# تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا به همراه سیترات سدیم بر بیان PGC-1α و Nrf2 در عضله نعلی رت‌ها

مقصود نبیل‌پور[۱]، فرناز سیفی*[۲]، آمنه پوررحیم[۳]

تاریخ دریافت ۱۴۰۲/۰۱/۱۴ تاریخ پذیرش ۱۴۰۲/۰۵/۱۸

## چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** تمرینات HIIT در افزایش بیان گیرنده فعال‌کننده تکثیرپروکسیزوم گاما هم‌فعال‌ساز آلفا (PGC-1α) و فاکتور هسته‌ای اریتروئید ۲ مرتبط با فاکتور ۲ (Nrf2) نقش دارند. هدف از مطالعه حاضر تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا به همراه سیترات سدیم بر بیان PGC-1α و Nrf2 در عضله نعلی رت‌ها بود.

**مواد و روش کار:** این پژوهش مداخله‌ای با ۲۴ رت صحرایی نر سفید سه‌ماهه در سه گروه کنترل، تمرینات HIIT و تمرینات + HIITمکمل سیترات تقسیم شدند و نسبت به وزنشان، همسان‌سازی شدند. رت‌های دو گروه تمرین و تمرین+مکمل به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته تمرینات تناوبی را به ترتیب با دامنه شدت ۵۰ و ۹۰ درصد حداکثر سرعت دویدن بر روی تردمیل اجرا کردند. رت‌های گروه تمرین+مکمل علاوه بر اجرای تمرین، روزانه ۱۵ میلی‌مول/لیتر از مکمل سیترات سدیم را به صورت محلول در آب دریافت کردند. بیان PGC-1α و Nrf2 از طریق و سترن بلات در عضله نعلی اندازه‌گیری شد. تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در نرم‌افزار SPSS در سطح معناداری پنج‌صدم انجام گرفت. همچنین کوهن برای مقایسه گروه‌ها از اندازه اثر D استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشـان داد که بیان پروتئین PGC-1α و Nrf2 در گروه تمرین و گروه تمرین + سـیترات نسـبت به گروه کنترل تفاوت معنادار وجود دارد (۰۰۱/ ۰=p). همچنین مکمل‌یاری سیترات سدیم توانست تأثیر معناداری در گروه تمرین + سیترات در مقایسه با گروه تمرین داشت باشد (۰۰۱/ ۰=p).

**بحث و نتیجه‌گیری:** تمرینات HIIT بیان PGC-1α و Nrf2 را افزایش دهد. و مکمل‌یاری سیترات سدیم پیش از تمرینات HIIT می‌تواند در افزایش بیان PGC-1α و Nrf2 اثرات تأثیر مضاعف ایجاد کند.

**کلیدواژه‌ها:** سیترات سدیم، HIIT، NRF2، PGC-1α

**مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره ششم، ص ۳۰۷-۲۹۹، شهریور ۱۴۰۲**

**آدرس مکاتبه:** اردبیل، خیابان دانشگاه، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده روانشناسی و علوم تربیتی، گروه فیزیولوژی ورزشی، تلفن: ۰۹۱۴۳۰۸۷۲۰۸

Email: nabilpour@yahoo.com

## مقدمه

تمرینات تناوبی با شدت بالا[۴] نقش قابل قبولی در فرایند سازگاری‌های سلولی (۱) ازجمله افزایش ظرفیت هوازی و محتوای میتوکندریایی (۲) در عضله اسکلتی دارد که این سازگاری‌ها نتیجه اثرات تجمعی پاسخ‌های رونویسی است (۳). همچنین این تمرینات می‌تواند بر سلامت و تندرستی تأثیرات قابل‌توجهی را بر جای بگذارد(۴). از طرفی پروتئین گیرنده فعال‌کننده تکثیرپروکسیزوم گاما هم‌فعال‌ساز آلفا [۵] (PGC-1α) به‌عنوان عامل فعال‌کننده مستقیماً به DNA متصل نمی‌شود بلکه از طریق برهمکنش با طیف وسیعی از عوامل رونویسی که در متابولیسم انرژی سلولی دخیل هستند جذب می‌شود. با تنظیم فعالیت‌های این عوامل رونویسی، PGC-1α به‌عنوان یک سوئیچ مولکولی برای چندین فرآیند سلولی، ازجمله بیوژنز و تنفس میتوکندری، انتقال گلوکونئوژنز و انتقال گلوکز، گلیکوژنولیز، اکسیداسیون اسیدهای چرب، بازسازی

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

[۲] دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

[4] High intensity interval training

[5] Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha

پراکسیزومال، تغییر نوع تار عضلانی و فسفوریلاسیون اکسیداتیو عمل می‌کند(۵). تیلور[1] و همکاران نشان دادند دو ساعت پس از فعالیت ورزشی بیان ژنPGC-1α در عضله اسکلتی افزایش‌یافته و تا ۶ ساعت در اوج می‌ماند و همچنین پس از ۵۴ روز تمرین تداومی استقامتی، بیان آن به سازگاری می‌رسد (۶). در همین رابطه موتنسن[2] و همکاران نشان دادند PGC1-α منجر به تغییرات و افزایش بیان ناقل‌های گلوکز type 4, GLUT4 می‌شود که در عضله میزان مصرف گلوکز و تولید انرژی بیشتر را در پی خواهد داشت (۷). ارتباط بین کاهش سطح PGC-1α با افزایش سطح انسولین ناشتا و نیز افزایش نمایه توده بدنی در افراد مستعد به دیابت مشاهده شده است. بنابراین به نظر می‌رسد PGC-1α نقش مهمی در علت مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی انسان دارد. همچنین بیان این پروتئین به شدت تحت تأثیر فعالیت ورزشی بوده و با بی‌تحرکی کاهش می‌یابد(۸). برخی محققین نشان داده‌اند که PGC-1α mRA و ژن‌های مرتبط با آن با حداکثر اکسیژن مصرفی ($Vo_2max$) ارتباط مستقیمی دارد و در این مورد کاهش PGC-1α mRA ناشی از عدم تحرک (شبیه به حالت دیابت) در عضلات این افراد دیده می‌شود(۹). از طرفی فعالیت بدنی به‌واسطه عواملی همچون نیتریک اکسید (NO) ژن P38 AMPK، کلسیم کالمودولین وابسته به کیناز (CaMK) و AMPK، PGC-1α را در عضله اسکلتی فعال می‌کند و در ادامه PGC-1α از طریق افزایش مقادیر بیان عامل تنفس هسته‌ای ۱ و ۲ (NRFs) و گیرنده استروژن آلفا (ERR-α)، موجب افزایش بیان آنزیم‌های میتوکندریایی مثل سیکلواکسیژناز ۸ (COX3) و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسایش کربوهیدرات و چربی می‌شود(۱۰). مطالعات قبلی نشان داده بودند که Nrf2 با کنترل در دسترس بودن سوبسترا و کارایی اکسیداسیون اسیدهای چرب میتوکندری بر انرژی‌های زیستی سلولی تأثیر می‌گذارد(۱۱). همچنینNrf2 به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی پاسخ حفاظت سلولی آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود زیرا پس از فعال شدن، مجموعه‌ای از واکنش‌ها را هماهنگ می‌کند که به‌واسطه سیستم عامل ایجاد شده توسط ROS انجام می‌شود(۱۲، ۱۳). این در حالی است که در شرایط خاص، مانند فعالیت شدید (بالاتر از ۹۰ درصد $Vo_{2Max}$) و / یا مدت‌زمان کوتاه (کمتر از ۴۲۰ ثانیه) ممکن است تا حدی توسط اسیدوز خون (کاهش pH خون و غلظت بی‌کربنات خون [$HCO^{3-}$]) به سرعت بیش‌ازحد زیاد شوند(۱۴). دراین‌بین چندین استراتژی تغذیه‌ای، با تأکید ویژه بر موارد مورد تأیید WADA (آژانس جهانی مبارزه با دوپینگ)، در طول چند دهه برای پیشگیری از اسیدوز مورد مطالعه قرار گرفته است تا شروع خستگی عضلانی را که عامل اصلی محدود کننده بر عملکرد ورزشی است، به تأخیر بیندازد(۱۵). علیرغم علل چند عاملی خستگی عضلات، تجمع یون‌های هیدروژن ($H^+$) در داخل سلول عضلانی به‌عنوان عامل اصلی خستگی در حین تمرینات با شدت بالا و کوتاه‌مدت برجسته شده است. بنابراین، راهکارهای تغذیه‌ای باهدف افزایش ظرفیت بافر درون‌سلولی و خارج سلولی، به ترتیب مکمل بتا آلانین و بی‌کربنات سدیم، به‌منظور کاهش خستگی عضلانی در طول این نوع ورزش، مورد بررسی و به‌طور گسترده‌ای مورداستفاده قرار گرفته است(۱۶). سیترات سدیم یکی دیگر از استراتژی‌های تغذیه‌ای است که در این زمینه کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. پتانسیل ارگوژنیکی آن ۳۰ سال پیش آغاز شد(۱۷). در همین رابطه آروین (۲۰۱۹) اعلام کرد مکمل سیترات سدیم همانند بی‌کربنات اثربخشی مؤثر با کمترین مشکلات گوارشی را دارد(۱۸). پژوهش‌های موجود از این ادعاها پشتیبانی می‌کنند، زیرا اوج غلظت $HCO_3^-$ برای بی‌کربنات سدیم خیلی زودتر رخ داده است، درحالی‌که غلظت $HCO_3^-$ تنها در ۱۷۰ دقیقه با سیترات سدیم به اوج خود رسید. لذا هدف از تحقیق حاضر تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا به همراه سیترات سدیم بر بیان PGC-1α و Nrf2 در عضله نعلی رت‌ها است.

## مواد و روش کار

بر اساس توصیه کمیته اخلاق (IR.UMA.REC.1400.074) بیست‌وچهار سر رت ۳ ماهه و با وزن ۲۴۰-۲۲۵ گرم از نژاد ویستار انتخاب شدند و به‌صورت برابر در سه گروه کنترل، تمرین و تمرین+ سیترات سدیم قرار گرفتند. رت‌ها در آزمایشگاه حیوان‌های آزمایشگاهی با میانگین دمای ۲۱_۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵ تا ۵۵ درصد، چرخه روشنایی_تاریکی (۴ بعدازظهر تا ۴ صبح با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، با دسترسی آزاد به آب و غذا نگه‌داری شدند.

دو هفته پیش از اجرای پروتکل تمرینی، رت‌ها جهت آشنایی و خوگیری با تردمیل تحت آموزش قرار گرفتند. شیب تردمیل (مدل ۱۰۵۰ کلمبوس اینسترومنتز، ایالات‌متحده آمریکا) در اولین جلسه خوگیری صفر درجه و سرعت آن ۱۵ متر/دقیقه بود. در جلسات بعدی آشناسازی، شیب تردمیل هر دو روز یک‌بار به اندازه ۵ درجه افزایش یافت. همین‌طور هر روز سرعت به میزان ۲ متر/دقیقه و مدت تمرین به اندازه ۲ دقیقه افزایش داده شد (۱۹). یک هفته بعد از جلسات آشنایی و خوگیری با تردمیل میزان سرعت دویدن بیشینه در رت‌ها اندازه‌گیری شد. رت‌های گروه تمرین به مدت ۸ هفته و ۵

[1] Taylor

[2] Mortensen

روز در هفته تمرینات تناوبی را به ترتیب با دامنه شدت ۵۰ و ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیشینه با استفاده از پالس اکسیمتر دام به مدت ۳ دقیقه و در ۶ دور اجرا کردند. رت‌های گروه تمرین همراه با مکمل نیز همان پروتکل تمرینی مشابه را انجام دادند با این تفاوت که این گروه در هر جلسه، سه ساعت پیش از تمرین، مقدار ۱۵ میلی‌مول/ لیتر از مکمل سیترات سدیم را به شکل محلول در آب دریافت کردند.

**آماده‌سازی و نمونه‌برداری:**

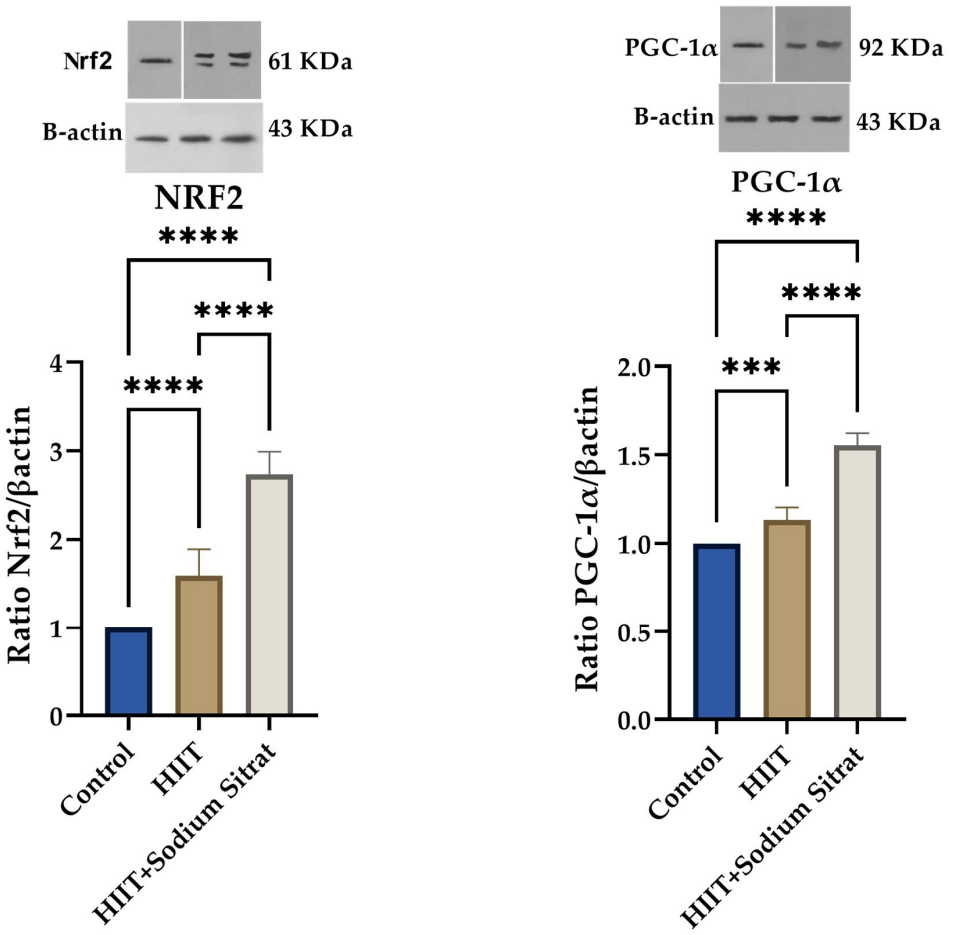
نمونه‌برداری از بافت عضله نعلی انجام گرفت. استخراج پروتئین عضله نعلی با استفاده کیت سانتا کروز بیوتکنولوژی، شرکت، سانتا کروز، کالیفرنیا، ایالات‌متحده آمریکا با آزمون (RIPA) radio immunoprecipitation assay با غلظت ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس (PH=8)، ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EG-TA، ۱ درصد SDS به علاوه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ROCHE) انجام شد(۲۰). بدین منظور ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت در ۵۰۰ میکرولیتر محلول بافر آنتی‌پروتئاز با هموژنایزر دستی هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) با ۱۲۰۰۰ دور/دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن توسط کیت سانتا کروز ساخت کشور آمریکا و دستگاه میکروپلیت (Bio-Rad با طول موج ۵۹۵) تعیین گردید(۲۱). در انتها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر نگه‌داری شد. هموژن به دست آمده با نسبت ۱:۱ با نمونه بافر لودینگ (۵۰ میلی مولار تریس کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دودسیل سولفات، ۰/۰۰۵ درصد بروموفنل آبی، ۱ درصد گلیسرول، ۵ درصد مرکاپتواتانول بتا) مخلوط گردید. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین کاملاً دناتوره شود. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDSpolyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولزی انتقال داده شدند. غشا به مدت یک ساعت در ۰/۱ درصد ( Tween 2 TBST) و ۵ درصد BSA در Saline Tris-Buffered مسدود شد؛ سپس در درون آنتی‌بادی اولیه با نسبت ۱:۵۰۰ انکوبه شد. انکوباسیون آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت یک ساعت در دمای محیط با نسبت ۱:۲۰۰ در ۴ درصد TBST انجام شد. پروتئین با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با آنالیز دنسیتومتری نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. . آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه Nrf2 (SANTA ،PGC-1α (SANTA CRUZ sc-47778) CRUZ, sc-365949) و beta actin (SANTA CRUZ ab-54481) به کار گرفته شدند. برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها، آزمون شاپیروویلک مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از پژوهش به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شد. برای بررسی اختلاف معناداری در ۳ گروه از آزمون آماری پارامتریک آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح $P<0.05$ و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ شیکاگو صورت گرفت. همچنین از نرم‌افزار گراف پد پریزم ۹ برای ترسیم نمودارها استفاده شد.

## یافته‌ها

نتایج مربوط به آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد بین سه گروه کنترل، تمرین و گروه تمرین+مکمل در بیان PGC-1αو Nrf2 به ترتیب F=236.41 و F=137.10 اختلاف معناداری وجود دارد (p=۰/۰۰۱). همین‌طور نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که اختلاف میانگین PGC-1α در دو گروه تمرین و تمرین+مکمل نسبت به گروه کنترل معنادار بوده است (p=۰/۰۰۰۱). مقایسه نتایج آزمون تعقیبی توکی برای Nrf2 در بین سه گروه نشان داد در مقایسه با گروه کنترل هر دو گروه تمرین و تمرین+مکمل دارای اختلاف معناداری بودند (p=۰ /۰۰۱).. همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که اختلاف میانگین PGC-1α در دو گروه تمرین و تمرین+مکمل نسبت به گروه کنترل معنادار بوده است (p=۰/۰۰۰۱).

**جدول (۱):** نتایج آزمون تعقیبی توکی برای PGC-1α و Nrf2

| | گروه | مقایسه‌ها | اندازه اثر (CI 95%) | P value |
|---|---|---|---|---|
| PGC-1α | کنترل | تمرین | ۰/۲۴ (۱/۴۷- تا ۲/۳۸) | ۰/۰۰۱ |
| | | تمرین + مکمل | ۱/۰۲ (۰/۲۰ تا ۰/۳۱) | ۰/۰۰۱ |
| | تمرین + مکمل | تمرین | ۰/۷۸(۰/۲۰ تا ۰/۳۱) | ۰/۰۰۱ |
| Nrf2 | کنترل | تمرین | ۰/۴۱(۱/۴۷- تا ۲/۸۳) | ۰/۰۰۱ |
| | | تمرین + مکمل | ۱/۲۱(۰/۲۰- تا ۰/۳۱) | ۰/۰۰۱ |
| | تمرین + مکمل | تمرین | ۰/۸۰(۰/۲۰- تا ۰/۳۱) | ۰/۰۰۱ |




**شکل (۱):** نسبت تغییرات بیان PGC-1α در سه گروه شکل (۲): نسبت تغییرات بیان Nrf2 در سه گروه

## بحث و نتیجه‌گیری

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا به همراه سیترات سدیم بر بیان PGC-1α و Nrf2 در عضله نعلی رت‌ها بود. نتایج پژوهش نشان داد تمرینات با شدت بالا بیان PGC-1α و NRF2 را افزایش می‌دهند. در این رابطه علوی و همکاران نشان دادند ۸ هفته تمرین HIIT بر روی تردمیل به‌طور معناداری باعث افزایش بیان PGC-1α در رت‌ها می‌شود(۲۰). آن‌ها نشان دادند که تمرینات با شدت بالا می‌تواند در سطح مولکولی سبب تحریک مسیرهای سیگنالینگ در عضله اسکلتی و فعال‌سازی PGC-1α شود. انجام تمرینات با شدت بالا سبب افزایش رهایی $Ca^{+2}$ می‌گردد (۲). $Ca^{+2}$ از طریق مکانیسم‌های مختلفی مثل افزایش مصرف اکسیژن و یا تولید نیتریک اکساید سبب تولید ROS می‌گردد که همراه با افزایش $Ca^{+2}$ سطح ROS نیز افزایش می‌یابد. هم‌چنین افزایش سطح $Ca^{+2}$ سبب افزایش سنتز ATP می‌شود (۲۳). از آنجا که فعالیت ورزشی با افزایش تقاضای انرژی همراه است با شدت یافتن ورزش و افزایش تقاضا، نسبت AMP و ADP به ATP افزایش می‌یابد (۲۴). افزایش $Ca^{+2}$، ROS و AMP باعث می‌شود تا پروتئین‌های سیگنالینگ درون‌سلولی حساس به این مولکول‌ها ازجمله کلسیم کالمودولین وابسته به کیناز (CaMK)[1]، آدنوزین مونوفسفات کیناز (AMPK)[2] و پروتئین کیناز فعال‌شده

[1] $Ca^{2+}$/calmodulin-dependent protein kinase

[2] AMP-activated protein kinase

توسط میتوژن$P_{38}$ ($P_{38}$ MAPK)[1] فعال‌سازی شوند (۲۵). این کینازها منجر به تحریک بیان و تنظیم فاکتور رونویسی کلیدی اثرگذار در متابولیسم انرژی و بیوژنز میتوکندریایی PGC-1α می‌گردند (۲۶). بدین ترتیب، PGC-1α فعال‌شده توسط تمرین تناوبی شدید با اتصال به فاکتورهای رونویسی، باعث فعال‌سازی و بیان ژن‌های میتوکندریایی هسته‌ای $NRF_{1,2}$ و TFAM می‌گردد (۲۷).

PGC1α می‌تواند با فعال کردن فاکتور تنفسی هسته‌ای-۱ (NRF1) بیان MEF2A را افزایش دهد(۲۸). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمرینات HIIT باعث افزایش معنادار در بیان PGC1α در رت‌های نر می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند در تمرینات استقامتی با شدت متوسط تا بالا، سطوح PGC-1α به شدت افزایش می‌یابد و تأثیر آن بر بیان GLUT4 بیشتر تقویت می‌شود(۲۹). از طرفی بیان بیش‌ازحد MEF2C برای رونویسی GLUT4 ضروری است اما کافی نیست(۳۰) نشان می‌دهد که PGC-1α ممکن است بیان GLUT4 را از طریق یک مسیر سیگنال‌دهی مستقل از MEF2 واسطه کند. ۲-فعال‌کننده AMPK (AICAR)، به‌تنهایی یا همراه با انسولین، سوبسترای Akt را با ۱۶۰ کیلو دالتون (AS160) فسفوریلاسیون در عضلات اسکلتی افزایش می‌دهد(۳۱). فسفوریلاسیون AS160 می‌تواند پروتئین‌های Rab را در وزیکول‌های GLUT4 فعال کرده و انتقال آن را به غشای پلاسمایی افزایش دهد. به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی کم شدت مانند ۶۰ دقیقه دوچرخه‌سواری نتواند اثربخشی لازم در بیان PGC-1α را القا کنند بنابراین شدت‌های متوسط تا بالا می‌توانند گزینه‌های بهتری برای افزایش بیان PGC-1α باشند.

دیگر یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد فعالیت ورزشی همراه با مکمل دهی سیترات سدیم توانست PGC-1α و NRF2 در بیان اثر هم‌افزایی ایجاد کند. پس از مصرف سیترات سدیم، تجمع بینابینی $K^+$ را که توسط عضله در طی ورزش شدید آزاد می‌شود، کاهش می‌دهد(۳۲). تجمع $K^+$ به بروز خستگی کمک می‌کند(۳۳) و تحریک‌پذیری عضلات را کاهش می‌دهد(۳۴). پیشنهاد شده است که کاهش بینابینی $[K^+]$ در هنگام ورزش با عملکرد بهتر همراه است(۳۵). هرچند PGC-1α و Nrf2 دارای یک رابطه نزدیک با مسیر مدولار همراه با عناصر پاسخ آنتی‌اکسیدانی هستند. اگرچه مسیر مولکولی مستقیم مشخص نشده است، اما حدس زده شده است که مسیر یکی از این دو فاکتور رونویسی می‌تواند تحت تأثیر دیگری قرار گیرد، احتمالاً هر دو به ROS وابسته هستند. علاوه بر این، Nrf2 آنزیم‌های مختلف میتوکندری را تنظیم می‌کند که با فعال شدن PGC-1 نیز مرتبط هستند(۳۶). در واقع PGC-1α از طریق تنظیم فعالیت رونویسی، بیان ژن‌های NRF-۱ و TFAM را القاء می‌کند که به‌طور هماهنگ، بیان پروتئین‌های کد کننده mtDNA و هسته را تنظیم می‌کنند(۳۷). همچنین افزایش بیان PGC-1α می‌تواند متأثر از اختلالات متابولیکی حاصل از تمرینات HIIT باشد که بر مسیرهای سیگنالینگ اثر کرده و احتمالاً افزایش بیان و فعال‌سازی پروتئین‌های بالادستی تنظیم‌کننده PGC-1α و متعاقباً تحریک بیان PGC-1α را درپی داشته باشد. از طرفی مکمل‌یاری سیترات سدیم همراه با تمرینات HIIT در افزایش بیان PGC-1α اثر داشته است که شاید بتوان مکانیسم اثر سیترات سدیم در افزایش بیان PGC-1α را با مکانیسم اثر مکمل بی‌کربنات سدیم یکسان مفروض دانست که با تأثیر بر سطح PH و بی‌کربنات خون سبب افزایش بیان PGC-1α mRNA گردیده است (۲۹). همین‌طور PGC-1α از طریق هم‌فعال‌سازی و تعامل با فاکتورهای رونویسی $NRF_{1,2}$ واقع بر روی پروموتر TFAM سبب فعال‌سازی و بیان این فاکتور رونویسی می‌شود (۳۸)؛ لذا مطالعات آینده می‌تواند با بررسی شدت‌های مختلف تمرینی و همچنین دوزهای مختلف از مکمل سیترات سدیم بپردازند. از طرفی مکمل سیترات به‌صورت محلول در آب به رت‌ها داده شد که ممکن است برخی رت‌ها بیشتر یا کمتر از بقیه رت‌ها سیترات سدیم مصرف کنند که توصیه می‌شود در مطالعات آتی از گاواژ برای مکمل‌یاری استفاده شود. درمجموع تمرینات HIIT توانست بیان PGC-1α و Nrf2 را افزایش دهد و مکمل سیترات سدیم اثر هم‌افزایی ایجاد کرد. بنابراین توصیه می‌شود برای بهبود عملکرد بخصوص در ورزش‌های با شدت بالا از مکمل سیترات سدیم استفاده شود.

## تشکر و قدردانی

از آزمایشگاه سارای به خاطر دقت بالا در آزمایش‌های بخش بلاتینگ تشکر و قدردانی نمایند. همچنین از دانشگاه علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای همکاری در این پژوهش قدردانی می‌کنیم.

## References:

1 .Fiorenza M, Gunnarsson T, Hostrup M, Iaia F, Schena F, Pilegaard H, et al. Metabolic stress-dependent regulation of the mitochondrial biogenic molecular

[1] p38 mitogen-activated protein kinases

response to high-intensity exercise in human skeletal muscle. J Physiol 2018;596(14):2823-40. https://doi.org/10.1113/jp275972

2 .MacInnis MJ, Gibala MJJTJop. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. Physiol J 2017;595(9):2915-30. https://doi.org/10.1113/jp273196

3 .Brandt N, Dethlefsen MM, Bangsbo J, Pilegaard HJPo. PGC-1α and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. PloS One 2017;21(10):e0185993. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185993

4 .Jafari M, Pouryamehr E, Fathi M. The effect of eight weeks high intensity interval training (HIIT) on E-selection and P-selection in young obese females. Int J Sport Stud Health 2018;1(1):e64336. https://doi.org/10.5812/intjssh.64336

5 .Corona JC, Duchen MR. PPARγ and PGC-1α as therapeutic targets in Parkinson's. Neurochemical research. Neurochem Res 2015;40(2):308-16. https://doi.org/10.1007/s11064-014-1377-0

6 .Taylor EB, Lamb JD, Hurst RW, Chesser DG, Ellingson WJ, Greenwood LJ, et al. Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC-1α protein abundance: effects of time and intensity. Am J Physiol Endocrinol Metab 2005;289(6):E960-E8. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00237.2005

7 .Mortensen OH, Frandsen L, Schjerling P, Nishimura E, Grunnet N. PGC-1α and PGC-1β have both similar and distinct effects on myofiber switching toward an oxidative phenotype. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006;291(4):E807-E16. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00591.2005

8 .Valle I, Álvarez-Barrientos A, Arza E, Lamas S, Monsalve M. PGC-1α regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells. Cardiovasc Res 2005;66(3):562-73. https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.01.026

9 .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. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2005.09.007

10 .Lira VA, Benton CR, Yan Z, Bonen A. PGC-1α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. Am J Physiol Endocrinol Metab 2010;299(2):E145-E61. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00755.2009

11 .Holmström KM, Baird L, Zhang Y, Hargreaves I, Chalasani A, Land JM, et al. Nrf2 impacts cellular bioenergetics by controlling substrate availability for mitochondrial respiration. Biol Open 2013;2(8):761-70. https://doi.org/10.1242/bio.20134853

12 .Kobayashi M, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. Adv Enzyme Regul 2006;46(1):113-40. https://doi.org/10.1016/j.advenzreg.2006.01.007

13 .Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. Asian J Sports Med 2015; (6)1. https://doi.org/10.5812/asjsm.24898

14 .Juel C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. PhysiolRev 1997;77(2):321-58. https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.2.321

15 .Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004.

16 .Junior AHL, de Salles Painelli V, Saunders B, Artioli GG. Nutritional strategies to modulate intracellular and extracellular buffering capacity during high-intensity exercise. J Sports Med. 2015;45(1):71-81. https://doi.org/10.1007/s40279-015-0397-5

17 .Parry-Billings M, MacLaren D. The effect of sodium bicarbonate and sodium citrate ingestion on anaerobic power during intermittent exercise. Eur J Appl Physiol 1986;55(5):524-9.

https://doi.org/10.1007/bf00421648

18 .Urwin CS, Snow RJ, Orellana L, Condo D, Wadley GD, Carr AJ. Sodium citrate ingestion protocol impacts induced alkalosis, gastrointestinal symptoms, and palatability. Physiol. Rep. 2019;7(19):e14216. https://doi.org/10.14814/phy2.14216

19 .Murase S, Sakitani N, Maekawa T, Yoshino D, Takano K, Konno A, Hirai H, Saito T, Tanaka S, Shinohara K, Kishi T. Interstitial-fluid shear stresses induced by vertically oscillating head motion lower blood pressure in hypertensive rats and humans. Nat. Biomed. Eng. 2023 Jul 6:1-24. https://doi.org/10.1038/s41551-023-01061-x

20 .Alavi F, Seify F, Nabilpour M. Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training with Sodium Citrate Supplementation on PGC-1α and TFAM Expression. J. Complement. Med.2023;12(4):22-32.

21 .Nabilpour M, Sadegi A, hematiafif a, Faal Pakdeh M. The effect of two months of continuous exercise with chia (Salvia hispanica L.) supplement on the Internet-1 and 13 in Wistar diabetes rankings. Feyz. 2021;25(4):1047-54.

22 .Nabilpour M, Sadeghi A. Effect of Eight-Week Aerobic Moderate-Intensity Continuous Training on Il-1β and Il-13 Levels of Soleus Muscle Tissue in Male Diabetic Rats. IJDM 2021;21(3):129-38.

23 .Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders M, Sheu S-SJAJoP-CP. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. Am. J. Physiol., Cell Physiol. 2004;287(4):C817-C33. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00139.2004

24 .Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak ZJSM, et al. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. Sports Med. Health Sci. 2019;1(1):24-32. https://doi.org/10.1016/j.smhs.2019.08.003

25 .Kang C, Li Ji LJAotNYAoS. Role of PGC-1α signaling in skeletal muscle health and disease. Ann. N. Y. Acad. Sci.2012;1271(1):110-7. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06738.x

26 .Sabaratnam R, Pedersen AJ, Eskildsen TV, Kristensen JM, Wojtaszewski JF, Højlund KJTJoCE, et al. Exercise induction of key transcriptional regulators of metabolic adaptation in muscle is preserved in type 2 diabetes. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2019;104(10):4909-20. https://doi.org/10.1210/jc.2018-02679

27 .Gahramani M KS. Effect of eight weeks high intensity interval training on NRF-1,2 and Tfam gene expressione levels in ST muscles in rats with myocardial infarction. Med. J. Tabriz Univ. Med. Sci. Health Serv. 2020 41(6):75-82. https://doi.org/10.34172/mj.2020.009

28 .Ramachandran B, Yu G, Gulick T. Nuclear respiratory factor 1 controls myocyte enhancer factor 2A transcription to provide a mechanism for coordinate expression of respiratory chain subunits. J. Biol. Chem. 2008;283(18):11935-46. https://doi.org/10.1074/jbc.m707389200

29 .Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1α gene in human skeletal muscle. J Physiol; 1;546(Pt 3):851-8. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.034850

30 .Handschin C, Rhee J, Lin J, Tarr PT, Spiegelman BM. An autoregulatory loop controls peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α expression in muscle. P Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2003;100(12):7111-6. https://doi.org/10.1073/pnas.1232352100

31 .Kramer HF, Witczak CA, Fujii N, Jessen N, Taylor EB, Arnolds DE, et al. Distinct signals regulate AS160 phosphorylation in response to insulin, AICAR, and contraction in mouse skeletal muscle. Diabetes. 2006;55(7):2067-76. https://doi.org/10.2337/db06-0150

32 .Street D, Nielsen JJ, Bangsbo J, Juel C. Metabolic

Excitability of the T-tubular system in rat skeletal muscle: roles of K+ and Na+ gradients and Na+-K+ pump activity J Physiol 2004;557:133-46. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.059014

36 .Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. Free Radic. Biol. Med. 2015;88(Pt B):179-88. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.036

37 .Hood DA. Mechanisms of exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. Applied Physiology, Nutr Metab 2009;34(3):465-72.

38 .Ventura-Clapier R, Garnier A, Veksler V. Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1α. Cardiovasc Res 2008;79(2):208-17. https://doi.org/10.1093/cvr/cvn098

alkalosis reduces exercise-induced acidosis and potassium accumulation in human skeletal muscle interstitium. Physiol J 2005;566(2):481-9. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086801

33 .Constantin-Teodosiu D, Constantin D. Molecular mechanisms of muscle fatigue. Int J Mol Sci 2021;22(21):11587. https://doi.org/10.3390/ijms222111587

34 .Jan V, Miš K, Nikolic N, Dolinar K, Petrič M, Bone A, Thoresen GH, Rustan AC, Marš T, Chibalin AV, Pirkmajer S. Effect of differentiation, de novo innervation, and electrical pulse stimulation on mRNA and protein expression of Na+, K+-ATPase, FXYD1, and FXYD5 in cultured human skeletal muscle cells. Plos One 2021;16(2):e0247377. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247377

35 .Nielsen O. Ørtenblad N, Lamb GD, Stephenson DG.

Original Article

# THE EFFECT OF HIGH-INTENSITY INTERVAL TRAINING WITH SODIUM CITRATE ON THE EXPRESSION OF PGC-1A AND NRF2 IN SOLEUS MUSCLE OF RATS

*Maghsoud Nabilpour[1], Farnaz Seifi-Skishahr*[2], Ameneh PourRahim[3]*

*Received: 03 April, 2023; Accepted: 09 August, 2023*

## Abstract

***Background & Aims:*** HIIT exercises play a role in increasing the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator alpha (PGC-1α) and nuclear factor erythroid-related factor 2 (Nrf2). The aim of the present study was to determine the effect of high-intensity interval training with sodium citrate on the expression of PGC-1α and Nrf2 in the soleus muscle of rats.

***Materials & Methods:*** In this interventional study, 24 three-month-old white male rats were divided into three groups of control, HIIT exercises, and HIIT exercises + citrate supplement, and were matched according to their weight. Rats in two groups of HIIT exercises and HIIT exercises + citrate supplement performed interval training for 8 weeks and 5 days each week with 50% amplitude and 90% maximum intensity, respectively, in the form of running on a treadmill. In addition to exercising, the rats in the HIIT + citrate supplement group received 15 mmol/L of sodium citrate supplement as a solution in water. The expression of PGC-1α and Nrf2 was measured in soleus muscle by western blotting method. Data analysis was done using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test in SPSS software at a significance level of 0.05. Also, Cohen's D effect size was used to compare groups.

***Results:*** The results showed that there was a significant difference in the expression of PGC-1α and Nrf2 protein in two groups of HIIT exercises and HIIT exercises + citrate supplement compared to the control group (p=0.001). Also, the addition of sodium citrate might have a significant effect on HIIT exercises + citrate supplement group compared to the HIIT exercises (p=0.001).

***Conclusion*:** HIIT training increases the expression of PGC-1α and Nrf2. Also, sodium citrate supplementation before HIIT exercises can have a double effect in increasing the expression of PGC-1α and Nrf2.

***Keywords:*** HIIT, NRF2, PGC-1α, Sodium Citrate

***Address:*** Ardabil, University Street, Mohaghegh Ardabili University, Faculty of Psychology and Educational Sciences, Department of Sports Physiology
***Tel***: +989143087208
***Email:*** Nabilp@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2023: 34(6): 307 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*
[2] *Associate Professor Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Associate Professor Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*