

Effect of Exercise on Hypothalamic C3aR1, Brown Adipose Tissue UCP1, and Structural Remodeling in Type 2 Diabetic RatsPourya Foroutan^{*id}, Zia Fallah Mohammadi^{id}, Khadijeh Nasiri^{id}

Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Abstract

Background and Purpose: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is characterized by chronic inflammation and dysregulated energy homeostasis. Complement C3a receptor 1 (C3aR1), a component of the complement system, plays a pivotal role in hypothalamic inflammation and the disruption of appetite regulation and energy metabolism. Concurrently, uncoupling protein 1 (UCP1) in brown adipose tissue (BAT) is a key mediator of adaptive thermogenesis and energy expenditure. Aerobic exercise training may exert beneficial effects on metabolic control in diabetes through the modulation of inflammatory pathways and the enhancement of BAT function.

Materials and Methods: In this experimental study, 36 male Wistar rats (age: 8 weeks; initial body weight: 180–220 g) were randomly allocated into four groups (n=9 per group): control, diabetic, exercise, and diabetic + exercise. T2DM was induced using a high-fat diet combined with a low-dose streptozotocin injection. The aerobic exercise protocol consisted of treadmill running at progressive speeds of 18–33 m/min, 5 sessions per week, with session duration incrementally increasing from 20 min in the first week to 60 min in the final week, over a 12-week intervention period. Gene expression and protein levels of C3aR1 and UCP1 in hypothalamic tissue and BAT were quantified using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and western blotting, respectively. Histomorphological changes in BAT, including adipocyte area, adipocyte number, and mitochondrial density and area, were evaluated by stereological analysis. Serum metabolic parameters were also assessed. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the least significant difference (LSD) post hoc test, with statistical significance set at $p < 0.05$.

Results: Diabetes significantly downregulated hypothalamic *c3ar1* gene expression while concurrently upregulating its protein levels. Aerobic exercise training reversed this pathological pattern, as evidenced by increased *c3ar1* mRNA expression and decreased protein levels. UCP1 protein levels in BAT were significantly elevated in the diabetic + exercise group, although hypothalamic *ucp1* gene expression did not differ significantly across groups. Stereological analysis revealed that aerobic exercise significantly reduced brown adipocyte size, increased adipocyte number, and enhanced both mitochondrial area and count in the exercise-trained groups. Furthermore, the diabetic + exercise group exhibited a significant reduction in food intake alongside improved metabolic indices, including decreased fasting blood glucose and a favorable lipid profile.

Conclusion: Aerobic exercise training confers metabolic improvements, modulates complement-dependent inflammatory signaling in the hypothalamus, and promotes structural remodeling of BAT. Stereological analysis of BAT demonstrated increased cell number, reduced cell area, and enhanced mitochondrial number and area in the exercise-trained groups. These findings suggest that the hypothalamus–BAT axis plays a critical role in mediating the beneficial effects of exercise on T2DM.

Keywords: Brown Adipose Tissue, C3ar1, Diabetes, Exercise, Hypothalamus, Ucp1

How to cite this article: Foroutan, P., Fallah Mohammadi, Z., Nasiri, KH. Effect of Exercise on Hypothalamic C3aR1, Brown Adipose Tissue UCP1, and Structural Remodeling in Type 2 Diabetic Rats. J Sport Exerc Physiol. 2026;19(3):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: Pourya.foroutan.b@gmail.com

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2026.242896.1420>

Received: 14/12/2025

Revised: 26/06/2026

Accepted: 12/07/2026

Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحه‌های ۹-۹

مقاله پژوهشی

اثر تمرین هوازی بر C3aR1 هیپوتالاموس، UCP1 و بازسازی ساختاری بافت چربی قهوه‌ای در رت‌های دیابتی نوع ۲

پوریا فروتن*^{id}، ضیاء فلاح محمدی^{id}، خدیجه نصیری^{id}

دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع ۲ با التهاب و اختلال در تنظیم انرژی همراه است. گیرنده C3aR1 به‌عنوان یکی از اجزای سیستم کمپلمان، نقش مهمی در التهاب هیپوتالاموسی و اختلال در تنظیم اشتها و متابولیسم انرژی دارد. از سوی دیگر، پروتئین جداکننده ۱ (UCP1) در بافت چربی قهوه‌ای نقش کلیدی در ترموژنز و مصرف انرژی ایفا می‌کند. تمرین هوازی می‌تواند از طریق تعدیل مسیرهای التهابی و بهبود عملکرد بافت چربی قهوه‌ای، اثرات مفیدی بر کنترل متابولیسمی دیابت داشته باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار (سن: ۸ هفته، وزن اولیه: ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم) به‌طور تصادفی به چهار گروه ۹تایی شامل کنترل، دیابت، تمرین و دیابت+تمرین تقسیم شدند. دیابت نوع ۲ با استفاده از رژیم غذایی پرچرب و تزریق استرپتوزوتوسین القا شد. پروتکل تمرین هوازی شامل دویدن روی تردمیل با سرعت پیش‌رونده ۱۸ تا ۳۳ متر بر دقیقه، ۵ جلسه در هفته، هر جلسه از ۲۰ دقیقه در هفته اول تا ۶۰ دقیقه در هفته آخر، به مدت ۱۲ هفته انجام گرفت. بیان ژن و سطح پروتئین *c3ar1* و *ucp1* در بافت هیپوتالاموس و بافت چربی قهوه‌ای با استفاده از Real-time PCR و وسترن بلات اندازه‌گیری شد. همچنین تغییرات بافت‌شناسی بافت چربی قهوه‌ای شامل مساحت و تعداد سلول‌های چربی و میتوکندری‌ها با تحلیل استریولوژیک ارزیابی گردید. شاخص‌های متابولیسمی سرم نیز اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی LSD در سطح معناداری $p < 0.05$ تحلیل شدند.

نتایج: دیابت موجب کاهش معنادار بیان ژن *c3ar1* و افزایش سطح پروتئین آن در هیپوتالاموس شد. تمرین هوازی این الگوی پاتولوژیک را معکوس کرد؛ به‌طوری‌که بیان ژن *c3ar1* افزایش و سطح پروتئین آن کاهش یافت. سطح پروتئین UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای در گروه دیابت + تمرین به‌طور معناداری افزایش یافت، هرچند بیان ژن آن در هیپوتالاموس تغییر معناداری نداشت. تحلیل بافت‌شناسی نشان داد تمرین هوازی موجب کاهش معنادار اندازه سلول‌های چربی قهوه‌ای، افزایش تعداد آن‌ها

و افزایش مساحت و تعداد میتوکندری‌ها در گروه‌های تمرینی شد. همچنین کاهش معنادار مصرف غذا و بهبود شاخص‌های متابولیکی شامل کاهش سطح گلوکز و بهبود پروفایل لیپیدی در گروه دیابت + تمرین مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: تمرینات ورزشی موجب بهبود متابولیکی، تعدیل مسیر سیگنالینگ التهابی وابسته به کمپلمان در هیپوتالاموس و بازسازی ساختاری بافت چربی قهوه‌ای می‌شود. تحلیل استریولوژیک بافت چربی قهوه‌ای نشان‌دهنده افزایش تعداد سلول‌ها، کاهش مساحت سلولی و افزایش تعداد و مساحت میتوکندری‌ها در گروه تمرینی بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که محور هیپوتالاموس-بافت چربی قهوه‌ای نقش کلیدی در اثرات مفید تمرین بر دیابت دارد.

واژه‌های کلیدی: UCP, C3aR1، چربی قهوه‌ای، تمرین هوازی، هیپوتالاموس، دیابت

نحوه استناد به این مقاله: فروتن پ، فلاح محمدی ض، نصیری خ. اثر تمرین هوازی بر C3aR1 هیپوتالاموس، UCP1 و بازسازی ساختاری بافت چربی قهوه‌ای در رت‌های دیابتی نوع ۲. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۳): ۹-۴.

* رایانامه نویسنده مسئول: Pourya.foroutan.b@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۲۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۳

مقدمه

دیابت نوع ۲ یکی از مهم‌ترین چالش‌های بهداشتی قرن ۲۱ است که به‌طور گسترده‌ای در سرتاسر جهان شیوع یافته است [۱]. دیابت بیماری متابولیکی است که با افزایش سطح گلوکز خون، کاهش ترشح انسولین از سلول‌های β پانکراس و افزایش مقاومت به انسولین در بافت‌های محیطی مشخص می‌شود [۲]. بر اساس گزارش فدراسیون بین‌المللی دیابت، هم‌اکنون بیش از ۵۳۷ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا هستند و شمار مبتلایان همچنان در حال افزایش است. برآورد می‌شود که تا سال ۲۰۴۰، تعداد افراد مبتلا به دیابت به بیش از ۶۴۰ میلیون نفر برسد [۳]. عوامل متعددی از جمله سبک زندگی کم‌تحرک، تغذیه ناسالم و استرس در بروز و پیشرفت این بیماری دخیل هستند [۴]. در سال‌های اخیر، توجه پژوهشگران از تأثیرات دیابت بر بافت‌های محیطی مانند عضله، چربی و کبد به سمت نقش سیستم عصبی مرکزی بر پاتوفیزیولوژی دیابت جلب شده است. یکی از مناطق کلیدی مغز که به‌طور مستقیم در تنظیم هومئوستاز گلوکز، اشتها، تعادل انرژی و ترشح هورمون‌های متابولیکی نقش دارد، هیپوتالاموس است [۵]. هیپوتالاموس از طریق مسیرهای نورونی، تعادل انرژی و اشتها را تنظیم می‌کند. در دیابت نوع ۲، عملکرد هیپوتالاموس مختل می‌شود؛ به‌گونه‌ای که پاسخ آن به هورمون‌های محیطی کاهش یافته و التهاب عصبی در آن ناحیه افزایش می‌یابد [۶].

یکی از سیستم‌هایی که در سال‌های اخیر به‌عنوان عامل میانجی بین متابولیسم، التهاب و سیستم عصبی مرکزی مورد توجه قرار گرفته، سیستم کمپلمان است. سیستم کمپلمان که بخش مهمی از ایمنی ذاتی را تشکیل می‌دهد، شامل مجموعه‌ای از پروتئین‌های پلاسماست که در پاسخ به عوامل بیگانه فعال می‌شوند [۷]. با وجود اینکه سیستم کمپلمان در پاسخ‌های

1 Type 2 diabetes

2 International Diabetes Federation

3 Hypothalamus

4 Complement system

ایمنی نقش دارد، به نظر میرسد اجزای این سیستم در عملکرد نورونی، تنظیم التهاب عصبی و کنترل متابولیسم انرژی نیز مشارکت دارند [۸]. گیرنده جزء C3a کمپلمان $C3aR1$ یکی از اجزای کلیدی سیستم کمپلمان است که سیگنال‌های سلولی مختلفی را درون سلول‌های هدف فعال می‌کند [۹]. $C3aR1$ در سلول‌های ایمنی و نورون‌های نواحی مختلف مغز، از جمله هیپوتالاموس، بیان می‌شود [۱۰]. در شرایط پاتولوژیک مانند دیابت، فعال‌سازی $C3aR1$ در هیپوتالاموس موجب افزایش التهاب عصبی، اختلال در عملکرد نورون‌ها و تغییر در بیان نوروپپتیدهای تنظیم‌کننده اشتها و متابولیسم می‌شود [۱۰]. بنابراین به نظر می‌رسد مهار $C3aR1$ می‌تواند منجر به کاهش گلوکز خون، بهبود حساسیت انسولینی و مهار روند التهابی در مغز شود [۱۱].

در کنار نقش هیپوتالاموس در تنظیم متابولیسم، بافت چربی قهوه‌ای به‌عنوان یکی از بافت‌های کلیدی در مصرف انرژی و تنظیم دمای بدن شناخته شده است [۱۲]. برخلاف بافت چربی سفید که انرژی را ذخیره می‌کند، بافت چربی قهوه‌ای انرژی را به‌صورت گرما مصرف می‌کند و نقش مهمی در هومئوستاز متابولیکی ایفا می‌کند [۱۳]. در دیابت نوع ۲، فعالیت و حجم بافت چربی قهوه‌ای کاهش می‌یابد که این امر با کاهش مصرف انرژی همراه است [۱۴]. تحریک فعالیت بافت چربی قهوه‌ای می‌تواند به بهبود حساسیت انسولینی، کاهش وزن و کنترل گلوکز خون کمک کند [۱۵]. پروتئین جداکننده $UCP1$ مهم‌ترین شاخص عملکرد ترموژنیک بافت چربی قهوه‌ای است. $UCP1$ در غشای داخلی میتوکندری‌های سلول‌های چربی قهوه‌ای قرار دارد و با جداسازی زنجیره تنفسی از تولید ATP، انرژی را به‌صورت گرما آزاد می‌کند [۱۲]. معمولاً بیان $ucp1$ تحت تأثیر بیماری‌های التهابی قرار می‌گیرد. در دیابت، بیان $ucp1$ کاهش می‌یابد که منجر به اختلال در مصرف انرژی و تشدید مقاومت انسولینی می‌شود. افزایش بیان $ucp1$ از طریق مداخلات غیردارویی مانند تمرین ورزشی می‌تواند راهکاری مؤثر در بهبود متابولیسم انرژی باشد [۱۶، ۱۷]. هیپوتالاموس و بافت چربی قهوه‌ای با یکدیگر در ارتباط هستند و هیپوتالاموس با دریافت سیگنال‌های هورمونی و متابولیکی، بر ترموژنز و بیان $ucp1$ در بافت چربی قهوه‌ای تأثیر می‌گذارد [۱۸، ۱۹]. به نظر می‌آید که اختلال در این محور در دیابت نوع ۲ موجب کاهش فعالیت بافت چربی قهوه‌ای و افزایش اختلالات متابولیکی می‌شود. بنابراین، مداخلاتی که هم‌زمان بر هیپوتالاموس و بافت چربی قهوه‌ای تأثیر بگذارند، می‌توانند اثرات سینرژیک در بهبود دیابت داشته باشند [۲۰، ۲۱].

از نظر فیزیولوژیکی، هیپوتالاموس و بافت چربی قهوه‌ای دو جزء مهم و مرتبط در تنظیم تعادل انرژی، اشتها و متابولیسم گلوکز هستند [۱۸]. هیپوتالاموس از طریق دریافت سیگنال‌های محیطی مانند انسولین، لپتین، گلوکز و اسیدهای چرب و همچنین از طریق تنظیم برون‌داد سمپاتیکی، می‌تواند فعالیت ترموژنیک بافت چربی قهوه‌ای و بیان $ucp1$ را تحت تأثیر قرار دهد [۲۲]. در شرایط دیابت نوع ۲، التهاب هیپوتالاموسی و اختلال در سیگنالینگ نورواندوکرین می‌تواند موجب برهم خوردن کنترل اشتها، کاهش حساسیت به سیگنال‌های متابولیکی و تضعیف کنترل عصبی بر مصرف انرژی شود [۲۳]. بنابراین، بررسی هم‌زمان یک شاخص التهابی-ایمنی در هیپوتالاموس مانند $C3aR1$ و یک شاخص ترموژنیک در بافت چربی قهوه‌ای مانند $UCP1$ می‌تواند درک دقیق‌تری از ارتباط بین التهاب مرکزی و اختلال عملکرد متابولیکی محیطی در دیابت فراهم کند [۲۴].

از سوی دیگر، نقش تمرین ورزشی به‌ویژه تمرین هوازی در بهبود عملکرد سیستم عصبی مرکزی و کاهش التهاب در سال‌های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است [۲۵، ۲۶]. تمرین هوازی موجب افزایش برداشت گلوکز مستقل از انسولین در عضلات، افزایش بیان پروتئین‌های مرتبط با بیوژنز میتوکندری و کاهش ترشح سایتوکاین‌های التهابی می‌شود [۲۷]. این تغییرات می‌توانند اثرات مثبتی بر کاهش التهاب عصبی و تنظیم مجدد پاسخ‌های هیپوتالاموسی داشته باشند [۲۸]. تمرین همچنین

1 Complement Component 3a Receptor 1

2 Brown Adipose Tissue

3 Uncoupling Protein 1

با افزایش جریان خون مغزی و تقویت نوروزنر، ساختار و عملکرد نواحی مختلف مغز از جمله هیپوتالاموس را بهبود می‌بخشد [۲۹]. علاوه بر این، تمرین هوازی موجب افزایش فعالیت بافت چربی قهوه‌ای، افزایش بیان *ucp1*، بهبود ساختار میتوکندریایی و کاهش اندازه سلول‌های چربی می‌شود که همگی به بهبود متابولیسم انرژی و کنترل گلوکز خون کمک می‌کنند. با وجود این، هنوز مشخص نیست که آیا اثرات مفید تمرین هوازی در دیابت نوع ۲ با تغییرات همزمان در C3aR1 هیپوتالاموسی و UCP1 بافت چربی قهوه‌ای همراه است یا این دو مسیر به صورت مستقل از یکدیگر عمل می‌کنند [۳۰]. این خلأ پژوهشی، ضرورت بررسی همزمان این متغیرها را در قالب محور هیپوتالاموس-بافت چربی قهوه‌ای توجیه می‌کند.

در این مطالعه، ارتباط احتمالی میان التهاب هیپوتالاموسی، عملکرد ترموژنیک بافت چربی قهوه‌ای و پیامدهای متابولیکی بررسی شد. C3aR1 به عنوان شاخص التهاب مرکزی و UCP1 به عنوان شاخص ترموژن بافت چربی قهوه‌ای در کنار شاخص‌هایی مانند گلوکز، انسولین، پروفایل لیپیدی، وزن بدن و ویژگی‌های ساختاری بافت چربی قهوه‌ای ارزیابی شدند. هدف، تعیین این بود که آیا تغییرات C3aR1 با تغییرات UCP1، ساختار آدیپوسیت‌ها و میتوکندری‌ها و شاخص‌های متابولیکی همسو است یا خیر. بنابراین، سؤال اصلی پژوهش این بود که آیا تمرین هوازی از طریق تعدیل C3aR1، افزایش UCP1 و بهبود ساختار بافت چربی قهوه‌ای می‌تواند وضعیت متابولیکی رت‌های دیابتی نوع ۲ را بهبود دهد.

روش پژوهش

این مطالعه از نوع تجربی با طراحی تصادفی است که با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن و سطح پروتئین گیرنده کمپلمان *c3ar1* در بافت هیپوتالاموس موش‌های نر دیابتی نژاد ویستار انجام شد. برای دستیابی به این هدف، از مدل حیوانی دیابت نوع ۲ القا شده با رژیم پرچرب و استریتوزوتوسین استفاده گردید. حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌های مختلف قرار گرفتند و پس از مداخله تمرینی، پارامترهای مولکولی و بافت‌شناسی بررسی شدند. کلیه مراحل انجام مطالعه مطابق با اصول اخلاقی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید کمیته اخلاق (کد اخلاق: IR.UMZ.REC.1403.049) در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه مازندران انجام شد.

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری

در این پژوهش از ۳۶ سر موش نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن متوسط 20 ± 22 گرم استفاده گردید [۳۱]. حیوانات از مرکز حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور (آمل، مازندران، ایران) تهیه شده و پس از انتقال به محل نگهداری، به مدت یک هفته در شرایط استاندارد جهت انطباق با محیط جدید قرار گرفتند. شرایط نگهداری دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. دسترسی به آب آشامیدنی و غذای پلت شده به صورت آزاد برای تمام حیوانات فراهم بود.

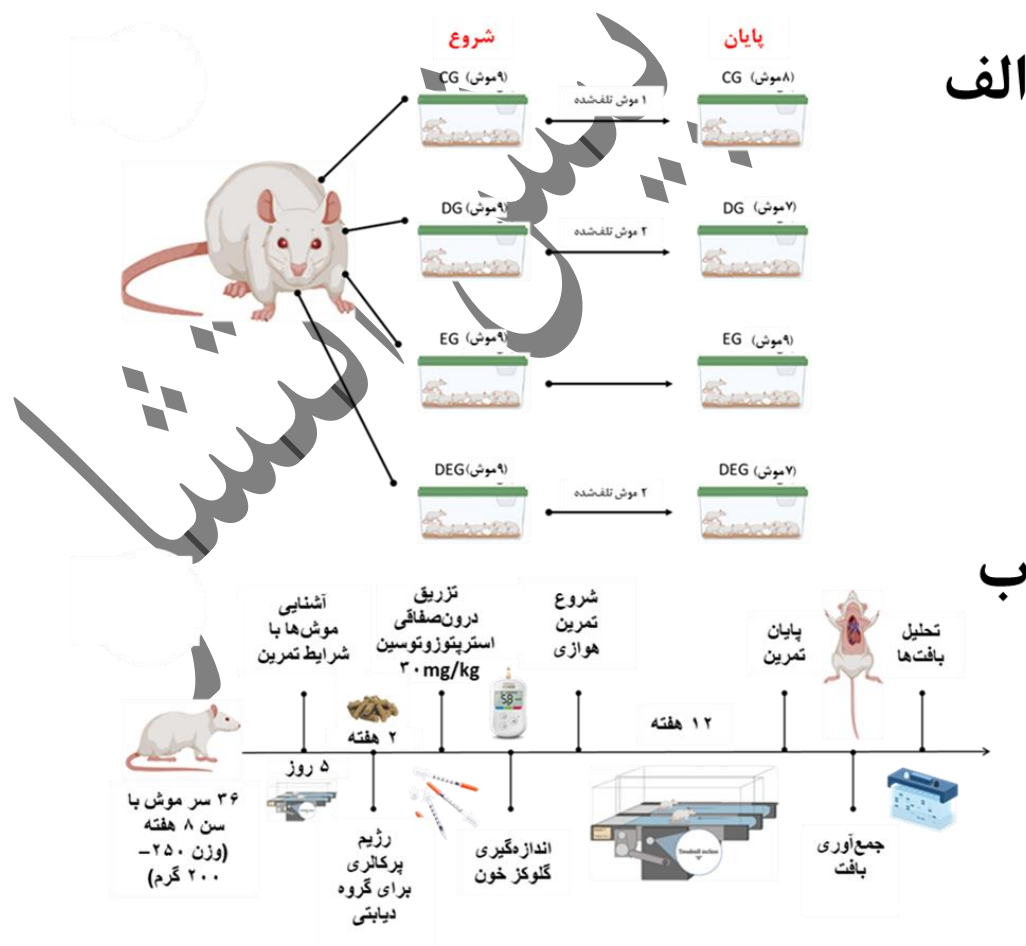
تقسیم‌بندی گروهی

پس از پایان دوره انطباق، موش‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه مساوی با تعداد برابر تقسیم شدند. گروه نخست، گروه کنترل (CG, n=۹) بود که شامل حیوانات سالم بدون دریافت هیچگونه مداخله تمرینی یا دارویی می‌شد. گروه دوم، گروه دیابت (DG, n=۹) که شامل حیوانات دیابتی بدون انجام تمرین هوازی بود. گروه سوم، گروه تمرین (EG, n=۹) که در آن

حیوانات سالم تحت تمرین هوازی قرار گرفتند. نهایتاً، گروه چهارم با عنوان گروه دیابت+تمرین (DEG, n=۹) شامل حیوانات دیابتی بود که مداخله تمرین هوازی را دریافت می کردند (شکل ۱-الف).

القاي، ديابت

برای القای دیابت نوع ۲، حیوانات ابتدا به مدت دو هفته با رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰٪ چربی، ۲۰٪ کربوهیدرات و ۲۰٪ پروتئین (مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی (کرج، البرز، ایران)) تغذیه شدند. سپس تزریق درون‌صفافی استریتوزوتوسین (STZ) با دوز ۳۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در محلول بافر سیترات (۰/۱ مولار، $\text{pH}=4/5$) انجام شد. پس از ۴۸ ساعت، سطح گلوکز خون از طریق نمونه‌گیری از ورید دمی و با دستگاه گلوکومتر Accu-Chek (Roche Diagnostics، مانهایم، آلمان) اندازه‌گیری شد. حیواناتی که سطح گلوکز خون ناشتای آن‌ها بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی‌لیتر بود، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۳۲]. در مواردی که حیوانات پس از تزریق اولیه، دیابتی نمی‌شدند (یعنی سطح گلوکز خون آن‌ها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی‌لیتر باقی می‌ماند)، دوز دوم STZ با همان دوز به آن‌ها تزریق می‌شد تا القای دیابت به‌طور مؤثر انجام گیرد. گروه‌های کنترل و تمرین به‌منظور کنترل اثرات ناشی از تزریق، همان حجم نرمال سالین را به‌جای STZ دریافت کردند. گروه کنترل و تمرین رژیم استاندارد (۶۶٪ کربوهیدرات، ۲۲٪ پروتئین، ۱۲٪ چربی، با ارزش انرژی ۳ کیلوکالری بر گرم (شرکت دام‌پزشکی البرز، کرج، ایران)) دریافت نمودند (شکل ۱-ب).



1 Streptozotocin

شکل ۱. فلوچارت طرح کلی مطالعه شامل گروه‌بندی حیوانات و جدول زمانی مداخله. (الف) نمایش شماتیک نحوه گروه‌بندی موش‌های ویستار در ابتدای مطالعه و تعداد آن‌ها در پایان مداخله. (ب) جدول زمانی مداخله شامل مراحل اصلی از جمله دوره آشنایی با شرایط تمرین، تزریق درون‌صفافی استریتوزوتوسین برای القای دیابت، آغاز تمرینات هوازی، اندازه‌گیری گلوکز خون، اجرای برنامه تمرینی به مدت ۱۲ هفته و در نهایت جمع‌آوری و تحلیل بافت‌ها. اختصارات: CG، گروه کنترل؛ DG، گروه دیابتی؛ EG، گروه تمرین؛ DEG، گروه دیابت + تمرین.

پروتکل تمرینی

موش‌های گروه تمرین و گروه دیابت + تمرین ابتدا یک مرحله آشنایی با پروتکل تمرینی را پشت سر گذاشتند که طی آن به مدت پنج روز، روزانه ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر در دقیقه روی تردمیل دویدند [۳۳]. پس از پایان این مرحله، شدت تمرین به تدریج افزایش یافت؛ به‌طوری‌که موش‌ها روزانه ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۸ متر در دقیقه می‌دویدند. مدت زمان تمرین در هر هفته ۱۰ دقیقه افزایش یافت و در هفته نهم به ۶۰ دقیقه در روز رسید. همچنین شدت تمرین هر دو هفته ۳ متر در دقیقه افزایش داده شد تا در نهایت موش‌ها با سرعت ۳۳ متر در دقیقه تمرین کنند [۳۴]. تمامی تمرینات بر روی تردمیل با شیب صفر و بدون استفاده از شوک الکتریکی انجام شد و حیوانات تنها با دست به حرکت بر روی تردمیل ترغیب می‌شدند [۳۵].

ارزیابی مصرف غذا و وزن

در طول مطالعه، وزن بدن حیوانات و غذای مصرفی روزانه و به‌صورت هفتگی با ترازوی دیجیتالی (Kern PCB-200-2، آلمان، شهر بالن‌گن) ثبت شد. برای هر موش، وزن در زمان‌های ثابت ثبت و تغییرات آن در طول دوره ۱۲ هفته‌ای تمرین جهت تحلیل آماری استفاده گردید. میزان غذای مصرفی حیوانات با توزین هفتگی تعیین شد؛ مقدار غذای باقی‌مانده در هر قفس با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و از مقدار اولیه کسر گردید تا میانگین مصرف روزانه‌ی هر گروه محاسبه شود.

نمونه‌برداری از بافت هیپوتالاموس

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، حیوانات با استفاده از تزریق درون‌صفافی کتامین (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از بیهوشی و انجام جراحی، یک برش از ناحیه شکم تا استرنوم ایجاد شد تا دسترسی به اندام‌های داخلی فراهم شود. پس از باز کردن قفسه سینه و نمایان شدن قلب، ۵ میلی‌لیتر خون از بطن چپ قلب گرفته شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت تا از تجزیه آن جلوگیری شود. سپس، مجسمه حیوانات باز شده و مغز به‌طور کامل استخراج گردید. با استفاده از استریوتاکس، ناحیه هیپوتالاموس از سایر بخش‌های مغز جدا شده و به‌دقت در نیتروژن مایع فریز شد. همچنین، بافت چربی قهوه‌ای از ناحیه بین‌کتف استخراج گردید. بخش‌هایی از بافت‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ و به‌دور از نور قرار گرفتند تا برای بررسی‌های هیستولوژیکی تثبیت شوند. نمونه‌های خونی پس از جمع‌آوری بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و سپس در سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا سرم از دیگر اجزای خون جدا شود. در نهایت، بافت‌ها و سرم‌های جمع‌آوری شده در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند تا برای آنالیزهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گیرند.

بررسی بیان ژن (Real-time PCR)

برای بررسی بیان ژن‌های *c3ar1* و پروتئین جداکننده *UCP1*^۱ در بافت هیپوتالاموس، ابتدا RNA تام با استفاده از کیت RNeasy Mini Kit (Qiagen، آلمان) استخراج شد. خلوص و غلظت RNA به‌دست‌آمده با دستگاه Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific، آمریکا) و نسبت جذب نوری در طول‌موج‌های ۲۶۰/۲۳۰ و ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر ارزیابی گردید. برای حذف آلودگی DNA ژنومی، از gDNA Wipeout Buffer استفاده شد. سپس سنتز cDNA از ۵ میکروگرم RNA با کیت QuantiNova Reverse Transcription Kit (Qiagen، آلمان) و در حضور پرایمرهای تصادفی و الیگو-dT طبق دستورالعمل سازنده انجام شد. واکنش‌های qRT-PCR به‌وسیله دستگاه Rotor-Gene Corbett 6000 (Qiagen، آلمان) و روش SYBR Green در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر انجام گرفت. هر واکنش شامل ۲ میکرولیتر cDNA (۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر)، ۷/۵ میکرولیتر QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix (Qiagen، آلمان)، ۰/۲ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای اختصاصی (Forward و Reverse) و ۵/۱ میکرولیتر آب بدون ریبونوکلاز بود. توالی پرایمرها برای ژن‌های *UCP1*، *C3aR1* و ژن مرجع β -Actin با استفاده از نرم‌افزار Primer Premier طراحی شد. این پرایمرها توسط شرکت Macrogen (کره جنوبی) سنتز شده بودند. توالی دقیق پرایمرها در جدول ۱ ارائه گردیده است. شرایط چرخه حرارتی شامل دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه شامل دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها در ۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ژن *c3ar1* و در ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ژن *ucp1* (هر دو به مدت ۳۵ ثانیه)، و گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه بود. در پایان، تحلیل منحنی ذوب برای تأیید اختصاصیت تکثیر انجام شد. سطوح نسبی بیان ژن‌های *c3ar1* و *ucp1* با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه و نسبت به ژن مرجع β -Actin نرمال‌سازی گردیدند.

جدول ۱. جدول توالی پرایمرهای مورد استفاده برای آنالیز بیان ژن‌ها به روش Real-time PCR.

ژن	توالی پرایمر	شماره دسترسی ژن	طول محصول (جفت باز)
<i>c3ar1</i>	F-5'-CCCGTCCGTCATTATCCTCA-3'	NM_032060.2	۱۱۸
	R-5'-TCTCAGCTCCGATGGTTCT-3'		
<i>ucp1</i>	F-5'-GGCGTGGCGGTATTCATT-3'	NM_012682.2	۱۲۵
	R-5'-GTGGCTATAACTCTGTAAGCATTGT-3'		
β -actin	F-5'-GTGTGACGTTGACATCCGTAAGAC-3'	NM_031144.3	۱۱۹
	R-5'-TGCTAGGAGCCAGGGCAGTAAT-3'		

در این جدول، توالی پرایمرهای رو به جلو (F) و معکوس (R)، شماره دسترسی ژنی (Accession Number) و طول محصول تکثیر (برحسب جفت‌باز) برای ژن‌های هدف *C3ar1*، *Ucp1* و ژن مرجع β -Actin ارائه شده است. اختصارات: *C3ar1*، گیرنده جزء C3a کمپلمان-۱؛ *Ucp1*، پروتئین جداکننده ۱؛ β -Actin، ژن کنترل.

بررسی سطح پروتئین (وستر بلات)

برای بررسی بیان پروتئین *c3ar1* در بافت هیپوتالاموس، ابتدا لیزات پروتئینی با استفاده از بافر RIPA حاوی مهارکننده‌های تازه پروتئاز و فسفاتاز تهیه شد. همگن‌سازی نمونه‌ها روی یخ انجام گرفت و پس از سانتریفیوژ با سرعت $g \times 12000$ به مدت ۵ دقیقه، بقایای سلولی جدا شد. غلظت پروتئین‌ها با دستگاه NanoDrop ND-3300 (Thermo Fisher Scientific، آمریکا) تعیین گردید. سپس، به میزان ۳۰ میکروگرم پروتئین روی ژل SDS-PAGE بارگذاری و الکتروفورز شد. پروتئین‌های جدا شده به غشاهای PVDF (پیش‌تر در متانول خیس‌شده) منتقل شدند و پس از انتقال، غشاهای با محلول مسدودکننده ۵٪

^۱ Uncoupling Protein 1

(Bio-Rad) بلوکه گردیدند. سپس غشاهای به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آنتی‌بادی اولیه موشی ضد-C3aR (D-12, sc-133172, Santa Cruz Biotechnology, آمریکا) با رقت ۱:۱۰۰۰ انکوبه شدند. پس از شست‌وشو، غشاهای با آنتی‌بادی ثانویه m-IgGk BP-HRP (sc-516102, Santa Cruz Biotechnology, آمریکا) با رقت ۱:۲۰۰۰۰ به مدت یک ساعت انکوبه گردیدند. برای آشکارسازی باندهای پروتئینی، از روش شیمی‌لومینسانس تقویت‌شده (ECL; Clarity ECL, Bio-Rad) استفاده شد و تصاویر با فیلم X-ray (General Electric, آمریکا) ثبت گردیدند. آنالیز چگالی باندها با نرم‌افزار ImageJ انجام گرفت و بیان پروتئین C3aR1 نسبت به ژن مرجع β -Actin نرمال‌سازی شد تا صحت بارگذاری پروتئین‌ها در ژل تأیید گردد.

سنجش متابولیت‌ها (الایزا)

برای سنجش متابولیت‌ها از روش الایزا استفاده شد. در نمونه‌های سرم، غلظت انسولین با کیت (ZellBio GmbH, آلمان، کاتالوگ شماره ZB-10707C-R9648) اندازه‌گیری گردید. همچنین سطوح گلوکز، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) و لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) با استفاده از کیت‌های پارس آزمون (تهران، ایران) طبق دستورالعمل سازنده تعیین شدند.

بافت‌شناسی

بخشی از بافت هیپوتالاموس در فرمالین ۱۰٪ فیکس و در پارافین قالب‌گیری شد. برش‌های ۵ میکرونی تهیه و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین^۱ برای مشاهده تغییرات ساختاری مورد بررسی قرار گرفتند. تحلیل میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ نوری و تصویربرداری دیجیتال انجام شد. نمونه‌های بافت چربی قهوه‌ای در گلوترالدئید تثبیت و سپس در اکسید اسیوم پس‌تثبیت شدند. این نمونه‌ها در نهایت در آرالدیت قرار داده شدند. برای بررسی‌های بافت‌شناسی، برش‌های بافتی با رنگ‌آمیزی تولئیدین بلو و میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. برای ارزیابی‌های اولتراساختاری، از میکروسکوپ الکترونی همراه با رنگ‌آمیزی استات اورانیل و سیترات سرب استفاده شد. ابعاد آدیپوسیت‌های قهوه‌ای و میتوکندری‌ها از تصاویر میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری گردید. تحلیل ساختاری با ترکیب روش‌های سنتی نقطه‌شماری و با نرم‌افزار ImageJ (<http://imagej.net/ij/download.html>) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تحلیل شدند. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف^۲ بررسی شد. برای مقایسه میان گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید و در صورت مشاهده تفاوت معنادار، از آزمون تعقیبی LSD برای مقایسه‌های زوجی استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند و سطح معناداری در همه آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. با توجه به تعداد محدود نمونه‌ها در هر گروه، تحلیل همبستگی درون گروهی انجام نشد. تحلیل همبستگی پیرسون تنها به‌صورت اکتشافی و بر اساس داده‌های تجمیع‌شده کل حیوانات، یعنی ۳۶ نمونه، انجام گرفت. این تحلیل به روابط دارای توجیه فیزیولوژیکی، شامل ارتباط میان C3aR1 هیپوتالاموسی، UCP1 بافت چربی قهوه‌ای، شاخص‌های متابولیکی و ویژگی‌های ساختاری بافت چربی قهوه‌ای محدود شد [۳۶].

^۱ Hematoxylin-Eosin (H&E)

^۲ Kolmogorov-Smirnov

^۳ One-Way ANOVA

نتایج

تغییرات وزن و مصرف غذا

تحلیل آماری نشان داد که وزن بدن در گروه دیابت به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p = 0/001$). در گروه دیابت + تمرین، کاهش وزن همچنان نسبت به گروه کنترل ($p = 0/003$) و گروه تمرین ($p = 0/008$) معنادار بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین هوازی تنها تا حدی از شدت کاتابولیسم ناشی از دیابت می‌کاهد، ولی نمی‌تواند کاهش وزن را به طور کامل جبران کند. در خصوص مصرف غذا، گروه تمرین به طور معناداری بیشترین میزان مصرف غذا را نسبت به همه گروه‌ها داشت ($p = 0/001$). گروه دیابت نیز نسبت به گروه کنترل مصرف غذای زیادی داشت ($p = 0/001$)، که احتمالاً ناشی از افزایش تقاضای انرژی ناشی از هیپرگلیسمی ناشی از دیابت است. در گروه دیابت + تمرین، مصرف غذا به طور معناداری نسبت به گروه دیابت کاهش یافت ($p = 0/001$)، اما همچنان نسبت به گروه کنترل بالاتر باقی ماند. این کاهش ممکن است ناشی از اثر تمرین هوازی بر تنظیم مسیرهای اشتها در محور هیپوتالاموس-نورواندوکرین باشد.

متابولیت‌ها

سطح انسولین ($p = 0/077$) تغییر معناداری نشان نداد. سطح گلوکز ($p = 0/001$) در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل ($p = 0/001$) و گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه کنترل ($p = 0/018$)، گروه دیابت نسبت به گروه تمرین ($p = 0/001$) و گروه دیابت و تمرین نسبت به گروه تمرین ($p = 0/019$) افزایش مشاهده شد. سطح کلسترول ($p = 0/020$) نیز افزایش یافت، گروه دیابت در برابر گروه کنترل ($p = 0/002$)، گروه دیابت + تمرین در برابر گروه کنترل ($p = 0/034$)، گروه دیابت در برابر گروه تمرین ($p = 0/001$) و گروه دیابت + تمرین در برابر گروه تمرین ($p = 0/011$). این در حالی است که تری‌گلیسرید ($p = 0/062$) تغییرات معناداری بین گروه‌های مورد مطالعه نشان نداد. اما سطح LDL ($p = 0/001$) تغییر معناداری را گزارش کرد؛ به طوری که در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل ($p = 0/001$)، گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه کنترل ($p = 0/032$) و گروه دیابت نسبت به گروه تمرین ($p = 0/001$) و گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه تمرین ($p = 0/018$) افزایش نشان داده شد. در نهایت، سطح HDL ($p = 0/001$) نیز افزایش یافت؛ این افزایش در گروه دیابت در برابر کنترل ($p = 0/001$)، گروه دیابت + تمرین در برابر گروه کنترل ($p = 0/001$)، گروه دیابت در برابر گروه تمرین ($p = 0/009$) و گروه دیابت و تمرین در برابر گروه تمرین ($p = 0/003$) مشاهده گردید.

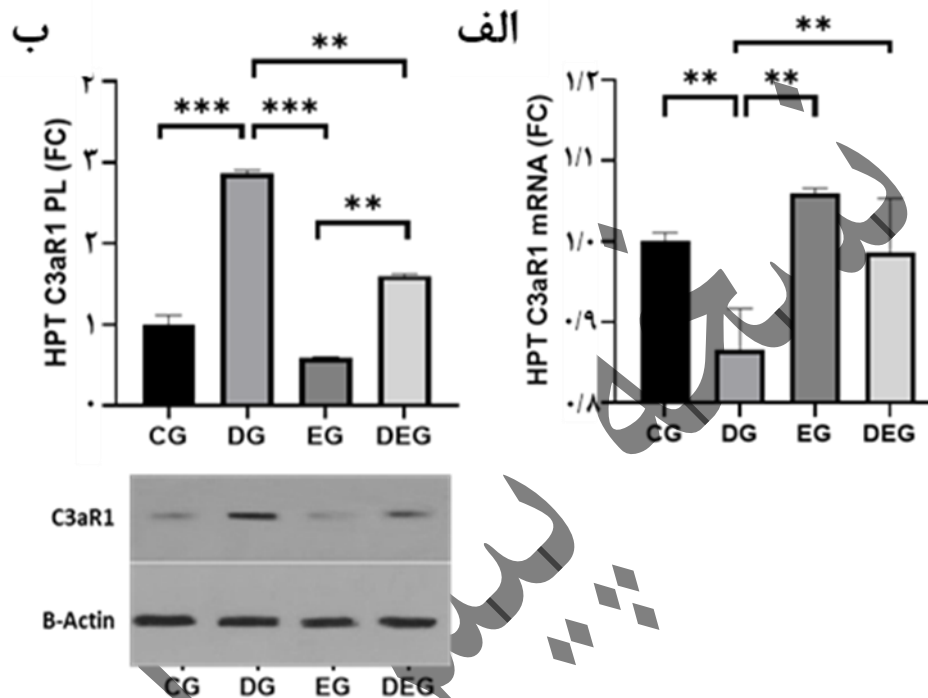
بیان ژن C3aR1

بر اساس نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی (Real-Time PCR)، تفاوت معناداری در بیان ژن *c3ar1* در هیپوتالاموس بین گروه‌ها مشاهده شد ($p = 0/002$ ، شکل ۲-الف). سطح بیان *c3ar1* در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کاهش یافت ($p = 0/003$)، که می‌تواند بیانگر اختلال در مسیرهای ایمنی-عصبی در اثر دیابت باشد. با این حال، در هر دو گروه تمرین و دیابت + تمرین، سطح بیان ژن *c3ar1* به طور معناداری نسبت به گروه دیابت افزایش یافت ($p = 0/001$ و $p = 0/009$ به ترتیب)، به طوری که بیان *C3aR1* به سطوح نزدیک به گروه کنترل بازگشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین هوازی می‌تواند اثر تعدیلی بر اختلالات ناشی از دیابت در محور هیپوتالاموس و ایمنی ایفا کند.

سطح پروتئین C3aR1

نتایج حاصل از آزمون وسترن بلات نشان داد که سطح پروتئین C3aR1 در بافت هیپوتالاموس بین گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$ ، شکل ۲-ب). در گروه دیابت، سطح پروتئین به طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت ($p = 0/001$).

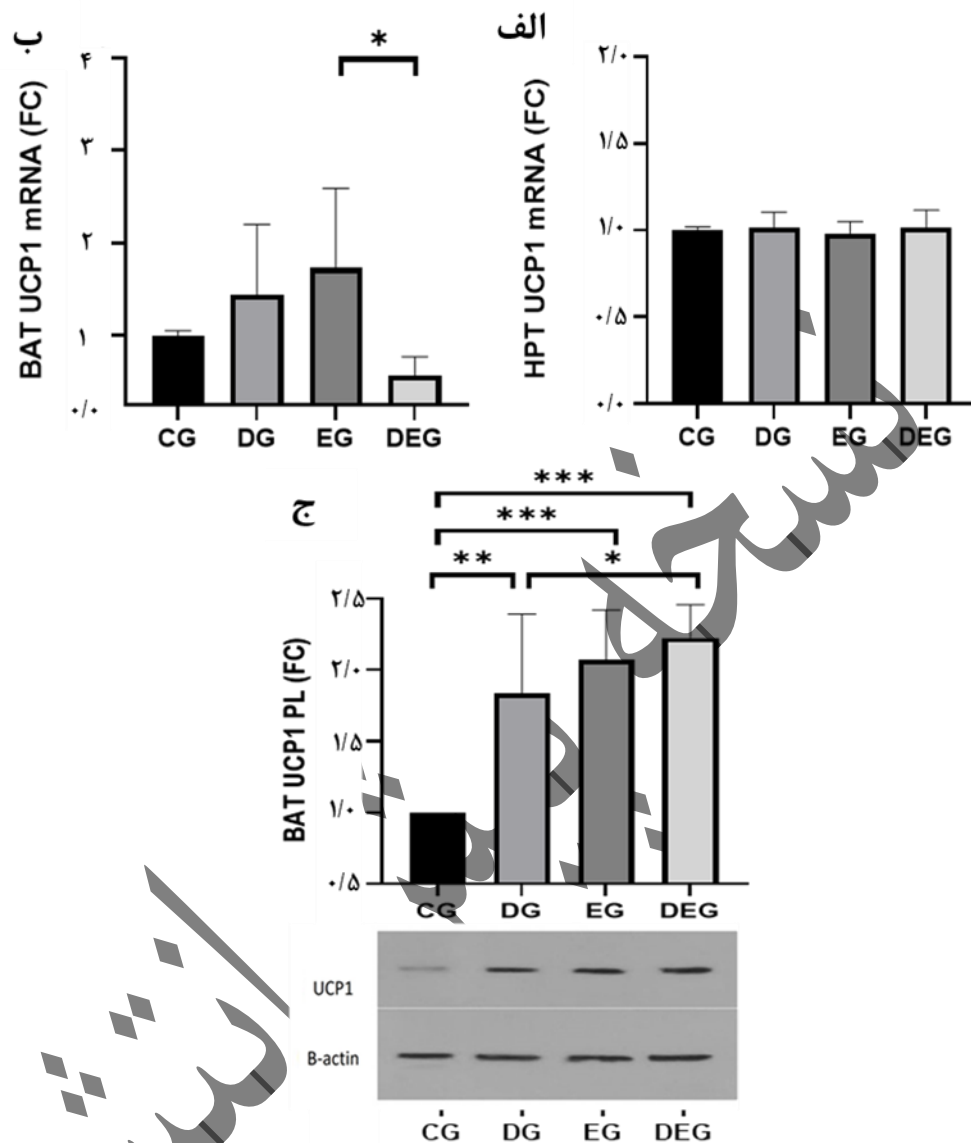
($p =$). این افزایش با شدت بیشتر باندهای پروتئینی در تصاویر ECL و نسبت نوری C3aR1 به β -actin در تحلیل دنسیتومتری تأیید شد. در مقابل، گروه دیابت + تمرین کاهش معناداری در سطح پروتئین C3aR1 نسبت به گروه دیابت نشان دادند ($p = 0/001$ و $p = 0/002$ به ترتیب)، به طوری که سطح پروتئین در این دو گروه به مقادیر نزدیک به کنترل بازگشت.



شکل ۲. تحلیل (الف) Real-time PCR از بیان نسبی mRNA ژن *c3ar1* در بافت هیپوتالاموس و (ب) وسترن بلات از سطوح پروتئین C3aR1 در بافت چربی قهوه‌ای. نوارهای پروتئینی نمایانگر سطوح نسبی C3aR1 و β -actin در گروه‌های مختلف هستند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شده‌اند. مقادیر p با استفاده از آزمون آنووا یک‌طرفه و آزمون t با تصحیح LSD محاسبه شدند. $p < 0/001$ ، $p < 0/002$ و $p < 0/001$. اختصارات: FC، تغییر نسبی (Fold Change)؛ HPT، هیپوتالاموس؛ بافت چربی قهوه‌ای، بافت چربی قهوه‌ای؛ C3aR1، گیرنده جزء C3a کمپلمان-۱؛ mRNA، بیان نسبی mRNA؛ PL، سطح پروتئین؛ CG، گروه کنترل؛ DG، گروه دیابتی؛ EG، گروه تمرین؛ DEG، گروه دیابت + تمرین.

UCP1

بیان mRNA ژن *ucp1* در هیپوتالاموس تفاوت معناداری بین گروه‌ها نشان نداد ($p = 0/644$ ، شکل ۳-الف). اما در بافت چربی قهوه‌ای اختلاف معناداری مشاهده شد ($p = 0/001$ ، شکل ۳-ب)، به طوری که بیان *ucp1* در گروه دیابت + تمرین نسبت به گروه تمرین کاهش یافت ($p = 0/011$). همچنین سطح پروتئین UCP1 در چربی قهوه‌ای تغییرات معناداری نشان داد ($p = 0/001$ ، شکل ۳-ب). این افزایش‌ها در مقایسه‌های مختلف به صورت زیر بود: گروه دیابت در برابر گروه کنترل ($p = 0/001$)، گروه تمرین در برابر گروه کنترل ($p = 0/001$)، گروه دیابت + تمرین در برابر گروه کنترل ($p = 0/001$) و گروه دیابت + تمرین در برابر گروه دیابت ($p = 0/032$).

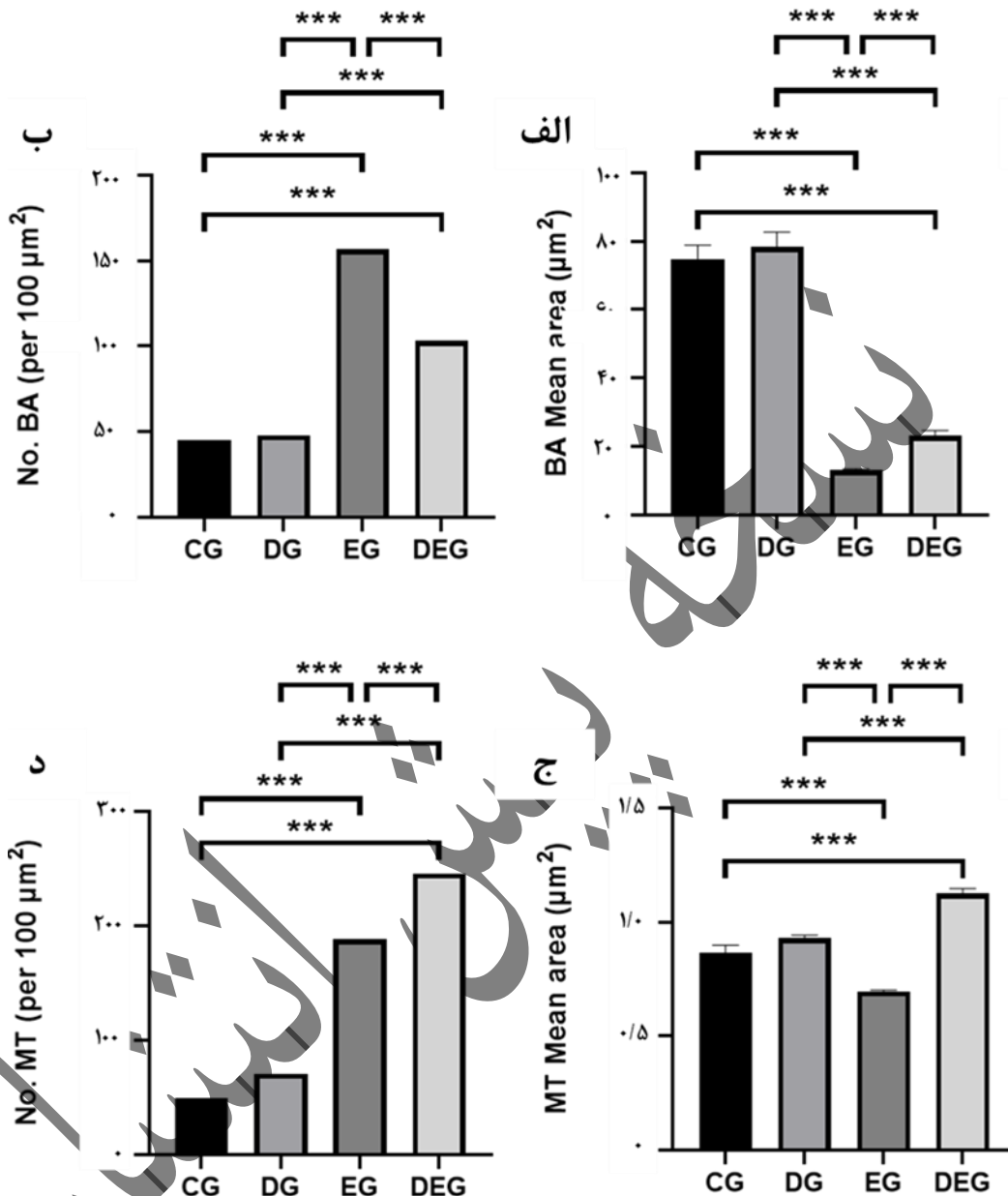


شکل ۳. تحلیل (الف) Real-time PCR از بیان نسبی mRNA ژن *ucp1* در هیپوتالاموس و در (ب) بافت چربی قهوه‌ای و (ج) تحلیل وسترن بلات از سطح پروتئین UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای. نوارهای پروتئینی نشان‌دهنده سطوح نسبی UCP1 و β -actin در گروه‌های مختلف هستند. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شده‌اند. مقادیر P با استفاده از آزمون آنووا یک‌طرفه و آزمون t با تصحیح LSD محاسبه شدند. $p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$ ، اختصارات: FC، تغییر نسبی (Fold Change)، HPT، هیپوتالاموس؛ بافت چربی قهوه‌ای، بافت چربی قهوه‌ای؛ UCP1، پروتئین جداکننده؛ mRNA، بیان نسبی mRNA PL، سطح پروتئین؛ CG، گروه کنترل؛ DG، گروه دیابتی؛ EG، گروه تمرین؛ DEG، گروه دیابت + تمرین.

بافت شناسی

تحلیل بافت‌شناسی بافت چربی قهوه‌ای نشان داد که بین گروه‌ها تفاوت معناداری در میانگین مساحت سلول‌ها وجود دارد ($p = 0.001$ ، شکل ۴-الف). در هر دو گروه تمرین و دیابت + تمرین، کاهش معنی‌داری در اندازه سلول‌های چربی قهوه‌ای

نسبت به گروه دیابت ثبت شد ($p = 0/001$). در خصوص تعداد سلول‌های چربی قهوه‌ای، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها گزارش شد ($p = 0/001$ ، شکل ۴-ب). تمرین هوازی موجب افزایش قابل توجه تعداد سلول‌ها در هر دو گروه تمرین و دیابت + تمرین نسبت به گروه‌های دیابت و کنترل شد (همگی $p < 0/001$). میانگین مساحت میتوکندری در گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($p = 0/001$ ، شکل ۴-ج). در گروه دیابت + تمرین، میانگین مساحت میتوکندری به‌طور معناداری افزایش یافت ($p = 0/001$)، در مقابل، گروه تمرین کاهش معناداری در این شاخص نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p = 0/001$)، در تحلیل تراکم میتوکندری‌ها نیز اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت ($p = 0/001$ ، شکل ۴-د). تعداد میتوکندری‌ها در گروه‌های تمرین و دیابت همگی به‌طور معناداری افزایش یافتند ($p = 0/001$ و $p = 0/001$ به ترتیب). این افزایش در گروه دیابت + تمرین نشان‌دهنده اثر مثبت تمرین بر افزایش تعداد میتوکندری‌ها در شرایط دیابتی است و می‌تواند به بهبود عملکرد متابولیکی هیپوتالاموس کمک کند (جدول ۲).



شکل ۴. تحلیل استریولوژیک با استفاده از نرم افزار ImageJ برای تعیین ویژگی های مورفولوژیک سلول های چربی قهوه ای و میتوکندری ها. (الف) میانگین مساحت سلول های چربی قهوه ای (μm^2)، (ب) تعداد سلول های چربی قهوه ای در هر $100 \mu\text{m}^2$ ، (ج) میانگین مساحت میتوکندری (μm^2) و (د) تعداد میتوکندری در هر $100 \mu\text{m}^2$ در گروه های مختلف. داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه شده اند. مقادیر p با استفاده از آزمون آنوا یک طرفه و آزمون t با تصحیح LSD محاسبه شدند. $p < 0.05^*$ ، $p < 0.01^{**}$ ، $p < 0.001^{***}$ اختصارات: BA، سلول های چربی قهوه ای؛ MT، میتوکندری؛ CG، گروه کنترل؛ DG، گروه دیابتی؛ EG، گروه تمرین؛ DEG، گروه دیابت + تمرین.

جدول ۲. میانگین مساحت سلول‌های چربی قهوه‌ای و میانگین مساحت میتوکندری‌ها در هر ۱۰۰ میکرومتر مربع از سلول‌های چربی قهوه‌ای.

میانگین مساحت (میکرومتر مربع)	گروه کنترل	گروه دیابت	گروه تمرین	گروه تمرین+دیابت
سلول‌های چربی قهوه‌ای	۷۴/۹۰ (۶۷/۰۱ تا ۸۲/۷۹) cd	۷۸/۳۱ (۶۹/۶۵ تا ۸۶/۹۸) cd	۱۳/۱۵ (۱۲/۳۸ تا ۱۳/۹۲) abd	۲۳/۲۸ (۲۰/۲۴ تا ۲۶/۳۲) abc
میتوکندری‌ها	۰/۸۶ (۰/۸۰ تا ۰/۹۳) cd	۰/۹۱ (۰/۸۵ تا ۰/۹۷) cd	۰/۶۹ (۰/۶۸ تا ۰/۷۰) abd	۱/۱۲ (۱/۰۸ تا ۱/۱۶) abc

میانگین مساحت سلول‌های چربی قهوه‌ای و میانگین مساحت میتوکندری‌ها در هر ۱۰۰ میکرومتر مربع از بافت چربی قهوه‌ای پس از ۱۲ هفته تمرین هوازی در گروه‌های مختلف. داده‌ها به صورت میانگین (فاصله اطمینان ۹۵٪) ارائه شده‌اند. برای تحلیل آماری از آزمون آنووا یک طرفه و آزمون پس‌آزمون LSD استفاده شد. نشانگرها: a $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل؛ b $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه دیابتی؛ c $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه تمرین؛ d $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه دیابت + تمرین. اختصارات: BA، سلول‌های چربی قهوه‌ای؛ MT، میتوکندری؛ CG، گروه کنترل؛ DG، گروه دیابتی؛ EG، گروه تمرین؛ DEG، گروه دیابت + تمرین.

بررسی همبستگی

تحلیل همبستگی پیرسون نشان داد که سطح C3aR1 در هیپوتالاموس با سطح HDL همبستگی مثبت و معناداری دارد ($p = ۰/۰۵$, $R = ۰/۹۹۷$)، که می‌تواند بیانگر نقش این گیرنده در بهبود پروفایل لیپیدی باشد. همچنین، تغییرات وزن بدن همبستگی منفی قابل توجهی با سطح بیان *ucp1* در این بافت ($p = ۰/۰۰۲$, $R = -۰/۹۹۸$) داشت. همبستگی‌های دیگر از نظر آماری معنادار نبودند ($p < ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تمرین هوازی بر بیان ژن و سطح پروتئین گیرنده کمپلمان C3aR1 در بافت هیپوتالاموس و UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای رت‌های دیابتی طراحی و اجرا شد [۳۷]. نتایج حاصل از آنالیزهای مولکولی و پروتئینی نشان داد که دیابت نوع ۲ منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن *c3ar1* و افزایش سطح پروتئین این گیرنده در هیپوتالاموس می‌شود [۳۸]. در مقابل، تمرین هوازی این الگوی پاتولوژیک را معکوس کرده؛ به طوری که بیان ژن *c3ar1* افزایش و سطح پروتئین آن کاهش می‌یابد [۳۹]. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که در شرایط دیابتی، تنظیم C3aR1 صرفاً در سطح رونویسی قابل تفسیر نیست و مکانیسم‌های پسارونویسی و پساترجمه‌ای احتمالاً نقش تعیین‌کننده‌ای دارند [۴۰]. با توجه به

اینکه پاسخ‌های التهابی، عملکرد نورون‌های هیپوتالاموسی و تعادل انرژی عمدتاً به سطح و فعالیت پروتئین C3aR1 وابسته‌اند، افزایش پروتئین در برابر کاهش mRNA می‌تواند نشان‌دهنده فعال‌تر شدن عملکردی این مسیر از طریق افزایش پایداری، کاهش تجزیه یا بازخورد التهابی باشد [۴۰، ۴۱]. همچنین، در شرایط التهاب مزمن و هیپرگلیسمی، تجمع پروتئین C3aR1 ممکن است از طریق بازخورد منفی، رونویسی ژن مربوطه را مهار کند و در نتیجه کاهش mRNA مشاهده شود [۴۱، ۴۲].

گیرنده C3aR1 یکی از اجزای کلیدی سیستم کمپلمان است که علاوه بر نقش مهم آن در تنظیم التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی، شواهد اخیر نشان می‌دهند در بافت‌های غیرایمنی مانند نورون‌های هیپوتالاموسی نیز بیان می‌شود و با تنظیم اشتها، مصرف انرژی و تعادل نورواندوکرین مرتبط است [۴۳]. در شرایط پاتولوژیک مانند دیابت نوع ۲، افزایش سطح پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس می‌تواند از طریق فعال‌سازی مسیرهای التهابی [۴۴]، اختلال در عملکرد نورون‌های تنظیم‌کننده تعادل انرژی و کنترل اشتها [۴۵] و نهایتاً ایجاد هومئوستاز منفی انرژی [۴۶] به پیشرفت بیماری دیابت کمک کند. مطالعاتی گزارش کرده‌اند که مهار C3aR1 موجب کاهش التهاب در هیپوتالاموس می‌شود [۴۷، ۴۸].

در گروه دیابت، سطح پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که می‌تواند نشان‌دهنده فعال‌تر شدن مسیر التهابی وابسته به کمپلمان در شرایط دیابت نوع ۲ باشد. از آنجا که C3aR1 یک گیرنده عملکردی در مسیر سیگنالینگ C3a است، افزایش سطح پروتئین آن از نظر فیزیولوژیکی اهمیت زیادی دارد و می‌تواند با تقویت پاسخ‌های التهابی، اختلال در عملکرد نورون‌های هیپوتالاموسی و برهم خوردن تنظیم اشتها و تعادل انرژی همراه باشد. این یافته با گزارش جانیس و برونینگ^۱ (۲۰۱۷) همسو است که التهاب هیپوتالاموسی را یکی از عوامل مهم در اختلالات متابولیکی و مقاومت انسولینی معرفی کرده‌اند [۲۳]. همچنین، شیم^۲ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فعال‌سازی سیستم کمپلمان در چاقی با مقاومت انسولینی و دیابت نوع ۲ در یک راسا هستند [۲۴]. از سوی دیگر، گدام و ژنگ^۳ (۲۰۲۴) بیان کردند که سیگنالینگ C3aR می‌تواند در تنظیم پاسخ‌های ایمنی، التهابی و متابولیکی دخالت داشته باشد [۴۱]. یافته حاضر همچنین با مطالعه مامانه^۴ و همکاران قابل مقایسه است که C3aR را یکی از میانجی‌های مهم مقاومت انسولینی و التهاب متابولیکی معرفی کردند [۳۰]. بنابراین، با توجه به انتظار، افزایش پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس گروه دیابت احتمالاً بازتابی از تشدید التهاب مرکزی و مشارکت مسیر کمپلمان در اختلالات نورومتابولیکی ناشی از دیابت بوده است.

در این مطالعه، کاهش پروتئین C3aR1 در گروه دیابت+تمرین نشان می‌دهد که تمرین احتمالاً توانسته است فعال‌سازی بیش از حد مسیر التهابی وابسته به کمپلمان در هیپوتالاموس را کاهش دهد [۴۹]. همسو با یافته‌های ما، بی^۵ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تمرین از التهاب هیپوتالاموسی ناشی از رژیم پرچرب جلوگیری می‌کند، که با یافته حاضر همسو است [۵۰]. با توجه به مطالعات گذشته، این تغییر می‌تواند با بهبود عملکرد هیپوتالاموس، کاهش اختلال در اشتها و تعدیل متابولیسم انرژی همراه باشد [۲۳، ۴۹]. همزمان، افزایش نسبی بیان mRNA در گروه تمرین و دیابت+تمرین ممکن است بازتابی از بازگشت تنظیم طبیعی ژن در شرایط کاهش التهاب و کاهش تجمع پروتئین باشد، نه الزاماً افزایش فعالیت التهابی [۴۰-۴۲]. با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر میزان لیگاند C3a و تجزیه پروتئین C3aR1 به‌طور مستقیم اندازه‌گیری نشد، تفسیر مکانیسم‌های دقیق این ناهمبوسی باید با احتیاط انجام شود [۴۰]. پیشنهاد می‌شود در مطالعات

1 Jais & Brüning, 2017

2 Shim et al.

3 Gadam & Zheng

4 Mmamane et al.

5 Yet al.

آینده، علاوه بر سنجش mRNA و پروتئین، شاخص‌های تنظیم پساترجمه‌ای، فعالیت مسیر کمپلمان و میزان لیگاند C3a نیز بررسی شوند.

در مطالعه حاضر، در گروه دیابت، با وجود افزایش مصرف غذا، تغییر بارز یا افزایش قابل توجه وزن مشاهده نشد. این وضعیت می‌تواند ناشی از اثرات متضاد رژیم پرچرب و شرایط کاتابولیک دیابت باشد؛ زیرا STZ با افزایش گلوکز خون، اختلال در بهره‌برداری از گلوکز، افزایش لیپولیز و پروتئولیز همراه است [۵۱]. در گروه دیابت+تمرین، با وجود کاهش مصرف غذا، وزن بدن به گروه کنترل نزدیک‌تر شد. این یافته نشان می‌دهد تمرین هوازی احتمالاً با بهبود برداشت گلوکز در عضله اسکلتی، کاهش کاتابولیسم، حفظ نسبی توده بدون چربی و بهبود کارایی متابولیکی از افت وزن ناشی از دیابت جلوگیری کرده است [۵۲]. در مطالعه حاضر، تمرین هوازی موجب کاهش سطح پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس شد؛ از آنجا که فعال شدن مسیرهای التهابی هیپوتالاموسی می‌تواند تنظیم اشتها و تعادل انرژی را مختل کند، کاهش C3aR1 ممکن است در بهبود نسبی کنترل اشتها نقش داشته باشد [۴۹]. همزمان، افزایش UCP1 و بهبود ویژگی‌های ساختاری بافت چربی قهوه‌ای در گروه‌های تمرینی نشان می‌دهد که تمرین هوازی احتمالاً ظرفیت مصرف انرژی و عملکرد ترموژنیک را نیز افزایش داده است [۵۳]. بنابراین، تغییرات وزن در این مطالعه حاصل برهم‌کنش چند عامل شامل دریافت غذا، وضعیت کاتابولیک دیابت، بهبود برداشت و مصرف گلوکز، تعدیل التهاب هیپوتالاموسی و افزایش عملکرد متابولیکی بافت چربی قهوه‌ای است.

کاهش معنادار مصرف غذا در گروه دیابت+تمرین می‌تواند بازتابی از بهبود عملکرد نورواندوکرین هیپوتالاموس باشد. این کاهش مصرف غذا با کاهش سطح پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس همراه بود و احتمالاً از طریق تعدیل مسیرهای التهابی و نوروهومونی، به مهار پرخوری و بهبود تعادل انرژی کمک کرده است [۵۴]. با این حال، با توجه به نزدیک شدن میزان وزن گروه دیابت+تمرین به گروه کنترل، اما عدم بازگشت کامل به سطوح کنترل به نظر می‌رسد که تمرین هوازی ۸ هفته‌ای نتوانست اختلالات هیپوتالاموسی را به‌طور کامل برطرف کند. این یافته با مطالعات قبلی که نشان داده‌اند تمرین هوازی منظم می‌تواند اشتها و مصرف غذا را در افراد سالم افزایش دهد، سازگار است [۵۵-۵۷].

همزمان با تعدیل C3aR1 در هیپوتالاموس، تمرین هوازی موجب افزایش سطح پروتئین UCP1 در بافت چربی قهوه‌ای و بهبود ویژگی‌های ساختاری این بافت شد [۴۱]. افزایش UCP1 بیانگر تقویت ظرفیت ترموژنیک بافت چربی قهوه‌ای است و افزایش تعداد و مساحت میتوکندری‌ها نیز نشان می‌دهد که تمرین، ظرفیت اکسیداتیو و توان مصرف انرژی در این بافت را افزایش داده است [۵۸]. کاهش مساحت آدیپوسیت‌های قهوه‌ای و افزایش تعداد آنها نیز می‌تواند بیانگر فعال‌تر شدن فنوتیپ متابولیکی بافت چربی قهوه‌ای باشد [۵۳]. بنابراین، تغییرات ساختاری و مولکولی مشاهده‌شده در بافت چربی قهوه‌ای با یکدیگر همسو هستند و همگی از بهبود عملکرد ترموژنیک و اکسیداتیو این بافت در پاسخ به تمرین هوازی حمایت می‌کنند [۵۸]. ارتباط این تغییرات با شاخص‌های متابولیکی نیز قابل توجه است. کاهش گلوکز خون در گروه دیابت+تمرین می‌تواند حاصل اثرات همزمان تمرین بر افزایش برداشت گلوکز در عضله اسکلتی، بهبود کارایی متابولیکی و افزایش مصرف انرژی از طریق بافت چربی قهوه‌ای باشد [۲۲]. از سوی دیگر، افزایش UCP1 و بهبود ساختار میتوکندریایی بافت چربی قهوه‌ای می‌تواند به افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و اصلاح نسبی پروفایل لیپیدی که در این مطالعه دیده شد کمک کند [۱۲]. بنابراین، بهبود گلوکز و برخی شاخص‌های لیپیدی حاصل تعامل چند مسیر شامل کاهش التهاب هیپوتالاموسی، بهبود تنظیم اشتها، افزایش فعالیت ترموژنیک بافت چربی قهوه‌ای و ارتقای ظرفیت اکسیداتیو بوده است [۵۹].

در مجموع، نتایج نشان داد که دیابت با افزایش سطح پروتئین C3aR1 در هیپوتالاموس و اختلال در شاخص‌های متابولیکی همراه است، در حالی که تمرین هوازی با کاهش سطح پروتئین این گیرنده، افزایش UCP1، بهبود ویژگی‌های میتوکندریایی و تعدیل نسبی وضعیت متابولیکی، الگوی نامطلوب ناشی از دیابت را بهبود می‌بخشد [۴۱]. با این حال، این ارتباط باید به‌عنوان

یک تفسیر فیزیولوژیکی مبتنی بر همسویی یافته‌ها در نظر گرفته شود، نه رابطه علی قطعی؛ زیرا در مطالعه حاضر فعالیت مستقیم نورون‌های هیپوتالاموسی، برون‌داد سمپاتیکی به بافت چربی قهوه‌ای، نرخ واقعی ترموژنز و شاخص‌های مستقیم التهاب عصبی اندازه‌گیری نشدند [۱۸]. همچنین مکانیسم‌های پسارونویسی و پساترجمه‌ای مؤثر بر تفاوت میان بیان ژن و سطح پروتئین C3aR1 بررسی نگردیدند [۴۰]. از سوی دیگر، به دلیل تعداد محدود نمونه‌ها در هر گروه، تحلیل همبستگی به‌صورت درون‌گروهی انجام نشد و نتایج همبستگی تنها به‌صورت اکتشافی و بر اساس داده‌های تجمیع‌شده تفسیر شدند [۶۰]. بنابراین، انجام مطالعات آینده با حجم نمونه بیشتر و ارزیابی مستقیم مسیرهای التهابی، عصبی و ترموژنیک برای تأیید این روابط ضروری است.

تمرین هوازی با تعدیل سطح پروتئین C3aR1 هیپوتالاموس، افزایش سطح پروتئین UCP1 و بهبود بازسازی ساختاری بافت چربی قهوه‌ای همراه است. تمرین موجب افزایش تعداد سلول‌های آدیپوسیت و میتوکندری می‌شود که نشان‌دهنده ارتقای ظرفیت ترموژنیک و اکسیداتیو این بافت در پاسخ به تمرین است. این تغییرات با بهبود نسبی شاخص‌های متابولیکی، به‌ویژه کاهش گلوکز خون و اصلاح پروفایل لیپیدی، همسو است. بنابراین، تمرین هوازی احتمالاً از طریق محور هیپوتالاموس-بافت چربی قهوه‌ای در بهبود اختلالات متابولیکی دیابت نوع ۲ نقش دارد.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که به‌نوعی در پیشبرد این تحقیق همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم. به‌ویژه از آقای دکتر ابوالفضل اکبری برای راهنمایی‌های فنی سپاسگزاریم.

حمایت مالی

این تحقیق بدون هرگونه حمایت مالی از موسسات یا سازمان‌های خارجی انجام شده است و تمامی مراحل آن به‌طور مستقل و با استفاده از منابع داخلی صورت گرفته است.

مشارکت نویسندگان

پوریا فروتن اجرای طرح، نظارت بر آن و نگارش مقاله.

ضیاء فلاح محمدی ارائه ایده، طراحی و نظارت بر اجرای صحیح مطالعه و بازبینی مقاله.

خدیجه نصیری نگارش مقاله، انجام آزمایش‌ها و تحلیل‌های آماری

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافع ندارند.

منابع

1. Tabish SA. Is diabetes becoming the biggest epidemic of the twenty-first century? Int J Health Sci (Qassim). 2007;1(2):V-VIII. <https://doi.org/10.24966/CBCM-1943/100018>.

2. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, Ostolaza H, Martín C. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
3. Hossain MJ, Al-Mamun M, Islam MR. Diabetes mellitus, the fastest growing global public health concern: early detection should be focused. *Health Sci Rep.* 2024;7(3):e2004. <https://doi.org/10.1002/hsr2.2004>
4. Huston P. A sedentary and unhealthy lifestyle fuels chronic disease progression by changing interstitial cell behaviour: a network analysis. *Front Physiol.* 2022;13:904107. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.904107>
5. Pan S, Worker CJ, Feng Earley Y. The hypothalamus as a key regulator of glucose homeostasis: emerging roles of the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2023;325(1):C141–C154. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00533.2022>
6. Le Thuc O, Stobbe K, Cansell C, Nahon JL, Blondeau N, Rovère C. Hypothalamic inflammation and energy balance disruptions: spotlight on chemokines. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:197. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00197>
7. Dunkelberger JR, Song WC. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* 2010;20(1):34–50. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.139>
8. Batista AF, Khan KA, Papavergi MT, Lemere CA. The importance of complement-mediated immune signaling in Alzheimer's disease pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(2):817. <https://doi.org/10.3390/ijms25020817>
9. Atanes P, Ruz-Maldonado I, Pingitore A, Hawkes R, Liu B, Zhao M, Huang GC, Persaud SJ, Amisten S. C3aR and C5aR1 act as key regulators of human and mouse β -cell function. *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(4):715–726. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2655-1>
10. Westacott LJ, Humby T, Haan N, Brain SA, Bush EL, Toneva M, Baloc AI, Moon AL, Reddaway J, Owen MJ, Hall J, Hughes TR, Morgan BP, Gray WP, Wilkinson LS. Complement C3 and C3aR mediate different aspects of emotional behaviours; relevance to risk for psychiatric disorder. *Brain Behav Immun.* 2022;99:70–82. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.09.005>
11. Wang Y, Du W, Sun Y, Zhang J, Ma C, Jin X. CRTCL1 is a potential target to delay aging-induced cognitive deficit by protecting the integrity of the blood-brain barrier via inhibiting inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2023;43(7):1042–1059. <https://doi.org/10.1177/0271678X231169133>
12. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84(1):277–359. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003>
13. Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med.* 2011;17(2):200–205. <https://doi.org/10.1038/nm.2297>
14. Cypess AM, Lehman S, Williams G, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med.* 2009;360(15):1509–1517. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810780>
15. Chondronikola M, Volpi E, Børsheim E, et al. Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans. *Diabetes.* 2014;63(12):4089–4099. <https://doi.org/10.2337/db14-0746>
16. Stanford KI, Middelbeek RJW, Townsend KL, et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J Clin Invest.* 2013;123(1):215–223. <https://doi.org/10.1172/JCI62308>

17. 17. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463–468. <https://doi.org/10.1038/nature10777>
18. 18. Morrison SF, Madden CJ, Tupone D. Central neural regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy expenditure. *Cell Metab*. 2014;19(5):741–756. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.02.007>
19. 19. Martínez-Sánchez N, Seoane-Collazo P, Contreras C, et al. Hypothalamic AMPK-ER stress-JNK1 axis mediates the central actions of thyroid hormones on energy balance. *Cell Metab*. 2017;26(1):212–229.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.06.014>
20. 20. López M, Varela L, Vázquez MJ, et al. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. *Nat Med*. 2010;16(9):1001–1008. <https://doi.org/10.1038/nm.2207>
21. 21. Beiroa D, Imbernon M, Gallego R, et al. GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. *Diabetes*. 2014;63(10):3346–3358. <https://doi.org/10.2337/db14-0302>
22. 22. Maliszewska K, Kretowski A. Brown adipose tissue and its role in insulin and glucose homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1530. <https://doi.org/10.3390/ijms22041530>
23. 23. Jais A, Brüning JC. Hypothalamic inflammation in obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2017;127(1):24–32. <https://doi.org/10.1172/JCI88878>
24. 24. Shim K, Begum R, Yang C, Wang H. Complement activation in obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*. 2020;11(1):1–12. <https://doi.org/10.4239/wjd.v11.i1.1>
25. 25. Ferrer-Uris B, Ramos MA, Busquets A, Angulo-Barroso R. Can exercise shape your brain? A review of aerobic exercise effects on cognitive function and neuro-physiological underpinning mechanisms. *AIMS Neurosci*. 2022;9(2):150–174. <https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2022009>
26. 26. Gomez-Pinilla F, Hillman C. The influence of exercise on cognitive abilities. *Compr Physiol*. 2013;3(1):403–428. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110063>
27. 27. Clemente-Suárez VJ, Rubio-Zarapuz A, Belinchón-deMiguel P, Beltrán-Velasco AI, Martín-Rodríguez A, Tornero-Aguilera JF. Impact of physical activity on cellular metabolism across both neurodegenerative and general neurological conditions: a narrative review. *Cells*. 2024;13(23):1940. <https://doi.org/10.3390/cells13231940>
28. 28. Kip E, Parr-Brownlie LC. Healthy lifestyles and wellbeing reduce neuroinflammation and prevent neurodegenerative and psychiatric disorders. *Front Neurosci*. 2023;17:1092537. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1092537>
29. 29. Vecchio LM, Meng Y, Xhima K, Lipsman N, Hamani C, Aubert I. The neuroprotective effects of exercise: maintaining a healthy brain throughout aging. *Brain Plast*. 2018;4(1):17–52. <https://doi.org/10.3233/BPL-180069>
30. 30. Mamane Y, Chan CC, Lavallée G, Morin N, Xu LJ, Huang J, Gordon R, Thomas W, Lamb J, Schadt EE, Kennedy BP, Mancini JA. The C3a anaphylatoxin receptor is a key mediator of insulin resistance and functions by modulating adipose tissue macrophage infiltration and activation. *Diabetes*. 2009;58(9):2006–2017. <https://doi.org/10.2337/db09-0323>
31. 31. Yi CX, Al-Massadi O, Donelan E, Lehti M, Weber J, Ress C, Trivedi C, Müller TD, Woods SC, Hofmann SM. Exercise protects against high-fat diet-induced hypothalamic inflammation. *Physiol Behav*. 2012;106(4):485–490. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.03.021>

32. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res.* 2005;52(4):313–320. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>
33. Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;34(8):760–765. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x>
34. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007;6:38. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-6-38>
35. Lerman I, Harrison BC, Freeman K, Hewett TE, Allen DL, Robbins J, Leinwand LA. Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. *J Appl Physiol* (1985). 2002;92(6):2245–2255. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01045.2001>
36. Schönbrodt FD, Perugini M. At what sample size do correlations stabilize? *J Res Pers.* 2013;47(5):609–612. <https://doi.org/10.1016/j.jrp.2013.05.009>
37. Phielers J, Chung KJ, Chatzigeorgiou A, et al. The complement anaphylatoxin C5a receptor contributes to obese adipose tissue inflammation and insulin resistance. *J Immunol.* 2013;191(8):4367–4374. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300038>
38. Thaler JP, Yi CX, Schur EA, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest.* 2012;122(1):153–162. <https://doi.org/10.1172/JCI59660>
39. Ropelle ER, Flores MB, Cintra DE, et al. IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKK β and ER stress inhibition. *PLoS Biol.* 2010;8(8):e1000465. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000465>
40. Liu Y, Beyer A, Aebersold R. On the dependency of cellular protein levels on mRNA abundance. *Cell.* 2016;165(3):535–550. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.03.014>
41. Gedam M, Zheng H. Complement C3aR signaling: immune and metabolic modulation and its impact on Alzheimer's disease. *Eur J Immunol.* 2024;54(8):e2350815. <https://doi.org/10.1002/eji.202350815>
42. Franks A, Airoidi E, Slavov N. Post-transcriptional regulation across human tissues. *PLoS Comput Biol.* 2017;13(5):e1005535. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005535>
43. Hannedouche S, Beck V, Leighton-Davies J, et al. Identification of the C3a receptor (C3AR1) as the target of the VGF-derived peptide TLQP-21 in rodent cells. *J Biol Chem.* 2013;288(38):27434–27443. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.497214>
44. Lisci C, Lewis JE, Daniel ZCTR, Stevenson TJ, Monnier C, Marshall HJ, Fowler M, Ebling FJP, Ferri GL, Cocco C, Jethwa PH. Photoperiodic changes in adiposity increase sensitivity of female Siberian hamsters to systemic VGF-derived peptide TLQP-21. *PLoS One.* 2019;14(8):e0221517. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221517>
45. Zink M, Lüken M, Leonhardt S, Mischke K, Keszei A, Marx N. Patient characteristics prone to incorrect measurement in automated single-lead AF screening. *Clin Res Cardiol.* 2023;112(7):1005. <https://doi.org/10.1007/s00392-023-02180-w>
46. Foglesong GD, Huang W, Liu X, Slater AM, Siu J, Yildiz V, Salton SR, Cao L. Role of hypothalamic VGF in energy balance and metabolic adaptation to environmental enrichment in mice. *Endocrinology.* 2016;157(3):983–996. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1627>

47. Li T, Qu J, Xu C, Fang T, Sun B, Chen L. Exploring the common gene signatures and pathogeneses of obesity with Alzheimer's disease via transcriptome data. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1072955. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1072955>
48. Rashid M, Kondoh K, Palfalvi G, Nakajima KI, Minokoshi Y. Inhibition of high-fat diet-induced inflammatory responses in adipose tissue by SF1-expressing neurons of the ventromedial hypothalamus. *Cell Rep*. 2023;42(6):112627. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112627>
49. Della Guardia L, Codella R. Exercise restores hypothalamic health in obesity by reshaping the inflammatory network. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(2):297. <https://doi.org/10.3390/antiox12020297>
50. Yi CX, Al-Massadi O, Donelan E, Lehti M, Weber J, Röss C, Trivedi C, Müller TD, Woods SC, Hofmann SM. Exercise protects against high-fat diet-induced hypothalamic inflammation. *Physiol Behav*. 2012;106(4):485–490. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.03.021>
51. Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig*. 2014;5(4):349–358. <https://doi.org/10.1111/jdi.12235>
52. Evans PL, McMillin SL, Weyrauch LA, Witczak CA. Regulation of skeletal muscle glucose transport and glucose metabolism by exercise training. *Nutrients*. 2019;11(10):2432. <https://doi.org/10.3390/nu11102432>
53. Zhu Y, Qi Z, Ding S. Exercise-induced adipose tissue thermogenesis and browning: how to explain the conflicting findings? *Int J Mol Sci*. 2022;23(21):13142. <https://doi.org/10.3390/ijms232113142>
54. Alic L, Dendinovic K, Papac-Milicevic N. The complement system in lipid-mediated pathologies. *Front Immunol*. 2024;15:1511886. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1511886>
55. Blundell JE, Gibbons C, Caudwell P, Finlayson G, Hopkins M. Appetite control and energy balance: impact of exercise. *Obes Rev*. 2015;16(Suppl 1):67–76. <https://doi.org/10.1111/obr.12257>
56. King NA, Hopkins M, Caudwell P, Stubbs RJ, Blundell JE. Beneficial effects of exercise: shifting the focus from body weight to other markers of health. *Br J Sports Med*. 2009;43(12):924–927. <https://doi.org/10.1136/bjsm.2009.065557>
57. Donnelly JE, Herrmann SD, Lambourne K. Does increased exercise or physical activity alter ad-libitum daily energy intake or macronutrient composition in healthy adults? A systematic review. *PLoS One*. 2014;9(1):e83498. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083498>
58. de las Heras N, Klett-Mingo M, Ballesteros S, Martín-Fernández B, Escribano Ó, Blanco-Rivero J, Balfagón G, Hribal ML, Benito M, Lahera V, Gómez-Hernández A. Chronic exercise improves mitochondrial function and insulin sensitivity in brown adipose tissue. *Front Physiol*. 2018;9:1122. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01122>
59. Wang GX, Zhao XY, Lin JD. The brown fat secretome: metabolic functions beyond thermogenesis. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(5):231–237. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.03.002>
60. Button KS, Ioannidis JPA, Mokrysz C, Nosek BA, Flint J, Robinson ESJ, Munafò MR. Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14(5):365–376. <https://doi.org/10.1038/nrn3475>