

علوم زیستی ورزشی - پاییز ۱۳۹۷
دوره ۱۰، شماره ۳، ص: ۳۱۵ - ۲۹۷
تاریخ دریافت: ۹۷ / ۰۲ / ۲۵
تاریخ پذیرش: ۹۷ / ۰۶ / ۱۲

تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تداومی با شدت متوسط بر محتوای میتوکندری و PGC-1 α چربی زیرپوستی در رت‌های نر چاق شده با رژیم غذایی پرچرب

موسی خلفی^۱ - حمید محبی^{۲*} - پوران کریمی^۳ - مهرسا فریدنیا^۴ - الما تبری^۵
۱. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲. استناد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴. دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزشی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده

هدف پژوهش حاضر، بررسی آثار تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MICT) بر محتوای میتوکندری و PGC-1 α چربی زیرپوستی در رت‌های نر چاق بود. ۴۰ سر رت نر پس از القای چاقی با رژیم غذایی پرچرب (به مدت ۱۰ هفته)، ۸ سر رت از گروه رژیم غذایی پرچرب (O) و ۸ سر رت گروه رژیم غذایی استاندارد (C) کشته شده و سایر رت‌های چاق به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل چاق (OC)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. برنامه HIIT شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵-۹۰ درصد VO_{2max} و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای و برنامه MICT با شدت معادل ۷۰-۶۵ درصد VO_{2max} با مسافت طی‌شده همسان با HIIT به مدت ۱۲ هفته و ۵ جلسه در هر هفته اجرا شدند. از روش وسترن بلات برای اندازه‌گیری PGC-1 α و از روش RT-PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن mtDNA استفاده شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA، ANCOVA و بونفرونی انجام گرفت و سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که HIIT و MICT به افزایش شایان توجه محتوی پروتئینی PGC-1 α و بیان mtDNA منجر شدند ($P < 0/05$) باین‌حال، HIIT اثرات بیشتری داشت ($P < 0/05$). به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد که HIIT و MICT به افزایش بیوژنز میتوکندری در چربی زیرپوستی منجر می‌شوند، درحالی‌که اثرات HIIT به‌طور چشمگیری بیشتر است.

واژه‌های کلیدی

بیوژنز میتوکندری، تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین تداومی با شدت متوسط، چاقی، مقاومت به انسولین.

مقدمه

چاقی به‌عنوان نتیجه عدم تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی، به‌طور گسترده‌ای در حال افزایش است و عامل خطرزای اصلی برای اختلالات پاتولوژیکی از جمله دیابت نوع دو و بیماری‌های قلبی عروقی است. فعالیت ورزشی منظم زیربنای اصلی درمان چاقی و پیشگیری از بیماری‌های مزمن متعددی است (۱)؛ با وجود این، مکانیسم‌های مولکولی واسطه‌ای تأثیرات مفید تمرین ورزشی به‌خوبی درک نشده است. کاهش محتوا و فعالیت میتوکندری با اختلالات عملکرد سلولی با چندین بیماری مرتبط است (۲). هرچند نقش میتوکندری در سلامت و بیماری هنوز مورد بحث است (۳)، به‌طور خاص فرض شده است که اختلالات میتوکندری ممکن است در پاتوژنز چاقی، مقاومت به انسولین و پیشرفت آنها در ابتلا به دیابت نوع دو نقش داشته باشد (۴). در واقع، مطالعات انجام‌گرفته در مدل حیوانی چاق نشان داده‌اند که میتوکندری بافت چربی سفید (WAT) دارای مورفولوژی تغییریافته (۵)، محتوا و فعالیت میتوکندریایی پایین (۶) است. در انسان نیز محتوا و فعالیت فسفوریلاسیون اکسیداتیو (OXPHOS) با چاقی کاهش می‌یابد (۷). همچنین، تعداد رونویسی DNA میتوکندریایی کمتر با دیابت نوع دو ارتباط دارد (۸).

نقش فعالیت منظم در درمان و پیشگیری از بیماری‌های متابولیکی مانند چاقی و دیابت نوع دو شناخته شده است (۱). تمرینات ورزشی سبب سازگاری در بافت‌های مختلف بدن، به‌ویژه بافت چربی می‌شود. در بافت چربی، تمرینات ورزشی با کاهش اندازه آدیپوسیت‌ها، کاهش محتوای چربی، افزایش آنزیم‌های درگیر در اکسیداسیون چربی (۹) و همچنین با افزایش سایتوکین‌های ضدالتهابی و کاهش سایتوکین‌های پیش‌التهابی همراه است. درحالی‌که مکانیسم‌های مسئول آثار مفید تمرین ورزشی کمتر شناخته شده است، تمرین‌های ورزشی به افزایش محتوای میتوکندری در هر دو عضله اسکلتی و بافت چربی منجر می‌شود (۱۰، ۱۱)، که احتمالاً نقش مهمی در کاهش تجمع لیپید، استرس اکسیداتیو و مقاومت به انسولین داشته باشد. در حمایت از این فرضیه، محتوای میتوکندری (عضله اسکلتی و بافت چربی) در چندین مدل از مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد (۱۲)، درحالی‌که رویکردهای ژنتیکی و درمانی که تراکم میتوکندری را افزایش می‌دهند، با بهبود حساسیت به انسولین همراه‌اند (۱۳). در مجموع، این گزارش‌ها نشان می‌دهد که راهبردهای مداخله‌ای که محتوای میتوکندری را افزایش می‌دهند، می‌تواند به‌ویژه در مدیریت و جلوگیری از توسعه مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو مفید باشد.

PGC-1 α ، از مهم‌ترین فاکتورهای رونویسی، تمایز آدیپوسیت‌های قهوه‌ای را تحریک می‌کند و با PPAR- γ و ژن‌های درگیر در هر دو فرایند آدیپوژنز و بیوژنز میتوکندری ارتباط دارد (۳۷). PGC-1 α علاوه بر تحریک اکسیداسیون اسیدهای چرب از طریق افزایش PPAR α (۱۴) و قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید از طریق تحریک UCP-1، مسئول اصلی برای بیوژنز میتوکندری به واسطهٔ فعال‌سازی NRF1/2 هسته‌ای و در پی آن افزایش بیان mtTFA (۱۵) است که به جابه‌جایی mtTFA به میتوکندری و تحریک بیان ژن mtDNA منجر می‌شود (۱۶). فعالیت ورزشی به افزایش تقاضای انرژی و در نتیجه افزایش AMP، غلظت Ca²⁺، گروه‌های فسفات آزاد (Pi) و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) درون سلولی منجر می‌شود (۱۷). این سوبستراها به فعال‌سازی برخی از سیگنال‌های درون سلولی از جمله پروتئین وابسته به کلسیم/کالمودولین (CaMK)، پروتئین کیناز فعال‌شونده با AMP (AMPK) و کیناز فعال‌شونده با میتوژن p38 (p38MAPK) منجر می‌شوند که نقش مهمی در تنظیم افزایشی فعالیت PGC-1 α و در پی آن بیوژنز میتوکندری دارند (۱۸). اگرچه عوامل مهمی در تنظیم سیگنالینگ‌های درون سلولی و تنظیم بیوژنز میتوکندری به واسطهٔ فعالیت ورزشی درگیرند، بیان شده است که شدت تمرین عاملی کلیدی است که تغییرات در عملکرد میتوکندری را تعدیل می‌کند. مطالعات انجام‌گرفته در مورد عضلهٔ اسکلتی انسانی نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی سبب افزایش پروتئین PGC-1 α می‌شود و تنظیم PGC-1 α به شدت تمرین حساس است (۲۱-۱۹). در همین زمینه، تمرین تناوبی با شدت بالا^۱ (HIIT) به‌عنوان یک فعال‌کنندهٔ قوی برای بیوژنز میتوکندری در عضلهٔ اسکلتی شناخته شده است که این اثر می‌تواند به واسطهٔ تحریک بیان PGC-1 α باشد (۲۲، ۲۰، ۱۹). اگرچه مطالعات قبلی تحریک وابسته به شدت فعالیت ورزشی در بیان PGC-1 α و بیوژنز میتوکندری در عضله اسکلتی را گزارش کرده‌اند (۲۲، ۲۰، ۱۹)، پاسخ PGC-1 α و بیوژنز میتوکندری در بافت چربی سفید به شدت‌های مختلف تمرین ورزشی شناخته نشده است. در سال‌های اخیر، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به‌عنوان یک مداخلهٔ ورزشی مؤثر شناخته شده است که می‌تواند منافع مشابه یا بیشتری از تمرینات تداومی با شدت متوسط^۲ (MICT) به‌همراه داشته باشد (۲۴، ۲۳). برای مثال، مداخلات HIIT اثرات مشابه با MICT در سازگاری‌های متابولیکی عضلهٔ اسکلتی، آمادگی قلبی عروقی و ترکیب بدن را نشان داده‌اند. همچنین مشخص شده است که HIIT می‌تواند آثار مفیدتری برای بهبود

-
1. High intensity interval training
 2. moderate-intensity continuous training

کنترل گلیسمی داشته باشد. با این حال، آنچه کمتر مورد توجه قرار گرفته، آثار HIIT و MICT بر بیوژنز میتوکندری بافت چربی سفید است. به نظر می‌رسد، HIIT و MICT ممکن است به پاسخ‌های متفاوتی در بیوژنز میتوکندری به واسطه پاسخ‌های متفاوت مکانیسم‌های بالادست از جمله AMPK و p38MAPK به شدت‌های مختلف تمرین ورزشی در بافت چربی سفید منجر شوند؛ فرضیه‌ای که به‌عنوان هدف پژوهش حاضر بررسی شد. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر دو نوع تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر محتوی میتوکندری و PGC-1 α در بافت چربی زیرپوستی رت‌های نر چاق است.

روش‌شناسی

۴۰ سر رت نر شش‌هفته‌ای با محدوده وزنی 120 ± 20 گرم از مرکز تحقیقات حیوانی انستیتو پاستور (کرج، ایران) خریدار شدند. حیوانات پس از انتقال به دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان در قفس‌های چهارتایی در شرایط استاندارد (چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت، دمای 25 ± 2) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمامی مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید و تغذیه با رژیم غذایی استاندارد، ابتدا رت‌ها در دو گروه غذای استاندارد (۸ سر) و رژیم غذایی پرچرب (۳۲ سر) به مدت ده هفته قرار گرفتند. در پایان مرحله اول (القای چاقی)، ۸ سر رت گروه رژیم غذایی استاندارد (C) و ۸ سر رت چاق از گروه رژیم غذایی پرچرب (O) برای بررسی اثر چاقی کشته شدند. در ادامه رت‌های چاق گروه رژیم غذایی پرچرب به‌طور تصادفی به سه گروه (هر گروه ۸ سر)، کنترل چاق (OC)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند و در ادامه رژیم غذایی استاندارد را مصرف کردند. رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین و رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود (۲۵). رت‌های گروه‌های HIIT و MICT به مدت دوازده هفته به اجرای برنامه تمرینی پرداختند. همچنین، گروه OC در طول این دوازده هفته هیچ نوع برنامه تمرینی را دریافت نکردند. رت‌های گروه‌های C و O پس از ده هفته مصرف رژیم غذایی و رت‌های گروه‌های HIIT، MICT و OC پس از دوازده هفته برنامه‌های تمرین با استفاده از ترکیب داروی

کتامین- زایلازین بی‌هوش شده و نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده (به‌طور مستقیم از قلب حیوان به میزان ۱۰ سی‌سی) در لوله‌های فاقد محلول EDTA ریخته شد. سرم نمونه‌های خونی با سانتریفیوژ جدا شد. سپس، بافت چربی زیرپوستی (از ناحیه کشاله ران) با دقت برداشته شده و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب منتقل و برای استفاده در ادامه مراحل آنالیز بیوشیمیایی به فریزر دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. همچنین، وزن بدن رت‌ها در طول مداخله هر هفته کنترل شد.

برنامه‌های تمرینی

پس از ده هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب، رت‌های هر دو گروه تمرینی (HIIT, MICT) یک هفته آشناسازی با دویدن بر روی نوار گردان را قبل از اجرای دوازده هفته تمرین ورزشی انجام دادند. برنامه‌های هم‌حجم‌شده HIIT و MICT به مدت دوازده هفته، هر هفته ۵ جلسه با شیب ۲۵ درجه براساس برنامه‌های تمرینی اصلاح‌شده توسط هافستاد و همکاران (۲۰۱۳، ۲۰۱۱) اجرا شد. برنامه HIIT شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۹۰-۸۵ درصد VO_{2max} و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰-۴۵ درصد VO_{2max} بود که به‌صورت پیش‌رونده تا هفته دهم سرعت نوار گردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم) سرعت نوار گردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوار گردان از ۱۷ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲۶ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. برنامه MICT با شدت معادل ۷۰-۶۵ درصد VO_{2max} بود که مسافت طی شده با برنامه HIIT همسان شد، به‌طوری‌که سرعت نوار گردان به‌صورت پیش‌رونده تا هفته دهم افزایش یافت و دو هفته پایانی حفظ شد (۲۶). بر این اساس، سرعت نوار گردان در هفته اول از ۱۲ متر بر دقیقه به ۱۶ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم) سرعت نوار گردان حفظ شد. همچنین، ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با شدت پایین در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرینی اجرا شد (۲۶).

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

اندازه‌گیری‌های سرمی: برای سنجش انسولین از روش الایزا ساندریجی با استفاده از کیت Insulin ELISA Kit از شرکت MyBioSource با حساسیت ۰/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر با شماره کاتالوگ MBS724709 مطابق با روش درج‌شده در بروشور کیت استفاده شد. همچنین گلوکز با استفاده از کیت

گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) به روش گلوکز اکسیداز با حساسیت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین نیز با روش مدل ارزیابی هومئوستاز (HOMA-IR) از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۲۷):

$$\text{HOMA-IR} = \frac{22.5}{\text{انسولین ناشتا (میکرو واحد بر میلی‌لیتر)} \times \text{گلوکز ناشتا (میلی‌مول بر لیتر)}}$$

وسترن بلات: برای استخراج پروتئین‌های بافت چربی زیرپوستی از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (PH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد SDS به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ROCHE) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند و سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری شد (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر درجه فریزر نگهداری شد. سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر (۵۰mM تریس-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشا به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام گرفت. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه PGC-1 α (SANTA CRUZ, sc-5815)، GAPDH (SANTA CRUZ, sc-32233)، goat anti-rabbit IgG- (SANTA CRUZ, sc-2005) و Goat anti-mouse (SANTA CRUZ, sc-2005) استفاده شدند.

تجزیه و تحلیل محتوای DNA میتوکندری: تعداد نسبی میتوکندری در بافت چربی زیرپوستی با اندازه‌گیری نسبت mtDNA:nDNA تعیین شد. مجموع DNA بافت چربی با استفاده از کیت بافتی DNAasy استخراج شد و سطوح نسبی mtDNA و nDNA با استفاده از پرایمرهای خاص GAPDH برای

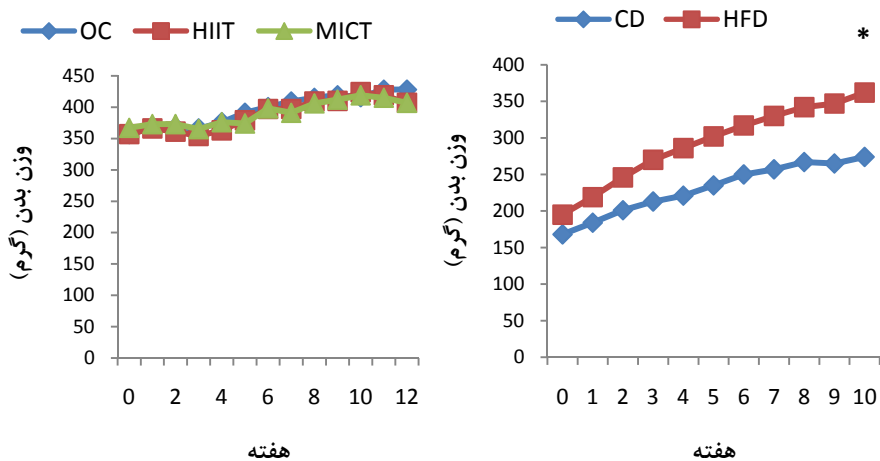
تشخیص cDNA و RNA 16S (RNr2) برای تشخیص mtDNA تعیین شد و نتایج به دست آمده به عنوان نسبت mtDNA:nDNA ارائه شد. میزان بیان ژن‌های مورد نیاز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد.

روش آماری

از میانگین و انحراف استاندارد برای گزارش توصیفی داده‌ها استفاده شد. پس از اینکه نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو ویلک تأیید شد، برای تعیین معنادار بودن تفاوت میانگین متغیرها (گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین، PGC-1 α و mtDNA) بین گروه‌های تحقیق، از آزمون‌های ANOVA و تست تعقیبی بونفرونی استفاده شد. همچنین به منظور مقایسه وزن رت‌ها در انتهای ۱۰ هفته رژیم غذایی و نیز انتهای برنامه‌های تمرینی از آزمون ANCOVA و تست تعقیبی بونفرونی استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ در سطح معناداری حداقل $P \leq 0/05$ تجزیه و تحلیل شد.

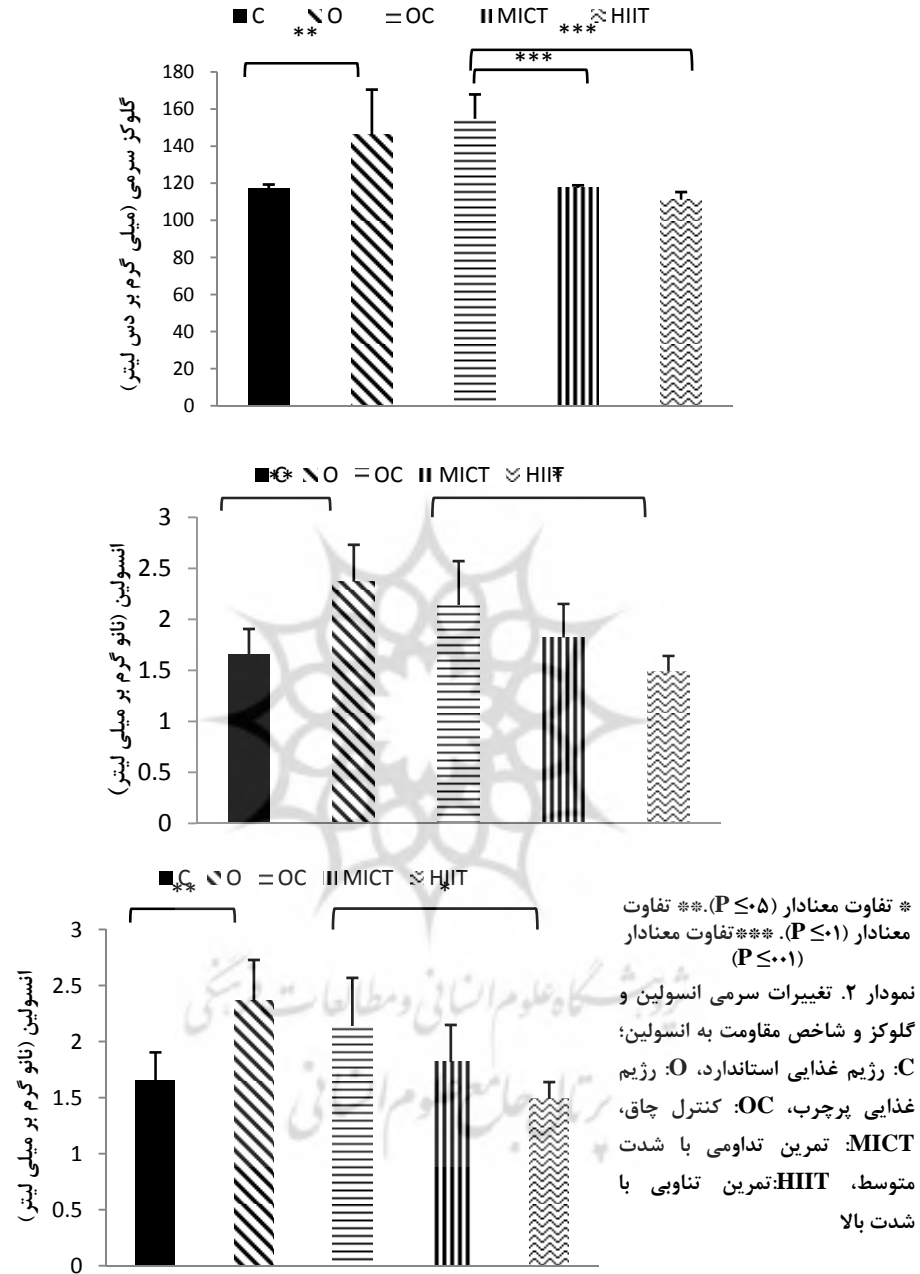
نتایج و یافته‌های تحقیق

اثرات چاقی و تمرینات ورزشی (HIIT و MICT) بر وزن بدن. میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف در طول مراحل چاق شدن و اجرای تمرینات ورزشی در نمودار ۱ آمده است. نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن رت‌ها به طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش می‌یابد، با این حال ده هفته رژیم غذایی پرچرب به افزایش بیشتر وزن بدن نسبت به رژیم غذایی استاندارد منجر شد ($P < 0/01$). مقادیر وزن بدن رت‌ها در گروه رژیم غذایی استاندارد از $168/13 \pm 13/30$ گرم به $274 \pm 12/80$ گرم و در گروه رژیم غذایی پرچرب از $193/53 \pm 18/44$ گرم به $362/25 \pm 21/14$ گرم رسید. در انتهای تحقیق، تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن گروه‌های HIIT (۵ درصد) و MICT (۶ درصد) نسبت به گروه OC به طور غیرمعناداری کمتر بود. همچنین تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرینی (HIIT و MICT) در انتهای تحقیق وجود نداشت ($F=1/31$, $P=0/29$).

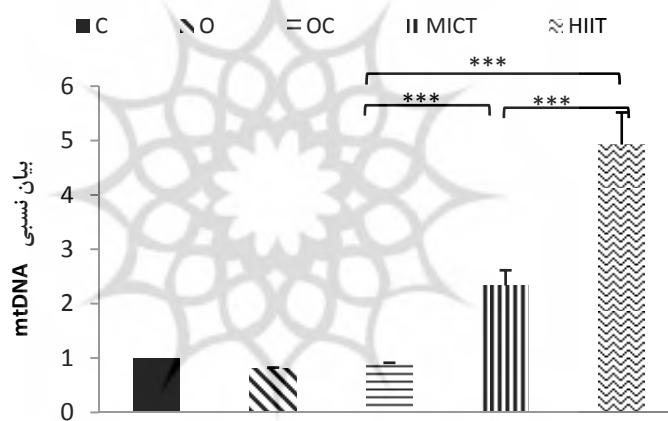


نمودار ۱. تأثیر تغذیه و تمرین بر وزن بدن رت‌ها؛ CD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاقی، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا

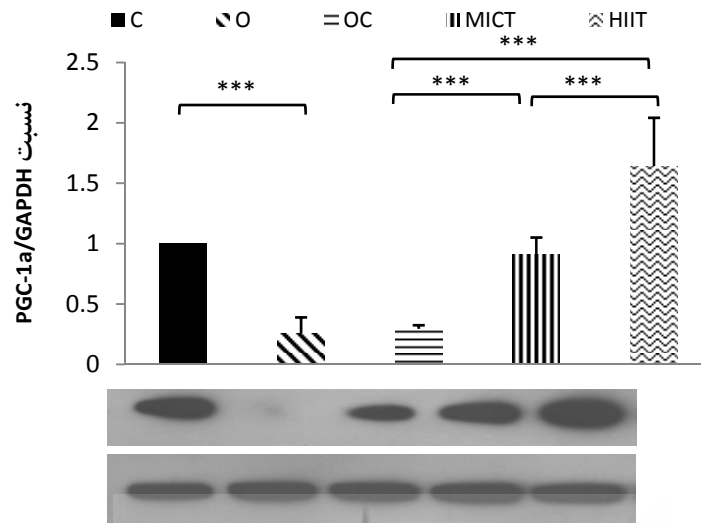
اثرات چاقی و تمرینات ورزشی (HIIT و MICT) بر سطوح انسولین و گلوکز سرمی و شاخص مقاومت به انسولین. سطوح گلوکز (۲۵ درصد) ($P=0/005$) و انسولین سرمی (۴۴ درصد) ($P=0/007$) و شاخص مقاومت به انسولین (۸۰ درصد) ($P=0/001$) در گروه O نسبت به گروه C به‌طور معناداری بالاتر بود. هر دو HIIT و MICT به کاهش چشمگیری در سطوح گلوکز (HIIT: ۲۸ درصد، MICT: ۲۴ درصد) ($P=0/001$, $P=0/001$) و شاخص مقاومت به انسولین (HIIT: ۴۹ درصد، MICT: ۳۴ درصد) ($P=0/01$, $P=0/001$) نسبت به گروه OC منجر شد. با این حال، کاهش انسولین (HIIT: ۳۰ درصد، MICT: ۱۴ درصد) ($P=0/018$, $P=0/093$) تنها در گروه HIIT نسبت به گروه OC معنادار بود و بین دو گروه تمرینی (HIIT و MICT) تفاوت معناداری در هیچ‌کدام از متغیرهای انسولین، گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین وجود نداشت ($P>0/05$) (نمودار ۲).



اثرات چاقی و تمرینات ورزشی (HIIT و MICT) بر mtDNA و PGC-1 α . به منظور بررسی تأثیر رژیم غذایی پرچرب و تمرینات ورزشی بر محتوای میتوکندری، بیان mtDNA به روش RT-PCR بررسی شد. پس از ده هفته، مقادیر بیان ژن mtDNA در گروه O نسبت به گروه C به طور غیر معناداری کاهش یافت ($P > 0.05$). بیان ژن mtDNA در هر دو گروه HIIT و MICT نسبت به گروه OC بیشتر بود ($P = 0.001$). مقایسه بین گروه‌های تمرینی نیز نشان داد که بیان mtDNA در گروه HIIT نسبت به گروه MICT به طور چشمگیری بیشتر بود ($P = 0.001$). نتایج داده‌های وسترن بلات برای PGC-1 α چربی زیرپوستی نشان داد که محتوای پروتئینی PGC-1 α در گروه O نسبت به گروه C به طور معنادار کمتر بود ($P = 0.001$)، در حالی که هر دو HIIT و MICT به افزایش معنی‌دار مقادیر پروتئینی PGC-1 α بافت چربی زیرپوستی منجر شدند. با این حال، مقادیر پروتئینی PGC-1 α در گروه HIIT نسبت به گروه MICT به طور معناداری بیشتر بود ($P = 0.001$).



* تفاوت معنادار ($P \leq 0.05$). ** تفاوت معنادار ($P \leq 0.01$). *** تفاوت معنادار ($P \leq 0.001$)
 نمودار ۳. تغییرات بیان ژن mtDNA؛ C: رژیم غذایی استاندارد، O: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا



* تفاوت معنادار ($P \leq 0.05$). ** تفاوت معنادار ($P \leq 0.01$). *** تفاوت معنادار ($P \leq 0.001$)
 نمودار ۴. تغییرات سطوح پروتئینی PGC-1α؛ C: رژیم غذایی استاندارد، O: رژیم غذایی پرچرب،
 OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا

بحث و بررسی

چاقی با اختلالات متابولیکی مهم از جمله گسترش مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو همراه است. در مقابل، تأثیرات مفید تمرین ورزشی بر چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن به خوبی شناخته شده است که ممکن است به واسطه آثار مفید تمرینات ورزشی بر بیوژنز و عملکرد میتوکندریایی باشد. یافته‌های اصلی ما در اولین مداخله نشان داد که چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب به کاهش چشمگیر محتوای پروتئین PGC-1α و همچنین کاهش غیرقابل توجه محتوای میتوکندری در چربی زیرپوستی منجر شد. در مقابل هر دو برنامه HIIT و MICT به افزایش شایان توجه محتوای میتوکندری و بیان پروتئین PGC-1α منجر شد، در حالی که تأثیرات HIIT به طور چشمگیری بیشتر بود. تمرین ورزشی به افزایش بیوژنز میتوکندری و محتوای آن در عضلات اسکلتی منجر می‌شود، اما در مورد تأثیرات تمرین بر این مسیر در بافت چربی مطالعات بسیار محدودی وجود دارد. PGC-1α، به عنوان فعال‌کننده همکار رونویسی، تنظیم‌کننده اصلی است که باعث تحریک قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید و بیوژنز میتوکندری در آدیپوسیت‌های سفید می‌شود (۲۸). این عامل، فعالیت NRF1 و ۲

(عوامل رونویسی) را تنظیم می‌کند که به کنترل بیان mtTFA (پروتئین کلیدی رونویسی میتوکندری) می‌انجامد که سبب تسریع تکثیر و انتشار ژن mtDNA می‌شود (۱۵). براساس نتایج پژوهش حاضر، کاهش شدید PGC-1 α و همچنین کاهش اندک mtDNA پس از چاقی ناشی از HFD در بافت چربی زیرپوستی، اهمیت PGC-1 α را در مقاومت به انسولین ناشی از چاقی نشان می‌دهد. در حمایت از یافته‌های پژوهش حاضر، مطالعات آزمایشگاهی نشان دادند که چاقی با رژیم غذایی پرچرب در موش صحرایی سبب اختلال هومئوستاز گلوکز می‌شود که با کاهش بیان PGC-1 α ، محتوای mtDNA در بافت چربی همراه بود (۲۹). علاوه بر این، بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی گزارش کرده‌اند که تمرینات ورزشی سبب افزایش بیان ژن و پروتئین PGC-1 α در عضلات اسکلتی و حتی بافت چربی می‌شود (۳۱، ۳۰). علاوه بر نقش PGC-1 α برای بیوژنز میتوکندری، شواهد اخیر نشان می‌دهد که PGC-1 α می‌تواند در قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید و افزایش ترموژنز از طریق افزایش محتوای UCP-1 کمک کند (۳۱، ۳۰). براساس نتایج مطالعه حاضر، تمرینات ورزشی راهبرد مناسبی را برای تحریک بیان PGC-1 α در نمونه‌های چاق فراهم می‌کند، درحالی‌که به‌نظر می‌رسد HIIT به‌عنوان یک فعال‌کننده قوی برای بیان PGC-1 α در بافت چربی باشد که قبلاً در عضله اسکلتی گزارش شده است (۲۰، ۱۹). شبکه‌های متعدد پیچیده‌ای از هورمون‌ها و مسیرهای سیگنالینگ درون‌سلولی در بیوژنز میتوکندری نقش دارند. AMPK و SIRT1 به‌عنوان دو تنظیم‌کننده بالادست برای سیگنالینگ PGC-1 α شناخته شده‌اند که با بیوژنز میتوکندری مرتبط‌اند (۳۲). یافته‌های مطالعات قبلی در این زمینه نشان می‌دهد که بیان mRNA SIRT1 و فعالیت AMPK بافت چربی در پی چاقی متوسط و شدید کاهش چشمگیری می‌یابد (۳۳). در مقابل، هر دو تمرین تناوبی و تداومی به فسفوریله شدن AMPK منجر می‌شوند که با افزایش بیان PGC-1 α همراه بود (۳۴). علاوه بر این، افزایش بیان PGC-1 α در پی تنظیم افزایشی SIRT1 پس از دوازده هفته تمرین ورزشی نیز گزارش شده است (۳۵). بنابراین، با توجه به پاسخ متفاوت AMPK و SIRT1 (به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بالادست PGC-1 α) به چاقی و تمرینات ورزشی، کاهش PGC-1 α و همچنین mtDNA در پی چاقی ممکن است در نتیجه کاهش فعالیت مسیر AMPK/SIRT1 باشد. در مقابل افزایش PGC-1 α و mtDNA در پاسخ به هر دو تمرین HIIT و MICT می‌تواند در نتیجه افزایش SIRT1 و فسفوریله شدن AMPK باشد. در توافق با نقش بالادستی AMPK و SIRT1 در تنظیم مقادیر PGC-1 α در عضله اسکلتی، شواهد اخیر نشان می‌دهد که AMPK (۳۶) و SIRT1 (۳۷) نقش مهمی در فعال‌سازی PGC-1 α در بافت چربی نیز دارد. AMPK، از طریق

سطوح ADP سلولی و SIRT1 از طریق سطوح NAD⁺ سلول تنظیم می‌شود (۳۶، ۳۷) که دو حس‌گر متابولیک داخل‌سلولی‌اند و بیان و فعالیت آنها هنگام کمبود ذخیره انرژی درون‌سلولی به‌وسیله تمرین افزایش می‌یابد. در واقع، AMPK از طریق فسفوریلاسیون و SIRT1 از طریق دآسیلاسیون به فعال‌سازی PGC-1 α منجر می‌شود. علاوه بر این، AMPK می‌تواند متابولیسم NAD⁺ و فعالیت SIRT1 را تقویت کند تا فعال‌سازی PGC-1 α را افزایش دهد (۳۸). بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر HIIT اثرات چشمگیری بر بیان mtDNA و PGC-1 α داشت که احتمالاً به‌واسطه کاهش بیشتر انرژی داخل‌سلولی در الگویی وابسته به شدت تمرین است. همان‌طور که قبلاً گزارش شده است فعالیت ورزشی در الگویی وابسته به شدت فعالیت به فسفوریلاسیون AMPK منجر می‌شود (۳۹) و مطالعات دیگر الگویی مشابهی را برای بیان PGC-1 α در عضله اسکلتی گزارش کردند که نشان‌دهنده تحریک بالاتر آن در پاسخ به HIIT است (۲۰، ۱۹). علاوه بر این، پروتئین سرکوب‌کننده تومور، p53، به‌تازگی به‌عنوان تنظیم‌کننده عملکرد میتوکندری شناخته شده که PGC-1 α دارای یک سایت پیوند با P53 در ناحیه پروموتور خود است (۴۰). عضلات اسکلتی موش‌های فاقد P53 دارای محتوای پایینی از پروتئین PGC-1 α و میتوکندری هستند (۴۰). در مقابل، مشخص شده است که فعالیت‌های انقباضی حاد سبب افزایش فسفوریلاسیون P53 از طریق افزایش AMPK و p38MAPK می‌شود (۳۴، ۴۰). با این حال، اخیراً گزارش شده که فعالیت P53 نیز به شدت فعالیت ورزشی وابسته است؛ به‌طوری‌که تنها تمرین تناوبی سرعتی (SIT) منجر به افزایش P53 می‌شود (۲۱). این افزایش در P53 به‌عنوان نشانگری برای فعالیت وابسته به شدت فعالیت ورزشی PGC-1 α شناخته شده است (۲۱). بنابراین، ممکن است اثرات بیشتر HIIT نسبت به MICT در افزایش بیان PGC-1 α و mtDNA وابسته به فعالیت P53 در گروه HIIT باشد. مطالعه حاضر برای اولین بار شواهدی را ارائه داد که تمرینات ورزشی می‌توانند موجب تحریک بیوژنز میتوکندری بافت چربی زیرپوستی در رت‌های چاق شوند؛ با این حال به‌نظر می‌رسد که این سازگاری‌ها به شدت تمرینات ورزشی وابسته است.

علاوه بر این، براساس یافته‌های پژوهش، وزن بدن رت‌ها به‌طور پیوسته در همه گروه‌ها افزایش داشته است، با این حال ده هفته رژیم غذایی پرچرب به افزایش بیشتر وزن بدن نسبت به رژیم غذایی استاندارد منجر شده بود. همچنین، چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش گلوکز و انسولین سرمی و گسترش مقاومت به انسولین شد. چاقی با انباشت چربی به شکل تری‌گلیسرید و افزایش اندازه آدیپوسیت‌ها مشخص می‌شود که در گسترش مقاومت به انسولین مشارکت دارد (۴۱). مطالعات

انجام گرفته قبلی نیز بزرگ شدن آدیپوسیت‌ها را به‌عنوان نشانگر مستقل برای مقاومت به انسولین گزارش کردند (۴۲). همچنین، مکانیسم افزایش مقاومت به انسولین در نتیجه چاقی می‌تواند ناشی از افزایش ذخیره‌سازی چربی در بافت‌هایی مانند کبد و عضله اسکلتی به‌دلیل اشباع آدیپوسیت‌ها از چربی (۴۳)، گسترش التهاب مزمن در بافت چربی به‌واسطه انباشت ماکروفاژها و افزایش سایتوکین‌های التهابی (۴۴) باشد. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، به‌نظر می‌رسد که چاقی با رژیم غذایی پرچرب موجب گسترش وضعیت التهابی و همچنین هایپرتروفی آدیپوسیت‌ها سبب گسترش مقاومت به انسولین شده است. دریافت بیش‌ازحد کالری با رژیم غذایی پرچرب با ایجاد آدیپوسیت‌های هایپرتروفی شده به گسترش مقاومت به انسولین می‌انجامد. بنابراین کاهش هایپرتروفی آدیپوسیت‌ها ممکن است به بهبود مقاومت به انسولین منجر شود. تمرین ورزشی به‌عنوان راهبردی مهم برای کاهش وزن بدن و اندازه آدیپوسیت (۴۳) و به همین ترتیب مکانیسم بالقوه برای مقاومت به انسولین با افزایش هزینه انرژی شناخته شده است. همسو با یافته‌های حاضر، بسیاری از مطالعات قبلی از بهبود مقاومت به انسولین در پاسخ به تمرینات تناوبی شدید (۴۵) و تمرینات تداومی با شدت متوسط (۴۵) حمایت می‌کنند، اگرچه برخی مطالعات نقش مؤثرتر تمرینات تناوبی با شدت بالا (۴۶) و برخی دیگر تمرینات تداومی با شدت متوسط (۴۷) بر بهبود مقاومت به انسولین را گزارش کرده‌اند. براساس یافته مطالعه حاضر، هر دو HIIT یا MICT به‌طور چشمگیری به بهبود مقاومت انسولین منجر شد که ممکن است به‌واسطه اثرگذاری بر اندازه آدیپوسیت‌ها باشد. همسو با این فرضیه، کاهش توده چربی، اندازه آدیپوسیت‌ها و همچنین بهبود مقاومت به انسولین در پی هشت هفته HIIT و MICT در موش‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب گزارش شده است (۴۸). همچنین، چاوانل و همکاران گزارش کردند که HIIT سبب بهبود سطوح گلیسمی ناشتا و HbA1c بدون تأثیر بر ترکیب بدن در موش‌های دیابتی می‌شود (۴۶). به‌نظر می‌رسد که هر دو HIIT و MICT ممکن است به‌واسطه بهبود در ترکیب بدنی، اندازه آدیپوسیت‌ها و مسیرهای مستقل از ترکیب بدنی به بهبود مقاومت به انسولین منجر شده است. تمرین ورزشی به‌عنوان ابزاری برای بهبود وضعیت اختلال گلیسمی و مقاومت به انسولین از طریق مکانیسم‌های کوتاه‌مدت (مستقل از انسولین) و بلندمدت (وابسته به انسولین) شناخته شده است. هر دو HIIT و MICT علاوه‌بر بهبود ترکیب بدنی و نیز کاهش توده چربی به‌ویژه چربی احشایی، موجب بیان چندین پروتئین کلیدی از جمله GLUT4 (۵۱) و آنزیم از جمله هگزوکیناز و گلیکوزن سنتاز (۵۲) در عضله اسکلتی برای افزایش جذب گلوکز و بهبود مقاومت به انسولین و در پی آن کاهش نیاز به افزایش

جبرانی انسولین می‌شوند. بنابراین، احتمالاً تغییرات وابسته به جذب و مصرف گلوکز در عضله اسکلتی در پاسخ به این دو نوع تمرین مکانیسمی دیگر برای بهبود مقاومت به انسولین و کاهش گلوکز سرمی باشند. ممکن است بهبود در عملکرد میتوکندری و همچنین بیوژنز میتوکندری به‌واسطه تمرین ورزشی دلیل دیگر بر بهبود مقاومت به انسولین باشد. به‌طوری‌که مطالعات قبلی در این زمینه تنظیم کاهش PGC-1 α را دلیلی بر توسعه مقاومت به انسولین گزارش کرده‌اند (۵۳). بنابراین، افزایش بیان PGC-1 α به‌واسطه تنظیم متابولیسم درون‌سلولی ممکن است به بهبود مقاومت به انسولین در نمونه‌های چاق منجر شده باشد.

در مجموع، علی‌رغم محدودیت‌های پژوهش حاضر از جمله عدم اندازه‌گیری دقیق توده چربی و همچنین AMPK و SIRT، مهم‌ترین یافته پژوهش حاضر برای اولین بار نشان داد که هر دو تمرین تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط منجر به افزایش بیان mtDNA و PGC-1 α چربی زیرپوستی می‌شوند که با چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب تنظیم کاهشی یافته بودند. علاوه بر این، تمرین تناوبی با شدت بالا آثار چشمگیری نسبت به تمرین تداومی با شدت متوسط بر بیان mtDNA و PGC-1 α داشت.

منابع و مآخذ

1. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25(S3):1-72.
2. Madamanchi NR, Runge MS. Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation research*. 2007;100(4):460-73.
3. Schiff M, Loublier S, Coulibaly A, Benit P, De Baulny HO, Rustin P. Mitochondria and diabetes mellitus: untangling a conflictive relationship? *Journal of inherited metabolic disease*. 2009;32(6):684-98.
4. Ukropcova B, Sereda O, De Jonge L, Bogacka I, Nguyen T, Xie H, et al. Family history of diabetes links impaired substrate switching and reduced mitochondrial content in skeletal muscle. *Diabetes*. 2007;56(3):720-7.
5. Cummins TD, Holden CR, Sansbury BE, Gibb AA, Shah J, Zafar N, et al. Metabolic remodeling of white adipose tissue in obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014;307(3):E262-E77.
6. Laye MJ, Rector RS, Warner SO, Naples SP, Perretta AL, Uptergrove GM, et al. Changes in visceral adipose tissue mitochondrial content with type 2 diabetes and daily voluntary wheel running in OLETF rats. *The Journal of physiology*. 2009;587(14):3729-39.

7. Heinonen S, Buzkova J, Muniandy M, Kaksonen R, Ollikainen M, Ismail K, et al. Impaired mitochondrial biogenesis in adipose tissue in acquired obesity. *Diabetes*. 2015;db141937.
8. Dahlman I, Forsgren M, Sjögren A, Nordström EA, Kaaman M, Näslund E, et al. Downregulation of electron transport chain genes in visceral adipose tissue in type 2 diabetes independent of obesity and possibly involving tumor necrosis factor- α . *Diabetes*. 2006;55(6):1792-9.
9. Trevellin E, Scorzeto M, Olivieri M, Granzotto M, Valerio A, Tedesco L, et al. Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms. *Diabetes*. 2014;63(8):2800-11.
10. Sutherland LN, Bomhof MR, Capozzi LC, Basaraba SA, Wright DC. Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue. *The Journal of physiology*. 2009;587(7):1607-17.
11. Larsen S, Danielsen J, Søndergård SD, Sjøgaard D, Vigelsoe A, Dybbøe R, et al. The effect of high-intensity training on mitochondrial fat oxidation in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25(1).
12. Chomentowski P, Coen PM, Radiková Z, Goodpaster BH, Toledo FG. Skeletal muscle mitochondria in insulin resistance: differences in intermyofibrillar versus subsarcolemmal subpopulations and relationship to metabolic flexibility. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(2):494-503.
13. Beaudoin M-S, Snook LA, Arkell AM, Simpson JA, Holloway GP, Wright DC. Resveratrol supplementation improves white adipose tissue function in a depot-specific manner in Zucker diabetic fatty rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2013;305(5):R542-R51.
14. Vega RB, Huss JM, Kelly DP. The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor α in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Molecular and cellular biology*. 2000;20(5):1868-76.
15. Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, Gallardo T, Isotani E, Bassel-Duby R, et al. Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK. *Science*. 2002;296(5566):349-52.
16. Hock MB, Kralli A. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. *Annual review of physiology*. 2009;71:177-203.
17. Baar K. Nutrition and the adaptation to endurance training. *Sports Medicine*. 2014;44(1):5-12.
18. Kang C, Li Ji L. Role of PGC-1 α signaling in skeletal muscle health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012;1271(1):110-7.
19. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates

- mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011;300(6):R1303-R10.
20. Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2013;38(3):326-33.
 21. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1 α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *The FASEB Journal*. 2015;30(2):959-70.
 22. Cochran AJ, Percival ME, Tricarico S, Little JP, Cermak N, Gillen JB, et al. Intermittent and continuous high-intensity exercise training induce similar acute but different chronic muscle adaptations. *Experimental physiology*. 2014;99(5):782-91.
 23. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of physiology*. 2008;586(1):151-60.
 24. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise and sport sciences reviews*. 2008;36(2):58-63.
 25. Evans CC, LePard KJ, Kwak JW, Stancukas MC, Laskowski S, Dougherty J, et al. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. *PloS one*. 2014;9(3):e92193.
 26. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2013;62(7):2287-94.
 27. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
 28. Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*. 1999;98(1):115-24.
 29. Sutherland LN, Capozzi LC, Turchinsky NJ, Bell RC, Wright DC. Time course of high-fat diet-induced reductions in adipose tissue mitochondrial proteins: potential mechanisms and the relationship to glucose intolerance. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*. 2008;295(5):E1076-E83.
 30. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463.
 31. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2009;106(3):929-34.

32. 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.
33. Qiang L, Wang L, Kon N, Zhao W, Lee S, Zhang Y, et al. Brown remodeling of white adipose tissue by SirT1-dependent deacetylation of Ppar γ . *Cell*. 2012;150(3):620-32.
34. Bartlett JD, Hwa Joo C, Jeong T-S, Louhelainen J, Cochran AJ, Gibala MJ, et al. Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 α mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 2012;112(7):1135-43.
35. Huang C-C, Wang T, Tung Y-T, Lin W-T. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1 α expression levels in rats of different age. *International journal of medical sciences*. 2016;13(4):260.
36. 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 α /ERR α . *Genes & development*. 2016;30(9):1034-46.
37. Andrade JMO, Frade ACM, Guimarães JB, Freitas KM, Lopes MTP, Guimarães ALS, et al. Resveratrol increases brown adipose tissue thermogenesis markers by increasing SIRT1 and energy expenditure and decreasing fat accumulation in adipose tissue of mice fed a standard diet. *European journal of nutrition*. 2014;53(7):1503-10.
38. Cantó C, Gerhart-Hines Z, Feige JN, Lagouge M, Noriega L, Milne JC, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature*. 2009;458(7241):1056.
39. Egan B, Carson BP, Garcia-Roves PM, Chibalin AV, Sarsfield FM, Barron N, et al. Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α mRNA abundance is associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2010;588(10):1779-90.
40. Saleem A, Adhietty PJ, Hood DA. Role of p53 in mitochondrial biogenesis and apoptosis in skeletal muscle. *Physiological genomics*. 2009;37(1):58-66.
41. Choe SS, Huh JY, Hwang IJ, Kim JI, Kim JB. Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in endocrinology*. 2016;7:30.
42. Lundgren M, Svensson M, Lindmark S, Renström F, Ruge T, Eriksson JW. Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and 'hyperleptinaemia'. *Diabetologia*. 2007;50(3):625-33.
43. Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal-and high-fat diet-fed rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;297(2):E495-E504.
44. Heilbronn LK, Campbell LV. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Current pharmaceutical design*. 2008;14(12):1225-30.
45. Iellamo F, Caminiti G, Sposato B, Vitale C, Massaro M, Rosano G, et al. Effect of High-Intensity interval training versus moderate continuous training on 24-h blood pressure

- profile and insulin resistance in patients with chronic heart failure. *Internal and emergency medicine*. 2014;9(5):547-52.
46. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific reports*. 2017;7(1):204.
47. Motiani KK, Savolainen AM, Eskelinen J-J, Toivanen J, Ishizu T, Yli-Karjanmaa M, et al. Two weeks of moderate-intensity continuous training, but not high-intensity interval training, increases insulin-stimulated intestinal glucose uptake. *Journal of Applied Physiology*. 2017;122(5):1188-97.
48. 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 sciences*. 2017;191:122-31.
49. Wallberg-Henriksson H, Holloszy J. Contractile activity increases glucose uptake by muscle in severely diabetic rats. *Journal of Applied Physiology*. 1984;57(4):1045-9.
50. Richter EA, Mikines K, Galbo H, Kiens B. Effect of exercise on insulin action in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*. 1989;66(2):876-85.
51. Bradley H, Shaw CS, Worthington PL, Shepherd SO, Cocks M, Wagenmakers AJ. Quantitative immunofluorescence microscopy of subcellular GLUT4 distribution in human skeletal muscle: effects of endurance and sprint interval training. *Physiological reports*. 2014;2(7):e12085.
52. Hood MS, Little JP, Tarnopolsky MA, Myslik F, Gibala MJ. Low-volume interval training improves muscle oxidative capacity in sedentary adults. *Medicine and science in sports and exercise*. 2011;43(10):1849-56.
53. Liang H, Ward WF. PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism. *Advances in physiology education*. 2006;30(4):145-51.