی را در پی داشته و از انباشت چربی زیرجلدی جلوگیری می‌کند. با این وجود، اطلاعات محدودی در این زمینه وجود دارد و جهت شناخت بیشتر ارتباط این دو ژن با تمرینات ورزشی تحقیقات بیشتر پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش یاری نمودند، قدردانی و تشکر می‌گردد.

مگاکاریوسیت‌ها^۱، استئوکندروسیت‌ها^۲ و سلول‌های چربی و نورون‌ها را تغییر می‌دهد [۴۴]. همچنین هیپوکسی از طریق مکانیسم سرکوب بیان PPAR γ (ppar γ) به‌طور خاص تنظیم‌کننده اصلی چربی‌زایی در نظر گرفته می‌شود. بدون آن، سلول‌های پیش‌ساز قادر به بیان هیچ جنبه شناخته شده‌ای از فنوتیپ چربی نیستند) توسط STRA13، تمایز آدیپوسیت^۳ را مهار می‌کند. همچنین این ژن توسط رتینوئیک اسید (RA)^۴ القا می‌شود [۴۵] و در نتیجه، ممکن است عامل واسطه‌ای باشد که توسط آن RA باعث مهار چربی‌زایی شود [۴۶].

به نظر می‌رسد، تمرینات ورزشی هوازی از طریق مکانیسم کاهش بیان ژن STRA13 می‌توانند، رونویسی سلول‌های چربی را کاهش داده و در نهایت باعث کاهش چربی زیر پوستی شوند.

¹ Megakaryocytes

² Osteochondrocytes

³ Adipocytes

⁴ Retinoic Acid

References

- 1- Gunturiz Albarracin M.L, Forero Torres A.Y. Adiponectin and leptin adipocytokines in metabolic syndrome: what is its importance? *Dubai Diabetes Endocrinol J.* 2020 Dec; 26(3):93-102.
- 2- Garner RT, Weiss JA, Nie Y, Sullivan BP, Kargl CK, Drohan CJ, et al. Effects of obesity and acute resistance exercise on skeletal muscle angiogenic communication pathways. *Exp Physiol.* 2022 Aug; 107(8):906-918.
- 3- Carmen Zaha D, Vesa C, Uivarosan D, Bratu O, Fratila O, Mirela Tit D, et al. Influence of inflammation and adipocyte biochemical markers on the components of metabolic syndrome. *Exp Ther Med.* 2020 Jul; 20(1):121-128.
- 4- Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2016 Apr; 7:30.
- 5- Yan K, Da TT, Bian ZH, He Y, Liu MC, Liu QZ, et al. Multi-omics analysis identifies FoxO1 as a regulator of macrophage function through metabolic reprogramming. *Cell Death Dis.* 2020 Sep; 11(9):800.
- 6- Cheng Z. FoxO transcription factors in mitochondrial homeostasis. *Biochem J.* 2022 Feb; 479(4):525-536.
- 7- Homan EP, Brandão BB, Softic S, El Ouamari A, O'Neill BT, Kulkarni RN, et al. Differential roles of FOXO transcription factors on insulin action in brown and white adipose tissue. *J Clin Invest.* 2021 Oct; 131(19): e143328.

- 8- Yang S, Pang L, Dai W, Wu S, Ren T, Duan Y, et al. Role of fork head box of proteins in hepatocellular carcinoma biology and progression (Review). *Front Oncol*. 2021 May; 11:667730.
- 9- Ioannilli L, Ciccarone F, Ciriolo MR. Adipose tissue and FoxO1: bridging physiology and mechanisms. *Cells*. 2020 Mar; 9(4):849.
- 10- Chen J, Lu Y, Tian M, Huang Q. Molecular mechanisms of FOXO1 in adipocyte differentiation. *J Mol Endocrinol*. 2019 Apr; 62(3):R239-R253.
- 11- Behl T, Kaur I, Sehgal A, Singh S, Zengin G, Negrut N, et al. Exploring the genetic conception of obesity via the dual role of FoxO. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar; 22(6):3179.
- 12- Zhao Q, Fan Z, Qiu L, Che Q, Wang T, Li Y, et al. MdbHLH130, an apple bHLH transcription factor, confers water stress resistance by regulating stomatal closure and ROS homeostasis in transgenic Tobacco. *Front Plant Sci*. 2020 Oct; 11:543696.
- 13- Sumarwoto T, Suroto H, Mahyudin F, Utomo DN, Romaniyanto, Tinduh D, et al. Role of adipose mesenchymal stem cells and secretome in peripheral nerve regeneration. *Ann Med Surg*. 2021 Jul; 67:102482.
- 14- Zorena K, Jachimowicz-Duda O, Ślęzak D, Robakowska M, Mrugacz M. Adipokines and obesity. potential link to metabolic disorders and chronic complications. *Int J Mol Sci*. 2020 May; 21(10):3570.
- 15- Li Y, Yun K, Mu R. A review on the biology and properties of adipose tissue macrophages involved in adipose tissue physiological and pathophysiological processes. *Lipids Health Dis*. 2020 Jul; 19(1):164.
- 16- Gálvez I, Navarro MC, Martín-Cordero L, Otero E, Hinchado MD, Ortega E. The influence of obesity and weight loss on the bioregulation of innate/inflammatory responses: Macrophages and Immunometabolism. *Nutrients*. 2022 Jan; 14(3):612.
- 17- Prashanth G, Vastrad B, Tengli A, Vastrad C, Kotturshetti I. Investigation of candidate genes and mechanisms underlying obesity associated type 2 diabetes mellitus using bioinformatics analysis and screening of small drug molecules. *BMC Endocr Disord*. 2021 Apr; 21(1):80.
- 18- Ringholm S, Grunnet Knudsen J, Leick L, Lundgaard A, Munk Nielsen M, Pilegaard H. PGC-1 α is required for exercise- and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PLoS One*. 2013 May; 8(5):e64123.
- 19- Thyfault JP, Bergouignan A. Exercise and metabolic health: beyond skeletal muscle. *Diabetologia*. 2020 Aug; 63(8):1464-1474.
- 20- Slopack D, Roudier E, Liu ST, Nwadozi E, Birot O, Haas TL. Forkhead BoxO transcription factors restrain exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2014 Sep; 592(18): 4069-4082.
- 21- Retterstøl K, Svendsen M, Narverud I, Holven KB. Effect of low carbohydrate high fat diet on LDL cholesterol and gene expression in normal-weight, young adults: A randomized controlled study. *Atherosclerosis*. 2018 Dec; 279: 52–61.
- 22- Froyen E. The effects of fat consumption on low-density lipoprotein particle size in healthy individuals: a narrative review. *Lipids Health Dis*. 2021 Aug; 20(1): 86.
- 23- Hargreaves M, Spriet LL. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nat Metab*. 2020 Sep; 2(9): 817–828.
- 24- Alghannam AF, Ghaith MM, Alhussain MH. Regulation of energy substrate metabolism in endurance exercise. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 May; 18(9):4963.
- 25- Juhas I, Skof B, Popović D, Matić M, Janković N. Effects of an eight-week exercise program on parameters of the lipid profile of female students. *J Med Biochem*. 2020 Jan; 39(1):40-45.
- 26- Voet NB, van der Kooi EL, Riphagen II, Lindeman E, van Engelen BG, Geurts AC. Strength training and aerobic exercise training for muscle disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jul; (7):CD003907.
- 27- Lee S, Shin YA, Cho J, Park DH, Kim C. Trabecular bone microarchitecture improvement is associated with skeletal nerve increase following aerobic exercise training in middle-aged Mice. *Front Physiol*. 2022 Feb; 12:800301.
- 28- Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007 Dec; 14(6):753-760.

- 29- Eizadi M, Soory R, Ravasi AA, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 relative expression in pancreas tissue with changes in insulin by high intensity interval training (HIIT) in type 2 diabetes rats. *J Shahid Sadoughi Uni Med Sci*. 2015 winter; 24(12): 981-993. [Full text in Persian]
- 30- Rezaei S, Khaledi N. The effect of high intensity interval training on serum TNF- α levels and FOXO1 gene expression of hippocampus in male diabetic Wistar Rats. *J Sabzevar Univ Med Sci*, 2021 Summer; 28(5): 688-699. [Full text in Persian]
- 31- Sohaili S, Eizadi M, Tarmast D. Effect of resistance training on FOXO1 gene expression in subcutaneous fatty tissue in diabetic wistar rats. *J Gorgan Univ Med Sci*. 2020 Winter; 21(4): 53-59. [Full text in Persian]
- 32- Akbari E, Farajtabar Behrestaq S, Askari B. The effect of 6 week resistance training program on Foxo1 expression in liver cells and glucose and insulin levels in type 2 diabetic rats. *J Ardabil Univ Med Sci*. 2020 fall; 20 (3) :328-339 [Full text in Persian]
- 33- Sanchez AM. FoxO transcription factors and endurance training: a role for FoxO1 and FoxO3 in exercise-induced angiogenesis. *J Physiol*. 2015 Jan; 593(2): 363-364.
- 34- Li M, Li W, Yoon JH, Jeon BH, Lee SK. Resistance exercise training increase activation of AKT-eNOS and Ref-1 expression by FOXO-1 activation in aorta of F344 rats. *J Exerc Nutrition Biochem*. 2015 Sep; 19(3):165-171.
- 35- Marfe G, Manzi V, Tafani M, Pucci B, Gambacurta A, Russo MA, et al. The modulation of sirtuins and apoptotic proteins in rats after exhaustive exercise. *Open J Mol Integr Physiol*. 2012 Aug; 2(3):65-74.
- 36- Azad M, Khaledi N, Hedayati M. Effect of acute and chronic eccentric exercise on FOXO1 mRNA expression as fiber type transition factor in rat skeletal muscles. *Gene*. 2016 Jun; 584(2):180-4.
- 37- Takeuchi Y, Yahagi N, Aita Y, Mehrazad-Saber Z, Ho MH, Huyan Y, et al. FoxO-KLF15 pathway switches the flow of macronutrients under the control of insulin. *iScience*. 2021 Dec; 24(12):103446.
- 38- Oppong AK, Diallo K, Robillard Frayne I, Des Rosiers C, Lim GE. Reducing 14-3-3 ζ expression influences adipocyte maturity and impairs function. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2020 Jul; 319(1): E117-E132.
- 39- Bedada FB, Ntekim OE, Nwulia EO, Fungwe TV, Nadarajah SR, Obisesan TO. Exercise training-increased FBXO32 and FOXO1 in a gender-dependent manner in mild cognitively impaired African Americans: GEMS-1 Study. *Front Aging Neurosci*. 2021 Apr;13: 641758.
- 40- Accili D, Arden KC. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation. *Cell*. 2004 May; 117(4):421-6.
- 41- Kousteni S. FoxO1, the transcriptional chief of staff of energy metabolism. *Bone*. 2012 Feb; 50(2):437-43.
- 42- Zou P, Liu L, Zheng L, Liu L, Stoneman RE, Cho A, et al. Targeting FoxO1 with AS1842856 suppresses adipogenesis. *Cell Cycle*. 2014 Dec; 13(23):3759-67.
- 43- Thin TH, Li L, Chung TK, Sun H, Taneja R. Stra13 is induced by genotoxic stress and regulates ionizing-radiation-induced apoptosis. *EMBO Rep*. 2007 Apr; 8(4):401-7.
- 44- Yun Z, Maecker HL, Johnson RS, Giaccia AJ. Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stra13: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Dev Cell*. 2002 Mar; 2(3):331-41.
- 45- Boudjelal M, Taneja R, Matsubara S, Bouillet P, Dolle P, Chambon P. Overexpression of Stra13, a novel retinoic acid-inducible gene of the basic helix-loop-helix family, inhibits mesodermal and promotes neuronal differentiation of P19 cells. *Genes Dev*. 1997 Aug; 11(16):2052-65.
- 46- Schwarz EJ, Reginato MJ, Shao D, Krakow SL, Lazar MA. Retinoic acid blocks adipogenesis by inhibiting C/EBPbeta-mediated transcription. *Mol Cell Biol*. 1997 Mar; 17(3):1552-1561.