

## The effect of eight weeks of high-intensity interval training vs. continuous training on serum Irisin levels and expression of skeletal muscle PGC-1 $\alpha$ gene in male rats with metabolic syndrome

Zohreh Borhani Kakhki<sup>1</sup>, Sheila Naibifar<sup>2</sup>, Hossein Nakhaei<sup>3</sup>, Elham Ghasemi<sup>\*4</sup>

1 Department of Physical Education, Farhangian University, Tehran, Iran.

2 Department of Sports Science, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Sistan and Baluchestan University, Zahedan, Iran.

3 Department of Physical Education, School of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

4 Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Humanities, University of Zabol, Zabol, Sistan & Baluchestan, Iran.

### Original Article

#### Abstract

**Purpose:** An imbalance in the production of PGC-1 $\alpha$  and myokines impairs the energy expenditure, increases adipocyte and develops metabolic pathologies, but physical exercise is able to regulate the secretion of myokines through PGC-1 $\alpha$ . The aim of this study was to evaluate the effect of eight weeks of high-intensity interval training vs. continuous training on serum Irisin levels and expression of skeletal muscle PGC-1 $\alpha$  gene in male rats with metabolic syndrome.

**Methods:** 32 Wistar male rats, with six weeks' age and weight 150-180 gr, randomly divided into two groups including standard diet (n=8) and high fat diet (n=24). They were then placed on a pre-exercise diet for 12 weeks. 24 rats from high fat diet group were divided randomly into two groups including metabolic syndrome control (Ctr+MS), continuous running (CT-MS) and Interval running (IT-MS). Continuous and interval training for eight weeks were performed on 65-75 and 80-100% of the maximum speed on the treadmill for mice, respectively. The ELISA method for measuring serum Irisin levels and real-time PCR method for expression of PGC-1 $\alpha$  gene were used. The data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), Tukey's post-hoc test and Pearson correlation at  $P < 0.05$  level.

**Results:** After eight weeks of interval and continuous training, PGC-1 $\alpha$  expression ( $P = 0.01$  and  $P = 0.001$ ) and serum levels of Irisin ( $P = 0.01$  and  $P = 0.001$ ) increased compared to the metabolic syndrome control group, and this increase was more evident in the interval group than the continuous group ( $P = 0.001$ ). Muscle expression of PGC-1 $\alpha$  was also positively correlated with serum Irisin levels in mice ( $P = 0.001$ ,  $r = 0.8$ ).

**Conclusion:** It seems that the use of interval exercises can increase the expression of PGC-1 $\alpha$  gene and Irisin as much as continuous exercise and possibly improve metabolic disorders in people with metabolic syndrome.

**Keywords:** High Intensity Interval Training, Continuous, PGC-1 $\alpha$ , Irisin, Metabolic syndrome.

How to cite this article: Borhani Kakhki Z, Naibifar S, Nakhaei H, Ghasemi E. The Effect of 2 Weeks of High-intensity Interval Training on Salvage nucleotide pathway. Journal of Sport and Exercise Physiology 2022;15(2): 95- 103

\*Corresponding Author; E-mail: elhamghasemi@uoz.ac.ir

DOI: 10.52547/joeppa.15.2.95

Received: 22/08/2021

Revised:28/09/2021

Accepted: 15/10/2021

## تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شدید و تداومی بر سطوح آیریزین سرمی و بیان ژن PGC-1 $\alpha$ عضلانی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سندرم متابولیک

زهره برهانی کاخکی<sup>۱</sup>، شیلا ناییبی فر<sup>۲</sup>، حسین نخعی<sup>۳</sup>، الهام قاسمی<sup>۴\*</sup>

۱ گروه تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران.

۲ گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.

۳ گروه تربیت بدنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، ایران.

۴ گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**هدف:** عدم تعادل در بیان PGC-1 $\alpha$  و تولید مایوکاین‌ها باعث کاهش مصرف انرژی، افزایش آدیپوسیت‌ها و بروز اختلالات متابولیکی می‌شود، اما فعالیت بدنی می‌تواند از طریق PGC-1 $\alpha$ ، تولید مایوکاین‌ها را تنظیم کند. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته دویدن تداومی و تناوبی بر بیان ژن PGC-1 $\alpha$  عضلانی و غلظت سرمی آیریزین در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سندرم متابولیک بود.

**روش‌ها:** تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۶ هفته‌ای با وزن ۱۸۰-۱۵۰ گرم، به‌طور تصادفی به دو گروه رژیم غذایی استاندارد (n=۸) و رژیم غذایی با چربی بالا (n=۲۴) تقسیم شدند و به مدت ۱۲ هفته تحت رژیم غذایی قبل از ورزش قرار گرفتند. سپس ۲۴ موش صحرایی گروه رژیم غذایی با چربی بالا به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی کنترل سندرم متابولیک (Ctr+MS)، تمرین تداومی (CT-MS) و تمرین تناوبی (IT-MS) تقسیم گردیدند. تمرینات تداومی و تناوبی به مدت هشت هفته، به ترتیب با شدت معادل ۷۵-۶۵ و ۱۰۰-۸۰ درصد سرعت پیشینه روی نوارگردان مخصوص موش‌های صحرایی اجرا شد. جهت اندازه‌گیری آیریزین سرم از روش ELISA و بیان ژن PGC-1 $\alpha$  از RT-PCR استفاده شد. آزمون‌های آماری تحلیل واریانس یک راهه، آزمون تعقیبی توکی و همبستگی پیرسون در سطح معنا داری  $p \leq 0/05$  برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته شد.

**نتایج:** پس از هشت هفته تمرین تناوبی و تداومی بیان PGC-1 $\alpha$  (به ترتیب  $P=0/01$  و  $P=0/001$ ) و سطح سرمی آیریزین (به ترتیب  $P=0/01$  و  $P=0/001$ ) نسبت به گروه کنترل سندرم متابولیک افزایش یافت، این افزایش در گروه تمرین تناوبی نسبت به تمرین تداومی بالاتر بود ( $P=0/001$ ). همچنین بیان عضلانی PGC-1 $\alpha$  همبستگی مثبت با سطح سرمی آیریزین موش‌های صحرایی داشت ( $P=0/01$ ،  $r=0/8$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد استفاده از تمرینات تناوبی می‌تواند به اندازه تمرینات تداومی و حتی بیشتر باعث افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و آیریزین و احتمالاً بهبود اختلالات متابولیکی در افراد مبتلا به سندرم متابولیک گردد.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین تناوبی، تمرین تداومی، PGC-1 $\alpha$ ، آیریزین، سندرم متابولیک.

\* نویسنده مسئول: رایانامه: elhamghasemi@uoz.ac.ir

## مقدمه

یک هدف درمانی برای بیماران متابولیکی شناخته شده است. از سوی دیگر، امروزه تجویز فعالیت ورزشی به عنوان یک نسخه اثربخش در پیشگیری و درمان بسیاری از اختلالات متابولیکی و چاقی پذیرفته شده است. سازوکارهایی که به وسیله آن فعالیت ورزشی با افزایش PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی می‌تواند تأثیرات مفیدی بر اختلالات متابولیکی داشته باشد، هنوز به طور کامل مشخص نیست. مطالعات پیشین تأثیر تمرینات استقامتی و تداومی بر سازگاری‌های متابولیکی را مورد توجه قرار داده‌اند (۳،۶). اما امروزه ارزش بالقوه تمرینات تناوبی شدید در زمینه توسعه سلامت و آمادگی حتی در افرادی که زمینه بیماری‌های گوناگونی دارند نیز درک شده است. توجه به شدت و نوع تمرین در میزان اثرگذاری تمرین در بیان آیریزین به ویژه برای بیماران سندرم متابولیکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. متخصصین تجویز ورزش همواره در تلاش برای یافتن الگوها و روش‌های کارآمدتر تمرین ورزشی می‌باشند. در سالیان اخیر نشان داده شده است که تمرینات تناوبی شدید (HIIT) می‌تواند بسیاری از سازگاری‌های متابولیکی تمرینات تداومی متوسط (MICT) را تحریک و ایجاد کند. در واقع اهمیت برجسته‌ی تمرین HIIT در این است که ضمن افزایش یا حفظ توده عضلانی، سازگاری متابولیک با این نوع فعالیت‌های ورزشی می‌تواند با وساطت مسیر مشابه سلولی، منجر به سازگاری‌های مشابه تمرینات استقامتی و تداومی گردد (۸). در همین راستا شیروانی و عرب زاده (۲۰۱۸) به مقایسه اثر دو شیوه تمرین تداومی و تناوبی بر موش‌های صحرایی و بیستار پرداختند و افزایش شاخص‌های PGC-1 $\alpha$  و آیریزین در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل را گزارش کردند و این پژوهشگران معتقدند دو شیوه تمرینی به طور مشابهی مسیرهای پیام‌رسانی مولکولی با تنظیم بیوژنز میتوکندریایی را فعال می‌کنند (۹).

با این حال در مطالعه دیگری، نورشیم و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین ترکیبی، mRNA عضله اسکلتی برای PGC-1 $\alpha$  و FNDC5 همبسته است و سطوح هر دو پس از مداخله تمرینی افزایش یافت، درحالی‌که سطوح آیریزین پلاسمایی در پاسخ به این برنامه تمرینی کاهش یافت (۱۰).

در مجموع به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی روی تنظیم اختلالات متابولیکی تاثیرگذار باشد و از طریق تحریک

سندرم متابولیک، نوعی اختلال در استفاده از انرژی و ذخیره سازی آن است و به گروهی از عوامل خطر قلبی-عروقی شامل فشار خون بالا، چاقی مرکزی، میزان بالای قند و تری‌گلیسیرید خون و میزان پایین لیپوپروتئین با دانسیته بالا گفته می‌شود (۱). به نظر می‌رسد چاقی نقش عمده‌ای در پاتولوژی سندرم متابولیک ایفا می‌کند (۲). بافت چربی به عنوان عامل به وجود آورنده چاقی از دو جز عملکردی متفاوت تشکیل شده است؛ بافت چربی سفید (WAT) که محل ذخیره انرژی است و بافت چربی قهوه‌ای (BAT) که نقش گرمایی (تبدیل انرژی شیمیایی به انرژی حرارتی) دارد (۳). از این رو، به نظر می‌رسد کاستن از چربی سفید که یک عامل خطر در بیشتر بیماریها به شمار می‌رود و افزایش چربی قهوه‌ای؛ یکی از روشهای مؤثر جلوگیری از برخی بیماری‌های مرتبط با چاقی است (۴). مطالعات متعددی در زمینه سازوکارهای مرتبط در زمینه بافت چربی انجام شده است. به عنوان مثال؛ بوستروم و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند پس از فعالیت بدنی، بیان گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسی زوم همکار -1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) افزایش پیدا می‌کند؛ متعاقب آن، بیان پروتئین غشایی فیبرونکتین عضلانی (FNDC5) افزایش می‌یابد؛ پس از پروتئولیز پروتئین FNDC5، یک هورمون یا مایوکاین به نام آیریزین به داخل خون ترشح می‌شود (۵). آیریزین موجب افزایش سطوح پروتئین جفت نشده-1 (UCP-1) در بافت چربی سفید می‌شود که به طور اختصاصی از طریق ممانعت از سنتز ATP، بافت چربی سفید را به بافت چربی قهوه‌ای تبدیل می‌کند (۵). بافت چربی قهوه‌ای از طریق ترموژنز غیرلرزشی گرما تولید می‌کند و دمای بدن را تنظیم می‌کند (۶)؛ بنابراین، آیریزین به عنوان پیام‌القاه کننده مصرف انرژی عمل می‌کند و فرض بر این است که با قهوه‌ای شدن بافت چربی، اضافه وزن را کاهش می‌دهد (۵،۶). لیچتنبلت و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که مقدار آیریزین و چربی قهوه‌ای به طور معناداری در افراد چاق کمتر است و بین آیریزین پلازما و درصد چربی و شاخص توده بدنی در افراد غیرفعال رابطه معکوسی وجود دارد (۷).

با توجه به تأثیرات سودمند PGC-1 $\alpha$  و آیریزین و تأثیرات این دو شاخص بر بافت چربی سفید و ویژگی و ماهیت ترموژنیک آیریزین، این مایوکین به عنوان

گرفتند که گروه موش‌های صحرایی سالم را تشکیل دادند. غذای پرچرب موش‌های صحرایی مطابق با پیشنهاد مطالعه گذشته (۱۳) به ازای هر ۲۴۰۰ گرم، حدود ۳۶۰ گرم آرد، ۳۶۰ گرم ساکاروز، ۴۸۰ گرم چربی دنبه، ۲۴ گرم کلسترول، ۱۸ گرم اسید کولیک، و ۱۱۵۸ گرم پودر غذای استاندارد را شامل می‌شد (۱۲). چاقی موش‌های صحرایی با محاسبه شاخص لی (بیشتر از ۳۱۰ گرم)، پس از ۱۲ هفته مصرف غذای چرب، حاصل شد (۱۳). (۱۴). ارزیابی چاقی در موش‌ها، مشابه در انسان و از ریشه سوم وزن بدن (گرم) تقسیم بر طول بدن (سانتی متر) ضرب در ۱۰۰۰ به دست آمد (۱۵). همچنین، برای ارزیابی شاخص‌های زیستی سندرم متابولیک، هشت سر موش چاق شده در رژیم غذایی پرچرب و پرکالری به طور تصادفی انتخاب شدند و با خون‌گیری از ورید دمی، شاخص‌های قند خون بالای ۱۱۵ میلی گرم بر دسی لیتر، لیپوپروتئین با چگالی بالا کمتر از ۴۰ میلی گرم بر دسی لیتر و تری گلیسیرید بالاتر از ۱۱۰ میلی گرم بر دسی لیتر؛ معیارهای سندرم متابولیک بررسی گردید (۱۶). ضمناً از هشت سر موش گروه کنترل با غذای استاندارد نیز خون‌گیری به عمل آمد. در ادامه، موش‌های صحرایی در چهار گروه هشت تایی شامل گروه کنترل سالم (NC)، گروه کنترل سندرم متابولیک (Ctr+MS)، گروه تمرین تداومی (CT-MS) و گروه تمرین تناوبی (IT-MS) تقسیم بندی شدند و تا پایان مداخله ورزشی غذای مورد استفاده موش‌های صحرایی رژیم استاندارد با کالری طبیعی بود.

**روش اجرای پژوهش:** تمرین موش‌های صحرایی بر روی نوارگردان خودکار مخصوص موش صحرایی (ساخت شرکت تکنیک آزما تبریز با نام تجاری MazeRouter) با دوره آشناسازی ۵ روزه شروع شد. بعد از یک هفته آشناسازی، رت‌های گروه‌های تمرینی به مدت ۲ ماه (۵ روز در هفته، در وقت صبح از ساعت ۸ الی ۱۱) برنامه تمرین تداومی و تناوبی را اجرا کردند. برای ایجاد فشار ناشی از صدای نوارگردان و جابه جایی، موش‌های صحرایی گروه‌های کنترل نیز به همراه گروه تمرینی به اتاق تمرین منتقل می‌شدند (۱۲). شرطی سازی با صدا برای پیشگیری از آسیب‌های احتمالی شوک الکتریکی به دم جوندگان توسط محقق استفاده شد (۱۲). جهت تعیین اکسیژن مصرفی بیشینه گروه‌های تمرینی از آزمون فزاینده استاندارد بدفورد و دیگران (۱۹۷۹) استفاده شد (۱۷).

PGC-1 $\alpha$  و متعاقب آن افزایش FNDC5، کاهش آیریزین ناشی از چاقی را جبران کند و موجب افزایش سطوح سرمی آیریزین و ظرفیت اکسایشی چربی می‌گردد، اما این افزایش به شدت، مدت و نوع فعالیت ورزشی وابسته است (۱۱). اگرچه نقش تمرینات استقامتی و تداومی در سلامت جسمانی به خوبی اثبات شده است، اما از دلایل اصلی نپرداختن به این شیوه تمرینات، نبود زمان کافی برای افراد است. از این رو امروزه HIIT، تمرینی مناسب با صرف زمان‌های کوتاه ترمی باشد. از سوی دیگر، بررسی تأثیرات تمرین بر غلظت آیریزین و بیان ژن PGC-1 $\alpha$ ، در تعیین اینکه بیماران سندرم متابولیکی از چه نوع تمرینی و با چه شدتی برای کنترل و درمان بیماری می‌توانند سود ببرند، مؤثر است. با این حال، اثر تمرینات HIIT در مورد بیماران سندرم متابولیک کمتر بررسی شده است. لذا مقایسه اثر شیوه‌های تمرینی تداومی و تناوبی در طراحی برنامه‌های تمرین برای بیماران سندرم متابولیک، می‌تواند ضروری باشد. بنابراین، با توجه به تناقض‌های موجود در اندک مطالعات پیشین، هدف از این پژوهش بررسی اثر هشت هفته دوییدن تداومی و تناوبی بر بیان ژن PGC-1 $\alpha$  عضلانی و غلظت سرمی آیریزین در موش‌های صحرایی نر مبتلا به سندرم متابولیک بود.

### روش پژوهش

**نمونه‌های پژوهش:** پژوهش حاضر از لحاظ ماهیت تجربی-آزمایشگاهی و از لحاظ طراحی از نوع پیش‌آزمون -پس‌آزمون با گروه کنترل می‌باشد. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی (نر) شش هفته‌ای - نژاد ویستار- میانگین وزنی ۱۵۰ تا ۱۸۰ گرم) از مرکز تحقیقات حیوانی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان خریداری شدند و در طی دوره مداخله در دما و رطوبت استاندارد ( $22 \pm 2$ ) درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوای  $25 \pm 5$  درصد) و چرخه تاریکی-روشنایی (۱۲:۱۲) ساعاته) نگهداری شدند. دسترسی حیوانات به غذا و آب آزادانه بودند. مطالعه حاضر، دارای کد اخلاق (IR.ZAUMS.REC.2018.220) از دانشگاه علوم پزشکی زاهدان می‌باشد.

در ابتدا تعداد ۲۴ سر موش به طور تصادفی انتخاب شدند و به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب و پرکالری محقق ساخته (۱۲، ۱۳) تغذیه شدند. از طرفی، ۸ سر موش صحرایی تحت رژیم غذایی استاندارد قرار

میکروتیوب‌ها جمع‌آوری و جهت کاهش احتمال سوگیری در آزمایش‌ها کد گذاری گردید. برای سنجش و تعیین شاخص‌های خونی مورد نظر سرم تهیه شده از ۴ میلی لیتر خون استفاده شد. همه اندازه‌گیری‌ها طبق قرارداد بسته‌های مربوطه اجرا شد. نیمرخ لیپیدی توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون و به طریق آنزیمی اندازه‌گیری می‌شود. علاوه بر این از بسته‌های تجاری و به روش الیزا برای سنجش انسولین سرم (کیت شرکت Mercodia ساخت کشور سوئد به شماره کاتولوگ ۱۰-۱۲۵۰-۰۱ و حساسیت ۰/۱۵ نانوگرم/میلی لیتر) و آیریزین (بسته شرکت Sunlong Biotech ساخت کشور چین به شماره کاتولوگ SL0827Ra و حساسیت ۱ پیکوگرم/میلی لیتر) و درصد تغییرات درون آزمونی (۰/۱۵) استفاده شد. استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط تکنیک Real time PCR: برای جداسازی RNA از بافت عضله اسکلتی از ترایزول (شرکت Thermo Scientific)، از دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. سپس، RNA استخراج شده با استفاده از بسته DNaseI (شرکت Thermo Scientific)، از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. از نمونه‌ها، دو میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA به کار گرفته شد. در این پژوهش، برای سنتز cDNA از بسته cDNA synthesis شرکت TaKaRa) استفاده شد؛ بدین صورت که برای ساخت cDNA از آغازگر (پرایمر) زردوم هگزامرا استفاده شد. سطح بیان ژن PGC-1 $\alpha$  عضلانی با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. این روش به کمک پرایمر اختصاصی PGC-1 $\alpha$  انجام شد (جدول ۱). برای انجام Real time PCR، باید بهترین غلظت cDNA برآورد شود. بدین منظور، غلظت‌های مختلف cDNA بررسی شدند و در نهایت، غلظت مناسب برای Real time PCR در نظر گرفته شد. واکنش Real time PCR برای همه‌ی نمونه‌ها با استفاده از بسته SYBR Green PCR Master Mix شرکت TaKaRa) و دستگاه ABI Applied Biosystems ساخت کشور آمریکا با سه تکرار صورت گرفت. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، چرخه آستانه (Ct) هر نمونه به دست آمد و با استفاده از روش  $\Delta\Delta Ct$  2 تغییرات بیان ژن بررسی گردید.

قرارداد تمرین تداومی: تمرین تداومی شامل گرم کردن به مدت ۵ دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه؛ سپس دویدن با شدت ۶۵ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۷۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم؛ ۷۵ درصد سرعت بیشینه از هفته سوم به بعد و در پایان هر جلسه تمرین، ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه بود. زمان کل تمرین در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ دقیقه و از ابتدای هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود (۱۲).

پروتکل تمرین تناوبی: تمرین تناوبی شدید شامل گرم کردن به مدت ۵ دقیقه، سپس تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای (۲×۲) (به همراه یک دوره بازیافت فعال ۲ دقیقه‌ای بین هر تناوب) و سرد کردن (۵ دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه) بود. تناوب‌های با شدت بالا شامل ۲ دقیقه با ۸۰ درصد سرعت بیشینه در هفته اول؛ ۹۰ درصد سرعت بیشینه در هفته دوم؛ ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه از هفته سوم تا پایان تمرین بود، تکرار تناوب با شدت پایین (تناوب بازیافت) شامل دو دقیقه با شدت ۵۰ درصد بیشینه بود. تعداد تکرار تناوب با شدت بالا با توجه به هفته تمرینی موش‌های صحرایی تعیین می‌گردید. به صورتی که هفته اول، دو تکرار تناوب با شدت بالا؛ هفته دوم؛ چهار تکرار تناوب با شدت بالا؛ هفته سوم؛ شش تکرار تناوب با شدت بالا و از ابتدای هفته چهارم به بعد شامل هشت تکرار تناوب با شدت بالا بود. از این رو، زمان کل تمرین شامل تکرار تناوب با شدت بالا و با شدت پایین به همراه گرم کردن و سرد کردن در هفته اول ۱۶ دقیقه، در هفته دوم ۲۴ دقیقه، هفته سوم ۳۲ دقیقه و از ابتدا هفته چهارم به بعد ۴۰ دقیقه بود (۱۸).

**روش‌های آزمایشگاهی:** ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی و ۸ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی به وسیله تزریق درون صفاقی زایلانین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) و کتامین (۹۰ میلی گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند، خون‌گیری به میزان ۴ میلی لیتر مستقیماً از قلب حیوان صورت گرفت. بلافاصله پس از لخته شدن خون، توسط سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. سپس سرم‌ها در جدول ۱. توالی آغازگرها (پرایمرها)

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Products size (bp)
PGC-1 $\alpha$	CCCTGCCATTGTTAAGACC	TGCTGCTGTTCCGTTTTTC	161

پیرسون نیز برای بررسی رابطه بین متغیرها استفاده شد. محاسبات آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و در سطح معناداری  $P \leq 0/05$  انجام گردید.

### نتایج

در جدول ۲ میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای وابسته پژوهش گزارش شده است.

جدول ۲. میانگین و انحراف استاندارد شاخص های وزن، آیریزین، نیمرخ لیپید و بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در موش های صحرایی مبتلا به سندرم متابولیک

متغیر/گروه	کنترل سالم	کنترل سندروم متابولیک	تمرین تناوبی	تمرین تداومی
آیریزین (بیوگرم / میلی لیتر)	۳۳/۱۲±۴/۷۹	۲۰/۳۴±۶/۴۰	۳۸/۳۶±۶/۰۸	۳۵/۵۷±۵/۹۰
بیان ژن PGC-1 $\alpha$ عضلانی	۳/۱۵±۰/۶۰	۱/۶±۰/۸۱	۳/۶±۰/۲۵	۳/۴±۰/۲۲
کلسترول (میلی گرم / دسی لیتر)	۵۴/۰۲±۷/۲۶	۹۷/۱۳±۱۳	۷۰/۰۳±۸/۱۲	۷۲/۱۹±۸/۲۹
تری گلیسرید (میلی گرم / دسی لیتر)	۶۱/۱۳±۵/۰۹	۱۲۷/۵±۱۳/۵	۷۲/۱۳±۷/۲۷	۶۸/۲۰±۷/۴۵
LDL-C (میلی گرم / دسی لیتر)	۲۸/۹±۸/۴۸	۳۸/۱۰±۵/۲۴	۱۹/۰±۳/۰۸	۲۰/۱۳±۲/۸۸
HDL-C (میلی گرم / دسی لیتر)	۴۵/۵±۸/۵۲	۳۱/۳±۸/۵۰	۳۷/۲۵±۷/۶۲	۳۸/۱۳±۷/۷۵
گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)	۲۰۱/۳۱±۲۵/۳۷	۲۷۵/۳۲±۲۸/۱۸	۱۸۵/۷۲±۳۰/۰۲	۱۹۲/۳۱±۲۳/۱۶
انسولین (نانوگرم / میلی لیتر)	۲/۱±۰/۴۸	۴/۱±۰/۲۳	۳/۲۴±۰/۱۲	۳/۱۳±۰/۸۱
وزن (گرم)	۳۰۷/۳۳±۲۵/۷۷	۳۳۲/۳۵±۵۱/۸۹	۳۶۰/۲۳±۴۲/۱۴	۳۸۰/۴۰±۶۲/۷۴
	هفته اول			
	هفته هشتم			
	۳۱۷/۳۴±۴۸/۸۴	۳۹۵/۲۹±۴۲/۱۹	۳۴۵/۲۳±۲۳/۴۸	۳۶۸/۲۴±۲۵/۹۸

همچنین با توجه به آزمون ضریب همبستگی پیرسون تغییرات غلظت آیریزین با بیان ژن PGC-1 $\alpha$  رابطه مثبت معنادار دارد ( $r=0/8$ ,  $P=0/01$ ).

### بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین تداومی و تناوبی شدید بیان PGC-1 $\alpha$  و غلظت سرمی آیریزین را در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل سندروم متابولیک به طور معنادار افزایش داد و نتیجه جالب اینکه افزایش این دو شاخص در گروه تمرین تناوبی به طور معناداری بالاتر از گروه تمرین تداومی بود. همسو با نتایج پژوهش حاضر در مطالعه شیروانی و عرب زاده (۲۰۱۸) در مقایسه اثر دو شیوهی تمرین تداومی و تناوبی بر موش های صحرایی ویستار نتایج از افزایش شاخص های PGC-1 $\alpha$  و آیریزین در هر دو گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل حکایت داشت. در حالی که این افزایش در گروه تمرین تناوبی به طور معناداری

تحلیل آماری: به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای بررسی فرض برابری واریانس ها، از آزمون لون استفاده شد. پس از مشخص شدن طبیعی بودن توزیع داده ها و برقراری فرض برابری واریانس ها، به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها و مقایسه بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی و همچنین از آزمون همبستگی

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه اختلاف معنا داری بین سطوح PGC-1 $\alpha$  و آیریزین گروه های مختلف پژوهش متعاقب هشت هفته تمرین تداومی و تناوبی نشان داد ( $P=0/0001$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح PGC-1 $\alpha$  در گروه های تمرین تداومی ( $P=0/001$ )، تمرین تناوبی ( $P=0/01$ ) و کنترل سالم ( $P=0/02$ ) در مقایسه با گروه کنترل سندرم متابولیک، تفاوت معنا داری دارد و سطح این شاخص در گروه تمرین تناوبی نسبت به تمرین تداومی به طور معناداری بیشتر بود ( $P=0/01$ ).

علاوه بر این ها، نتایج آزمون توکی نشان داد که در گروه های تمرین تناوبی ( $P=0/01$ )، تمرین تداومی ( $P=0/001$ ) و کنترل سالم ( $P=0/001$ )؛ سطح آیریزین در مقایسه با گروه کنترل سندرم متابولیک، به طور معنادار بالاتر بود؛ همچنین بین دو گروه تمرینی هم تفاوت معناداری مشاهده گردید به گونه ای که میزان آیریزین در گروه تناوبی بیشتر از گروه تداومی بود ( $P=0/001$ ).

افزایش بنیان‌های آزاد ناشی از تمرینات تداومی و استقامتی از طریق مسیرهای وابسته به فسفات و کلسیم و و کالمودولین، موجب افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  می‌گردند (۲۱). به نظر می‌رسد تمرینات تداومی و تناوبی منظم، موجب رهایش کلسیم در پی انقباض عضلانی و فعال شدن کالمودولین و در ادامه باعث فعال شدن کلسی نورین و کالمودولین کیناز و کاهش شارژ انرژی درون سلولی می‌گردد، این امر باعث فعال شدن AMPK و SIRT1 و افزایش بیان و غلظت PGC-1 $\alpha$  می‌شود (۸، ۲۲). HIIT همچنین باعث تحریک فعالسازی گیرنده‌های  $\beta_2$  آدرنژیک توسط کاتکولامین‌ها می‌شود که منجر به افزایش cAMP و در نتیجه فعال شدن عوامل رونویسی (CREB پروتئین متصل به عناصر حساس به cAMP و در نهایت باعث افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  می‌شود (۲۳). در واقع، افزایش بیان و غلظت PGC-1 $\alpha$  شاید سازوکاری برای تعدیل جریان‌های متابولیکی در پاسخ به کاهش سطوح ATP و دگرگونی نیازهای سوختی ناشی از هر دو شیوه تمرینی تناوبی و تداومی است.

از سوی دیگر، پژوهش‌ها نشان داده افزایش PGC-1 $\alpha$  موجب افزایش پروتئین غشایی FNDC5 می‌شود. مولکول FNDC5 آزادشده از غشاء سلول‌های عضلانی شکسته شده و بخشی از آن با نام آیریزین وارد جریان خون می‌گردد (۵). مطالعات اخیر گزارش کرده‌اند مولکول آیریزین تولید شده به گیرنده‌های PPAR- $\alpha$  در سطح بافت چربی سفید متصل می‌شود و از طریق افزایش بیان این گیرنده‌ها قهوه‌ای شدن ادیپوسیت‌های سفید زیرپوستی را القا می‌کند (۵، ۶). علاوه بر این، مولکول آیریزین می‌تواند از طریق افزایش بیان PPAR- $\gamma$  موجب افزایش بیان UCP-1 در سطح بافت چربی سفید و افزایش محتوای میتوکندریایی این بافت و القای تبدیل آن به بافت چربی قهوه‌ای از طریق مسیرهای MAPK P38 و ERK گردد (۲۴). این عملکرد آیریزین با افزایش فعالیت متابولیکی بدن و افزایش مصرف انرژی در بدن و در نهایت کاهش وزن همراه می‌باشد که به عنوان نقش جدید آیریزین در درمان بیماری‌های متابولیکی در نظر گرفته می‌شود. همچنین، آیریزین می‌تواند با مهار پیام دهی آنزیم PI3K و افزایش بیان مولکول PTEN منجر به قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید گردد (۲۵).

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش حاضر رابطه مثبت و معنادار بین تغییرات غلظت آیریزین با بیان  $\alpha$ -PGC-1

بالاتر از گروه تمرین تداومی بود (۹). در پژوهش خلاقی و همکاران (۲۰۲۰) نیز ۱۲ هفته تمرین تداومی و تناوبی روی نوارگردان در موش‌های صحرایی چاق باعث افزایش غلظت آیریزین سرمی و بیان PGC-1 $\alpha$ ، UCP-1 و افزایش هزینه انرژی و بهبود تحمل گلوکز گردید و این تغییرات به طور معناداری در گروه تناوبی نسبت به گروه تداومی بیشتر بود (۱۹). از سویی متناقض با یافته‌های حاضر در پژوهشی که توسط نورشیم و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد، یافته‌ها بیانگر این بود که پس از ۱۲ هفته تمرین ترکیبی استقامتی و قدرتی توسط مردان غیرفعال سطوح آیریزین سرمی کاهش پیدا می‌کند (۱۰). همچنین، هو و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند هشت هفته تمرین تناوبی دوییدن تغییر معناداری در سطح آیریزین سرمی مردان جوان سالم فعال ایجاد نکرده است (۲۰). دلیل احتمالی ناهم‌سویی یافته‌های دو پژوهش فوق با یافته‌های پژوهش حاضر، تفاوت در نوع قرارداد ورزشی و سطح آمادگی جسمانی آزمودنی‌ها می‌باشد. به گونه‌ای که در پژوهش نورشیم و همکاران (۲۰۱۴) از آزمودنی‌های سالم و قرارداد تمرین ترکیبی با شدت ۶۵-۷۵ درصد ضربان قلب بیشینه و در پژوهش هو و همکاران (۲۰۱۲) نیز از آزمودنی‌های سالم و فعال و تمرین تناوبی دوییدن با شدت ۹۰ درصد ضربان قلب بیشینه استفاده شده است، در حالی که در پژوهش حاضر از موش‌های صحرایی مبتلا به سندرم متابولیک و غیرفعال و دو شیوه تمرینی تداومی با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد سرعت بیشینه و تمرین تناوبی با شدت ۱۰۰-۹۰ درصد سرعت بیشینه استفاده شده بود.

نتایج مطالعات حاکی است که به طور کلی فعالیت‌های ورزشی تداومی و تناوبی با سرعت و به طور چشمگیری بیان PGC-1 $\alpha$  را افزایش می‌دهد، اما این اثر گذرا است، زیرا هم mRNA و هم سطوح پروتئینی PGC-1 $\alpha$  به سرعت به مقادیر پیش از ورزش باز می‌گردد (۹، ۱۰).

سازوکارهای متعددی برای فعال سازی و بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در اثر تمرینات تداومی و تناوبی پیشنهاد شده است. یکی از مسیرهای پیام رسانی، مسیر AMPK / PGC-1 $\alpha$  / SIRT1 می‌باشد به گونه‌ای که بیان شده است حین تمرینات HIIT، سطح و عملکرد سیرتوئین ۱ (SIRT1) در اثر افزایش سطح NAD و فعالیت آنزیم‌های کیناز وابسته به AMPK افزایش می‌یابد که موجب تنظیم مثبت بیان PGC-1 $\alpha$  می‌گردد. علاوه بر این،

## منابع

- Saklayen M. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep.* 2018; 26: 20(2):12.
  - Stout MB, Justice JN, Nicklas BJ, Kirkland JL. Physiological aging: links among adipose tissue dysfunction, diabetes and frailty. *Physiol.* 2017; 32(1):9-19.
  - Wang N, Liu Y, Ma Y, Wen D. High-intensity interval versus moderate-intensity continuous training: Superior metabolic benefits in diet-induced obesity mice. *Life Sci.* 2017; 191: 122-131.
  - Baskaran P, Krishnan V, Fettel K, Gao P, Zhu Z, Ren J, et al. TRPV1 activation counters diet-induced obesity through sirtuin-1 activation and PRDM-16 deacetylation in brown adipose tissue. *Int J Obes.* 2017; 41: 739.
  - Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC-1 $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012; 481(7382): 463-468.
  - Aldiss P, Lewis JE, Lupini I, Bloor I, Chavoshinejad R, Boocock DJ, et al. Exercise training in obese rats does not induce browning at thermoneutrality and induces a muscle-like signature in brown adipose tissue. *Front Endocrinol.* 2020; 20: 11:97.
  - Lichtenbelt WD, Vanhommel JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med.* 2009; 360(15): 1500-8.
  - Afzalpour ME, Ghasemi E, Zarban A. Effects of 10 weeks of high intensity interval training and green tea supplementation on serum levels of Sirtuin-1 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1-alpha in overweight women. *Sci & Sports.* 2017; 32 (2): 82-90.
  - Shirvani H, Arabzadeh E. Metabolic cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue in high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training by regulation of PGC-1 $\alpha$ . *Eat Weight Disord.* 2018; 25(1):17-24.
  - Norheim F, Langlete TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* 2014; 281(3): 739-49.
  - Lu Y, Li H, Shen SW, Shen ZH, Xu M, Yang CJ, et al. Swimming exercise increases serum irisin level and reduces body fat mass in high-fat-diet fed Wistar rats. *Lipids Health Dis.* 2016; 15(1): 93.
  - Roštami A, Tadibi V, Behpoor N, & Ahmadiasl N. Comparison of the effects of eight-week endurance training, resistance and garlic extract supplementation on MDA and TAC in rats with metabolic syndrome. *Med J Tabriz Uni Med Sciences.* 2016; 38(4): 40-47. [In Persian]
- در موش‌های صحرایی بود. احتمالاً و بر همین اساس باید دلایل افزایش آیریزین در اثر تمرین ورزشی را در پیام‌های فعال کننده PGC-1 $\alpha$  جستجو کرد، از این رو عواملی که می‌توانند موجب فعالسازی PGC-1 $\alpha$  گردند، احتمالاً باعث راه اندازی آبشار پیام‌رسانی تغییر فنوتیپ بافت چربی نیز می‌شوند.
- نتایج این پژوهش نشان داد که هر دو شیوه تمرینی باعث افزایش معنادار بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و سطح سرمی آیریزین شده است، هر چند در تمرین تناوبی این تنظیم مثبت نسبت به تمرین تداومی معنادارتر بوده است. پژوهشگران عنوان کردند که تمرینات تداومی و تناوبی از طریق راه اندازی مسیرهای مختلفی، سبب افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و برخی مایوکاین‌ها از جمله آیریزین و فعال کردن PPAR $\alpha$ ، PPAR $\gamma$  در بافت چربی قهوه‌ای و PPAR $\beta$  در عضلات اسکلتی می‌گردد و متعاقب این تغییرات، سایز آدیپوسیت‌ها، اکسایش لیپیدی و اسیدهای چرب در دسترس میتوکندری و وزن چربی کاهش می‌یابد (۲۷، ۲۵، ۸). با این حال در پژوهش حاضر، عوامل پایین دستی PGC-1 $\alpha$  و آیریزین مانند PPAR، FNDC5 و UCP-1 به منظور تعیین دقیق مسیر پیام‌رسانی تمرینات تداومی و تناوبی سنجش نشده است؛ از این رو توصیه قطعی و مشخص نمودن دقیق مکانیسم‌های درگیر در این زمینه نیازمند مطالعات بیشتر در آینده می‌باشد.
- به طور کلی، می‌توان گفت که هر دو شیوه تمرینی تداومی و تناوبی از طریق افزایش بیان و تنظیم مثبت PGC-1 $\alpha$  و غلظت آیریزین و کاهش وزن در بهبود سلامت جسمانی مبتلایان به سندرم متابولیک مؤثر است، هر چند براساس نتایج پژوهش حاضر تمرین تناوبی نسبت به تمرین تداومی سودمندتر بوده است. براساس نتایج فوق، می‌توان تمرینات تناوبی شدید را به عنوان یک نوع ابزار اثربخش در کنترل هومئوستاتیک تعادل انرژی و وزن بدن و کنترل و درمان بسیاری از بیماری‌ها و اختلالات متابولیکی به کار گرفت.

## تشکر و قدردانی

از انستیتو پاستور و آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به دلیل کمک و همراهی در تهیه و نگهداری موش‌های صحرایی تشکر می‌شود. این مطالعه حامی مالی ندارد.



21. Chau MD, Gao J, Yang Q, Wu Z, Gromada J. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1 $\alpha$  pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107: 12553-12558.
22. Fathi A, Noorshahi M, Haghparast A, Hossini H. Effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of Wistar rats. *Sport and Exercise Physiology*. 2016; (16): 1277-1289. [In Persian]
23. Schnyder S, Handschin C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 $\alpha$ , myokines and exercise. *Bone*. 2015; 80: 115-125.
24. Yan M, Audet-Walsh É, Manteghi S, Dufour CR, Walker B, Baba M, et al. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1 $\alpha$ /ERR $\alpha$ . *Genes Dev*. 2016; 30: 1034-1046.
25. Schaalan MF, Ramadan BK, Abd Elwahab AH. Synergistic effect of carnosine on browning of adipose tissue in exercised obese rats; a focus on circulating irisin levels. *J Cell Physiol*. 2018; 233: 5044-5057.
26. Manio MCC, Matsumura S, Masuda D, Inoue K. CD36 is essential for endurance improvement, changes in whole-body metabolism, and efficient PPAR-related transcriptional responses in the muscle with exercise training. *Physiol Rep*. 2017; 5: 13282
27. Mohammadi P, Azizi M, Tahmasebi R. The effect of 8 weeks of exercise training in hypoxia and normoxia on irisin levels and insulin resistance index in overweight men. *Sport and Exercise Physiology*. 2020; 13(2):87-95. [In Persian]
13. Nakhaei H, Mogharnasi M, Fanaei H. Effect of swimming training on levels of asprosin, lipid profile, glucose and insulin resistance in rats with metabolic syndrome. *Obes Med*. 2019; 15(6):100111.
14. Lee MO. determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol*. 1929; 89(1): 24-33.
15. Chizuko H, Toshihide Y, Akinori K, Kanji Y, Akira Sh. Growth Hormone Administration Controls Body Composition Associated with Changes of Thermogenesis in Obese KK-AyMice. *Open Endocrinol J*. 2010; 4(1): 3-8.
16. Ghezzi AC, Cambri LT, Botezelli JD, Ribeiro C, Dalia RA, de Mello MA. Metabolic syndrome markers in wistar rats of different ages. *Diabetol Metab Syndr*. 2012; 4(1): 4-16.
17. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, & Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Applied Physiol*. 1979; 47(6): 1278-1283.
18. Chilibeck P, Bell G, Farrar R, Martin T. Higher mitochondrial fatty acid oxidation following intermittent versus continuous endurance exercise training. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998; 76(9): 891-894.
19. Khalafi M, Mohebbi H, Symonds M, Karimi P, Akbari A, Tabari E and et al. The Impact of Moderate-Intensity Continuous or High-Intensity Interval Training on Adipogenesis and Browning of Subcutaneous Adipose Tissue in Obese Male Rats. *Nutrients*. 2020; 12: 925.
20. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012; 61(12):1725-1738.