مجله دیابت و متابولیسم ایران. خرداد- تیر ۱۳۹۹؛ دوره ۱۹ (شماره ۵) ۲۸۰-۲۶۹

**مقاله پژوهشی**

# تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف کافئین بر بیان ژن PGC-1α در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

مرتضی خلیلی[۱]، عباس صادقی[۲*]، محمد جواد ملکی[۳]

## چکیده

**مقدمه:** رابطه‌ی بین بیان پایین PGC-1α و چندین بیماری متابولیکی نظیر دیابت و چاقی مشخص شده است. پژوهش حاضر به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف کافئین بر بایوژنز میتوکندری در عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌پردازد.

**روش‌ها:** در یک مطالعه‌ی حیوانی بالینی-مداخله‌ای ۵۰ سر موش صحرایی نر ویستار به ۵ گروه مساوی کنترل (C)، دیابتی (D)، دیابتی با مکمل (D+CAF)، دیابتی با تمرین (D+T)، دیابتی با مکمل و تمرین (D+CAF+T) تقسیم شدند. برنامه‌ی تمرین شامل هشت هفته، هفته‌ای ۵ جلسه (٦ تا ۱۲ وهله ۲ دقیقه‌ای با شدت ۹۰ -۸۵ درصد سرعت ماگزیمم) بود و هفته‌ای پنج روز ۷۰mg/kg کافئین به‌صورت هیدراته تزریق شد. برای سنجش میزان گلوگز خون مستقیماً از بطن چپ قلب جمع‌آوری شد؛ و عضله‌ی نعلی پای چپ استخراج و به روش وسترن بلات میزان PGC-1α آن مورد سنجش قرار گرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون‌های t مستقل، تحلیل واریانس دو راهه و مجذور اتا در سطح معناداری (P<0.05) استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که القای دیابت باعث افزایش معنی‌دار گلوگز خون (P<۰/۰۱) و کاهش معنی‌دار میزان mRNAPGC-1α (P=۰/۰۰۲) گردید. همچنین، هم تمرین تناوبی با شدت بالا (p=۰/۰۰۱) و هم مصرف مکمل کافئین (p =۰/۰۳) موجب افزایش معنی‌دار mRNAPGC-1α شدند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این تحقیق، احتمالاً بتوان اجرای تمرینات HIIT و مصرف کافئین را به‌عنوان یک مداخله‌ی مؤثر در افزایش بایوژنز میتوکندری در افراد دیابتی پیشنهاد داد. هر چند اظهار نظر صریح در این مورد مستلزم انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی شدید، کافئین، دیـــابت، PGC-1α

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، موسسه آموزش عالی علامه قزوینی، قزوین، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم اجتماعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

۳- مرکز پزشکی ورزشی دکتر جواد ملکی، تهران، ایران

* ***نشانی***: قزوین، بلوار شهید سردار سلیمانی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، دانشکده‌ی علوم اجتماعی، گروه علوم ورزشی، کدپستی: ۳٤۱٤۸۹٦۸۱۸، تلفن:۰۲۸۳۳۹۰۱۷۸۲، نمابر: ۰۲۸۳۳۷۸۰۰۸٤، پست الکترونیک sadeghi@soc.ikiu.ac.ir

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲** **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۰۴/۰۹** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۵**

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

## مقدمه

دیابت از شایع‌ترین بیماری‌های غددی در جهان است که عامل حدود ٤ میلیون مرگ و میر در سال قلمداد می شود [۱]. عضله‌ی اسکلتی برای انجام تحرک و سایر فعالیت‌های روزمره ضروری است و می‌تواند با تحریک انسولین ۷۰ تا۹۰ درصد از بار گلوکز خون را کاهش دهد [۲]. مشخص شده که مقاومت به انسولین در عضله‌ی اسکلتی به سبب مختل شدن متابولیسم اسید چرب در اثر اختلال در سیگنالینگ انسولین به‌وجود می‌آید [۳]. بنابراین، کاهش ظرفیت اکسیداسیون چربی و نیز کاهش متابولیسم میتوکندری زمینه‌ساز گسترش مقاومت به انسولین ناشی از چربی است [٤]. اختلال در عملکرد میتوکندری به‌عنوان سازوکار مهم ارتباط بین چاقی با سایر بیماری‌های متابولیکی از جمله دیابت و مقاومت به انسولین شناخته شده است [۵].

یکی از ژن‌های کنترل‌کننده متابولیسم peroxisome (PGC-1α) proliferator activated receptor gamma coactivator 1-alpha است؛ که به‌عنوان یکی از تنظیم کننده‌های رونویسی در نقش حسگر متابولیکی عمل می‌کند و به‌دنبال تغییرات در متابولیسم، به تغییرات بیان ژن منجر می‌شود. هرگونه اختلال در متابولیسم و تعادل بین انرژی دریافتی، مصرفی و ذخیره موجب بروز اختلالات متابولیکی نظیر سندروم متابولیک، چاقی و دیابت می‌شود [٦]. PGC-1α یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی بایوژنز میتوکندری، متابولیسم اکسایشی و همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی است. خانواده PGC-1 با فعال کردن عوامل رونویسی مثل عوامل تنفسی هسته‌ای ۲ (NRF-1/2) و گیرنده آلفای وابسته به استروژن (ERR-α)، بایوژنز میتوکندری را تنظیم می‌کند که پروتئین‌های میتوکندری کدگذاری شده توسط DNA هسته‌ای را بیان می‌کنند [۷]. همچنین PGC-1α تعدیل‌کننده تعداد زیادی ژن در مسیرهای متابولیسم از جمله گلوکونئوژنز، گلیکولیز و اکسایش اسیدهای چرب است [۸]. این پروتئین در بافت‌های چربی قهوه‌ای، قلب، عضله‌ی اسکلتی، کلیه، مغز و همه بافت‌های اکسایشی بیان می‌شود و تحت تأثیر فعالیت ورزشی، بیان آن در عضله‌ی قلبی و اسکلتی افزایش می‌یابد [۹].

ارتباط بین کاهش سطحPGC-1α با افزایش سطح انسولین ناشتا و نیز افزایش نمایه‌ی توده‌ی بدنی در افراد مستعد به دیابت مشاهده شده است [۱۰]. بنابراین، به‌نظر می‌رسد PGC-1α نقش مهمی در علت مقاومت به انسولین در ماهیچه‌های اسکلتی انسان دارد. این ارتباط با این واقعیت تقویت می‌شود که در مدل‌های حیوانی منتخب مقاوم به انسولین و مبتلا به دیابت، PGC-1α کاهش می‌یابد [۱۱]. در این خصوص، در عضلات بیماران مبتلا به دیابت و نیز افراد بدون علامت با سابقه‌ی خانوادگی دیابت نوع دو، به‌طور میانگین ۲۰تا ۳٦ درصد کاهش بیان mRNA PGC-1α مشاهده شده است [۱۲].

در پاسخ به برخی از شرایط محیطی، میتوکندری دچار تغییرات مورفولوژیکی و عملکردی شدید می‌شود. برای مثال، ورزش، میوژنز و قرار گرفتن در معرض سرما باعث تحریک بایوژنز میتوکندری در عضلات اسکلتی می‌شود [۱۳]. به گونه‌ای که بیان این پروتئین به شدت تحت تأثیر فعالیت ورزشی بوده و با بی‌تحرکی کاهش می‌یابد [١٤]. برخی محققین نشان داده‌اند که mRNA PGC-1α و ژن‌های مرتبط با آن با حداکثر اکسیژن مصرفی (V̇o2max) ارتباط مستقیمی دارد و در این مورد کاهش mRNA PGC-1α ناشی از عدم تحرک"شبیه به حالت دیابت" در عضلات این افراد دیده می‌شود [۱۵].

بیش از دو دهه مطالعات متعدد، فواید ورزش و انقباض عضلانی را در بهبود حساسیت به انسولین در جوندگان و انسان نشان داده‌اند و اشاره شده که ورزش می‌تواند بر ظرفیت‌های متابولیکی عضله‌ی اسکلتی مانند بیان PGC-1α تاثیرداشته باشد و باعث افزایش عملکرد میتوکندری و ظرفیت‌های متابولیکی شود [١٦]. یک مطالعه‌ی آینده‌نگر به‌طور قاطع نشان داد که یک برنامه‌ی تمرین ورزشی ۳ ساله با شدت متوسط (۱۵۰ دقیقه پیاده‌روی سریع در هفته) علاوه بر کاهش وزن متوسط (۷ درصد یا ۵/٦ کیلوگرم) به‌طور قابل‌توجهی شیوع دیابت نوع دو را کاهش می‌دهد [۱۷]. با کشف PGC-1α و تأثیرات شبه ورزشی آن بر متابولیسم عضلات و متعاقبش کشف PGC-1β، ( یک همولوگ PGC-1α)، توجه چشمگیری به این موضوع که آیا این کواکتیواتورها نقش مهمی در حساسیت به انسولین عضلات اسکلتی دارند یا خیر معطوف شده است [٦].

همچنین، کافئین (۷ ،۳ ،۱ تری متیل گزانتین) به‌عنوان یک آلکالوئید خوراکی موجود در قهوه با بلورهای سفید و فرمول شیمیایی (C8H10N4O) باعث بلوکه کردن گیرنده‌های

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

آدنوزینی، افزایش آدنوزین مونوفسفات حلقوی، کاهش تولید بنیان‌های آزاد، پروستاگلاندین‌ها، عوامل التهابی و سایتوکین های پیش التهابی می‌شود و یکی از سازوکارهای ضدالتهابی آن، توانایی اش در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد است [۱۸].

مسیرهای عمده‌ی تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن حین انجام انواع فعالیت‌های ورزشی شامل زنجیره‌ی انتقال الکترونی، مسیرگزانتین و گزانتین اکسیداز و انفجار تنفسی- نوتروفیلی است. نتایج مطالعات آزمایشگاهی حاکی است که خاصیت محافظت‌کنندگی کافئین در غلظت‌های میلی مولار در برابر پراکسیداسیون لیپیدی مشابه ضداکسایندهای زیستی چون گلوتاتیون و حتی بیشتر از اسیداسکوربیک است [۱۹]. همچنین اذعان شده است که محرک‌های عصبی مرکزی مانند کافئین احتمالاً با افزایش فسفوریلاسیون AMPK و همچنین تجمع cAMP که CREB را فعال می‌کند می‌توانند در نهایت منجر به افزایش بیان PGC-1α شوند [۲۰].

اگر چه تاکنون در مورد فعالیت‌های بدنی و بیان ژن PGC-1α و بایوژنز میتوکندری تحقیقات اندکی انجام شده است؛ اما در مورد زمان و شدت آن‌ها و این که کدام نوع تمرین می‌تواند عوامل یادشده را بیشتر تحت تأثیر قرار دهد اتفاق نظری وجود ندارد. همچنین در مورد تأثیر هم‌زمان مصرف کافئین و تمرینات تناوبی شدید بر بیان PGC-1α در فرآیند بایوژنز میتوکندری تاکنون تحقیقی انجام نشده است لذا این پژوهش در نظر دارد تا به این سؤال که آیا هشت هفته تمرین تناوبی شدید و مصرف کافئین تأثیری بر بیان PGC-1α و بایوژنز میتوکندری در عضله‌ی نعلی رت‌های مدل دیابتی دارد یا خیر؟ پاسخ دهد.

## روش‌ها

### حیوانات آزمایشگاهی

پژوهش حاضر از نوع مطالعات حیوانی بالینی- مداخله‌ای و بخشی از یک پروژه‌ی تحقیقاتی در قالب یک طرح پس‌آزمون دوعاملی است. درضمن، کلیه‌ی مراحل تیمار موش‌های صحرایی و آزمایش‌های تجربی نیز در محل آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام گردید. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد مصوب مؤسسه آموزش عالی علامه قزوینی با توجه به مجوز مورخ ۱۳۹۷/۸/۲۳ کمیته‌ی اخلاق مؤسسه‌ی آموزش عالی علامه قزوینی و با کد اخلاق (۱۰۱۲/ ک ا / ۱۳۹۷:Code) کمیته‌ی اخلاق این دانشگاه است. در این مطالعه اصول و کدهای اخلاق در پژوهش و مفاد بیانیه هلسینکی و کلیه‌ی موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شده است. با توجه به شرایط مناسب مدل حیوانی برای مطالعه حاضر، ۵۰ سر موش صحرایی نر سفید سه ماهه ویستار از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و به روش تصادفی به پنج گروه مساوی ۱۰ تایی به شرح زیر گروه‌بندی شدند: ۱-گروه کنترل سالم (C) ۲-گروه کنترل دیابتی (D) ۳-گروه دیابتی + مکمل (D+CAF) ٤-گروه دیابتی+تمرین (D+T) و ۵-گروه دیابتی + تمرین + مکمل (D+T+CAF).

به‌منظور ایجاد حالت سازش با محیط، جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی، آزمودنی‌ها در محیط آزمایشگاهی ویژه حیوانات با دارا بودن شرایط دمای ۲±۲۰ درجه‌ی سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵±۵۰٪، با کمترین سروصدا و چرخه‌ی روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته به‌صورت ۳ تا ۵ عدد موش در هر قفس از جنس پلی کربنات شفاف باقابلیت اتو کلاو قرار گرفتند. در طی این دوره دوماهه تمامی حیوانات به آب و غذای استاندارد حیوانی (پلت تهیه‌شده از شرکت خوراک سازان اصفهان) که به‌صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت‌شده بود، دسترسی آزاد داشتند. لازم به ذکر است که نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی و تمامی اعمال انجام شده روی حیوانات، مطابق دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورالعمل هلسینکی بود.

### روش دیابتی کردن موش‌ها

پس از گذشت دو هفته از شرایط سازگاری موش‌ها با محیط آزمایشگاه، برای القای دیابت نوع دو، طبق روش مطالعات موجود، دو هفته مصرف غذای پرچرب (٤۵٪ چربی، ۲۱٪ پروتئین و ۳٤٪ کربوهیدرات) که توسط محققان و با همکاری شرکت خوراک سازان اصفهان تهیه گردید و سپس تزریق درون صفاقی (IP) استرپتوزوتوسین (شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا) در یک دوز ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار (PH=٤/٥) بعد از شش ساعت ناشتایی به‌صورت تک وهله‌ای اعمال شد [۲۱]. برای گروه کنترل سالم و دیابتی (بدون مکمل و بدون تمرین) نیز همان مقدار سرم فیزیولوژیک برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با گروه‌های دریافت‌کننده مکمل تزریق شد. یک هفته پس از روش دیابتی کردن، میزان گلوکز نمونه خونی از ورید دمی حیوان جمع‌آوری و با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز بررسی و غلظت گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر به‌عنوان موش‌های صحرایی دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین وارد تحقیق شدند. به‌منظور کنترل بیشتر، وزن موش‌های صحرایی در مراحل مختلف تحقیق توسط ترازوی دیجیتالی انجام شد (جدول ۱).

**تیمار با مکمل کافئین**

سطح منحنی‌های جذب و فراهمی زیستی کافئین براساس غلظت-زمان،۱ (AUC) در بین انسان و موش مشابه است. به‌گونه‌ای که در مدت زمان تقریباً یک ساعت پس از مصرف مقادیر بالای ۱۰ میلی‌گرم، معمولاً ۹۹٪ از مقادیر مصرفی در طی ٤٥ دقیقه جذب شده و این مقادیر نیز در یک اثر وابسته به دوز است [۲۲]؛ بنابراین، برای ارتقاء سطوح کافئین پلاسمایی در طی فعالیت در تحقیق حاضر نیز، کافئین ٦۰ دقیقه قبل از انجام پروتکل تمرینی تزریق شد. طریقه‌ی تیمار با کافئین بدین شکل بود که پودر کافئین خالص تهیه شده از شرکت مرک آلمان با شماره مجوز (۲۵۱۸۳۵۹٤۳۵۵۷۱۰۲۰) از سازمان غذا و دارو، ۵ روز در هفته قبل از پروتکل تمرینی با توجه به وزن بدن حیوان به‌صورت کافئین هیدراته و تزریق درون صفاقی (IP) صورت گرفت (١٤ میلی‌گرم کافئین به ازای هر ۲۰۰ گرم از وزن بدن موش محلول در سالین ۰,۹ گرم درصد NACL).

**پروتکل تمرینی (HIIT)**

در ابتدا نمونه‌های تحقیق، بجز گروه‌های C و D، به‌مدت هفت روز تحت برنامه‌ی آشنایی با نحوه‌ی فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. در طی این دوره، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۱۵-۱۰ دقیقه در روز بود. همچنین، برای گروه‌های C و D که در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیتی شرکت نداشتند، برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با گروه‌های تمرینی، ۵ روز در هفته به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند. قبل از اجرای پروتکل تمرینی، آزمون رسیدن به واماندگی برای محاسبه‌ی بیشینه سرعت موش‌ها انجام گرفت. به‌طوری‌که سرعت دویدن با ۱۰ متر بر دقیقه شروع شد و تا زمان واماندگی موش‌ها ادامه یافت. در هر دو دقیقه یک‌بار، سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به آن اضافه شد. زمان خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی نوار گردان باوجود ایجاد شوک الکتریکی مشخص شد. آزمودنی های دو گروه تمرینی تحقیق حاضر (دیابتی با تمرین و دیابتی با تمرین و مکمل) برای ۵ روز در هفته (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه و پنج‌شنبه) و به‌مدت هشت هفته در محدوده‌ی ساعت ۱۸-۱٦ عصر بر روی نوار گردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کردند. روش تمرین HIIT شامل سه مرحله‌ی گرم کردن، بدنه‌ی اصلی تمرین و سرد کردن بود. تمرینات در مرحله‌ی گرم و سرد کردن به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه (برابر با شدت ٤۰-۳۰٪ VO2max) برای موش‌ها در نظر گرفته شد. بدنه‌ی اصلی تمرین نیز برابر با شدت ۹۰-۸۵٪ سرعت بیشینه در ٦ تا ۱۲ وهله (هر هفته یک نوبت به وهله‌های فعالیتی حیوانات اضافه شد) بود. به‌علاوه، تناوب‌های یک‌دقیقه‌ای استراحت فعال که شامل دویدن‌های ادامه‌دار روی نوار گردان با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بود در میان وهله‌های فعالیتی اعمال شد (جدول ۱). همچنین، گروه کنترل سالم که در هیچ‌گونه برنامه‌ی فعالیتی شرکت نکرده بود، برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با سایر گروه‌های تمرینی، ۵ روز در هفته به‌مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوار گردان بی‌حرکت قرار داده شدند. به‌منظور تحریک موش‌ها برای دویدن نیز از محرک الکتریکی با ولتاژ کم که در قسمت عقبی نوار گردان تعبیه‌شده، استفاده شد [۲۳].

2- Area under the curve

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

**جدول ۱- برنامه هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا روی نوارگردان**

| | هفته‌های تمرین | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | اول | دوم | سوم | چهارم | پنجم | ششم | هفتم | هشتم |
| **تعداد تکرارهای دویدن دو دقیقه‌ای** | ٦ | ٧ | ٨ | ٩ | ١٠ | ١١ | ١٢ | ١٢ |
| **میانگین سرعت نوارگردان (متر/دقیقه)** | ٢٤ | ٢٧ | ٣٠ | ٣٣ | ٣٦ | ٣٩ | ٤٤ | ٤٤ |
| **سرعت برگشت به حالت اولیه فعال (متر/دقیقه)** | ١٠ | ١٠ | ١٠ | ١٠ | ١٠ | ١٠ | ١٠ | ١٠ |
| **شیب نوارگردان (درصد)** | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ | ٠ |

**نمونه‌گیری خونی و آنالیز آزمایشگاهی**

تمامی موش‌های صحرایی، ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی و پس از ١٢ تا ١٤ ساعت ناشتایی، با تزریق داخل صفاقی کتامین (٩٠ mg/kg) و زایلازین (١٠ mg/kg) به روش بدون درد توسط متخصصین کارآزموده بی‌هوش و جراحی شدند و پس از آن بخش اعظم خون (حدود ٥-٤ سی‌سی) مستقیماً از بطن چپ قلب جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون به‌منظور تهیه سرم با دستگاه سانتریفیوژ به مدت ١٥ دقیقه با ٣٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آن‌ها جدا شد. سپس سرم حاصل تا زمان آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر و در دمای (٨٠ -) درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. میزان گلوکز ناشتا با روش کالری متری آنزیمی با فناوری گلوکزاکسیداز با استفاده از کیت گلوکز (شرکت یاخته پژوهان سارای-ایران) اندازه‌گیری شد.

**وسترن بلات**

بعد از قربانی کردن رت‌ها بلافاصله عضله‌ی نعلی پای چپ آن‌ها استخراج و در سرم فیزیولوژیک شستشو و جهت انجام آزمایش‌های سلولی مولکولی بلافاصله در تانک ازت فریز شده و در فریزر منهای ٨٠ درجه‌ی سانتی گراد نگه‌داری شد. برای استخراج پروتئین‌های عضله‌ی از بافر RIPA حاوی ٠/٠٥ میلی مولار بافر تریس ١٥٠ مولار کلرید سدیم ٠/١ درصد، EGTA، یک درصد SDS به اضافه ٠/١ درصد آنتی پروتئاز کوکتیل (ROCHE) استفاده شد. به این نحو که ١٠٠ میلی‌گرم بافت در ٥٠٠ میکرو لیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز با یک هموژنایزر دستی هموژنیزه و نیم ساعت در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شدند و سپس به‌مدت ١٠ دقیقه سانتریفوژ شد، بعد از سانتریفوژ کردن، مایع رویی جمع‌آوری و غلظت پروتئین آن با کیت (Bio-Rad) در طول موج ٥٩٥ نانومتر اندازه‌گیری و در پایان در دمای ٢٠ درجه‌ی زیر صفر نگه‌داری شد، سپس محلول هموژن به‌دست آمده به نسبت ١: ١ با نمونه لودینگ بافر (mM50 تریس -کلرید هیدروژن، ٢ درصد سدیم دودسیل سولفات، ١٠ درصد گلیسرول و ٥ در صد بتامرکاپتواتانول و ٠,٠٠٥ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها ٥ دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS -polyacrylamide جداسازی شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشا به مدت ١ ساعت در ٥ درصد BSA در Tris - Buffered saline و ٠,١ درصد Tween 20 TBST مسدود و در آنتی‌بادی اولیه (١: ٥٠٠) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به‌مدت ١ ساعت در دمای اتاق در ٤ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل دنسیتومتری با نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه PGC-1α (SANTA CRUZ,sc-47778)، beta actin (SANTA CRUZ,sc-32233)، goat anti- rabbit IgG-HRP Goat (SANTA CRUZ,sc-2004) anti-mouse(SANTA CRUS,SC-2005) مورد استفاده قرار گرفتند.

**تجزیه و تحلیل آماری**

ابتدا توزیع توأم و بهنجار توسط آزمون کلموگروف-اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به تأئید توزیع طبیعی داده‌ها به‌منظور بررسی اثر متغیر مستقل بر متغیرهای وابسته از آزمون‌های t مستقل، تحلیل واریانس دو راهه و مجذور اتا استفاده شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ٢٤ در سطح معنی‌داری $p<0.05$ انجام شد.

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

## یافته‌ها

بر اساس نتایج حاصل از آزمـون کلموگروف اسمیرنوف، اختلاف معنی‌داری بین نمونه در دسترس با جامعه مورد نظر مشاهده نشد؛ بنابراین توزیع داده‌های جمع‌آوری شده نرمال بوده و منحنی مربوط به این نمونه طبیعی فرض شد. شاخص‌های ارزیابی شده در رت‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

**جدول ۲- مشخصات رت‌ها در گروه‌های مورد مطالعه**

| گروه / شاخص | کنترل سالم | کنترل دیابتی | دیابت + تمرین ورزشی | دیابت +مکمل | دیابت +مکمل+ تمرین ورزشی |
|---|---|---|---|---|---|
| **وزن اولیه بدن (گرم)** | ۲۹۹/۱۲±۱۵/۸۸ | ۳۰۸/۸۵±۲۷/۶۱ | ۳۰۱/۸±۲۷/۱۵ | ۲۹۲/۱۵±۵٤/۳۰ | ۲۹۹/۱٤±٦۲/۲۱ |
| **وزن نهایی بدن (گرم)** | ۳۲۹/۲۵±۲٤/۰٤ | ۲۹٦/۱٤±۱۸/٤۹ | ۳۱۲/۸۵±۳۹/۰۳ | ۲۷۹/٤۲±۸۳/۵۹ | ۲۸۳/۲۸±۱۹/٦٦ |
| **گلوکز خون (میکروگرم/دسی‌لیتر)** | ۸۰/٦±۵/۲۳ | ۳۷۳/۹±۸۹/۷۸ | ۲۳۵/۸۰±٤۸/۹۵ | ۱٤۱/۸±۵۰/۱۸ | ۱۵۰/٦±۲۹/٤۵ |

*مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان‌شده‌اند

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی باعث افزایش معنی‌دار گلوگز خون (t=۲٤/۵٦؛ P<۰/۰۱) شد در حالی که میزان mRNAPGC-1α (t=٤/٤٤؛ P=۰/۰۰۲) کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۲).

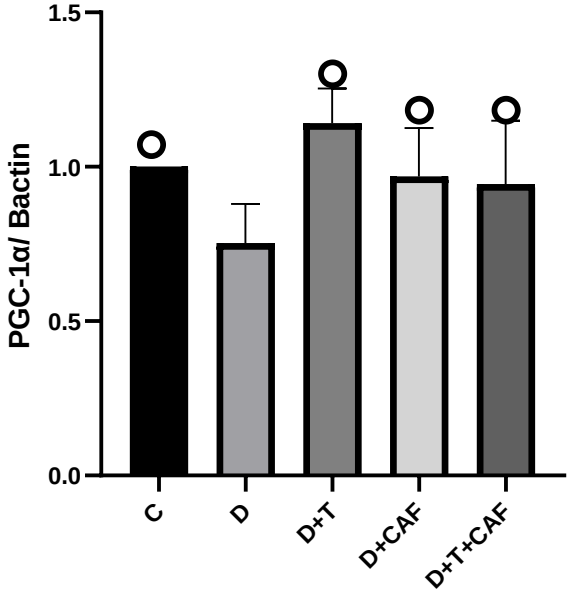
در رابطه با گلوکز، نتایج مطالعه‌ی حاضر حاکی از آن بود که تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کافئین موجب کاهش معنی‌دار گلوگز خون در موش‌های صحرایی نر دیابتی شد. با این حال، اثر تعاملی یا تقابلی معنی‌داری بین تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کافئین بر گلوکز خون وجود نداشت (جدول ۳).

همچنین براساس نتایج حاصل، تمرین تناوبی با شدت بالا موجب افزایش معنی‌دار mRNAPGC-1α در موش‌های صحرایی نر دیابتی شد (p=۰/۰۰۱) مصرف مکمل کافئین نیز تاثیر معنی‌داری بر این شاخص داشت (p = ۰/۰۳)(شکل ۱). در این خصوص نیز اثر تعاملی یا تقابلی بین تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کافئین بر mRNAPGC-1α موش‌های صحرایی نر دیابتی وجود نداشت. (جدول ۳).

**جدول ۳- تحلیل واریانس دوراهه شاخص‌های مورد مطالعه در گروه‌های تحقیق**

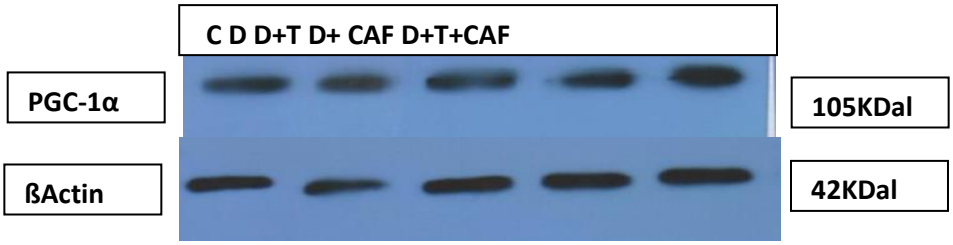
| شاخص | | P | مجذور اتا |
|---|---|---|---|
| **گلوکز خون (میکروگرم/دسی‌لیتر)** | تمرین ورزشی | ۰/۰۰۱ | ۰/٦۳ |
| | مکمل | ۰/۰۰۲ | ۰/٤۷ |
| | تمرین ورزشی×مکمل | ۰/۱٤ | ۰/۱۸ |
| **mRNAPGC-1α (چند برابر گروه کنترل)** | تمرین ورزشی | ۰/۰۰۱ | ۰/٤۹ |
| | مکمل | ۰/۰۳ | ۰/۲۲ |
| | تمرین ورزشی×مکمل | ۰/۰۹ | ۰/۱۹ |

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]




**نمودار ۱- میزان mRNAPGC-1α موش‌های صحرایی دیابتی متعاقب دو ماه تمرین تناوبی با شدت بالا و مصرف مکمل کافئین**

علامت O بیانگرتفاوت معنی دار با گروه کنترل دیابتی است.




**شکل ۱- باند وسترن بلات PGC-1α و ßActin در عضله نعلی**

## بحث

از نظر بالینی، رابطه‌ی بین بیان پایین PGC-1α و چندین بیماری متابولیکی از جمله دیابت، چاقی و بیماری‌های عصبی مشخص شده است. بیماران دیابتی، عمدتاً سطوح پایین PGC-1α در عضلات اسکلتی دارند که سطوح پایین آن همچنین با کاهش بیان ژن‌های فسفوریلاسیون اکسیداتیو، کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب و استفاده از انرژی همراه است [۲٤]. علاوه بر این، PGC-1α بیان mRNA GLUT4 و نیز متابولیسم اکسیداتیو در میتوکندری را افزایش می‌دهد [۲۵]. فعال‌سازی خانواده PGC-1α در اثر ورزش تا حدودی ناشی از ترشح هورمون‌ها در پاسخ به تغییر هموستاز انرژی است. تحریک ورزشی با فعال کردن گیرنده‌های آدرنرژیکβ2 توسط کاتکولآمین‌ها منجر به افزایش cAMP و در نتیجه فعال‌سازی فاکتورهای رونویسی CREB می‌شود که به پروموتر PGC-1α متصل شده و بیان PGC-1α را افزایش می‌دهد [۲٦].

در این پژوهش از کافئین به‌عنوان مداخله غذایی و از تمرینات HIIT به‌عنوان مداخله فعالیت بدنی استفاده شد که در ادامه به بررسی اثرات آن‌ها می‌پردازیم. در رابطه با گلوکز، نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل‌سازی کافئین، به تنهایی موجب کاهش چشم‌گیر گلوگز خون موش‌های صحرایی نر مدل دیابتی شد. در این راستا، تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل‌سازی کافئین به‌ترتیب موجب کاهش ۳٦/۹۳ درصدی و ٦۲ درصدی گلوگز خون در موش‌های صحرایی دیابتی شد. اگرچه اغلب مطالعات قبلی نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی مقاومتی و هوازی موجب بهبود شاخص‌های گلایسمیک در بیماران دیابتی می‌شود [۲۸، ۲۷]، اما تعداد پژوهش‌های انجام شده در مورد تأثیر تمرینات

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

HIIT بر این شاخص‌ها چندان زیاد نیست. همراستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر، Alvarez و همکاران اشاره داشتند که تمرینات تناوبی با شدت بالا می‌تواند به‌عنوان یک مداخله درمانی مفید در بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد [۲۹]. نکته مهم در مورد اثرگذاری تمرینات مختلف ورزشی بر شاخص‌های گلایسمیک، حجم، مدت و شدت تمرین‌ها است. مطالعات اخیری که از برنامه‌ی تمرین HIIT در بیماران دیابتی استفاده کرده بودند، اشاره داشتند که شدت فعالیت ورزشی ممکن است نقش کلیدی در مدیریت بیماری دیابت داشته باشد. در این راستا، برنامه‌های تمرین HIIT در مقایسه با برنامه‌های تمرین تداومی موجب بهبود بزرگتر در HbA1c [۳۰]، انسولین ناشتا [۳۱، ۳۰]. و گلوکز خون [۳۱]. بیماران دیابتی شدند. در این خصوص، سازوکارهای مربوط به تأثیر تمرینات HIIT بر شاخص‌های گلایسمیک بیماران دیابتی به طور کامل و دقیق مشخص نیست. در درجه‌ی اول، با توجه به کاهش ۳۶/۹۳ درصدی گلوکز خون ناشتا متعاقب هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در مطالعه‌ی حاضر، بهبود برون‌ده گلوکز کبدی ناشی از تمرینات چندان دور از انتظار نیست. از طرفی، تمرین HIIT توانایی بیشتری برای به‌کارگیری تارهای عضلانی و تخلیه سریع‌تر گلیکوژن عضلانی دارد [۳۲]، لذا ممکن است باعث افزایش بیش‌تری در حساسیت انسولین سلول‌های عضلانی پس از تمرین ورزشی شود. اگرچه افزایش حساسیت انسولین حتی حدود ۴۸-۲۴ ساعت پس از یک جلسه فعالیت ورزشی هم رخ می‌دهد [۳۲]، اما به‌نظر می‌رسد کارایی تمرین HIIT (به‌ویژه در یک دوره طولانی مدت دو الی چهار ماه) در افزایش حساسیت انسولین و کاهش گلوکز خون در بیماران دیابتی بالاتر باشد. همچنین، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مکمل‌سازی کافئین به تنهایی موجب کاهش ۶۲ درصدی گلوگز خون در موش‌های دیابتی شد. هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی حاضر، URZÚA و همکاران گزارش کردند که مکمل‌سازی طولانی مدت کافئین با دوز بالا (۹۳ میلی‌گرم/کیلوگرم/روز) موجب کاهش گلوکز خون و بهبود تحمل گلوکز و تأخیر در بروز دیابت شد [۳۳]. به‌نظر می‌رسد که کافئین میزان انتقال گلوکز را در غیاب انسولین در عضله‌ی اسکلتی جوندگان افزایش می‌دهد [۳۴]. و بیان ژنی ناقل گلوکز (Glut-4) را در سلول‌های عضلانی کشت‌شده ارتقا می‌بخشد [۳۵]. همچنین، Egawa و همکاران اشاره داشتند که کافئین عمدتاً ایزوفرم آلفا-۱ پروتئین کیناز وابسته به AMP حلقوی را به‌واسطه سازوکارهای غیروابسته به انسولین فعال می‌کند و موجب افزایش انتقال گلوکز می‌شود [۳۶]. با این حال و برخلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر، Beaudoin و همکاران گزارش کردند که مصرف کوتاه مدت و حاد کافئین حتی در دوز پائین موجب افزایش گلوکز خون و تخریب حساسیت انسولین در زنان و مردان سالم می‌شود [۳۷]. به‌نظر می‌رسد که مهم‌ترین دلایل مغایرت نتایج مطالعه Beaudoin با مطالعه‌ی حاضر، مدت زمان مصرف کافئین و آزمودنی‌های مورد استفاده باشد.

همان‌گونه که یافته‌های این پژوهش نشان داد القای دیابت در رت های ویستار به کاهش قابل‌توجه سطوح بیان PGC-1α در عضله‌ی نعلی منجر شد که با تحقیقات گذشته در این زمینه همسو است. در تحقیقات انجام شده میزان PGC-1α در عضلات بیماران مبتلا به دیابت به‌طور متوسط ۲۰ تا ۳۶ درصد (۱۲)، و در افراد بدون علامت با سابقه‌ی خانوادگی دیابت به‌طور متوسط ۳۴ درصد کاهش داشت [۳۸]. ارتباط بین دیابت با اختلال عملکرد میتوکندری عضله‌ی اسکلتی و علاوه براین، کاهش ژن‌های درگیر در فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری دلیل این یافته است [۳۹].

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد اعمال مداخله تمرینات HIIT در رت‌های دیابتی به افزایش قابل‌توجه سطوح بیان PGC-1α در عضله‌ی نعلی در گروه رت‌های تمرین کرده منجر شد که با تحقیقات گذشته در این زمینه همسو است [۴۱، ۴۰]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Terada و همکاران قابل مقایسه است. آنها یک دوره‌ی ۴ هفته‌ای تمرینات شنا با شدت کم روی رت‌های نر نژاد Sprague-Dawley انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که بیان mRNA PGC-1 در عضله‌ی اپی تروکلاریس (epitrochlearis) در مقایسه با گروه کنترل تقریباً ۸ برابر افزایش یافت [۴۲]. به‌طور مشابه در تحقیق ما، هشت هفته اعمال مداخله تمرینات HIIT در رت‌های دیابتی به افزایش قابل‌توجه سطوح بیان PGC-1α در عضله‌ی نعلی منجر شد. افزایش بیان این ژن را ناشی از پاسخ به تغییر نیاز به انرژی که منجر به هیپوکسی می‌شود، مطرح کرده‌اند [۴۲]. در تحقیقات انجام‌شده مشابه نیز به افزایش PGC-1α عضله‌ی اسکلتی در

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

مردان جوان سالم تمرین کرده استقامتی [۴۳] و سالمند [۴۴] به دنبال سازگاری به تمرینات ورزشی اشاره شده است.

همچنین، گزارش‌شده است ۲۱ هفته تمرین هوازی شنا، مقادیر بیان PGC-1α را در عضلات نعلی و دوقلو موش‌های با سنین مختلف (موش‌های ۲۱ ماهه، موش‌های ۲۵ ماهه) را افزایش می‌دهد [۴۵]. اگر چه تمرینات استقامتی کوتاه‌مدت با شدت کم و زیاد هردو باعث افزایش بیانPGC-1α در عضله‌ی نعلی شده است [۴۶]، ولی شدت تمرینات از عوامل مهم و مؤثر در افزایش بایوژنز میتوکندری است. تمرین شدید از جمله HIIT باعث افزایش بیش‌تر نسبت AMP/ADP/ATP می‌شود و بنابراین با افزایش بیش‌تر AMPK همراه است. به‌نظر می‌رسد این عامل بتواند باعث افزایش بیش تر PGC-1α به‌عنوان یک عامل بالا دستی شود [۴۷].

در مجموع، سازگاری‌های متابولیکی مفید در عضله‌ی اسکلتی در پاسخ به ورزش تا حد زیادی به‌دلیل تغییر در اندازه و محتوای میتوکندری است. افزایش محتوای میتوکندری ماهیچه‌ها با افزایش آنزیم‌های اکسید کننده اسید چرب، آنزیم‌های چرخه‌ی سیترات و افزایش اجزای زنجیره‌ی تنفسی همراه است که همه‌ی این‌ها به یک توانایی تقویت‌شده در تولید ATP کمک می‌کند. پروتئین‌های میتوکندری بیشتر و محتوای کل میتوکندری ظرفیت سنتز ATP را افزایش می‌دهد، در نتیجه ایجاد یک محیط سلولی مطلوب باعث افزایش اکسیداسیون کل چربی بدن و یا افزایش عملکرد ورزشی می شود [۴۷].

در مجموع، به‌نظر می‌رسد که این احتمال وجود دارد که کاهش سطح انرژی سلولی به‌واسطه تمرینات HIIT به‌طور چشم‌گیری بیشتر باشد و متعاقبش فعال‌سازی AMPK/PGC-1α نیز افزایش بیشتری داشته باشد. زیرا پیش از این نیز گزارش شده است که در فعالیت ورزشی تناوبی باشدت بالا، اجرای وهله های تمرین با شدت بالا منجر به کاهش بیشتری در CP،ATP می‌گردد. همچنین، گزارش شده است که اجرای حاد تمرینات HIIT فعالیت AMPK را افزایش می‌دهد که منجر به فسفوریلاسیون و فعال‌سازی PGC-1α می‌شود [۴۷]. در این مطالعه سطوح AMPK عضله‌ی نعلی اندازه‌گیری نشده است که یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر است.

همچنین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان دادکه اعمال مداخله‌ی کافئین در رت‌های دیابتی به افزایش قابل‌توجه سطوح بیان PGC-1α در عضله‌ی نعلی در گروه رت‌های دریافت کننده کافئین منجر شد که با تحقیقات گذشته در این زمینه همسو است [۲۰، ۴۸].

نتایج این تحقیق و تحقیقات مشابه از این فرضیه پشتیبانی می‌کنند که بایوژنز میتوکندری از طریق واسطه‌های دارویی و یا متابولیکی القاء شده در مسیر PGC-1α احتمالاً یک مداخله درمانی مؤثر برای بسیاری از اختلالات است [۴۹].

کافئین یکی از رایج‌ترین مواد ارگوژنیک است که مشخص شده میزان سوخت‌وساز بدن را افزایش می‌دهد. کافئین از طریق اتصال فسفودی‌استراز منجر به افزایش آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) می‌شود، افزایش تجمع cAMP نیز CREB را فعال می‌کند و در نهایت منجر به افزایش بیان PGC-1 می‌شود و نهایتاً باعث افزایش متابولیسم می‌شود [۲۰]. محرک‌های عصبی مرکزی مانند کافئین باعث افزایش فسفوریلاسیون AMPK (پروتئین کیناز A) شده و فعال شدن AMPK باعث رونویسی ژن‌های مرتبط با افزایش اکسیداسیون چربی می‌شود [۳۶].

کافئین همچنین با افزایش کلسیم درون سلولی منجر به فعال شدن CaMK و نهایتاً افزایش فسفوریلاسیون AMPK می‌شود [۵۰] که نتیجه‌ی آن افزایش بیشتر میتوکندری و ظرفیت اکسیداتیو در سلول‌های عضلانی اسکلتی است [۴۸].

طبق بررسی‌های ما، این اولین مطالعه‌ای است که تا کنون در مورد اثر تمرینات تناوبی شدید همراه با مکمل‌سازی کافئین بر بایوژنز میتوکندری در حیوانات مدل دیابتی انجام شده است و تأئید یا رد کامل این نتایج این تحقیق نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه است. از طرفی، این مطالعه دارای چندین محدودیت بود، از جمله این که امکان بررسی موضوع و تکرار مطالعه در مدل تجربی دیگری از دیابت میسر نشد. محدودیت دیگر عدم استفاده از دوزهای مختلف مکمل کافئین در حیوانات مدل دیابتی و عدم اندازه‌گیری شاخص‌های دیگر بود. مطالعه‌ی حاضر به‌علت محدودیت‌های مالی تنها PGC-1α را به‌عنوان شاخص بایوژنز میتوکندری سنجیده است که مسلماً سنجش شاخص‌های دیگر در این زمینه چون SIRT1،ERRα

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

و.سایر فاکتورهای بالا دستی آن در ارزیابی دقیق‌تر بایوژنز میتوکندری مؤثرتر است.

## نتیجه‌گیری

در مجموع، در این تحقیق مداخله تمرینات HIIT و مکمل کافئین هر دو به افزایش مقادیر PGC-1α و احتمالاً افزایش بایوژنز میتوکندری در رت‌های دیابتی منجر شد که در بیماری دیابت که کاهش PGC-1α به همراه دارد حائز اهمیت است؛ بنابراین با توجه به ویژگی خاص کم بودن زمان اجرای این نوع تمرینات در مقایسه با پروتکل‌های تمرینی تداومی و سازوکار اثر متفاوت تمرینات HIIT بر بهبود و تنظیم پروتئین های درگیر در بایوژنزمیتوکندری و همچنین تأثیر مثبت مصرف کافئین، شاید بتوان اجرای این نوع تمرینات و مصرف کافئین را به‌عنوان یک مداخله‌ی مؤثر در افراد دیابتی پیشنهاد داد. هر چند اظهار نظر صریح در این مورد مستلزم انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

## سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب مؤسسه ی آموزش عالی علامه قزوینی با توجه به مجوز مورخ ۱۳۹۷/۸/۲۳ کمیته‌ی اخلاق مؤسسه‌ی آموزش عالی علامه قزوینی و با کد اخلاق (۱۰۱۲/ ک ا / ۱۳۹۷ :Code) کمیته‌ی اخلاق این دانشگاه است. بدین‌وسیله از مساعدت و همکاری صمیمانه مسؤولین مؤسسه‌ی آموزش عالی علامه قزوینی و کلیه‌ی عزیزانی که در انجام این پژوهش نویسندگان را یاری نموده‌اند، به‌ویژه از کلینیک یاخته پژوهان سارای برای آنالیز نمونه‌ها قدردانی به عمل می‌آید.

## مآخذ

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2010; 87(1):4-14.
2. Defronzo RA, Ferrannini E, Sato Y, Felig P, Wahren J. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *The Journal of Clinical Investigation* 1981; 68(6):1468-74.
3. Chavez JA, Summers SA. Characterizing the effects of saturated fatty acids on insulin signaling and ceramide and diacylglycerol accumulation in 3T3-L1 adipocytes and C2C12 myotubes. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2003; 419(2):101-9.
4. Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. Science. 2005; 307(5708):384-7.
5. Youn J-Y, Siu KL, Lob HE, Itani H, Harrison DG, Cai H. Role of vascular oxidative stress in obesity and metabolic syndrome. *Diabetes* 2014; 63(7):2344-55.
6. Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. Cell Metabolism. 2005; 1(6):361-70.
7. Soleimani A, Shakerian S, Ranjbar R, Soleimani M. Effect of aerobic exhaustion with six weeks low calorie diet with moderate carbohydrate on lactate dehydrogenase and liver enzymes in overweight boys. *Biannual Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2017;* 4(1):54.
8. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1α, a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2011; 93(4):884S-90S.
9. Hawley JA. Molecular responses to strength and endurance training: are they incompatible? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2009; 34(3):355-61.
10. Arya R, Blangero J, Almasy L, O'Connell P, Stern M, Duggirala R, editors. A major locus for body mass index (BMI) on chromosome 4p in Mexican Americans. *Obesity research*; 2001; 9:70S-70S
11. Sriwijitkamol A, Ivy JL, Christ-Roberts C, DeFronzo RA, Mandarino LJ, Musi N. LKB1-AMPK signaling in muscle from obese insulin-resistant Zucker rats and effects of training. American *Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2006; 290(5):E925-E32.
12. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson K-F, Subramanian A, Sihag S, Lehar J, et al. PGC-1α-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature Genetics* 2003; 34(3):267-73.
13. Islam H, Hood DA, Gurd BJ. Looking beyond PGC-1α: emerging regulators of exercise-induced skeletal muscle mitochondrial biogenesis and their activation by dietary compounds. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2020; 45(1):11-23.
14. Valle I, Álvarez-Barrientos A, Arza E, Lamas S, Monsalve M. PGC-1α regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells. *Cardiovascular Research* 2005; 66(3):562-73.

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

15. Timmons JA, Norrbom J, Schéele C, Thonberg H, Wahlestedt C, Tesch P. Expression profiling following local muscle inactivity in humans provides new perspective on diabetes-related genes. *Genomics* 2006; 87(1):165-72.
16. Zierath JR. Invited review: exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2002; 93(2):773-81.
17. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *The New England Journal of Medicine*. 2002; 346(6):393-403.
18. Gliottoni RC, Meyers JR, Arngrímsson SÁ, Broglio SP, Motl RW. Effect of caffeine on quadriceps muscle pain during acute cycling exercise in low versus high caffeine consumers. International *Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 2009; 19(2):150-61.
19. Lee C. Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clinica Chimica Acta* 2000; 295(1-2):141-54.
20. McConell GK, Ng GPY, Phillips M, Ruan Z, Macaulay SL, Wadley GD. Central role of nitric oxide synthase in AICAR and caffeine-induced mitochondrial biogenesis in L6 myocytes. *Journal of Applied Physiology* 295-589: (3)108;010.
21. Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, Venkatesan V, Madhavan A, Nair C, et al. An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. *BioMed Research International* 2013; 2013.
22. Francis SH, Sekhar KR, Ke H, Corbin JD. *Inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases by methylxanthines and related compounds*. Methylxanthines: Springer; 2011. p. 93-133.
23. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. American *Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2007; 293(4):E916-E22.
24. Chowdhury SKR, Dobrowsky RT, Fernyhough P. Nutrient excess and altered mitochondrial proteome and function contribute to neurodegeneration in diabetes. *Mitochondrion* 2011; 11(6):845-54.
25. Wende AR, Schaeffer PJ, Parker GJ, Zechner C, Han D-H, Chen MM, et al. A role for the transcriptional coactivator PGC1-α in muscle refueling. *Journal of Biological Chemistry* 2007; 282(50):36642-51.
26. Summermatter S, Handschin C. PGC-1α and exercise in the control of body weight. *International Journal of Obesity* 2012; 36(11):1428-35.
27. Snowling NJ, Hopkins WG. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2006; 29(11):2518-27.
28. Umpierre D, Ribeiro PA, Kramer CK, Leitão CB, Zucatti AT, Azevedo MJ, et al. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Jama* 2011; 305(17):1790-9.
29. Alvarez C, Ramirez-Campillo R, Martinez-Salazar C, Mancilla R, Flores-Opazo M, Cano-Montoya J, et al. Low-volume high-intensity interval training as a therapy for type 2 diabetes. *International Journal of Sports Medicine* 2016;37(09):723-9.
30. Mitranun W, Deerochanawong C, Tanaka H, Suksom D. Continuous vs interval training on glycemic control and macro-and microvascular reactivity in type 2 diabetic patients. Scandinavian *Journal of Medicine & Science in Sports* 2014; 24(2):e69-e76.
31. Karstoft K, Winding K, Knudsen SH, Nielsen JS, Thomsen C, Pedersen BK, et al. The effects of free-living interval-walking training on glycemic control, body composition, and physical fitness in type 2 diabetic patients: a randomized, controlled trial. *Diabetes Care* 2013; 36(2):228-36.
32. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectrum* 2015; 28(1):39-44.
33. Urzua Z, Trujillo X, Huerta M, Trujillo-Hernandez B, Rios-Silva M, Onetti C, et al. Effects of chronic caffeine administration on blood glucose levels and on glucose tolerance in healthy and diabetic rats. *Journal of International Medical Research* 2012; 40(6):2220-30.
34. Egawa T, Hamada T, Kameda N, Karaike K, Ma X, Masuda S, et al. Caffeine acutely activates 5′ adenosine monophosphate–activated protein kinase and increases insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscles. *Metabolism* 2009; 58(11):1609-17.
35. Mukwevho E, Kohn TA, Lang D, Nyatia E, Smith J, Ojuka EO. Caffeine induces hyperacetylation of histones at the MEF2 site on the Glut4 promoter and increases MEF2A binding to the site via a CaMK-dependent mechanism. American *Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2008; 294(3):E582-E8.
36. Egawa T, Hamada T, Ma X, Karaike K, Kameda N, Masuda S, et al. Caffeine activates preferentially α1-isoform of 5′ AMP-activated protein kinase in rat skeletal muscle. *Acta Physiologica* 2011; 201(2):227-38.
37. Beaudoin M-S, Allen B, Mazzetti G, Sullivan PJ, Graham TE. Caffeine ingestion impairs insulin sensitivity in a dose-dependent manner in both men and women. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2012; 38(2):140-7.
38. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003; 100(14):8466-71.
39. Petersen KF, Dufour S, Shulman GI. Decreased insulin-stimulated ATP synthesis and phosphate transport in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *PLoS Medicine* 2005;2(9).

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

40. Barres R, Yan J, Egan B, Treebak JT, Rasmussen M, Fritz T, et al. Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. Cell Metabolism. 2012;15(3):405-11.
41. Wang Y-X, Zhang C-L, Ruth TY, Cho HK, Nelson MC, Bayuga-Ocampo CR, et al. Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPARδ. *PLoS Biology*. 2004; 2(10).
42. Terada S, Goto M, Kato M, Kawanaka K, Shimokawa T, Tabata I. Effects of low-intensity prolonged exercise on PGC-1 mRNA expression in rat epitrochlearis muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 296(2):350-4.
43. 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.
44. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *The FASEB Journal* 2016;30(2):959-70.
45. Huang C-C, Wang T, Tung Y-T, Lin W-T. Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1α expression levels in rats of different age. *International Journal of Medical Sciences* 2016; 13(4):260.
46. MacInnis MJ, Zacharewicz E, Martin BJ, Haikalis ME, Skelly LE, Tarnopolsky MA, et al. Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *The Journal of Physiology* 2017;595(9):2955-68.
47. 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-1α mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2012; 112(7):1135-43.
48. Vaughan RA, Garcia-Smith R, Bisoffi M, Trujillo KA, Conn CA. Effects of caffeine on metabolism and mitochondria biogenesis in rhabdomyosarcoma cells compared with 2, 4-dinitrophenol. *Nutrition and Metabolic Insights* 2012; 5:NMI. S10233.
49. Wenz T, Diaz F, Spiegelman BM, Moraes CT. *Retracted: Activation of the PPAR/PGC-1α Pathway Prevents a Bioenergetic Deficit and Effectively Improves a Mitochondrial Myopathy Phenotype*. Elsevier; 2008.
50. Ojuka EO. Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. *Proceedings of the Nutrition Society* 2004; 63(2):275-8.

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]

# THE EFFECT OF EIGHT-WEEK HIGH INTENSITY INTERVAL TRAINING (HIIT) AND CAFFEINE INTAKE ON THE PGC-1A EXPRESSION IN SOLEUS MUSCLE IN DIABETIC RATS INDUCED STREPTOZOTOCIN

Morteza Khalili[1], Abbas Sadeghi[2]*, Mohammad Javad Maleki[3]

1. *Department of Sport Sciences ,Allame Gazvini Institute, Qazvin, Iran*
2. *Department of Sport Sciences, Faculty of Social Sciences, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran*
3. *The Sports Medicine Center of Dr. Javad Maleki, Tehran, Iran*

## ABSTRACT

**Background:** The relationship between low PGC-1α expression and several metabolic diseases such as diabetes and obesity has been identified. This study investigates the effect of eight-week high intensity interval training (HIIT) and caffeine intake on mitochondrial biogenesis in soleus muscle in diabetic rats induced Streptozotocin.

**Methods:** In a clinical-interventional animal study, 50 male rats were randomly assigned to 5 equal groups (control group(C), diabetes group(D), diabetes + caffeine group(D+Caf), diabetes + training group(D+T), diabetes + training + caffeine group(D+CAF+T)) and subjected to 8 weeks of caffeine supplementation (70 mg / kg of caffeine powder was injected five days each week) and 8 weeks of 5 sessions per week with 6 to 12 times, 2-min intervals with intensity of 85-90% of maximal speed. Blood was collected directly from the left ventricle to measure blood glucose levels. The soleus muscle of the left leg was extracted and PGC-1α measured by Western Blot method. Independent t-tests, two-way analysis of variance, and Eta squared ($p < 0.05$) were used to analyze the data.

**Results:** The results showed that induction of diabetes significantly increased blood glucose ($P < 0.01$) and significantly decreased mRNAPGC-1α ($P = 0.002$). Also, both high-intensity interval training ($p = 0.001$) and caffeine supplementation ($p = 0.03$) significantly increased mRNAPGC-1α.

**Conclusion:** Based on the results of this study, it is possible to suggest the use of HIIT and caffeine consumption as an effective intervention in increasing mitochondrial biogenesis in diabetics. However, a clear statement in this regard requires further research in this area.

**Keywords:** High Intensity Interval Training (HIIT), Caffeine, Diabetes, PGC-1α

* Qasem Soleimani Blvd, Imam khomeini international university, Qazvin, Iran, Postal Code: 34148-96818, Phone: +98 (28) 3390 154, Fax: +98 (28) 3378 6579, Email: sadeghi@soc.ikiu.ac.ir

[ Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-19 ]