

# Effects of six-week high-intensity interval training (HIIT) on PGC-1 $\alpha$ methylation in gastrocnemius muscle of obese rats

Shabnam Maleki<sup>1</sup>, Parvaneh Nazarali<sup>2</sup>, Ameneh Razavi<sup>2</sup>, Fahimeh Kazemi<sup>2\*</sup>

1. Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

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

(Received: 2018/05/27

Accept: 2018/08/7)

## Abstract

**Background:** Obesity is associated with increased risk of many diseases. Methylation is an important factor in obesity, indicating epigenetic changes. However, there is lack of data about PGC-1 $\alpha$  methylation and regular exercise. The purpose of the present study was to determine effects of a six-week high-intensity interval training (HIIT) program on PGC-1 $\alpha$  methylation in gastrocnemius muscle of obese male rats.

**Methods:** In an experimental study, 24 male Wistar rats were randomly divided into four groups (six rats each): control healthy, trained healthy, control obese, and trained obese. Healthy group consumed normal diet and obese group consumed high-fat diet for six weeks. The trained healthy and trained obese performed swimming HIIT for six weeks. Then, 24 hours after the last session of training, gastrocnemius muscles of control and trained rats were extracted and then afterwards PGC-1 $\alpha$  methylation was assayed. To analyze the data, paired sample t-test and one-way analysis of variance were used.

**Results:** After six weeks, body weight of trained obese group, compared with control obese, decreased significantly ( $P=0.021$ ). In addition, after six-week HIIT, PGC-1 $\alpha$  methylation of healthy ( $P=0.010$ ) and obese group ( $P=0.037$ ), compared with their control group, decreased significantly.

**Conclusion:** It appears that six weeks of swimming HIIT can be effective on obesity state and significantly reduce PGC-1 $\alpha$  methylation in gastrocnemius muscle of obese male rats.

**Keywords:** Obesity; High fat diet; PGC-1 $\alpha$  methylation; High-intensity interval training

\* Corresponding author: Fahimeh Kazemi  
Email: f.kazemi@alzahra.ac.ir

## اثر شش هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر متیلاسیون PGC-1 $\alpha$ در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر چاق

شبنم ملکی<sup>۱</sup>، پروانه نظرعلی<sup>۲</sup>، آمنه رضوی<sup>۲</sup>، فهیمه کاظمی<sup>۲\*</sup>

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران  
 ۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۵/۱۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۳/۰۶

### چکیده:

**سابقه و هدف:** چاقی با افزایش خطر بسیاری از بیماری‌ها همراه است. متیلاسیون عاملی مهم در چاقی است که بیانگر تغییرات اپی‌ژنتیک است. با این حال، اطلاعاتی در زمینه متیلاسیون PGC-1 در فعالیت ورزشی منظم وجود ندارد. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثر شش هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر متیلاسیون PGC-1 در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر چاق بود.

**روش بررسی:** در یک مطالعه تجربی، ۲۴ موش صحرایی نر از نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه شش تایی سالم کنترل، سالم تمرین، چاق کنترل و چاق تمرین تقسیم شدند. گروه سالم از رژیم غذایی نرمال و گروه چاق از رژیم غذایی پرچرب (به مدت شش هفته) استفاده کردند. گروه سالم تمرین و چاق تمرین، به مدت شش هفته HIIT شنا را انجام دادند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله دوقلوی موش‌های گروه کنترل و تمرین جدا شد و پس از آن، سنجش متیلاسیون PGC-1 انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری تی همبسته و آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** پس از شش هفته وزن بدن گروه چاق تمرین نسبت به گروه چاق کنترل کاهش معناداری یافت ( $P=0/021$ ). علاوه بر این، پس از شش هفته HIIT، میزان متیلاسیون PGC-1 گروه سالم ( $P=0/010$ ) و گروه چاق ( $P=0/037$ ) نسبت به گروه کنترل‌شان کاهش معناداری یافت.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که شش هفته HIIT شنا می‌تواند بر وضعیت چاقی مؤثر باشد و به طور قابل توجهی متیلاسیون PGC-1 را در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر چاق کاهش دهد.

**واژگان کلیدی:** چاقی، رژیم غذایی پرچرب، متیلاسیون PGC-1، تمرین تناوبی شدید

### مقدمه:

وضعیت جسمانی در افراد چاق به جای استفاده از دارو از فعالیت‌های ورزشی اعم از بی‌هوایی و هوایی استفاده می‌شود که هر کدام از این فعالیت‌ها از طریق مکانسیم‌های مختلفی بر بهبود وضعیت جسمانی تاثیر می‌گذارند (۱، ۲). شدت، مدت و تکرار تمرین برای افراد چاق به واسطه افزایش انرژی مصرفی و نسبت اکسایش چربی از اهمیت بیشتری برخوردار است (۳). امروزه تمرین‌های تناوبی به دلیل تاثیرات فیزیولوژی قابل توجه بر چاقی و افزایش اکسایش چربی در مقایسه با تمرین‌های استقامتی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده‌اند (۴). انجام تمرین‌های تناوبی شدید (HIIT) (high-intensity interval training)

چاقی یکی از هشدارهای مهم بهداشت جهانی و عامل بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت نوع دو، پرفشار خونی، بیماری‌های قلبی و عروقی و سرطان است. بر اساس آخرین آمار منتشر شده از سوی سازمان بهداشت جهانی، افراد چاق ۸ تا ۱۰ سال عمر کمتری نسبت به افراد عادی دارند و از هر سه نفر از افراد جهان، یک نفر دارای اضافه وزن و از هر ده نفر آن‌ها، یک نفر مبتلا به چاقی است (۱). پیشگیری از عارضه چاقی امکان‌پذیر است و به دنبال پیامدهای زیان‌بار آن، پیشگیری از چاقی بسیار آسان‌تر، ارزان‌تر و مؤثرتر از درمان آن است. برای بهبود

نویسنده مسئول: فهیمه کاظمی\*

پست الکترونیک: f.kazemi@alzahra.ac.ir

با شرایط زندگی در آزمایشگاه سازگار شده و غذای نرمال موش به صورت آزاد در دسترس آن‌ها قرار داشت. سپس در شروع هفته دوم، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه شش تایی سالم کنترل، سالم تمرین، چاق کنترل و چاق تمرین تقسیم شدند. ابتدا برنامه چاق شدن موش‌ها (به مدت شش هفته) انجام شد، به طوری که گروه سالم از رژیم غذایی نرمال و گروه چاق از رژیم غذایی پرچرب تغذیه کردند. رژیم غذایی نرمال (انرژی: ۳/۰۵ کیلوکالری به ازای هر گرم) حاوی ۶۴/۴ درصد کربوهیدرات، ۲۳/۱ درصد پروتئین، ۴/۸ درصد چربی (روغن سویا)، ۰/۳ درصد ویتامین و ۷/۷ درصد مواد معدنی و رژیم غذایی پرچرب (انرژی: ۵/۳۵ کیلوکالری به ازای هر گرم) حاوی ۲۶/۸۸ درصد کربوهیدرات، ۱۵/۱۷ درصد پروتئین، ۵۷/۲ درصد چربی (روغن سویا)، ۰/۷۵ درصد ویتامین بود (۱۴). رژیم غذایی توسط انیستیتو پاستور تهیه شد. موش‌هایی که به وزن  $15 \pm 287$  گرم رسیدند و بر اساس شاخص لی (۱۵) چاق محسوب شدند.

#### پروتکل تمرین شنای تناوبی شدید

پس از برنامه چاق شدن موش‌ها، رژیم غذایی پرچرب به رژیم غذایی نرمال تغییر یافت و پروتکل تمرینی (به مدت شش هفته) انجام شد. انتقال حیوانات آزمایشگاهی از محیطی به محیط دیگر باعث بروز استرس در آن‌ها می‌شود. از این رو، در این تحقیق موش‌ها پس از ورود به آزمایشگاه به مدت یک هفته در اتاق ویژه استراحت حیوانات نگهداری شدند تا به محیط جدید عادت داده شوند. آشناسازی موش‌ها با تمرین شنا به مدت دو هفته و به صورت سه جلسه در هفته انجام شد. در دوره آشناسازی، تمرین بدون بار اعمال شد. استخر شنای ویژه جوندگان به ابعاد  $30 \times 40 \times 80$  بود و وزنه‌های سنگی برای اعمال بار تمرینی متناسب با هدف تحقیق در نظر گرفته شد که کیسه حمل وزنه نیز توسط محقق ساخته شد. در جدول یک، پروتکل HIIT و اعمال بار و شدت در طول شش هفته تمرین (۱۴) ارائه شده است. قابل ذکر است گروه کنترل در طول شش هفته، هیچ گونه تمرین ورزشی انجام نمی‌دادند و شرایط محیطی برای گروه کنترل به طور کامل مشابه با گروه تمرین بود.

جدول ۱. پروتکل HIIT

هفته	ست	زمان	استراحت	بار
اول	۵	۱ دقیقه	۱ دقیقه	۷درصد
دوم	۵	۱ دقیقه	۱ دقیقه	۷درصد
سوم	۵	۱ دقیقه	۱ دقیقه	۱۰درصد
چهارم	۱۴	۲۰ ثانیه	۱۰ ثانیه	۱۴درصد
پنجم	۱۴	۲۰ ثانیه	۱۰ ثانیه	۱۵درصد
ششم	۱۴	۲۰ ثانیه	۱۰ ثانیه	۱۶درصد

#### جمع‌آوری نمونه‌های عضلانی

موش‌های گروه کنترل و تمرین، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با ترکیبی از داروی بی‌هوشی کتامین (۷۵ میلی‌گرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم) بی‌هوش شدند. سپس برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، فوری از قلب حیوان مستقیم خون‌گیری شد. برای استخراج عضله دوقلو، تحت شرایط استریل از طریق شکاف روی ناحیه پستی جانی، اندام تحتانی جدا شد. بافت مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و ضمن انتقال به آزمایشگاه تا زمان اندازه‌گیری در دمای  $-70$  درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شد.

#### سنجش متیلاسیون PGC-1 $\alpha$

متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  با استفاده از روش MSP در بافت عضله دوقلو سنجش شد. همچنین متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در ناحیه CpG (-260 nt) انجام شد (شکل ۱). برای

ظرفیت اکسایش چربی و فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی را افزایش می‌دهد و نقش قابل توجهی در کاهش چربی زیرپوستی و افزایش توده بدون چربی دارد (۵). همچنین نشان داده شده است که انجام HIIT، بیش از ۵۰ درصد کارایی بهتری برای کاهش چربی نسبت به تمرین‌های استقامتی دارد (۴). در پاسخ به HIIT یکی از سازگاری‌های مهم در سطح سلولی، بیوژنز میتوکندریایی است (۴). یکی از ژن‌های کنترل‌کننده متابولیسم، PGC1 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) به عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های رونویسی در نقش حسگر متابولیکی عمل می‌کند و به دنبال تغییرات در متابولیسم، به تغییرات در بیان ژن منجر می‌شود و هرگونه اختلال در متابولیسم و تعادل بین انرژی دریافتی، مصرفی و ذخیره موجب بروز اختلال‌های متابولیکی نظیر سندرم متابولیک (چاقی و دیابت) می‌شود (۶). نقش اساسی این پروتئین در بیوژنز میتوکندریایی و افزایش انرژی مصرفی است و در بافت‌های چربی قهوه‌ای، قلب، عضله اسکلتی، کلیه، مغز و همه بافت‌های اکسایشی بیان می‌شود و تحت تاثیر فعالیت ورزشی، بیان آن در عضله قلبی و اسکلتی افزایش پیدا می‌کند (۷). همچنین PGC-1 $\alpha$  تعدیل‌کننده تعداد زیادی ژن در مسیرهای متابولیسم از جمله گلوکونئوژنز، گلیکولیز و اکسایش اسیدهای چرب است (۸). همچنین نشان داده شده است که PGC-1 $\alpha$  می‌تواند بسیاری از فاکتورهای رونویسی و گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای را فعال کند که به تنظیم افزایشی بیان ژن میتوکندریایی و افزایش DNA (deoxyribonucleic acid) میتوکندریایی در بافت‌هایی مانند عضله اسکلتی منجر می‌شود (۹). بیان این پروتئین به شدت تحت تاثیر فعالیت ورزشی بوده و با بی‌تحرکی کاهش می‌یابد (۱۰).

یکی دیگر از تغییرات ژنتیکی مهم که تحت تاثیر فعالیت ورزشی ایجاد می‌شود، متیلاسیون است که فرآیندی بیوشیمیایی و پیچیده برای کنترل پروتئین و ترکیب DNA در سراسر بدن است (۱۱). متیلاسیون DNA به طور معمول در سلول‌های تمایز یافته در جزیره CpG غنی از بازهای سیتوزین و گوانین اتفاق می‌افتد، به طوری که می‌تواند منطقه پروموتور رونویسی ژن را مسدود کرده و باعث خاموش شدن بیان بعضی از ژن‌ها شود. از طرفی، این تغییرات تحت تاثیر محیط (تغذیه، آلودگی، فعالیت ورزشی و ...) می‌تواند نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها در طول رشد و نمو و کنترل بیماری‌های همچون سندرم متابولیک داشته باشند، به طوری که فعالیت ورزشی به عنوان یکی از فاکتورهای اپی‌ژنتیک توانسته سبب تغییر متیلاسیون ژن‌هایی شود که در کاهش سندرم متابولیک نقش دارند (۱۱).

چاقی یکی از مضامین مهم بهداشتی در سراسر جهان است، این در حالی است که یکی از مهم‌ترین موضوع‌ها در چاقی، متیلاسیون است که بیانگر تغییرات اپی‌ژنتیک است (۱۲)، ولی امروزه کمتر به آن پرداخته شده است. از طرفی، در تنها تحقیق در دسترس، Barrès و همکاران (۲۰۱۲)، کاهش متیلاسیون پروموتور PGC-1 $\alpha$  را پس از فعالیت ورزشی حاد در عضله دوقلوی موش گزارش کردند (۱۳). با توجه به نبود تحقیق‌های کافی در زمینه متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  و فعالیت ورزشی منظم و از آن جا که HIIT به عنوان روش جدید تمرینی در دهه اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است، در تحقیق حاضر، برای اولین بار اثر HIIT بر متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی مطالعه شده است تا به این سوال پاسخ داده شود که آیا شش هفته HIIT بر متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر چاق اثر دارد؟ قابل ذکر است در این تحقیق از تمرین‌های شنا که در آب انجام می‌شود و احتمال آسیب را کاهش می‌دهد، استفاده شده است.

#### مواد و روش‌ها:

##### نمونه آماری و روش تحقیق

این تحقیق از نوع تجربی و آزمایشگاهی با مدل حیوانی است. ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار دو ماهه با میانگین وزن  $20 \pm 240$  گرم از انیستیتو پاستور خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشگاه شهید بهشتی منتقل شدند. موش‌ها بعد از انتقال به آزمایشگاه در محیطی با رطوبت  $5 \pm 25$  درصد، دمای  $2 \pm 23$  درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگاه‌داری شدند. موش‌ها در هفته اول

جدول ۲. وزن بدن موش‌های چهار گروه در مرحله پیش آزمون و پس آزمون (۶ موش در هر گروه)

متغیر	گروه			
	سالم کنترل	سالم تمرین	چاق کنترل	چاق تمرین
وزن بدن (گرم)	پیش آزمون	۲۵۴ ± ۲۰	۲۵۴ ± ۲۱	۲۶۶ ± ۱۲
	پس آزمون	۳۰۷ ± ۱۲	۳۱۰ ± ۱۳	۴۰۵ ± ۱۳

مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار است. \* تفاوت معناداری ( $P < 0.05$ ) نسبت به مرحله پیش آزمون

آماده‌سازی نمونه‌ها برای سنجش پروتئین، ابتدا بافت‌های فریز شده به برش‌های کوچک به وزن ۱۰ میلی‌گرم تقسیم شدند. قسمت تاندون عضله به دلیل اینکه قابلیت ریز شدن را نداشت از بافت جدا شد. از آنجا که وزن در بعضی از نمونه‌ها به دلیل حجم کم نمونه‌برداری به ۱۰ میلی‌گرم نمی‌رسید، میزان آن یادداشت شد و متناسب با آن، اندازه محلول بافری حاوی آنتی‌پروتئازها تغییر کرد. در نهایت، بافت موردنظر در میکروتیوب انداخته و سپس به آن بافر فسفات نمکی حاوی آنتی‌پروتئازها اضافه شد. برای لیز کردن بافت‌ها از دستگاه هموژنایزر MICCRA D-1 ۳۰۳۱۸؛ ساخت کشور آلمان، ابتدا با دور کند و سپس با دور تند استفاده شد. بعد از هموژنیزه شدن بافت، برای سنجش میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  از کیت متیلاسیون (CUSABIO BIOTECH Wuhan، ساخت کشور چین) استفاده شد.

#### پرایمرهای PGC-1 $\alpha$ :

Amplicon size (Un methylated): 234bp

Forward primer: GAGTTATTATATGACCAGGGCTCCG

(Tm: 61.8, 25bp)

Reverse primer: TAAAAAGTAGGCTGGGCTGTCACTC

(Tm: 62.7, 25bp)

آزمون و پس آزمون تفاوت معناداری وجود دارد.

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین تغییرات وزن بدن چهار گروه سالم کنترل، سالم تمرین، چاق کنترل و چاق تمرین تفاوت معناداری وجود دارد ( $P = 0.014$ ).

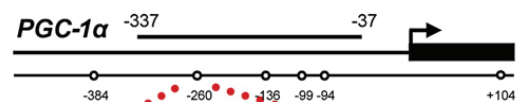
همچنین نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد:

- بین وزن گروه سالم کنترل و چاق کنترل ( $P = 0.036$ )، سالم تمرین و چاق کنترل ( $P = 0.040$ )، چاق کنترل و چاق تمرین ( $P = 0.021$ ) تفاوت معناداری وجود دارد.
- بین وزن گروه سالم کنترل و سالم تمرین ( $P = 0.073$ )، سالم کنترل و چاق تمرین ( $P = 0.020$ ) و سالم تمرین و چاق تمرین ( $P = 0.059$ ) تفاوت معناداری وجود ندارد.

از طرفی، نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  چهار گروه سالم کنترل، سالم تمرین، چاق کنترل و چاق تمرین تفاوت معناداری وجود دارد ( $P = 0.007$ ) (شکل ۲).

درضمن، نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد:

- بین میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  گروه سالم کنترل و سالم تمرین ( $P = 0.010$ )، سالم کنترل و چاق کنترل ( $P = 0.036$ )، سالم تمرین و چاق تمرین ( $P = 0.013$ )، سالم تمرین و چاق کنترل ( $P = 0.018$ )، سالم تمرین و چاق تمرین ( $P = 0.043$ )، چاق کنترل و چاق تمرین ( $P = 0.037$ ) تفاوت معناداری وجود دارد، به طوری که میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  گروه سالم تمرین نسبت به سالم کنترل و گروه چاق تمرین به چاق کنترل به ترتیب ۳۳/۳۳ و ۵۲/۱۷ درصد کاهش معناداری دارد.
- میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  گروه چاق کنترل نسبت به سالم کنترل، چاق تمرین نسبت به سالم کنترل، چاق کنترل نسبت به سالم تمرین و چاق تمرین و سالم تمرین به ترتیب ۴۲/۸۵، ۱۳/۰۴، ۵۷/۱۴ و ۳۴/۷۸ درصد افزایش معناداری دارد.



*mus musculus* AGGGCTC $\text{CG}$ GTTTAGAGTTGGTG  
*is norvegicus* AGGGCTC $\text{CG}$ GTTTAGAGTTGGTG  
*lomo sapiens* AGGGCTC $\text{CG}$ -TTTAGAGTCTGTG

شکل ۱. متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در ناحیه CpG (-260 nt)

#### روش‌های آماری تحقیق

پس از بررسی و تایید نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه میانگین متغیر چهار گروه در مرحله پیش آزمون و پس آزمون از آزمون آماری تی همبسته (Paired sample t-test) و برای مقایسه میانگین متغیرهای چهار گروه پس از آزمون از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و در صورت مشاهده اختلاف معناداری از آزمون تعقیبی توکی (Tukey) استفاده شد. همچنین، سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد.

#### یافته‌ها:

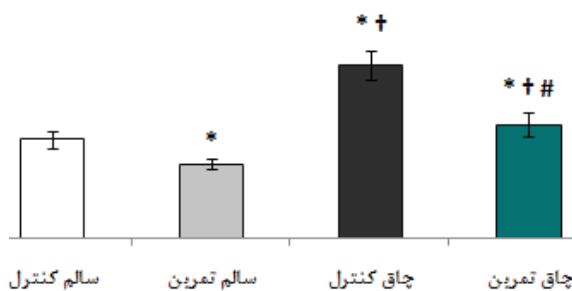
تغییرات وزن بدن موش‌ها در چهار گروه سالم کنترل، سالم تمرین، چاق کنترل و چاق تمرین در مرحله پایه (پیش آزمون) و پس از شش هفته دوره تجربی (پس آزمون) در جدول ۲ ارائه شده است، به طوری که نتایج حاصل از آزمون تی همبسته نشان داد که بین وزن بدن گروه سالم کنترل ( $P = 0.039$ )، سالم تمرین ( $P = 0.027$ )، چاق تمرین ( $P = 0.011$ ) و چاق کنترل ( $P = 0.008$ ) در مرحله پیش

#### بحث:

تحقیق حاضر برای اولین بار اثر HIIT را بر متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله اسکلتی مطالعه کرده است. در تحقیق حاضر، ویژگی پویای متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله دوقلوی موش‌ها پس از تمرین ورزشی نشان داده شد، به طوری که پس از شش هفته HIIT، متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در ناحیه CpG (-260 nt) موش‌های سالم و چاق کاهش معناداری یافت. این نتایج اهمیت نقش تغییرات اپی‌ژنتیک را در فرآیندهای متابولیکی نشان می‌دهد. تغییرات در متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  به عنوان یک مکانیسم بیولوژیکی مهم در تأثیرات مفید فعالیت ورزشی در نظر گرفته شده است (۱۳، ۱۶). تحقیق حاضر، تأثیر تمرین بلندمدت و مداخله‌های آن در تغییرات ژنومی متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی را مورد سنجش قرار داده است، به طوری که تحقیق‌های گذشته، ارتباط مثبتی را بین متیلاسیون ژن‌های بدن و فعالیت ترجمه و رونویسی نشان داده‌اند (۱۷)، مبنی بر اینکه متیلاسیون DNA می‌تواند سبب تنظیم عوامل خارجی شود (۱۸، ۱۹). در مطالعه‌های مختلفی



## متیلاسیون PGC-1 $\alpha$



شکل ۲. میزان متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  چهار گروه. مقادیر به صورت میانگین و انحراف معیار است.

\* تفاوت معناداری نسبت به گروه سالم کنترل، † تفاوت معناداری ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه سالم تمرین، # تفاوت معناداری نسبت به گروه چاق کنترل

که تغییرات متیلاسیون را در پاسخ به فعالیت ورزشی بررسی کرده‌اند، تغییرات متیلاسیون DNA ناشی از فعالیت ورزشی مشخص شده است (۲۰). همچنین نشان داده شده است مداخله ورزشی موجب کاهش وزن و کاهش نسبت سطح کمر به لگن در نمونه‌های انسانی می‌شود، به طوری که پیشنهاد شده است کاهش چربی شکمی می‌تواند به عنوان یک فنوتیپ شناخته شده در رابطه با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیک در نظر گرفته شود. علاوه بر این، افزایش شاخص حداکثر اکسیژن مصرفی (VO2max) آزمودنی‌ها در پاسخ به تمرین ورزشی همراه با کاهش فشار خون دیاستولی و نیز کاهش ضربان قلب و بهبود سطح لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) نشانگر تاثیر تمرین ورزشی بر بهبود خطر ابتلا به بیماری‌های دیابت نوع دو و بیماری‌های قلبی-عروقی است (۲۱). قابل ذکر است در تحقیق حاضر، وزن بدن موش‌های چهار گروه در مرحله پس از آزمون نسبت به مرحله پیش از آزمون افزایش یافت که دلیل این افزایش وزن می‌تواند به افزایش سن نمونه‌ها مربوط باشد. این در حالی است که پس از شش هفته HIIT، افزایش وزن موش‌های گروه چاق تمرین نسبت به گروه چاق کنترل کمتر بود.

از طرفی، مشخص شده است فعال کننده‌های PGC-1 $\alpha$  به شدت به محرک‌های محیطی همچون شرایط تغذیه‌ای و فعالیت بدنی پاسخ می‌دهند. از آنجا که فعال کننده‌های PGC-1 $\alpha$  چندین جنبه از متابولیسم گلوکز، چربی و انرژی را تنظیم می‌کنند، جای تعجب نیست که اختلال در تنظیم این پروتئین‌ها در چندین شرایط پاتوفیزیکی مشاهده شده است. ثابت شده است تغذیه بیش از حد در انسان و حیوان موجب افزایش سطح متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در عضلات اسکلتی می‌شود (۲۲). این افزایش موجب خاموشی انتخابی DNA متیل ترانسفراز سه بتا (DNMT3B) و cytosine-5-methyltransferase 3 beta (DNMT3B) و الگوهای بیان مؤثر آن می‌شود. سطوح بالای مواد مغذی و سایتوکین‌های گردش خون مانند فاکتور نکروز تومور-آلفا (TNF- $\alpha$ ) و افزایش اسیدهای چرب در خون نشانگر مقاومت به انسولین است و می‌تواند به طور مکرر متیلاسیون DNA پروموتور PGC-1 $\alpha$  را در میوتوب‌های تمایز یافته افزایش دهد (۲۲). به علت نقش PGC-1 $\alpha$  در افزایش بیوزن میتوکندریایی و تنفس در عضلات اسکلتی، انتخاب آن برای استفاده در سیستم اکسیداتیو مناسب است (۲۳، ۲۲). به طوری که نوع تمرین انتخاب شده در تحقیق حاضر یعنی هوازی به نظر می‌رسد بهترین گزینه برای بررسی متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  باشد. همچنین به دلیل اینکه عضلات کند انقباض به طور عمده از تارهای نوع یک (I) تشکیل شده‌اند که از لحاظ محتوای میتوکندریایی بسیار غنی و وابسته به متابولیسم اکسیداتیو هستند (۲۲)، از عضله دوقلو استفاده شد. در تحقیق حاضر نشان داده شد که شش هفته HIIT شنا موجب کاهش معناداری

در متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  موش‌های سالم و چاق می‌شود. در تحقیق Barrès و همکاران (۲۰۱۲)، کاهش متیلاسیون پروموتور PGC-1 $\alpha$  را پس از فعالیت ورزشی حد نشان دادند (۱۳). همچنین Laker و همکاران (۲۰۱۴)، اثر شش هفته تمرین ورزشی را در جلوگیری از هایپرمتیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در چاقی ایجاد شده در مادر و تاثیر آن در نسل بعد را بررسی کردند، به طوری که نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین ورزشی می‌تواند موجب کاهش متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در مادر و حتی در نسل بعد شود (۲۴). با توجه به این تحقیق‌ها می‌توان گفت که فعال‌سازی ژن با تغییر دینامیکی حد در متیلاسیون DNA در عضله اسکلتی همراه است و هایپرمتیلاسیون DNA می‌تواند یک رویداد اولیه در فعال شدن ژن ناشی از انقباض عضله باشد (۲۴).

عملکرد PGC-1 $\alpha$  شامل تنظیم ناقل گلوکز-۴ (GLUT-4) و اکسیداسیون میتوکندری است، به طوری که این فعال کننده می‌تواند به عنوان یکی از اهداف مهم برای مقابله با چاقی و دیابت نوع دو باشد (۲۵، ۲۶). کاهش سطح متیلاسیون موجب افزایش سطح GLUT-4 در مسیرهای پایین دستی می‌شود. در همین راستا، دو ژن مهم به نام‌های HDAC4 و NCOR2 (Nuclear receptor co-repressor 2) به عنوان رابط‌های بیولوژیکی در متابولیسم بافت چربی برای ارزیابی عملکرد انتخاب شده‌اند. HDAC4، یک هیستون داستیلاز (Histone deacetylase) است که از طریق فسفریلاسیون تنظیم می‌شود و موجب کاهش نسخه برداری GLUT-4 در بافت‌های چربی می‌شود. در عضله اسکلتی، HDAC4 از هسته مرکزی در طول فعالیت ورزشی خارج می‌شود و پیشنهاد شده است که این عملکرد می‌تواند مکانیسمی برای سازگاری‌های به وجود آمده در اثر فعالیت ورزشی باشد (۲۶). در تحقیق Rönn و همکاران (۲۰۱۳) نشان داده شد که افزایش سطوح متیلاسیون DNA و نیز کاهش همزمان بیان mRNA در بافت چربی در پاسخ به مداخله فعالیت ورزشی می‌شود (۲۶). از طرفی، نشان داده شد که کاهش بیان HDAC4 می‌تواند لیپوژنز را افزایش دهد که نشان‌دهنده کاهش پیش‌رونده فعالیت روی GLUT-4 است. این کاهش می‌تواند موجب افزایش گلوکز مصرفی در سلول‌های چربی و تبدیل گلوکز به تری گلیسریدها در فرآیند لیپوژنز شود. همچنین NCOR2 سبب افزایش متیلاسیون DNA و کاهش همزمان در بیان mRNA در بافت چربی در پاسخ به مداخله فعالیت ورزشی می‌شود. علاوه بر این، در صورت کاهش بیان NCOR2 شاهد افزایش لیپوژنز در خط سلولی 3T3-L1 هستیم. NCOR2 به عنوان یک عامل همکار در این کاهش در هسته در تنظیم ژن‌های مهم برای متابولیسم آدیپوژنز و چربی‌ها دخیل است و توانایی به‌کارگیری آنزیم‌های هیستون داستیلاز مختلفی همچون HDAC4 را دارد. این اطلاعات حاکی بر این است که این پروتئین‌ها از عوامل مهم در درمان چاقی و دیابت نوع دو هستند (۲۶).

در تحقیق دیگری Barrès و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که ۴۸ ساعت پس از سه هفته تمرین ورزشی با وجود افزایش بیان RNA مربوط به PGC-1 $\alpha$ ، متیلاسیون DNA بدون تغییر ماند (۱۳). با این وجود، در تحقیق هیپومتیلاسیون حتی پس از فعالیت ورزشی حد نیز مشاهده شده است (۲۷). در پاسخ به این نتایج می‌توان گفت که هیپومتیلاسیون DNA با مکانیسمی زودگذر در سنتز mRNA دخیل است. تغییر در متیلاسیون DNA ممکن است به نوع و شدت تمرین ورزشی نیز بستگی داشته باشد، به طوری که به نظر می‌رسد عدم تغییر متیلاسیون ممکن است به علت ناکافی بودن شدت تمرین ورزشی باشد. از طرفی، تغییر در متیلاسیون DNA حتی پس از فعالیت ورزشی حد با فعال شدن بعضی از ژن‌ها همراه بوده است. از این رو، عدم تغییر متیلاسیون ممکن است به علت عدم فعال شدن تمامی ژن‌ها باشد. افزایش بیان mRNA بدون تغییر در مقادیر متیلاسیون DNA نشانگر این موضوع است که متیلاسیون DNA تمام عواملی که موجب بیان ژن‌های خاص می‌شود را تحت کنترل خود ندارد و شاید تنها به عنوان یک هماهنگ کننده این مکانیسم پیچیده عمل می‌کند. علاوه بر این، عوامل انقباض عضلانی به دلیل رهاش کلسیم و سرکوب دانترولین (Dantrolene) (مهارگر رهاش کلسیم) می‌تواند عامل مهمی در این موضوع باشد. افزایش کلسیم درون سلولی به دنبال انقباض می‌تواند اولین سیگنال درون سلولی باشد که موجب تغییر در mRNA و پاسخ سازگاری به تمرین ورزشی شود. فعال کننده ترشح کلسیم موجب کاهش متیلاسیون نمی‌شود.

در مجموع، یافته‌های تحقیق حاضر، نقش HIIT شنا را بر معضل چاقی مؤثر دانسته و به نظر می‌رسد این نوع تمرین به دلیل کاهش بار وزنی که برای افراد چاق در آب ایجاد می‌کند بسیار قابل اجرا است. یافته‌های این تحقیق، کاهش وزن بدن موش‌ها و نیز کاهش متیلاسیون را در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر چاق پس از شش هفته HIIT نشان داد. بنابراین، با توجه به اثربخشی این شیوه تمرینی و نیز به دلیل تحقیق‌های محدود انجام شده در این زمینه، انجام تحقیق‌های بعدی پیشنهاد می‌شود.

در نتیجه، کلسیم می‌تواند عاملی بسیار مهم در هایپومتیلاسیون ولی ناکافی باشد. بنابراین، عوامل دیگری همچون فعالیت AMPK (AMP-activated protein kinase) یا ROS (Reactive oxygen species)، استرس مکانیکی، درونداهای عصبی و هورمون‌های گردش خون که پس از فعالیت ورزشی تغییر می‌یابند، می‌توانند در فعال شدن متیلاسیون مؤثر باشند (۱۳). به طور کلی، می‌توان گفت که تمرین بلندمدت به عنوان یکی از فاکتورهای اپی‌ژنتیک می‌تواند سبب تغییر متیلاسیون PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی شود و نیز می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در کاهش چاقی و حفظ سلامتی باشد.

### منابع:

1. Binzen CA, Swan PD, Manore MM. Postexercise oxygen consumption and substrate use after resistance exercise in women. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(6):932-8.
2. Daley AJ, Copeland RJ, Wright NP, Roalfe A, Wales JK. Exercise therapy as a treatment for psychopathologic conditions in obese and morbidly obese adolescents: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006; 118(5):2126-34.
3. Jones NL, Heigenhauser GJ, Kuksis A, Matsos CG, Sutton JR, Toews CJ. Fat metabolism in heavy exercise. *Clin Sci (Lond)* 1980; 59(6):469-78.
4. Trapp EG, Chisholm DJ, Freund J, Boutcher SH. The effects of high-intensity intermittent exercise training on fat loss and fasting insulin levels of young women. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32(4):684-91.
5. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low volume high intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol* 2010; 588(Pt 6):1011-22.
6. Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metab* 2005; 1(6):361-70.
7. Hawley JA. Molecular responses to strength and endurance training: are they incompatible? *Appl Physiol Nutr Metab* 2009; 34(3):355-61.
8. Fernandez-Marcos PJ, Auwerx J. Regulation of PGC-1 $\alpha$ , a nodal regulator of mitochondrial biogenesis. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(4):884S-90.
9. Aoi W, Naito Y, Mizushima K, Takanami Y, Kawai Y, Ichikawa H, Yoshikawa T. The microRNA miR-696 regulates PGC-1 $\alpha$  in mouse skeletal muscle in response to physical activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 298(4):E799-806.
10. Valle I, Alvarez-Barrientos A, Arza E, Lamas S, Monsalve M. PGC-1 $\alpha$  regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2005; 66(3):562-73.
11. Voisin S, Eynon N, Yan X, Bishop DJ. Exercise training and DNA methylation in humans. *Acta Physiol (Oxf)* 2015; 213(1):39-59.
12. van Dijk SJ, Tellam RL, Morrison JL, Muhlhausler BS, Molloy PL. Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenetics* 2015; 7:66.
13. Barrès R, Yan J, Egan B, Treebak JT, Rasmussen M, Fritz T, Caidahl K, Krook A, O'Gorman DJ, Zierath JR. Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metab* 2012; 15(3):405-11.
14. da Rocha GL, Crisp AH, de Oliveira MR, da Silva CA, Silva JO, Duarte AC, Sene-Fiores M, Verlengia R. Effect of high intensity interval and continuous swimming training on body mass adiposity level and serum parameters in high-fat diet fed rats. *ScientificWorldJournal* 2016; 2016:2194120.

15. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am J Physiol* 1929; 89(1):24-33.
16. Ling C, Groop L. Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes* 2009; 58(12):2718-25.
17. Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, Beazer-Barclay YD, Antonellis KJ, Scherf U, Speed TP. Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics* 2003; 4(2):249-64.
18. Laurent L, Wong E, Li G, Huynh T, Tsigos A, Ong CT, Low HM, Kin Sung KW, Rigoutsos I, Loring J, Wei CL. Dynamic changes in the human methylome during differentiation. *Genome Res* 2010; 20(3):320-31.
19. Dayeh TA, Olsson AH, Volkov P, Almgren P, Rönn T, Ling C. Identification of CpG-SNPs associated with type 2 diabetes and differential DNA methylation in human pancreatic islets. *Diabetologia* 2013; 56(5):1036-46.
20. Slentz CA, Houmard JA, Kraus WE. Exercise, abdominal obesity, skeletal muscle, and metabolic risk: evidence for a dose response. *Obesity (Silver Spring)* 2009; 17 Suppl 3:S27-33.
21. Rönn T, Ling C. The Impact of Exercise on DNA Methylation of Genes Associated with Type 2 Diabetes and Obesity in Human Adipose Tissue. *US Endocrinol* 2014; 10(1):64-6.
22. Barrès R, Osler ME, Yan J, Rune A, Fritz T, Caidahl K, Krook A, Zierath JR. Non-CpG methylation of the PGC-1 $\alpha$  promoter through DNMT3B controls mitochondrial density. *Cell Metab* 2009; 10(3):189-98.
23. Lochmann TL, Thomas RR, Bennett JP Jr, Taylor SM. Epigenetic modifications of the pgc-1 $\alpha$  promoter during exercise induced expression in mice. *PLoS One* 2015; 10(6):e0129647.
24. Laker RC, Lillard TS, Okutsu M, Zhang M, Hoehn KL, Connelly JJ, Yan Z. Exercise prevents maternal high-fat diet-induced hypermethylation of the Pgc-1 $\alpha$  gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring. *Diabetes* 2014; 63(5):1605-11.
25. Santos JM, Tewari S, Benite-Ribeiro SA. The effect of exercise on epigenetic modifications of PGC1: The impact on type 2 diabetes. *Med Hypotheses* 2014; 82(6):748-53.
26. Rönn T, Volkov P, Davegårdh C, Dayeh T, Hall E, Olsson AH, Nilsson E, Tornberg A, Dekker Nitert M, Eriksson KF, Jones HA, Groop L, Ling C. A six months exercise intervention influences the genome-wide DNA methylation pattern in human adipose tissue. *PLoS Genet* 2013; 9(6):e1003572.
27. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med* 2007; 37(9):737-63.