

The effect of 8-week of high intensity interval training on PGC-1 α and ERR α gene expression in subcutaneous adipose tissue of male Wistar rats

Shadi Fayyazi*, Mohammad Reza Asad, Saeed Naghibi, Mohammad Shariatzade

Faculty of Physical Education, Department of Sport Physiology, PNU, Karaj, Iran

* Corresponding author e-mail: shadi.fayyazi123@gmail.com

Citation: : Fayyazi Sh, Asad MR, Naghibi S, Shariatzade M. The effect of 8-week of high intensity interval training on PGC-1 α and ERR α gene expression in subcutaneous adipose tissue of male Wistar rats 2020; 28(4):23-34.

Abstract

Background and Objective: PGC-1 α and ERR α work together to transcribe genes involved in energy metabolism and play an important role in the expression and control of metabolic genes. The role of exercise in the expression of these two genes in adipose tissue is less known. Therefore, this study aimed to investigate the effects of high intensity interval training (HIIT) on the expression of PGC-1 α and ERR α genes in the subcutaneous adipose tissue of male Wistar rats.

Materials and Methods: In the experimental study, 16 male rats were divided into two equal groups of HIIT and control. HIIT group participated in training programs for 8 weeks. The control group did not participate in the training program. The HIIT protocol consisted of 4 stages of running in 4 minutes with intensity of 90 to 100% VO₂max and 4 stages of running in 3 minutes in 50 to 60% of VO₂max. 24 hours after the last training session, the subcutaneous adipose tissue was removed. The RT-PCR method was used to measure gene expression. Data analysis was performed with independent t-test and Mann-Whitney U at the significance level of P < 0.05.

Results: In the HIIT protocol, a significant increase was observed in the expression of both PGC-1 α and ERR α genes in comparison with the control group (P < 0.001).

Conclusion: The results showed that HIIT training is very effective in expressing the genes involved in energy metabolism. Therefore, it is recommended that this training method be given more attention.

Keywords: Subcutaneous adipose tissue, HIIT, PGC-1 α , ERR α

Received: 21 June 2020

Last revised: 30 Sep 2020

Accepted: 14 Oct 2020

تأثیر هشت هفته تمرینات پر شدت تناوبی بر بیان ژن های $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ در بافت چربی زیرجلدی رت های نر ویستار

نویسندگان: شادی فیاضی*، محمدرضا اسد، سعید نقیبی، محمد شریعت زاده

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه پیام نور، کرج، ایران

*نویسنده مسئول: شادی فیاضی Email: shadi.fayyazi123@gmail.com

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه و هدف: $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ با همکاری هم برای رونویسی ژن های درگیر در متابولیسم انرژی عمل می کنند و در بیان و کنترل ژن های متابولیک نقش مهمی دارند. نقش تمرینات ورزشی بر بیان این دو ژن در بافت چربی کمتر شناخته شده است. لذا هدف پژوهش حاضر بررسی آثار تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر بیان ژن های $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ در بافت چربی زیرجلدی رت های نر ویستار بود.

مواد و روش ها: در مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۱۶ سر رت نر به دو گروه مساوی HIIT و کنترل تقسیم شدند. گروه HIIT به مدت ۸ هفته در برنامه های تمرینی شرکت کردند. گروه کنترل در هیچ برنامه تمرینی شرکت نکردند. پروتکل HIIT شامل ۴ مرحله دویدن در ۴ دقیقه با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_{2max} و ۴ مرحله دویدن در ۳ دقیقه در ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_{2max} بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت چربی زیر جلدی برداشته شد. روش RT-PCR برای اندازه گیری بیان ژن ها استفاده گردید. تحلیل داده ها با آزمون t مستقل و u مان ویتنی در سطح معنای $P \leq 0.05$ انجام شد.

نتایج: در پروتکل HIIT در مقایسه با گروه کنترل، در بیان هر دو ژن $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ افزایش معنی دار مشاهده شد ($P \leq 0.01$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که تمرینات HIIT اثربخشی زیادی در بیان ژن های درگیر در متابولیسم انرژی دارد و لذا پیشنهاد می شود این شیوه تمرینی مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

واژه های کلیدی: بافت چربی زیر جلدی، تمرین تناوبی با شدت بالا، $PGC-1\alpha$ ، $ERR\alpha$

دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۱

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۹/۰۷/۰۹

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۳

مقدمه

بافت چربی یک ارگان متابولیک مرکزی در تنظیم هموستاز انرژی کل بدن است. بافت چربی زیرپوستی سهم عمده ای از چربی های بدن انسان را تشکیل می دهد و برای محاسبه کل بافت چربی سفید در انسان ها محاسبه می شود (۱). تمرینات ورزشی از راهکارهای مؤثر در حفظ تعادل وضعیت متابولسمی بدن بوده که سبب کاهش بافت چربی شده و می توانند از راه تنظیم نسخه برداری و بهبود میزان پروتئین های مفید در بافت چربی، از بیماری های متابولیک و قلبی-عروقی جلوگیری کنند (۲). یکی از هزاران فاکتور ژنی شناسایی شده در بافت چربی که در سطح مولکولی توجه عده زیادی از محققین فیزیولوژی ورزشی را به خود جلب نموده است، $PGC-1\alpha$ ^۱ می باشد (۳). این فاکتور یک کمک کننده برای نسخه برداری از ژن ها می باشد که وظیفه آن افزایش نسخه برداری و ایجاد mRNA جدید است ولی به تنهایی قادر به شناسایی ژنی که باید آن را افزایش دهد، نمی باشد. ناحیه فعال کننده $PGC-1\alpha$ با اتصال به تعدادی پروتئین دیگر باعث افزایش فعالیت آن ها گردیده و در نتیجه نسخه برداری افزایش می یابد (۴). ضمناً این فاکتور در بافت های مختلف نقش های متفاوتی ایفا نموده و در واقع عملکرد آن بستگی به نوع بافتی است که در آن بیان می شود (۵). یکی از فاکتورهایی که $PGC-1\alpha$ با اتصال به آن در فعال سازی آن مشارکت دارد، $ERR\alpha$ ^۲ می باشد. $ERR\alpha$ یکی از سه عضو خانواده کوچک گیرنده های هسته ای است (۶). این گیرنده مانند فاکتورهای رونویسی دیگر، فعالیت زیستی خود را از راه تنظیم نسخه برداری ژن های خاص کنترل می کند. بنابراین، شناخت شبکه های تنظیم کننده ژن های کنترل شده توسط این گیرنده و درک نقش های

این پروتئین در بیماری های متابولیکی و سرطان های وابسته به هورمون، بسیار مهم است (۷). $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ با همکاری یکدیگر در تمایز آدیپوسیت های قهوه ای، آدیپوژنز و بایوژنز میتوکندریایی (۸)، فعال شدن آنزیم های اکسیداسیون کربوهیدرات و چربی (۹)، تنفس میتوکندریایی (۱۰)، تنظیم افزایشی بیان ژن (VEGF) فاکتور رشد آندوتلیال عروق) و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز (۱۱) و اثرات آنتی اکسیدانی نقش ایفا می کنند (۱۲). به طور کلی می توان گفت $ERR\alpha/PGC-1\alpha$ با همکاری هم برای رونویسی ژن های درگیر در متابولیسم انرژی عمل می کنند و در بیان و کنترل ژنهای متابولیک نقش به سزایی دارند (۱۳).

در مورد اهمیت همکاری این دو فاکتور در کنترل بیماری های مختلف بحث های زیادی مطرح است. به عنوان مثال تحقیقات اخیر نشان داده اند که تقویت چگالی و عملکرد میتوکندری از راه مداخلات دارویی مسیر $ERR\alpha/PGC1\alpha$ ممکن است به عنوان یک هدف اصلی در پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ مورد توجه قرار گیرد (۱۴). طبق تحقیقات انجام شده، حذف ژنتیکی $PGC-1\alpha$ در میتوکندری بافت چربی باعث مقاومت انسولینی گردیده است (۱۵). علاوه بر این، افراد دیابتی دارای سطح کاهش یافته $PGC-1\alpha$ در بافت چربی خود هستند که ممکن است در بیماری های متابولیک نقش داشته باشد (۱۶). همچنین در تحقیقی که نقش $PGC-1\alpha$ در انتقال اسیدهای چرب در غشای پلاسمایی و میتوکندری در بافتهای حساس به انسولین مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج نشان داد که در فقدان $PGC-1\alpha$ استفاده ناکارآمد و تجمع بیش از حد لیپیدها در بافتها منجر به اختلال در مسیر سیگنالینگ انسولین می شود (۱۷). $PGC-1\alpha$ نه تنها باعث بیان $ERR\alpha$ می شود، بلکه ژن های هدف $ERR\alpha$ در کمپلکس I، II، IV و V زنجیره انتقال الکترونی عصبی را نیز تحریک می کند. فعال سازی شیمیایی این برنامه رونویسی، باعث رونویسی زنجیره

¹ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

² Estrogen-related receptor alpha (ERR α), also known as NR3B1 (nuclear receptor subfamily 3, group B, member 1), is a nuclear receptor that in human

تمرینات به واسطه مراحل تمرینی با شدت بالا شاید بتوانند پاسخ های های هورمونی و سوخت و سازی درون سلولی و در نتیجه بیان ژن ها را بهتر تحریک کنند. همچنین در تحقیقات پیشین اثربخشی این نوع تمرینات در بیان ژن های بافت های دیگر، خصوصاً بافت عضلانی بیشتر بررسی شده و بافت چربی کمتر مورد توجه بوده است و در هیچ تحقیقی همکاری توأم $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ در بافت چربی زیر جلدی بررسی نشده است؛ بنابراین، با توجه به دلایل مذکور و نقش های کلیدی شناخته شده برای $PGC-1\alpha$ و ارتباط این فاکتور با $ERR\alpha$ به عنوان فاکتور هم فعال رونویسی، هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرینات HIIT بر میزان بیان دو ژن $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ در چربی زیرپوستی رت های نر سالم و بیستار بود.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی بوده و نمونه گیری به صورت تصادفی ساده انجام گرفته است. این پژوهش روی ۱۶ سر رت نر و بیستار با میانگین سنی دو ماه و وزن بدن 233 ± 23 به عنوان نمونه تحقیق (خریداری شده از انستیتو رازی) انجام یافت. موش ها در گروه های ۸ تایی و در محیطی با میانگین دمای $22 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد، رطوبت 55 ± 4 درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. غذای آزمودنی های این پژوهش، تولید شرکت بهپرور به صورت استاندارد و حاوی کلسیم و فسفر بود و تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. پژوهش حاضر با عمل به کلیه ملاحظات اخلاقی در تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش ها و دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته و شناسه اخلاق در پژوهش IR.PUN.REC.1398.041 برای آن تصویب شده است. رت ها پس از دو هفته آشنا سازی و سازگاری با محیط

انتقال الکترونی عصبی می شود. این یافته ها رونویسی عصبی تنظیم شده توسط $PGC-1\alpha$ را نشان می دهد که می تواند از نظر درمانی برای بیماری پارکینسون و سایر بیماری های عصبی مفید واقع شود (۱۸). از سویی دیگر ارتباط میان بیان ژن $PGC-1\alpha$ با افزایش بیان برخی از ژن های بزرگ در بافت چربی قهوه ای مانند UCP1 (شاخصی خاص برای سلول های چربی قهوه ای) شناخته شده است که منجر به افزایش هزینه انرژی کل بدن می شود (۱۹). بنابراین، سطح $PGC-1\alpha$ در بافت چربی می تواند اثرات مفیدی بر متابولیسم سیستمیک داشته باشد و $PGC-1\alpha$ به عنوان یک هدف مهم در درمان چاقی نیز مطرح گردد (۲۰). در این راستا رودریگز و همکاران گزارش کردند که رژیم غذایی پرچرب منجر به کاهش بیان $PGC-1\alpha$ و UCP1 بافت چربی سفید گردیده و هیپرتروفی آدیپوسیت های در نتیجه ی رژیم غذایی پرچرب با تمرین استقامتی کاهش یافت در حالی که تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین های $PGC-1\alpha$ در هر دو گروه رژیم غذایی پرچرب و استاندارد گردید (۲۱). امروزه داشتن یک برنامه تمرینی منظم جهت افراد سالم برای بالا بردن شاخص های وضعیت جسمانی و مرتبط با سلامت، به کرات توصیه گردیده ولی مکانیسم های مولکولی و حاکم بر این تغییرات که می تواند بر حفظ شاخص های سلامتی تأثیر داشته باشد، کمتر شناخته شده اند. نتایج مطالعات پیشین نشان می دهد که دو فاکتور بیشتر در شرایط چاقی و یا بیماری بررسی شده اند ولی در تحقیق حاضر از رت های نر سالم (فاقد اضافه وزن و هرگونه بیماری) استفاده گردیده است چرا که میزان تغییرات در بیان این ژن ها در پی یک دوره تمرینات منظم ورزشی در شرایط سلامتی کمتر مورد توجه بوده است. نوع، شدت و مدت تمرینات نیز در دستیابی به این اهداف نیز هنوز مورد بحث است. لذا در این مطالعه اثربخشی تمرینات HIIT^۲ بر بیان دو ژن مورد مطالعه قرار گرفته است، چرا که این

^۱ Uncoupling protein 1

^۲ High Intensity Interval Training

شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی حرکت قرار داده شدند.

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی، گروه کنترل همراه با گروه تمرینی بافت برداری شدند. برای جمع آوری نمونه ها، حیوانات با تزریق مقدار ۱۰ به ۸۰ میلی گرم زایلازین به کتامین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند و بلافاصله حدود ۳۰ گرم از بافت چربی زیرجلدی ناحیه کشاله رانی رت ها برداشته شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله پس از برداشت و شستشو در سرم فیزیولوژیک و آغشته کردن به محلول RNA later (شرکت بهنوژن ایران) به داخل میکروکرایو منتقل و در محلول نیتروژن مایع در تیوب مخصوص منجمد شد و تا زمان اندازه گیری در دمای ۸۰- درجه نگهداری گردید.

در این تحقیق برای اندازه گیری تغییرات ژن ها از روش واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با توجه به مزایای آن از جمله بررسی سریع تر نمونه ها، ارزان بودن نسبی، آسانی انجام کار و فوق العاده اختصاصی بودن، استفاده گردید. بدین منظور پس از استخراج کل RNA با استفاده از ترایزول (ساخت کشور امریکا; Cat No: 79306)، غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر Nanodrop (ساخت کشور امریکا) اندازه گیری شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه گیری شده و غلظت آن بر اساس ضریب رقت برحسب $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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 (Thermo Fisher Scientific) تیمار شدند. ساخت cDNA در دو مرحله با استفاده از کیت Thermo Fisher Scientific (ساخت کشور امریکا; K1622 Cat No) انجام شد. توالی پرایمر ها از پایگاه داده ای مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی

جدید به دو گروه مساوی کنترل (CO) و تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) تقسیم شدند. هم چنین در همین زمان موش ها در گروه های کنترل و تمرین با تردمیل به مدت ۲ هفته قبل از شروع تمرینات، به مدت زمان ۱۰ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه شروع به فعالیت کردند. پس از تقسیم بندی رت ها در گروه های تمرینی، حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوار گردان مطابق با پروتکل Høydal و همکاران و با پروتکل غیرمستقیم ارزیابی شد (۲۲). بدین منظور ابتدا ۱۰ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه انجام گردید. سپس رت ها 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 سر حد واماندگی سرعت افزایش یافت (عدم توانایی دویدن روی نوار گردان و رفتن به فضای انتهایی نوار گردان). بعد از به پایان رسیدن آزمون ورزشی سرعتی که رت ها در آن دویدند (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت گردید و با استفاده از معادله $y=162x-1$ میزان VO_2max اندازه گیری شد (y، نمایانگر اکسیژن مصرفی میلی لیتر در دقیقه به ازای کیلوگرم وزن بدن، x نمایانگر سرعت دویدن متر در ثانیه). با ارزیابی شدت تمرین، تمرینات ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بر اساس دستورالعمل تعیین شده، شروع شد. کلیه تمرینات بر اساس ترتیب مشخص و در هنگام صبح انجام می شد. پروتکل تمرین HIIT در مجموع ۳۸ دقیقه به طول می انجامید و شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود. تا پایان هفته پنجم، بدنه اصلی تمرین شامل ۳ مرحله تناوب شدید با زمان ۴ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO_2max و ۳ مرحله تناوب کم شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max بود. (۳ تکرار 3×4 دقیقه). مراحل تمرین در سه هفته پایانی به ۴ مرحله افزایش یافت (۴ تکرار 3×4 دقیقه). موش های گروه کنترل در هیچ گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند، ولی برای ایجاد

آب فاقد نوکلئاز بود. از دستگاه Stepone ABI (ساخت کشور آمریکا) برای Real-Time PCR استفاده شد. اختصاصی بودن تکثیر Real-Time PCR با ارزیابی منحنی تکثیر و پیک ذوب ارزیابی گردید. ضمناً در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. جهت بررسی کمی-نسبی ژنهای PGC-1 α و ERR α از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل ها به طور جداگانه برای گروه های نمونه انجام شد.

(NCBI) تهیه گردید (جدول ۱) و سپس طراحی پرایمر های ژنهای PGC-1 α و ERR α با استفاده از برنامه Generunner انجام شد. واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با استفاده از دستگاه (ABI) و کیت Amplicon (ساخت کشور دانمارک; Cat No ۴۳۰۹۱۵۵) انجام گرفت. هر واکنش Real-Time PCR شامل ۲ میکرولیتر cDNA رقیق شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۵ میکرولیتر Master Mix و ۲ میکرولیتر

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

ژن ها	پرایمر F	پرایمر R
PGC-1 α	5'- AACAAAGCACTTCGGTCATCC -3'	5'- CTTCGCTGTCATCAAACAGG -3'
ERR α	5'- AGGGAGGGAAGGGGATGGAGA -3'	5'- AATGAGGAGAGGAGCGAAGGG -3'
GAPDH	5'- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3'	5'- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3'

استفاده از نرم افزار SPSS-20 و در سطح معناداری کمتر از (P \leq ۰/۰۵) انجام شد.

یافته ها

در جدول ۲ میانگین و انحراف معیار وزن بدن رت ها در هر گروه در مرحله پایه و پیش از قربانی کردن ارائه شده است. در جدول ۳ نتایج آزمون شاپیروویلیک ارائه شده است.

در بخش آمار توصیفی از شاخص های پراکندگی، انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. با توجه به نتایج این آزمون، داده ها در گروه PGC-1 α دارای توزیع نرمال بوده ولی در گروه ERR α توزیع نرمال نداشتند. لذا برای بررسی تغییرات در فاکتور PGC-1 α از آمار پارامتریک t مستقل و برای بررسی تغییرات در فاکتور ERR α از آمار ناپارامتریک U مان ویتنی استفاده گردید. نتایج در هر دو گروه معنی دار بود (P $<$ ۰/۰۰۱). تحلیل های آماری با

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار وزن نمونه های پژوهش

متغیر	Control	HIIT
وزن اولیه (g)	۲۳۷/۵ \pm ۶/۸۷	۲۳۶/۹ \pm ۸/۸۵
وزن نهایی (۸ هفته)	۲۹۵/۳ \pm ۸/۸	۲۵۸/۴ \pm ۱۱/۵

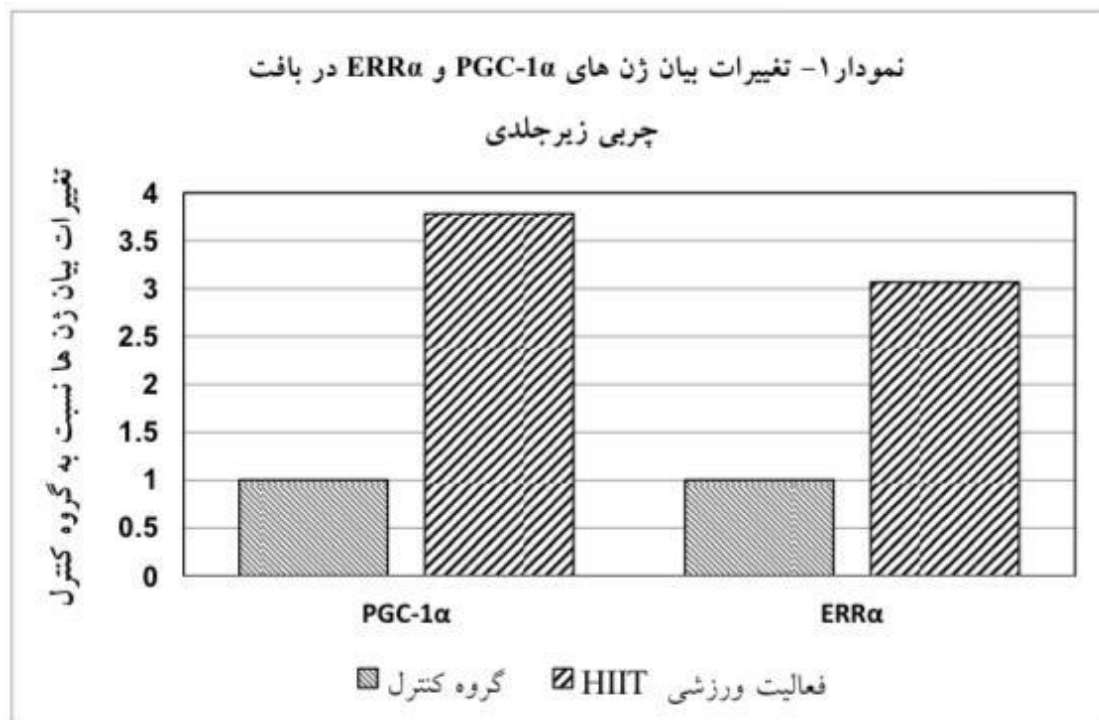
CO: گروه کنترل HIIT: گروه فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا

جدول. نتایج آزمون شاپیروویلک

فاکتور	گروه	آماره	Sig
PGC-1 α	کنترل	۰/۹۸۵	۰/۷۹۵
	HIIT	۰/۹۳۳	۰/۵۴۱
ERR α	کنترل	۰/۷۹۶	۰/۰۲۶
	HIIT	۰/۸۱۷	۰/۰۴۳

همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده نتایج تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرینات پر شدت تناوبی باعث افزایش معنی دار بیان ژن PGC-1 α در مقایسه با گروه کنترل گردید (P < ۰/۰۰۱).

همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده نتایج تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرینات پر شدت تناوبی باعث افزایش معنی دار بیان ژن PGC-1 α در مقایسه با گروه کنترل گردید (P = ۰/۰۰۱). همچنین نمودار ۱ نشان



نتیجه ای ارزشمند باشد چرا که همکاری و فعال شدن متقابل PGC-1 α با ERR α فرآیندهای متابولیکی بنیادی مانند تمایز آدیپوسیت های قهوه‌ای، آدیپوژنز و بایوژنز میتوکندریایی و آنژیوژنز را تنظیم می کنند. در مطالعات داخلی و خارجی انجام یافته، تحقیقی که بیان این دو فاکتور را بطور همزمان در بافت چربی زیر جلدی در پی تمرینات ورزشی پر شدت بررسی کرده باشند یافت نگردید و اکثر تحقیقات نقش دو فاکتور را در بافت عضله

بحث

نتایج مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن های PGC-1 α و ERR α در بافت چربی زیر جلدی رت های نر ویستار را پس از هشت هفته تمرین HIIT نسبت به گروه کنترل نشان داد. مقایسه بین گروه تمرینات پر شدت تناوبی و گروه کنترل در بیان ژن PGC-1 α و ERR α نشان دهنده افزایش به ترتیب ۲۷۸ و ۲۰۶ درصدی بود. افزایش چشمگیر این دو فاکتور در پی تمرینات HIIT می تواند

(۲۵). تنظیم AMPK توسط میزان ADP سلولی و تنظیم SIRT1 توسط میزان NAD+ سلولی انجام می شود (۲۶). البته اندازه گیری میزان فاکتورهای بالادست از جمله AMPK و SIRT1 با توجه به محدودیت های مالی در محدوده تحقیق حاضر قرار نگرفت ولی با توجه به موارد ذکر شده و نقش اثبات شده بالادستی ها از جمله SIRT1 و AMPK در تنظیم مقادیر $PGC-1\alpha$ در عضله اسکلتی، انتظار می رود بافت چربی نیز تابع این مکانیسم باشد. ولی بهتر است در تحقیقات آتی فاکتورهای بالادستی نیز به صورت هم زمان بررسی شوند. از سویی دیگر افزایش انرژی مصرفی یکی از عوامل مهم در افزایش بیان $ERR\alpha$ است. افزایش $ERR\alpha$ در بافت چربی زیر جلدی در پی تمرینات ورزشی نشان می دهد که این بافت نیز انرژی زیادی حین فعالیت مصرف می نماید (۲۷). کارتنی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که میزان $ERR\alpha$ در پی تمرینات ورزشی افزایش معنی داری داشته است که نشانگر سازگاری ایجاد شده با نیازهای متابولیک می باشد (۲۸). در تحقیق حاضر نیز افزایش قابل توجه $ERR\alpha$ در بافت چربی زیر جلدی، می تواند نشانگر افزایش پاسخ متابولیسمی این بافت به تمرینات ورزشی باشد. از جهتی دیگر در رابطه با مکانیسم توجیه این افزایش می توان این گونه اظهار داشت 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 باعث تحریک و افزایش فعالیت $PGC-1\alpha$ می گردند (۲۹). با توجه به افزایش معنی دار همزمان هر دو فاکتور مورد مطالعه، این گونه برداشت می شود که تمرینات HIIT با بالا بردن فعالیت $PGC-1\alpha$ باعث فعال سازی $ERR\alpha$ می گردند. همچنین از آنجایی که $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ باعث افزایش بیان VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز می شوند این احتمال وجود دارد که تمرینات تناوبی با شدت بالا با افزایش $PGC-1\alpha$

اسکلتی در شدت های متفاوت تمرین بررسی نموده اند. باین حال نتایج این تحقیق در افزایش $PGC-1\alpha$ در بافت چربی با نتایج تحقیق نورهیم و همکاران (۲۰۱۴) که بر روی همین بافت انجام گردیده همسو می باشد لیکن دو تحقیق از لحاظ روش تحقیق از جمله نوع تمرین، شدت و مدت تمرین و نوع نمونه متفاوت هستند (۲۳). در تحقیقی دیگر خلفی و همکاران (۱۳۹۷) تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای میتوکندری و $PGC-1\alpha$ چربی زیرپوستی رت های نر چاق شده با رژیم غذایی پر چرب در شدتی مشابه با تحقیق حاضر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که HIIT به افزایش شایان توجه محتوی پروتئینی $PGC-1\alpha$ و بیان mtDNA منجر می گردد (۲۴). با توجه به استاندارد بودن رژیم غذایی رت های مورد مطالعه این تحقیق نمی تواند مقایسه دقیقی انجام گیرد. ولی احتمالاً پروتکل مشابه تمرینی می تواند عاملی مهم در افزایش بیان $PGC-1\alpha$ تلقی گردد. همچنین بر اساس نتایج تحقیق ردیگز و همکاران (۲۰۱۶)، تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین های $PGC-1\alpha$ در هر دو گروه رژیم غذایی پرچرب و استاندارد گردیده (۲۱) که میزان این افزایش کمتر از تحقیق حاضر بود. احتمالاً تمرین استقامتی به واسطه شدت پایین تر موجب افزایش کمتر $PGC-1\alpha$ نسبت به تحقیق گردیده است. از یافته های تحقیق حاضر این گونه برداشت می شود که افزایش قابل توجه $PGC-1\alpha$ و $ERR\alpha$ به واسطه شدت تمرین می باشد. در رابطه با مکانیسم این تغییرات می توان این گونه توجیه کرد که تمرین شدید از جمله تمرینات HIIT باعث افزایش بیشتر نسبت ATP/ADP/AMP می شود و بنابراین احتمالاً با افزایش بیشتر AMPK¹ و SIRT1 به عنوان یک عامل بالادستی همراه می باشد. دو فاکتور اخیر از جمله حسگرهای متابولیک داخل سلولی بوده که فعالیت و بیان آن ها بوسیله تمرین و در هنگام کمبود ذخیره انرژی افزایش می یابد

¹ AMP-activated protein kinase

چربی زیر جلدی می گردند. بنابراین، افزایش بیان هر دو ژن مورد مطالعه در بافت چربی زیر جلدی می تواند به واسطه شدت تمرین و فاکتوری تمرین پذیر باشد. با توجه به آثار مفید مرتبط با سلامت افزایش این دو فاکتور در پی تحقیقات انجام یافته پیشین از یک طرف و افزایش قابل ملاحظه بیان هر دو ژن در تمرینات HIIT در تحقیق حاضر از سویی دیگر، این تمرینات از لحاظ کاربردی به واسطه زمان کوتاه تر برای اجرا و شدت بالا، می تواند به عنوان راهکاری مناسب برای حفظ سلامتی پیشنهاد گردند. همچنین برای درک بهتر ارتباط این دو فاکتور در متابولیسم و سوخت و ساز چربی ها تحقیقات بیشتری با به کار گیری نمونه های چاق و دیابتیک پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد مصوبه دانشگاه پیام نور واحد البرز می باشد. بدین وسیله 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 در ستاد مرکزی وزارت بهداشت استان تهران با کد شناسه اخلاق در پژوهش IR.PUN.REC.1398.041 به تأیید رسیده است.

منابع مالی

منابع مالی توسط پژوهشگران این مطالعه تأمین شده است.

منافع متقابل

مؤلفان اظهار می دارند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

ERR α و در نتیجه افزایش چگالی مویرگ، موجب بهبود هموستاز گلوکز خون شده و از افزایش حجم سلول های چربی جلوگیری می کنند و در نتیجه یک راه درمانی برای مبارزه با چاقی نیز در نظر گرفته شوند. در مطالعه ای برنر و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که افزایش بیان فاکتور رشد و VEGF در بافت چربی در پی تمرینات ورزشی منجر به بهبود عروق و کاهش هیپوکسی، فیبروز و التهاب می شود که به نوبه خود، ممکن است خطر سرطان پستان پس از یائسگی را کاهش دهد (۳۰). هم چنین این امکان وجود دارد که فاکتور دیگری نیز در فرآیند رگزایی در بافت چربی زیرپوستی نقش داشته باشد. با توجه به افزایش بیان ژن های PGC-1 α و ERR α در تحقیق حاضر، انتظار می رود سطح VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز نیز افزایش یافته باشند. با توجه به این که اندازه گیری VEGF در محدوده این تحقیق نبود لذا پیشنهاد می گردد در تحقیقات آتی همزمان با اندازه گیری PGC-1 α و ERR α ، سطح VEGF و میزان چگالی مویرگی در بافت چربی زیر جلدی نیز بررسی گردد.

در تحقیق حاضر همراستا بودن و همبستگی مثبت افزایش دو فاکتور مورد مطالعه در پی تمرینات HIIT، احتمالاً نمی تواند دلیل علت و معلولی باشد. در تحقیق حاضر به دلیل محدودیت های مالی و امکانات از عوامل مهارکننده دو فاکتور استفاده نشد. این رو پیشنهاد می گردد تحقیقات آینده با به کار گیری گروه های مطالعه بیشتر و استفاده از آگونیست هایی که رابطه PGC-1 α و ERR α را مختل می کنند، انجام گردد. فاکتورهای ناشناخته دیگری هم ممکن است نقش واسطه گری در ارتباط این دو فاکتور داشته باشند که نیازمند مطالعات بیشتری می باشد.

نتیجه گیری

به طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) به طور قابل ملاحظه ای منجر به افزایش بیان ژن های PGC-1 α و ERR α در بافت

منابع

1. Frigolet ME, Gutiérrez-Aguilar R. The colors of adipose tissue. *Gaceta Medica de Mexico* 2020; 156(2):142-149.
2. Ultimo S, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, McCubrey JA, Capitani S, et al. Cardiovascular disease-related miRNAs expression: potential role as biomarkers and effects of training exercise. *Oncotarget* 2018; 9(24):17238-17254.
3. Shalaby RE, Iram S, Oropeza CE, McLachlan A. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator family members competitively regulate hepatitis b virus biosynthesis. *Virology* 2019; 526:214-221.
4. McKie GL, Wright DC. Biochemical adaptations in white adipose tissue following aerobic exercise: from mitochondrial biogenesis to browning. *Biochemical Journal* 2020; 477(6):1061-1081.
5. Cantó C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Current Opinion in Lipidology* 2009;20(2):98-105.
6. Son YO, Chun JS. Estrogen-related receptor γ is a novel catabolic regulator of osteoarthritis pathogenesis. *BMB Reports* 2018;51(4):165-166.
7. Deblois G, Giguère V. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2011;1812(8):1032-1040.
8. Angueira AR, Shapira SN, Ishibashi J, Sampat S, et al. Early B cell factor activity controls developmental and adaptive thermogenic gene programming in adipocytes. *Cell Reports* 2020;30(9):2869-2878.
9. Manio MC, Matsumura S, Inoue K. Low-fat diet, and medium-fat diets containing coconut oil and soybean oil exert different metabolic effects in untrained and treadmill-trained mice. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2018;15(1):29.
10. Shapira SN, Seale P. Transcriptional control of brown and beige fat development and function. *Obesity* 2019;27(1):13-21.
11. Arany Z, Foo SY, Ma Y, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α . *Nature* 2008;451(7181):1008-1012.
12. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules* 2015;5(2):356-377.
13. Yan M, Audet-Walsh É, Manteghi S, Dufour CR, Walker B, Baba M, St-Pierre J, Giguère V, Pause A. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1 α /ERR α . *Genes & Development* 2016;30(9):1034-46.

14. Saito K, Cui H. Emerging roles of estrogen-related receptors in the brain: potential interactions with estrogen signaling. *International Journal of Molecular Sciences* 2018;19(4):1091.
15. Kleiner S, Mepani RJ, Laznik D, Ye L, Jurczak MJ, Jornayvaz FR, et al. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1 α in adipose tissues. *Proceedings of the national academy of sciences* 2012;109(24):9635-9640.
16. Semple R, Crowley V, Sewter C, Laudes M, Christodoulides C, Considine R, et al. Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1 α is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects. *International Journal of Obesity* 2004;28(1):176-179
17. Supruniuk E, Miklosz A, Chabowski A. The implication of PGC-1 α on fatty acid transport across plasma and mitochondrial membranes in the insulin sensitive tissues. *Frontiers in Physiology* 2017;8(923).
18. Austin S, Klimcakova E, St-Pierre J. Impact of PGC-1 α on the topology and rate of superoxide production by the mitochondrial electron transport chain. *Free Radical Biology and Medicine* 2011;51(12):2243-8.
19. Sharp LZ, Shinoda K, Ohno H, Scheel DW, Tomoda E, Ruiz L, et al. Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells. *PLoS One Journal* 2012;7(11).
20. Komen J, Thorburn D. Turn up the power—pharmacological activation of mitochondrial biogenesis in mouse models. *British Journal of Pharmacology* 2014;171(8):1818-36.
21. Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gouveia AM, Gonçalves IO, Becerril S, Ramírez B, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sciences* 2016;165:100-108.
22. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2007;14(6):753-760.
23. Norheim F, Langlete TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *The FEBS Journal* 2014;281(3):739-749.
24. 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 α of subcutaneous adipose tissue in male rats with high fat diet induced obesity. *Sport Biosciences* 2018;38:297-315.
25. Zhou J, Poudel A, Chandramani-Shivalingappa P, Xu B, Welchko

- R, Li L. Liraglutide induces beige fat development and promotes mitochondrial function in diet induced obesity mice partially through AMPK-SIRT-1-PGC1- α cell signaling pathway. *Endocrine* 2019;64(2):271-283.
26. Chandrasekaran K, Anjaneyulu M, Choi J, Kumar P, Salimian M, Ho CY, Russell JW. Role of mitochondria in diabetic peripheral neuropathy: Influencing the NAD⁺-dependent SIRT1-PGC-1 α -TFAM pathway. *International Review of Neurobiology* 2019;145:177-209.
27. Deblois G, Giguere V. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochimica Biophysica Acta* 2017; 1812(8):1032-40.
28. Cartoni R, Leger B, Hock MB, Praz M, Crettenand A, Pich S, et al. Mitofusins 1/2 and ERR α expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. *The Journal of Physiology* 2018; 567(1):349-358.
29. Ringholm S, Knudsen JG, Leick L, Lundgaard A, Nielsen MM, Pilegaard H. PGC-1 α is required for exercise-and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PloS One* 2013;8(5):e6412
30. Brenner DR, Ruan Y, Adams SC, Courneya KS, Friedenreich CM. The impact of exercise on growth factors (VEGF and FGF2): results from a 12-month randomized intervention trial. *European Review of Aging and Physical Activity* 2019;16(1):8.