مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین- اردیبهشت 1395؛ دوره 15 (شماره4)246-237

مقاله پژوهشی

مقایسه تأثیر دو نوع فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر سطوح ایرزین سرم و پروتئین جداکننده -1 چربی زیرپوستی در رت‌های نر دیابتی

موسی خلفی[1*]، علی اصغر رواسی[2]، فاطمه شب خیز[2]، محمد مرادی[2]، یاشار زارعی[2]

چکیده

مقدمه: ایرزین به‌عنوان مایوکاینی ترشح شده با فعالیت ورزشی شناخته شده است که نقش مهمی در متابولیسم انرژی و تنظیم بیماری‌های متابولیک مانند دیابت ایفا می‌کند. هدف از پژوهش حاضر مقایسه تأثیر دو نوع فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا و تداومی با شدت متوسط بر سطوح ایرزین سرم و پروتئین جداکننده -1 (UCP-1) چربی زیرپوستی در رت‌های نر دیابتی است.

روش‌ها: پژوهش حاضر، تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل بود. در این مطالعه 29 سر رت نر دیابتی (12 هفته سن و با وزن 220-240 گرم) به 5 گروه: بلافاصله و 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$, $HIIE_2$)، بلافاصله و 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_0$, $MICE_2$) و کنترل (C) تقسیم شدند. هر دو گروه MICE با شدت 65-60% حداکثر اکسیژن مصرفی به‌مدت 40 دقیقه و هر دو گروه HIIE با شدت 90-95% حداکثر اکسیژن مصرفی در12 تناوب 1 دقیقه‌ای با فواصل استراحتی 1 دقیقه‌ای به فعالیت روی نوار گردان پرداختند. از روش ELISA برای اندازه‌گیری ایرزین سرم و UCP-1 چربی زیرپوستی استفاده گردید. از آزمون ANOVA و تست تعقیبی توکی برای تحلیل داده‌ها استفاده و سطح معنی‌داری 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تحلیل داده‌ها نشان داد، سطوح ایرزین سرم در گروه $HIIE_0$ و UCP-1 چربی زیرپوستی در گروه $HIIE_2$ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشتند ($P\leq0/05$). با این‌حال، بین دیگر گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P>0/05$).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد، فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا نسبت به فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط نقش بارزتری در تغییرات معنی‌دار سطوح سرمی ایرزین و UCP-1چربی زیرپوستی در رت‌های دیابتی داشته باشد.

واژگان کلیدی: فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا، فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط، ایرزین، پروتئین جداکننده -1، دیابت

1- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران

2- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

* ***نشانی***: گیلان، رشت، کیلومتر 7 جاده رشت-تهران، دانشگاه گیلان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، تلفن: 09145843996، کدپستی: 43653-41998، پست الکترونیک: mousa.khalafi@yahoo.com

تاریخ دریافت: 1394/12/15 **تاریخ درخواست اصلاح: 1395/02/17** **تاریخ پذیرش: 1395/02/26**

مقدمه

بافت چربی اندامی کلیدی در تنظیم تعادل انرژی است. دو نوع متفاوت از بافت چربی از لحاظ عملکردی در پستانداران وجود دارد. بافت چربی سفید که محل اصلی ذخیره‌سازی تری گلیسیرید و بافت چربی قهوه‌ای که برای گرمازایی تخصص یافته است [1]. بافت چربی قهوه‌ای به‌عنوان هدفی درمانی برای چاقی شناخته‌شده است. فعال‌سازی بافت چربی قهوه‌ای می‌تواند اثرات سوخت و سازی مفیدی برای انسان نیز داشته باشد و ممکن است عوارض چاقی مانند دیابت نوع دو را با تغییرات پاتولوژیک گلوکولیپوتاکسیک[1]، بهبود بخشد که عامل اصلی ایجاد مقاومت به انسولین محیطی و اختلال در ترشح انسولین ناشی از تخریب سلول‌های بتا پانکراس است [2]. گرمازایی غیرلرزشی مهم‌ترین عملکرد چربی قهوه‌ای می‌باشد. این عملکرد به‌واسطه پروتئین‌های جدا کنند-1 [2](UCPs) تنظیم می‌شود که در غشای داخلی میتوکندری قرار گرفته‌اند که منجر به جداسازی زنجیره انتقال الکترون از تولید انرژی و در نتیجه آزاد شدن انرژی پتانسیل به‌صورت گرما می‌شود [3، 4]. بیان UCP-1 و ظرفیت گرمازایی در بافت چربی سفید نیز در پاسخ به محرک‌های مختلف ایجاد می‌شود [5] و به‌نظر می‌رسد که قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید در برابر اختلالات متابولیکی ناشی از رژیم غذایی از جمله چاقی و دیابت محافظت می‌کند [6، 7].

به‌تازگی بافت عضلانی به‌عنوان ارگانی درون‌ریز به رسمیت شناخته شده است که انواع سایتوکاین‌ها (مایوکاین نامیده می‌شوند) را ترشح می‌کند که چندین مسیر فیزیولوژیکی و متابولیکی را تنظیم می‌کنند [8]. ایرزین[3] به‌عنوان مایوکاین جدید از رونویسی ژن FNDC5[4] در پاسخ به بیان PGC-1α[5] و فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد و باعث تحریک بیان UCP-1 در سلول‌های چربی سفید و تغییر فنوتیپ بافت چربی می‌شود [9]. این تغییر فنوتیپ سلول‌های چربی سفید به سلول‌های چربی قهوه‌ای و افزایش در گرمازایی منجر به بهبود حساسیت انسولین، کاهش وزن بدن و بهبود تحمل گلوکز در موش‌ها می‌گردد [9، 10]. از طرفی مطالعات اخیر انجام شده کاهش سطوح ایرزین را در افراد دیابتی در مقایسه با افراد سالم گزارش کرده‌اند [11].

فعالیت ورزشی، به‌عنوان فاکتور کلیدی در پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیکی متعدد از طریق بهبود سطوح گلوکز و لیپید خون مانند بیماری دیابت نوع دو در نظر گرفته می‌شود [12]. تمرین ورزشی طولانی مدت باعث افزایش توده و ظرفیت عضلانی می‌گردد، درحالی‌که فعالیت ورزشی حاد استفاده از گلوکز و لیپید را به‌عنوان سوخت برای انقباضات عضلانی تسهیل می‌بخشد [13]. پس از کشف ایرزین نیز مطالعات مختلفی تأثیر تمرین و فعالیت ورزشی را بر ایرزین/FNDC5 بررسی کرده‌اند. مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که یک جلسه تمرین استقامتی باعث افزایش ترشح ایرزین می‌گردد [14، 15]. بااین‌حال نتایج این مطالعات قطعی نیستند. مطالعات انجام شده بر روی انسان‌ها نشان می‌دهد که غلظت ایرزین در طول فعالیت ورزشی و بلافاصله پس از آن افزایش می‌یابد [14-18]. در تضاد با این نتایج، Pekkala و همکاران (2013) عدم تغییر غلظت ایرزین پس از فعالیت ورزشی استقامتی در مردان میان‌سال را گزارش کرده‌اند [19]. هرچند بیشتر سازگاری‌های متابولیکی بر اثر تمرینات تداومی مورد توجه قرارگرفته است، اما امروزه ارزش بالقوهٔ تمرینات تناوبی با شدت بالا [6](HIIT) در زمینهٔ توسعهٔ سلامتی و آمادگی و همچنین کاهش وزن نیز درک شده است. بر این اساس، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) پاسخ سازگاری‌های مشابه یا حتی بیشتر از تمرینات تداومی با شدت متوسط دارد [20، 21]. به‌طورکلی پاسخ به فعالیت ورزشی تحت تأثیر عواملی مانند شدت، مدت و نوع فعالیت ورزشی قرار می‌گیرد [13] و به‌نظر می‌رسد که پاسخ ایرزین وابسته به‌شدت فعالیت ورزشی است. براین اساس، دویدن سریع متناوب منجر به افزایش قابل‌توجهی در ایرزین سرمی شد

[1] Glucolipiotoxic
[2] Uncoupling protein 1
[3] Irisin
[4] Fibronectin type III domain-containing protein 5
[5] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
[6] High-intensity interval training

[22]. کاهش ATP در اثر فعالیت ورزشی با فعال‌سازی AMPK[1]همراه است که باعث تحریک PGC-1α و افزایش ترشح ایرزین می‌گردد [23]. از طرفی، مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که یک جلسه تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) منجر به فعال‌سازی سیگنالینگ AMPK و افزایش بیان PGC-1α می‌گردد [24]. به‌نظر می‌رسد، نوع فعالیت ورزشی که با شدت‌های مختلف انجام می‌شود، اثرات متفاوتی بر تحریک ایرزین داشته باشد که هنوز در نمونه‌های دیابتی بررسی نشده است. بنابراین، هدف از پژوهش مقایسه تأثیر دو نوع فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا (HIIE) و تداومی با شدت متوسط (MICE) بر سطوح ایرزین سرمی و UCP-1 چربی زیرپوستی رت‌های نر دیابتی می‌باشد.

روش‌ها

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل بود. 33 سر رت نر نژاد ویستار، با سن 8 هفته و با محدوده وزنی 20±180 گرم از مؤسسه پاستور ایران خریداری و به حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران منتقل شدند که مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی نگه‌داری شدند. کلیهٔ رت‌ها در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای 2±22 درجه سانتی‌گراد، چرخهٔ روشنایی-تاریکی 12:12 ساعت، رطوبت نسبی 50 درصد و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژهٔ موش، در قفس‌های 4 تایی نگه‌داری شدند. پس از آشناسازی و سازگاری با محیط جدید، 4 سر رت با دامنه وزنی 200-230 گرم به‌عنوان گروه پایلوت انتخاب شده و دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین[2] (STZ) در آن‌ها القاء شد و از آن‌ها برای بررسی‌های مقدماتی و بررسی قابلیت انجام پروتکل فعالیت ورزشی استفاده گردید. پس از انجام مطالعهٔ آزمایشی، همهٔ نمونه‌ها با تزریق STZ دیابتی شده و به 5 گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_0$) (6 سر)، 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_2$) (6 سر)، بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$) (6سر)، 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_2$) (6 سر) و گروه کنترل(C) (5 سر) تقسیم شدند.

القاءدیابت: دیابتی کردن حیوانات، پس از 8 ساعت محرومیت از غذا، با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین حل‌شده در بافر سدیم سیترات با ph=4/5 به مقدار 50 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به روش درون صفاقی(IP) انجام شد. 48 ساعت بعد از تزریق، رت‌ها مبتلا می‌شوند. برای تائید دیابت، 4 روز پس از تزریق استرپتوزتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرارگرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده و قند خون بالای 300 میلی‌گرم در دسی لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [25].

پروتکل فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا (HIIE): هر 2 گروه فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$ و $HIIE_2$)، یک جلسه فعالیت ورزشی را اجرا کردند. فعالیت مربوط به این گروه شامل 5 دقیقه گرم کردن با شدت پایین و سپس تمرین اصلی دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان را که شامل 12 تکرار تمرینی با شدت 95-90 درصد VO_{2max} به‌مدت 1 دقیقه و دوره‌های استراحتی فعال با شدت 50 درصد VO_{2max}به‌مدت 1 دقیقه را اجرا کردند. پس از اتمام تمرین اصلی 5 دقیقه سرد کردن با شدت پایین اجرا شد.

پروتکل فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط (MICE): هر 2 گروه فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_0$ و $MICE_2$)، یک جلسه فعالیت ورزشی را اجرا کردند. فعالیت ورزشی مربوط به این گروه‌ها شامل 5 دقیقه گرم کردن با شدت پایین و سپس تمرین اصلی دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان با شدت 65-60 درصد VO_{2max} به‌مدت 40 دقیقه بود که پس از اتمام تمرین اصلی 5 دقیقه سرد کردن با شدت پایین داده شد. لازم به ذکر است که تمام شرایط زیستی برای گروه کنترل به جز پروتکل‌های اصلی تمرین در روز آزمایش، شبیه گروه‌های تمرین بود.

[1] AMP-activated protein kinase
[2] Strptozotosin

اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}): به‌دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل‌گر گازهای تنفسی با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده (Høydal و همکاران 2007) پروتکل غیرمستقیم ولی با دقت زیاد مورد استفاده قرارگرفت. بر این اساس، بعد از 10 دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون با دویدن رت‌ها با سرعت 15m/min به‌مدت 2 دقیقه شروع شد. سپس سرعت نوارگردان هر 2 دقیقه یک بار به میزان 0/03 m/s (1/8 m/min تا 2) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دویدن نباشند. پژوهش صورت گرفته نشان می‌دهد ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO_{2max} رت‌ها وجود دارد (r=0/94-0/98، p <0/005). ازاین‌رو می‌توان با توجه به‌سرعت دویدن میزان VO_{2max}رت‌ها را برآورد کرد [26]. همچنین، لازم به ذکر است که در این پژوهش از صدا برای ایجاد تحریک جهت انجام فعالیت استفاده شد و از هیچ گونه شوک بادی یا تحریک الکتریکی استفاده نشد.

جمع‌آوری نمونه‌ها: برای جمع‌آوری نمونه‌ها، گروه‌های $MICE_0$ و $HIIE_0$ بلافاصله پس از تمرین و گروه‌های $MICE_2$ و $HIIE_2$ 2 ساعت پس از تمرین با ترکیبی از داروی کتامین (75 میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم/کیلوگرم) به‌صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، قفسهٔ سینهٔ حیوان شکافته شده و خون به‌طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. سپس، بافت چربی زیرپوستی (از ناحیهٔ کشاله ران) با دقت برداشته و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب منتقل و در ازت مایع قرار گرفت و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای 80- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیای: سنجش ایرزین سرم از روش الایزای ساندویچی با استفاده از کیت Rat irisin ELISA Kit، Sunlong Biotech ساخت کشور چین (با حساسیت 1pg/ml) مطابق با روش درج شده در بروشور کیت انجام شد. برای سنجش UCP-1 چربی زیرپوستی 100mg از بافت چربی هموژنه شد که به‌وسیله کیت Rat UCP-1 ELISA Kit، Cusabio ساخت کشور چین (با حساسیت 7/81pg/ml) به‌روش ایمنواسی آنزیمی ساندویچی اندازه‌گیری شد.

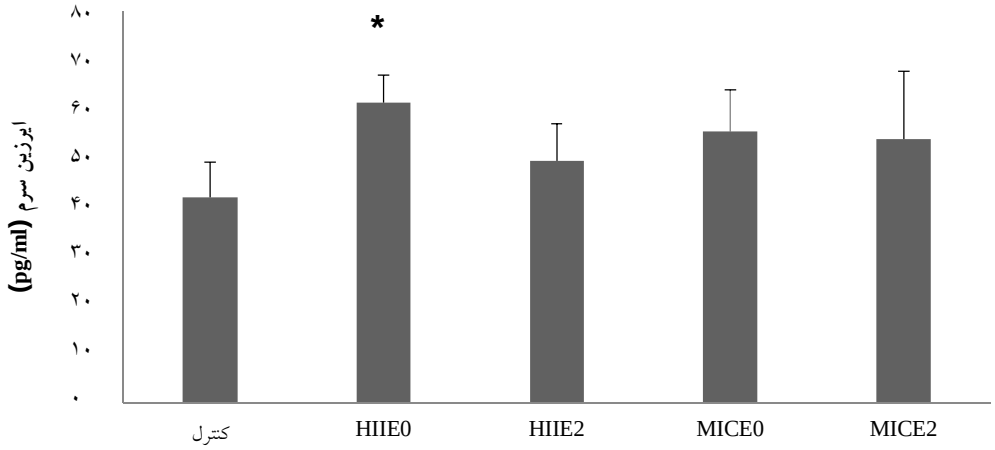
تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات مورد نیاز پس از جمع آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 20 در سطح معنی‌داری (P≤0/05) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس ازاینکه نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف اسمیرنوف تائید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید.

یافته‌ها

تحلیل داده‌ها مربوط به ایرزین سرم نشان داد که بین گروه‌های تحقیق، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=0/013، F=3/54). نتایج آزمون توکی نشان داد که سطوح ایرزین سرمی بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (افزایش 46 درصدی)(P=0/014). بااین‌حال علی‌رغم افزایش 17 درصدی ایرزین در گروه 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_2$) و افزایش 32 و 28 درصدی در گروه‌های بلافاصله و 2ساعت پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_0$ و $MICE_2$) نسبت به گروه کنترل، این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>0/05). همچنین، بین 2 گروه تمرینی اختلاف معنی‌داری در سطوح ایرزین سرمی وجود نداشت (P>0/05). سطوح ایرزین سرم گروه‌های مختلف در نمودار 1 ارائه‌شده است. همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد، در خصوص میزان UCP-1 چربی زیرپوستی بین گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری وجود دارد (F=4/55،P=0/004). این در حالی است که نتایج نشان داد که فقط 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_2$) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (افزایش52 درصدی) و علی‌رغم افزایش 19 درصدی در گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$) و افزایش 22 و 28 درصدی

در گروه‌های بلافاصله و 2ساعت پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط ($MICE_0$ و $MICE_2$) نسبت به گروه کنترل، این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>0/05). همچنین، بین 2 گروه تمرینی اختلاف معنی‌داری در سطوح ایرزین سرمی وجود نداشت (P>0/05) (نمودار2).

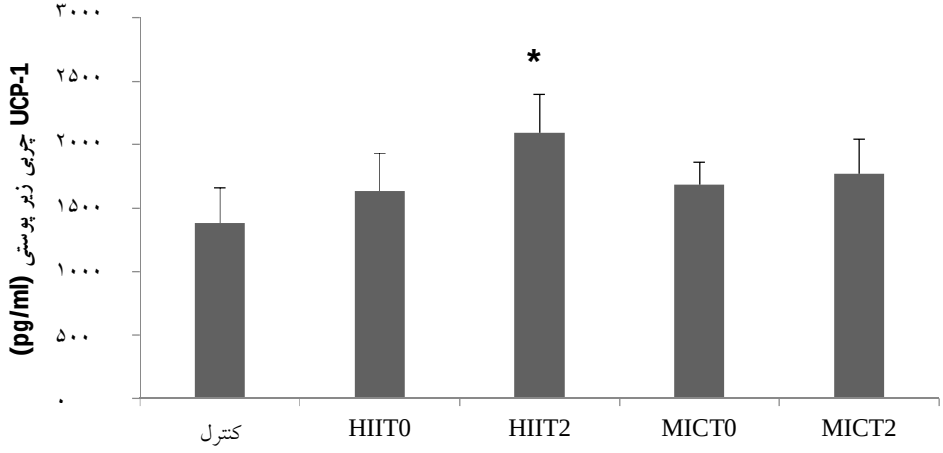


نمودار1- تغییرات ایرزین سرم بین گروه‌های تحقیق

*تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل

$HIIE_0$: بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا

$HIIE_2$: 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا، $MICE_0$:بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط، $MICE_2$: 2 ساعت پس از ورزشی تناوبی تداومی.



نمودار2- تغییرات UCP-1 چربی زیرپوستی بین گروه‌های تحقیق

*تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل

$HIIE_0$: بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا

$HIIE_2$: 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ، $MICE_0$:بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط، $MICE_2$: 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی تداومی.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که علی‌رغم افزایش ایرزین سرم در هر 2 گروه بلافاصله و 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط (MICE) نسبت به گروه کنترل، این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. نتایج یافته‌های مطالعات قبلی در ارتباط با پاسخ ایرزین نشان می‌دهد که 45 دقیقه فعالیت ورزشی با 70 درصد VO_{2max} [14] و 90 دقیقه فعالیت ورزشی با 60 درصد VO_{2max} [15] باعث افزایش ایرزین می‌گردد. منبع افزایش ناشی از فعالیت ورزشی در سطوح ایرزین سرمی به‌وضوح مشخص نیست. ایرزین به‌عنوان هورمون FNDC5، ژن هدف PGC-1α در موش‌ها شناخته‌شده است [9]. mRNA FNDC5 سطوح بالاتر در عضلات نسبت به سایر اندام‌ها بیان می‌شود [22] و بیان FNDC5 در عضله اسکلتی به‌طور قابل توجهی با سطوح ایرزین گردشی نقش دارد [27 ،22 ،9]. بیان FNDC5 در عضله اسکلتی در موش‌ها با PGC-1α افزایش‌یافته به‌طور ترنسژنیک افزایش داشته و در موش‌ها با حذف عضلانی PGC-1α کاهش می‌یابد [9]. بر این اساس، ارتباط قوی بین سطوح PGC-1αmRNA و FNDC5 در عضله اسکلتی نشان داده شده است [28 ،22 ،14] که از نقش PGC-1α به‌عنوان تنظیم‌کننده FNDC5 و ایرزین حمایت می‌کند. بااین‌حال، Pekkala و همکاران (2013) عدم تغییر در ایرزین سرم و mRNA FNDC5 در پاسخ به فعالیت ورزشی تداومی گزارش کردند [19]. همچنین تغییرات در بیان PGC-1αmRNA با تغییرات FNDC5 همراه نبود که Timmons و همکاران (2012) نیز همبستگی بین PGC-1α و FNDC5 گزارش نکردند [29]، که براساس این 2 مطالعه ممکن است عوامل دیگری به‌جز PGC-1α در تنظیم FNDC5 و ایرزین نقش داشته باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ایرزین سرمی بلافاصله و 2 پس از فعالیت تداومی افزایش غیرمعنی‌دار 32 درصدی و 28 درصدی (به‌ترتیب) دارد. مشخص‌شده است که بیان PGC-1α با القای دیابت (تزریق STZ) کاهش می‌یابد [30] که احتمالاً دلیلی بر سطوح پایین ایرزین را در نمونه‌های دیابتی باشد [31]. بااین‌حال، احتمالاً در مطالعه حاضر فعالیت ورزشی تداومی منجر به فعال‌سازی سیگنالینگ‌های مؤثر بر تحریک بیان PGC-1α شده باشد [32] که این افزایش در PGC-1α باعث بیان FNDC5 و افزایش غیر معنی‌دار ایرزین سرمی شده باشد.

علاوه براین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سطوح ایرزین سرم در گروه بلافاصله پس از HIIE افزایش معنی‌دار (46 درصدی) و 2 ساعت پس از HIIE افزایش غیر معنی‌داری (17 درصدی) نسبت به گروه کنترل می‌یابد. Huh JY و همکاران (2012) در بخشی از مطالعهٔ خود نشان دادند که فعالیت ورزشی حاد دویدن سریع باعث افزایش سطوح ایرزین در افراد جوان سالم، 30 دقیقه پس از فعالیت ورزشی می‌شود [22]. همچنین سطوح ایرزین عمدتاً با سطوح ATP[1]و در درجه دوم با متابولیت‌های مربوط به گیلکولیز و لیپولیز در عضله اسکلتی در ارتباط بود. این محققان بیان کردند که کاهش در ATP سلولی سیگنالی قوی برای ترشح ایرزین از عضله می‌باشد [22]. فعالیت ورزشی تناوبی باشدت بالا (HIIE) از وهله‌های تمرین و استراحت تشکیل شده است، که اجرای وهله‌های تمرین با شدت بالا منجر به کاهش بیشتری در ATP، CP و گلیکوژن عضله می‌گردد [33]. همچنین، اجرای حاد HIIT فعالیت AMPK را افزایش می‌دهد که منجر به فسفوریلاسیون و فعال‌سازی PGC-1α می‌شود [35 ،34]. در پژوهش حاضر، احتمالاً کاهش ATP و افزایش فعال‌سازی PGC-1α در اثر فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا منجر به رهایش ایرزین از منبع اصلی‌اش، عضله اسکلتی، به گردش خون شده است. علاوه بر این، مقایسهٔ نتایج دو نوع فعالیت ورزشی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین 2 گروه در زمان‌های بلافاصله و 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی وجود ندارد، بااین‌حال، سطوح ایرزین سرمی در گروه بلافاصله پس از HIIE نسبت به گروه بلافاصله پس MICE تفاوت 11 درصدی داشت (غیر معنی‌دار) که حاکی از آن است HIIE نسبت به MICE تحریک مؤثرتری بر ترشح ایرزین می‌باشد. همسو با نتایج حاضر، Huh و همکاران (2014) در مطالعه‌ای دیگر پاسخ دو نوع فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا را با فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط مقایسه کردند. براساس

1Adenosine triphosphate

مطالعهٔ انجام شده، نتایج نشان داد که فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا باعث افزایش معنی‌داری در ایرزین گردشی می‌شود که فعال‌سازی AMPK[1] باعث تحریک PGC-1α و افزایش ترشح ایرزین می‌گردد. همچنین علی‌رغم افزایش ایرزین در پاسخ فعالیت ورزشی تداومی، این افزایش معنی‌دار نبود [23]. احتمالاً بخشی از این تفاوت‌ها وابسته به سطح انرژی درون‌سلولی باشد به‌طوری‌که نشان داده شده که اجرای فعالیت ورزشی با شدت بالا باعث افزایش بیشتر لاکتات، ADP، AMP و نسبت AMP/ATP نسبت به فعالیت با شدت پایین‌تر می‌گردد [36] و با توجه به ارتباط ایرزین با متابولیت‌های درون‌سلولی [22]، می‌تواند دلیلی بر تفاوت بین 2 گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی باشد.

همچنین سطوح ایرزین در هر 2 گروه 2ساعت پس از فعالیت ورزشی ($HIIE_2$، $MICE_2$) نسبت به بلافاصله پس از فعالیت ورزشی ($HIIE_0$،$MICE_0$) کاهش غیر معنی‌داری داشت. Huh و همکاران (2014) گزارش کردند که ایرزین گردشی بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا افزایش می‌یابد و پس از یک ساعت سطوح ایرزین کاهش می‌یابد [23]. کاهش ایرزین در 2 ساعت پس از HIIE نسبت به بلافاصله پس از HIIE، احتمالاً سازوکار-هایی مبنی بر جذب یا پاک‌سازی ایرزین از گردش خون داشته باشد که مشخص نیست. Kraemer و همکاران (2014)، پاسخ ایرزین را در طول 90 دقیقه فعالیت ورزشی (در دقایق صفر، 54، 90 دقیقه و همچنین 20 دقیقه پس از فعالیت ورزشی) بررسی کردند که سطوح بالای ایرزین را در دقیقه 54 مشاهده کردند [15]. این نتایج نشان می‌دهد که فعال‌سازی سیگنالینگ ایرزین در طول اولین ساعت فعالیت ورزشی رخ می‌دهد و پس از فعالیت ورزشی رو به کاهش دارد. علی‌رغم دیابتی بودن نمونه‌های پژوهش حاضر، $HIIE_0$ باعث افزایش معنی‌دار ایرزین سرم و افزایش غیر معنی‌داری در گروه‌های دیگر ($HIIE_2$، $MICE_0$, $MICE_2$) شد. Huh و همکاران (2014) گزارش کردند. که افزایش ایرزین در پاسخ به تمرین شدید مستقل از سن و سطح آمادگی افراد است که سطوح پایه متفاوتی داشتند [23]. همچنین، تغییر ناشی از فعالیت ورزشی در سطوح ایرزین بین افراد سالم و افراد مبتلا به سندروم متابولیک یکسان می‌باشد [18]. بنابراین، پژوهش حاضر نشان داد که علی‌رغم دیابتی بودن نمونه‌ها که احتمالاً سطوح پایین‌تری از ایرزین را داشتند (براساس مطالعات قبلی)، ایرزین در پاسخ به فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد که می‌تواند این افزایش وابسته به نوع فعالیت ورزشی متفاوت باشد.

در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار UCP-1 چربی زیرپوستی 2 ساعت پس از HIIE (52 درصدی) و افزایش غیر معنی‌دار 17 درصدی بلافاصله پس از HIIE، 22 و 28 درصدی بلافاصله و 2 ساعت پس از MICE مشاهده شد. مطالعات کمی در زمینه اثر حاد تمرین ورزشی بر UCP-1 چربی وجود دارد و سازوکار دقیق تغییرات UCP-1 در پاسخ به فعالیت ورزشی کامل درک نشده است. مطالعات انجام‌شده نشان می‌دهد که هر 2 نوع فعالیت ورزشی با شدت بالا و متوسط باعث افزایش نوراپی نفرین می‌شود [37] و نوراپی نفرین از طریق مسیرهای وابسته به cAMP و بتا-آدرنژیک منجر به افزایش بیان UCP-1 و PGC-1α در بافت چربی می‌شود [38]. احتمالاً افزایش نوراپی نفرین می‌تواند یکی از عوامل مؤثر بر افزایش UCP-1 چربی زیرپوستی در گروه‌های تحقیقی باشد.

علاوه براین، در سال‌های اخیر توجه زیادی به هورمون ایرزین به‌عنوان محرک اصلی برای افزایش بیان UCP-1 و ظرفیت گرمازایی بافت چربی شده است. در مطالعات حیوانی، افزایش سطوح ایرزین در اثر فعالیت ورزشی منجر به بیان mRNA UCP-1 در سلول‌های چربی سفید از طریق فعال‌سازی PPAR-α می‌شود که باعث قهوه‌ای شدن بافت چربی سفید و افزایش هزینه انرژی از طریق گرمازایی می‌شود [9]. همچنین، تزریق ایرزین منجر به کاهش وزن در موش‌های چاق شده با رژیم غذایی پُرچرب می‌شود [9]. با توجه به اینکه ایرزین سرمی در پژوهش حاضر افزایش داشته است، می‌تواند علت اصلی افزایش UCP-1 چربی زیرپوستی به تغییرات ایرزین نسبت داد. با این‌حال، علی‌رغم افزایش UCP-1 در همه گروه‌های تحقیق نسبت به گروه کنترل، تنها این افزایش در گروه 2 ساعت پس از

[1] AMP-activated protein kinase

HIIE (52 درصد) معنی‌دار بود که نشان می‌دهد افزایش UCP-1 چربی زیرپوستی در دوره ریکاوری قابل‌توجه‌تر است. براین اساس Ringholm و همکاران (2013) هم، افزایش در محتوی mRNA UCP-1 بافت چربی سفید در پاسخ به فعالیت ورزشی در دوره ریکاوری پس از فعالیت را گزارش کردند [39]. با این‌حال، پاسخ UCP-1 به فعالیت ورزشی در موش‌های حذف‌شده PGC-1α کل بدن نشان می‌دهد که PGC-1α برای تنظیم mRNA UCP-1 ناشی از فعالیت ورزشی در بافت چربی سفید نیاز است [39]. بنابراین، افزایش معنی‌دارUCP-1 چربی زیرپوستی در گروه 2 ساعت پس از HIIE، احتمالاً در اثر افزایش ایرزین سرمی باشد که از طریق فعال‌سازی PPAR-α در دوره ریکاوری منجر به افزایش شده است. به‌نحوی‌که ارتباط معنی‌داری بین افزایش ایرزین و UCP-1 چربی زیرپوستی در مطالعات قبلی گزارش‌شده است [9، 40].

مهم‌ترین محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری بیان ژن‌های PGC-1α و FNDC5 عضلانی و نیز PPAR-α چربی زیرپوستی اشاره کرد.

به‌طورکلی، با توجه به نتایج پژوهش حاضر، هر 2 گروه فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا (HIIE) و تداومی با شدت متوسط (MICE) می‌تواند منجر به افزایش ایرزین سرمی و UCP-1 چربی زیرپوستی گردد، با این‌حال، افزایش ایرزین بلافاصله پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_0$) و UCP-1 چربی زیرپوستی 2 ساعت پس از فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا ($HIIE_2$) بیشتر می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بالا (HIIE) نقش بارزتری برای افزایش ایرزین و UCP-1 چربی زیرپوستی در رت‌های نر دیابتی دارد.

مأخذ

1. Gesta S, Tseng Y-H, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell* 2007;131(2):242-56.
2. Peirce V, Vidal-Puig A. Regulation of glucose homoeostasis by brown adipose tissue. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2013; 1(4):353-60.
3. Barberá MJ, Schlüter A, Pedraza N, Iglesias R, Villarroya F, Giralt M. Peroxisome Proliferator-activated Receptor α Activates Transcription of the Brown Fat Uncoupling Protein-1 Gene a link between regulation of the thermogenic and lipid oxidattion pathways in the erown fat cell. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276(2):1486-93.
4. Alberdi G, Rodríguez VM, Miranda J, Macarulla MT, Churruca I, Portillo MP. Thermogenesis is involved in the body-fat lowering effects of resveratrol in rats. *Food chemistry* 2013; 141(2):1530-5.
5. Vitali A, Murano I, Zingaretti MC, Frontini A, Ricquier D, Cinti S. The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *Journal of lipid research* 2012; 53(4):619-29.
6. Cao L, Choi EY, Liu X, Martin A, Wang C, Xu X, et al. White to brown fat phenotypic switch induced by genetic and environmental activation of a hypothalamic-adipocyte axis. *Cell metabolism* 2011; 14(3):324-38.
7. Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, et al. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *The Journal of clinical investigation* 2011; 121(1):96-105.
8. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology* 2012; 8(8):457-65.
9. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-[agr]-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481(7382):463-8.
10. Yang X, Enerbäck S, Smith U. Reduced expression of FOXC2 and brown adipogenic genes in human subjects with insulin resistance. *Obesity research* 2003; 11(10):1182-91.
11. Choi Y-K, Kim M-K, Bae KH, Seo H-A, Jeong J-Y, Lee W-K, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice* 2013; 100(1):96-101.
12. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes care* 2010;33(12):e147-e67.
13. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell metabolism* 2013; 17(2):162-84.
14. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of

acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS Journal* 2014;281(3):739-49.
15. Kraemer R, Shockett P, Webb N, Shah U, Castracane V. A Transient Elevated Irisin Blood Concentration in Response to Prolonged, Moderate Aerobic Exercise in Young Men and Women. *Horm Metab Res* 2014;46:150-4.
16. Anastasilakis AD, Polyzos SA, Saridakis ZG, Kynigopoulos G, Skouvaklidou EC, Molyvas D, et al. Circulating irisin in healthy, young individuals: day-night rhythm, effects of food intake and exercise, and associations with gender, physical activity, diet, and body composition. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2014; 99(9):3247-55.
17. Daskalopoulou SS, Cooke AB, Gomez Y-H, Mutter AF, Filippaios A, Mesfum ET, et al. Plasma irisin levels progressively increase in response to increasing exercise workloads in young, healthy, active subjects. *European journal of endocrinology* 2014;171(3):343-52.
18. Huh JY, Siopi A, Mougios V, Park KH, Mantzoros CS. Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2015;100(3):E453-E7.
19. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pöllänen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *The Journal of physiology* 2013;591(21):5393-400.
20. 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.
21. 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.
22. 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):1725-38.
23. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, et al. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2014; 99(11):E2154-E61.
24. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2011; 300(6):R1303-R10.
25. Calcutt NA. Modeling diabetic sensory neuropathy in rats. *Pain Research: Methods and Protocols* 2004:55-65.
26. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2007; 14(6):753-60.
27. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS one* 2013; 8(4):e60563.
28. Lecker SH, Zavin A, Cao P, Arena R, Allsup K, Daniels KM, et al. Expression of the irisin precursor FNDC5 in skeletal muscle correlates with aerobic exercise performance in patients with heart failure. Circulation: *Heart Failure* 2012; 5(6):812-8.
29. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature* 2012; 488(7413):E9-E10.
30. Roberts-Wilson TK, Reddy RN, Bailey JL, Zheng B, Ordas R, Gooch JL, et al. Calcineurin signaling and PGC-1α expression are suppressed during muscle atrophy due to diabetes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 2010;1803(8):960-7.
31. Liu J-J, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications* 2013; 27(4):365-9.
32. Suwa M, Nakano H, Radak Z, Kumagai S. Endurance exercise increases the SIRT1 and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α protein expressions in rat skeletal muscle. *Metabolism* 2008; 57(7):986-98.
33. Hargreaves M, McKenna MJ, Jenkins DG, Warmington SA, Li JL, Snow RJ, et al. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. *Journal of applied physiology* 1998;84(5):1687-91.
34. Jäger S, Handschin C, Pierre JS-, Spiegelman BM. AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1α. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007; 104(29):12017-22.
35. Knutti D, Kressler D, Kralli A. Regulation of the transcriptional coactivator PGC-1 via MAPK-sensitive interaction with a repressor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001; 98(17):9713-8.
36. Chen Z-P, Stephens TJ, Murthy S, Canny BJ, Hargreaves M, Witters LA, et al. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK

signaling in humans. *Diabetes* 2003; 52(9):2205-12.
37. Williams CB, Zelt JG, Castellani LN, Little JP, Jung ME, Wright DC, et al. Changes in mechanisms proposed to mediate fat loss following an acute bout of high-intensity interval and endurance exercise. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2013; 38(12):1236-44.
38. Nedergaard J, Cannon B. The browning of white adipose tissue: some burning issues. *Cell metabolism* 2014; 20(3):396-407.
39. Ringholm S, Knudsen JG, Leick L, Lundgaard A, Nielsen MM, Pilegaard H. PGC-1α is required for exercise-and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PloS one* 2013; 8(5):e64123.
40. Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes* 2014; 63(2):514-25.

THE EFFECTS OF HIGH INTENSITY INTERVAL EXERCISE (HIIE) AND MODERATE INTENSITY CONTINUOUS EXERCISE (MICE) ON SERUM IRISIN AND SUBCUTANEOUS UCP-1 IN DIABETIC MALE RATS

Mousa Khalafi[1*], Ali Asghar Ravasi[2], Fatemeh Shabkhiz[2], Mohammad Moradi[2], Yashar Zarei[2]

1. *Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan. Guilan.Iran*
2. *Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran.Tehran.Iran*

ABSTRACT

Background: Irisin was identified as a myokine secreted by exercise which plays an important role in energy metabolism and regulation of metabolic diseases such as diabetes. The aim of the present study is to investigate the effects of high intensity interval exercise (HIIE) and moderate intensity continuous exercise (MICE) on serum irisin and Subcutaneous UCP-1 in diabetic male rats.
Methods: In this study, 29 diabetic Wistar rats (12 week- age, 220-240 gr- weight) were assigned to 5 groups: immediately and 2 hours after high intensity interval exercise (HIIE0, HIIE2), immediately and 2 hours after moderate intensity continuous exercise (MICE0, MICE2) and control (C). Both MICE groups performed on the treadmill with intensity 60-65% vo2max for 40 minutes and both HIIE groups with intensity 90-95% vo2max in the 12 interval-one minute period and 1 minute rest intervals. ELISA was used to measure serum irisin and subcutaneous fat UCP-1. One-way ANOVA and Tukey post hoc test has used to data analysis, the level of significance has been considered at $P \leq 0/05$.
Results: Data analysis showed serum irisin levels in the HIIE0 group and subcutaneous fat UCP-1 in the HIIE2 significantly increased compared to the control group ($p<0/05$). However, there was no significant difference between other research groups ($P>0/05$).
Conclusion: It seems high intensity of exercise had important roles in significant changes of serum irisin levels and subcutaneous fat UCP-1in diabetic rats.

Keywords: High intensity interval exercise (HIIE), Moderate intensity continuous exercise (MICE), Serum irisin, Subcutaneous UCP-1, Diabetic rats

[*] Guilan, Rasht, University of Guilan, Tel: 09145843996, Postal Code:5431733461, Email: mousa.khalafi@yahoo.com.