



## تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی پر شدت و تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن های PGC-1 $\alpha$ و ERR $\alpha$ در بافت چربی زیر جلدی رت‌های نر

شادی فیاضی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (\* نویسنده مسئول) shadi.fayyazi123@gmail.com

سعید نقیبی: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه پیام نور، کرج، ایران

محمد شریعت زاده جنیدی: استادیار فیزیولوژی ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

محمد رضا اسد: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه پیام نور، کرج، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

PGC-1 $\alpha$

ERR $\alpha$

HIIT

MIT

چربی زیر جلدی

**زمینه و هدف:** PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در تعامل با یکدیگر برای رونویسی ژن‌های درگیر در متابولیسم انرژی عمل می‌کنند. هدف پژوهش حاضر بررسی پاسخ این دو فاکتور به تمرینات تناوبی پر شدت (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MIT) در بافت چربی زیر جلدی رت‌های نر سالم بود.

**روش کار:** در مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۲۴ سر رت نر به سه گروه مساوی MIT، HIIT و کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی (به جز کنترل) به مدت ۸ هفته در برنامه‌های تمرینی شرکت کردند. گروه HIIT در سه هفته پایانی به ۴ مرحله دویدن در ۴ دقیقه با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO<sub>2</sub>max و ۴ مرحله دویدن در ۳ دقیقه در ۵۰ تا ۶۰ درصد VO<sub>2</sub>max و گروه MIT به ۳۷ دقیقه دویدن در ۶۵ درصد VO<sub>2</sub>max رسیدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بافت چربی زیر جلدی برداشته شد. روش RT-PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن‌ها استفاده شد. تحلیل داده‌ها با آزمون آنووا یک طرفه و تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P \leq 0.05$  انجام شد.

**یافته‌ها:** در بیان PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در پروتکل HIIT در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌دار مشاهده گردید ( $P \leq 0.001$ ). بیان PGC-1 $\alpha$  در پروتکل تمرینی MIT در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار ( $P \leq 0.001$ ) و در ERR $\alpha$  عدم معنی‌داری نشان داد ( $P = 0.052$ ).

**نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان داد که بیان PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی فاکتوری تمرین پذیر می‌باشد. تأثیر تمرینات HIIT به میزان قابل توجهی بیشتر بود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Fayyazi S, Naghibi S, Shariatzade joneydi M, Asad M. The effect of eight weeks of high intensity interval training and moderate continuous training on PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  gene expression in subcutaneous adipose tissue of male rats. Razi J Med Sci. 2021;28(5):104-115.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

## The effect of eight weeks of high intensity interval training and moderate continuous training on PGC-1 $\alpha$ and ERR $\alpha$ gene expression in subcutaneous adipose tissue of male rats

- ① **Shadi Fayyazi:** PhD Student of Sports Physiology, Faculty of Human Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran , Iran (\* Corresponding author) shadi.fayyazi123@gmail.com  
**Saeed Naghibi:** Assistant Professor, Faculty of Physical Education Department of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, PNU, Karaj, Iran  
**Mohammad Shariatzade joneydi:** Assistant Professor, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran  
**Mohammadreza Asad:** Associate Professor, Faculty of Physical Education Department of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, PNU, Karaj, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** PGC-1 $\alpha$  is involved in their activation by binding to transcription factors, including ERR $\alpha$ . PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  work together to transcribe genes involved in energy metabolism (13), including genes involved in processes such as brown adipocyte differentiation, adipogenesis and mitochondrial biogenesis (8), and activation of carbohydrate and fat oxidation enzymes(9), mitochondrial respiration (10), upregulation of gene expression VEGF (vascular endothelial growth factor) and other growth factors of angiogenesis (11), thermogenesis and antioxidant effects (12). Therefore, the levels of PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  in adipose tissue can have beneficial effects on systemic metabolism and can be considered as an important goal in the treatment of diseases (18, 20). Although the beneficial effects of exercise on adipose tissue and metabolic activity are well known, however, the effect of different exercise intensities on the expression of these two genes in subcutaneous adipose tissue is less known. In previous have not found any study that examined the expression of these two genes simultaneously in subcutaneous adipose tissue following of exercise. Therefore, the aim of this study was to investigate the response of PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  factors to high-intensity interval training (HIIT) and moderate-intensity continuous training (MIT) in the subcutaneous adipose tissue of healthy male rats.

**Methods:** In the present experimental study, 24 healthy male rats with average weight 237 $\pm$  33 g were randomly divided into 3 groups of 8: 8-week control, High-Intensity Interval Training (HIIT) and Moderate Intensity Training (MIT). HIIT and MIT participated in training programs for 8 weeks. Rats in the control group did not participate in any exercise program. The HIIT training protocol consisted of 4 intense alternations with 4 minutes of running at 90 to 100% VO<sub>2</sub>max and 30 m / min and 4 intense alternations with 3 minutes running at 50 to 60% VO<sub>2</sub>max at 20 m / min which lasted a total of 38 minutes and included 10 minutes of warm-up and 28 minutes of main body training. The MIT protocol started in the first week with 20 minutes of main body training and a speed of 20 meters per minute and with the gradual increase of training time in the following weeks, from the fifth week, the time of the main body of training increased to 30 minutes. The speed was constant throughout the training period and the training was performed at 65% of the maximum oxygen consumption and was accompanied by 5 minutes of warm-up and 5 minutes of cooling The control group along with 2 training groups were

### Keywords

PGC-1 $\alpha$ ,  
ERR $\alpha$ ,  
HIIT,  
MITT,  
Subcutaneous adipose  
tissue

Received: 10/05/2021

Published: 09/08/2021

anesthetized after 8 weeks of training and 24 hours after the last training session and 12 hours of fasting with xylazine and ketamine injection and adipose tissue in their groin area were removed. The sample tissue of each animal was immediately immersed in a liquid nitrogen solution in a tube and the samples were kept in the laboratory until the experiments evaluating the amount of gene expression changes in the  $-80^{\circ}\text{C}$  freezer. RT-PCR was used to measure gene expression. PCR amplification was assessed by evaluating the amplification curve and melting peak. In this study, GAPDH gene was used as an internal control. Shapiro-Wilk test was used to determine the normality of data distribution and Leven test was used to examine the homogeneity of variances. Due to the normal distribution of variables, One-way analysis of variance statistical test was used to determine the significance and differences between groups and then Tukey post hoc test was used at a significance level of  $P < 0.05$ .

**Results:** 8 weeks of HIIT and MIT trainings increased the expression of PGC-1 $\alpha$  gene in comparison with the control group ( $P \leq 0.001$ ). However, no significant difference was observed in PGC-1 $\alpha$  gene expression between HIIT and MIT groups ( $P = 0.514$ ). 8 weeks of HIIT trainings increased the expression of ERR $\alpha$  gene in comparison with the control group ( $P \leq 0.001$ ). However, no significant difference was observed in the expression of ERR $\alpha$  gene between the MIT group and the control group despite a 104% increase compared to the control group ( $P = 0.052$ ). Also, there was no significant difference in the expression of ERR $\alpha$  gene between HIIT and MIT groups ( $P = 0.062$ ). The results of the present study showed an increase in the expression of PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  genes in the subcutaneous adipose tissue of male rats after eight weeks of HIIT and MIT training compared to the control group. Comparison between HIIT group and control group in PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  gene expression showed an increase of 278 and 206%, respectively. Comparison between MIT training group and control group in PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  gene expression also showed an increase of 190 and 104%, respectively, although the difference between MIT group and control was not significant ( $P = 0.052$ ).

**Conclusion:** The results of the present study showed that high-intensity interval training (HIIT) compared to moderate-intensity continuous training (MIT) significantly increased the expression of PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  genes in subcutaneous adipose tissue. Therefore, increased expression of both genes studied in subcutaneous adipose tissue is traceable factor, but HIIT exercises are probably more effective due to their higher intensity. The dramatic increase in these two factors following HIIT and MIT trainings can be a valuable result because the cooperation and cross-activation of PGC-1 $\alpha$  with ERR $\alpha$  regulate underlying metabolic processes such as brown adipocyte differentiation, adipogenesis and mitochondrial biogenesis, and angiogenesis. Considering the health-related beneficial effects of increasing these two factors following previous research on the one hand and significantly increasing the expression of both genes in HIIT and MIT exercises, the use of both training methods as a suitable solution to maintain health is suggested. HIIT exercises seem to be more practical in practice due to the shorter time to perform.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Fayyazi S, Naghibi S, Shariatzade joneydi M, Asad M. The effect of eight weeks of high intensity interval training and moderate continuous training on PGC-1 $\alpha$  and ERR $\alpha$  gene expression in subcutaneous adipose tissue of male rats. Razi J Med Sci. 2021;28(5):104-115.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

## مقدمه

بافت چربی یک ارگان متابولیک مرکزی در تنظیم هموستاز انرژی کل بدن است. بافت چربی زیرپوستی سهم عمده‌ای از چربی‌های بدن انسان را تشکیل می‌دهد و برای محاسبه کل بافت چربی سفید در انسان‌ها محاسبه می‌شود (۱).

تمرینات ورزشی می‌توانند با تنظیم رونویسی از ژن‌ها و افزایش میزان پروتئین‌های بافت چربی زیر جلدی و ایجاد تعادل در وضعیت متابولیسم بدن بافت چربی را کاهش داده و نقش مهمی در پیشگیری از بسیاری از بیماری‌ها، از جمله بیماری‌های متابولیک داشته باشند (۲). یکی از هزاران فاکتور ژنی شناسایی شده در بافت چربی که در سطح مولکولی توجه عده زیادی از محققین فیزیولوژی ورزشی را به خود جلب نموده است، PGC-1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) می‌باشد (۳) که یک فاکتور کمک‌کننده برای نسخه‌برداری از ژن‌ها محسوب می‌شود. به عبارت دیگر وظیفه آن افزایش نسخه‌برداری و ایجاد mRNA جدید است ولی به تنهایی قادر به شناسایی ژنی که باید آن را افزایش دهد، نمی‌باشد. ناحیه فعال‌کننده PGC-1 $\alpha$  با اتصال به تعدادی پروتئین دیگر باعث افزایش فعالیت آن‌ها گردیده و در نتیجه نسخه‌برداری افزایش می‌یابد (۴). ضمناً این فاکتور در بافت یکدیگر در تمایز آدیپوسیت‌های قهوه‌ای، آدیپوزنز و بایوزنز میتوکندریایی، فعال شدن آنزیم‌های اکسیداسیون کربوهیدرات‌های مختلف نقش‌های متفاوتی ایفا نموده و در واقع عملکرد آن بستگی به نوع بافتی دارد که در آن بیان می‌شود (۵). یکی از فاکتورهایی که PGC-1 $\alpha$  با اتصال به آن در فعال‌سازی آن مشارکت دارد، ERR $\alpha$  (Estrogen-related receptor alpha) می‌باشد. ERR $\alpha$  یکی از سه عضو خانواده کوچک گیرنده‌های هسته‌ای است (۶). این گیرنده مانند فاکتورهای رونویسی دیگر، فعالیت زیستی خود را از راه تنظیم نسخه‌برداری ژن‌های خاص کنترل

می‌کند. بنابراین، شناخت شبکه‌های تنظیم‌کننده ژن‌های کنترل شده توسط این گیرنده و درک نقش‌های این پروتئین در بیماری‌های متابولیسمی و سرطان‌های وابسته به هورمون، بسیار مهم است (۷، ۸). PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  با همکاری چربی (۹)، تنفس میتوکندریایی (۱۰)، تنظیم افزایشی بیان ژن (VEGF) فاکتور رشد آندوتلیال عروق) و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز (۱۱) و اثرات آنتی‌اکسیدانی نقش ایفا می‌کنند (۱۲). به‌طور کلی می‌توان گفت PGC-1 $\alpha$ /ERR $\alpha$  با همکاری هم برای رونویسی ژن‌های درگیر در متابولیسم انرژی عمل می‌کنند و در بیان و کنترل ژن‌های متابولیک نقش به‌سزایی دارند (۱۳).

در مورد اهمیت همکاری این دو فاکتور در کنترل بیماری‌های مختلف بحث‌های زیادی مطرح است. به عنوان مثال تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که تقویت چگالی و عملکرد میتوکندری از راه مداخلات دارویی مسیر PGC-1 $\alpha$ /ERR $\alpha$  ممکن است به عنوان یک هدف اصلی در پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ مورد توجه قرار گیرد (۱۴). طبق تحقیقات انجام شده، حذف ژنتیکی PGC-1 $\alpha$  در میتوکندری بافت چربی باعث مقاومت انسولینی گردیده است (۱۵). علاوه بر این، افراد دیابتی دارای سطح کاهش یافته PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی خود هستند که ممکن است در بیماری‌های متابولیک نقش داشته باشد (۱۶). همچنین در تحقیقی که نقش PGC-1 $\alpha$  در انتقال اسیدهای چرب در غشای پلاسمایی و میتوکندری در بافت‌های حساس به انسولین مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج نشان داد که در فقدان PGC-1 $\alpha$  استفاده ناکارآمد و تجمع بیش‌ازحد لیپیدها در بافت‌ها منجر به اختلال در مسیر سیگنالینگ انسولین می‌شود (۱۷). PGC-1 $\alpha$  نه تنها باعث بیان ERR $\alpha$  می‌شود، بلکه ژن‌های هدف ERR $\alpha$  در کمپلکس I, II, III, IV و V زنجیره انتقال الکترونی عصبی را نیز تحریک می‌کند. فعال‌سازی شیمیایی این برنامه رونویسی، باعث رونویسی زنجیره انتقال الکترونی

است. همچنین در تحقیقات پیشین اثر بخشی این نوع تمرینات در بیان ژن‌های بافت‌های دیگر، خصوصاً بافت عضلانی بیشتر بررسی شده و همکاری توام PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. بنابراین، با توجه به دلایل مذکور و نقش‌های کلیدی شناخته شده برای PGC-1 $\alpha$  و ارتباط این فاکتور با ERR $\alpha$  به عنوان فاکتور هم فعال رونویسی، هدف پژوهش حاضر بررسی پاسخ این دو فاکتور در پی تمرینات تناوبی پر شدت (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MIT) در بافت چربی زیر جلدی رت‌های نر بود.

### روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی بوده و نمونه‌گیری به صورت تصادفی ساده انجام گرفته است. این پژوهش روی ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین سنی دو ماه وزن بدن  $237 \pm 33$  به عنوان نمونه تحقیق (خریداری شده از انستیتو رازی) انجام یافت. موش‌ها در گروه‌های ۸ تایی و در محیطی با میانگین دمای  $22 \pm 1/4$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $55 \pm 4$  درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌های این پژوهش، تولید شرکت به پرور به صورت استاندارد و حاوی کلسیم و فسفر بود و تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. پژوهش حاضر با عمل به کلیه ملاحظات اخلاقی در تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها و دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته و شناسه اخلاق در پژوهش IR.PUN.REC.1398.041 برای آن تصویب شده است. رت‌ها پس از دو هفته آشنا سازی و سازگاری با محیط جدید به سه گروه مساوی کنترل (CO) و تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MIT) تقسیم شدند. همچنین در همین زمان موش‌ها در

عصبی می‌شود. این یافته‌ها رونویسی عصبی تنظیم شده توسط PGC-1 $\alpha$  را نشان می‌دهد که می‌تواند از نظر درمانی برای بیماری پارکینسون و سایر بیماری‌های عصبی مفید واقع شود (۱۸). از سویی دیگر ارتباط میان بیان ژن PGC-1 $\alpha$  با افزایش بیان برخی از ژن‌های بژ در بافت چربی قهوه‌ای مانند UCP1 (Uncoupling protein 1) (شاخصی خاص برای سلول‌های چربی قهوه‌ای) شناخته شده است که منجر به افزایش هزینه انرژی کل بدن می‌شود (۱۹). بنابراین، سطح PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی می‌تواند اثرات مفیدی بر متابولیسم سیستمیک داشته باشد و PGC-1 $\alpha$  به عنوان یک هدف مهم در درمان چاقی نیز مطرح گردد (۲۰). در این راستا رودریگز و همکاران گزارش کردند که رژیم غذایی پر چرب منجر به کاهش بیان PGC-1 $\alpha$  و UCP1 بافت چربی سفید گردیده و هیپرتروفی آدیپوسیت‌های در نتیجه‌ی رژیم غذایی پرچرب با تمرین استقامتی کاهش یافت درحالی‌که تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  در هر دو گروه رژیم غذایی پرچرب و استاندارد گردید (۲۱). امروزه داشتن یک برنامه تمرینی منظم جهت افراد سالم برای بالا بردن شاخص‌های وضعیت جسمانی و مرتبط با سلامت، به کرات توصیه گردیده ولی مکانیسم‌های مولکولی و حاکم بر این تغییرات که می‌تواند بر حفظ شاخص‌های سلامتی تأثیر داشته باشد، کمتر شناخته شده‌اند. نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که دو فاکتور بیشتر در شرایط چاقی و یا بیماری بررسی شده‌اند ولی در تحقیق حاضر از رت‌های نر سالم (فاقد اضافه وزن و هر گونه بیماری) استفاده گردیده است چرا که میزان تغییرات در بیان این ژن‌ها در پی یک دوره تمرینات منظم ورزشی در شرایط سلامتی کمتر مورد توجه بوده است. نوع، شدت و مدت تمرینات نیز در دستیابی به این اهداف نیز هنوز مورد بحث است. لذا در این مطالعه اثر بخشی دو شیوه تمرینی متفاوت بر بیان دو ژن مورد مطالعه قرار گرفته

پایان هفته پنجم به ۳۰ دقیقه رسید. از هفته ششم، برنامه تمرینی گروه MIT در زمان کل ۴۷ دقیقه، شامل ۳۷ دقیقه بدنه اصلی تمرین در ۶۵٪ VO<sub>2</sub>max، همراه با ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن، اجرا گردید و تا پایان دوره ثابت ماند. در کل مدت تمرینات MIT رت‌ها با سرعت ثابت ۲۰ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان دویدند. موش‌های گروه کنترل در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند، ولی برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان ۵ بار در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه برای سازگاری با محیط بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند. شیب دستگاه تردمیل در کل زمان اجرای پروتکل تمرینات بر روی صفر درجه تنظیم شده بود.

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ ساعت ناشتایی، گروه کنترل همراه با گروه تمرینی بافت‌برداری شدند. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، حیوانات با تزریق مقدار ۱۰ به ۸۰ میلی‌گرم زایلانین به کتامین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند و بلافاصله حدود ۳۰ گرم از بافت چربی زیرجلدی ناحیه کشاله رانی رت‌ها برداشته شد. بافت نمونه هر حیوان بلافاصله پس از برداشت و شستشو در سرم فیزیولوژیک و آغشته کردن به محلول RNA later (شرکت بیهونژن ایران) به داخل میکروکرایو منتقل و در محلول نیتروژن مایع در تیوب مخصوص منجمد شد و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه نگهداری گردید.

در این تحقیق برای اندازه‌گیری تغییرات ژن‌ها از روش واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با توجه به مزایای آن از جمله بررسی سریع‌تر نمونه‌ها، ارزان بودن نسبی، آسانی انجام کار و فوق‌العاده اختصاصی بودن، استفاده گردید. بدین منظور پس از استخراج کل RNA با استفاده از ترایزول (ساخت کشور آمریکا؛ 79306 Cat: No)، غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر Nanodrop (ساخت کشور آمریکا)

گروه‌های کنترل و تمرین با تردمیل به مدت ۲ هفته قبل از شروع تمرینات، به مدت زمان ۱۰ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه شروع به فعالیت کردند. پس از تقسیم‌بندی رت‌ها در گروه‌های تمرینی، حداکثر اکسیژن مصرفی حیوانات با توجه به عدم دسترسی به ابزار مستقیم، با آزمون فزاینده بر روی نوارگردان مطابق با پروتکل Høydal و همکاران (۲۲) و با پروتکل غیرمستقیم ارزیابی شد. بدین منظور رت‌ها با هدف گرم کردن، قبل از اجرای پروتکل اصلی تمرین، به مدت ۱۰ دقیقه روی تردمیل با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه فعالیت ورزشی انجام دادند. سپس رت‌ها با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۲ دقیقه یک بار سرعت به میزان ۲ متر بر دقیقه تا سر حد واماندگی افزایش یافت (عدم توانایی دویدن روی نوار گردان و رفتن به فضای انتهایی نوار گردان). بعد از به پایان رسیدن آزمون ورزشی سرعتی که رت‌ها در آن دویدند (آخرین سرعت در مرحله واماندگی) ثبت گردید و با استفاده از معادله  $y=162x-1$  میزان VO<sub>2</sub>max اندازه‌گیری شد (y، نمایانگر اکسیژن مصرفی میلی‌لیتر در دقیقه به ازای کیلوگرم وزن بدن، x نمایانگر سرعت دویدن متر در ثانیه). با ارزیابی شدت تمرین، تمرینات، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بر اساس دستورالعمل تعیین شده، شروع شد. کلیه تمرینات بر اساس ترتیب مشخص و در هنگام صبح انجام می‌شد. پروتکل تمرین HIIT در مجموع ۳۸ دقیقه به طول می‌انجامید و شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۲۸ دقیقه بدنه اصلی تمرین بود. تا پایان هفته پنجم، بدنه اصلی تمرین شامل ۳ مرحله تناوب شدید با زمان ۴ دقیقه دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد VO<sub>2</sub>max و ۳ مرحله تناوب کم شدت با زمان ۳ دقیقه دویدن در VO<sub>2</sub>max ۶۰-۵۰٪ بود (۳ تکرار ۳×۴ دقیقه). مراحل تمرین در سه هفته پایانی به ۴ مرحله افزایش یافت (۴ تکرار ۳×۴ دقیقه). در برنامه تمرینی MIT، مدت بدنه اصلی تمرین از ۲۰ دقیقه در هفته اول آغاز گردید و تا

جدول ۱ - توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

پرایمر R	پرایمر F	ژن‌ها
5'- CTTCGCTGTCATCAAACAGG -3'	5'- AACAAAGCACTTCGGTCATCC -3'	PGC-1 $\alpha$
5'- AATGAGGAGAGGAGCGAAGGG -3'	5'- AGGGAGGGAAGGGGATGGAGA -3'	ERR $\alpha$
5'- AGCCAGGATGCCCTTTAGT -3'	5'- GACATGCCGCTGGAGAAAC -3'	GAPDH

شد. جهت بررسی کمی- نسبی ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  استفاده شد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها به‌طور جداگانه برای گروه‌های نمونه انجام شد. در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی، انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از مون شاپیروویلیک و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از مون لون (Leven) استفاده شد. به دلیل برقرار بودن شرط همگنی واریانس‌ها، برای آزمون فرضیه‌های پژوهش جهت مقایسه بین گروهی آزمون پارامتریک آنوایک طرفه (One-way ANOVA) و در ادامه آزمون تعقیبی توکی (Tukey post-hock test) استفاده گردید. تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-20 و در سطح معناداری کمتر از ( $P \leq 0/05$ ) انجام شد.

### یافته‌ها

در جدول ۲ میانگین و انحراف معیار وزن بدن رت‌ها در هر گروه در مرحله پایه و پیش از قربانی کردن ارائه شده است. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده ۸ هفته تمرینات HIIT و MIT باعث افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در مقایسه با گروه کنترل گردید ( $P \leq 0/001$ ). ولیکن در بیان ژن PGC-1 $\alpha$  بین گروه HIIT و MIT تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P=0/514$ ). نمودار ۲ نشان می‌دهد که ۸ هفته تمرینات HIIT باعث

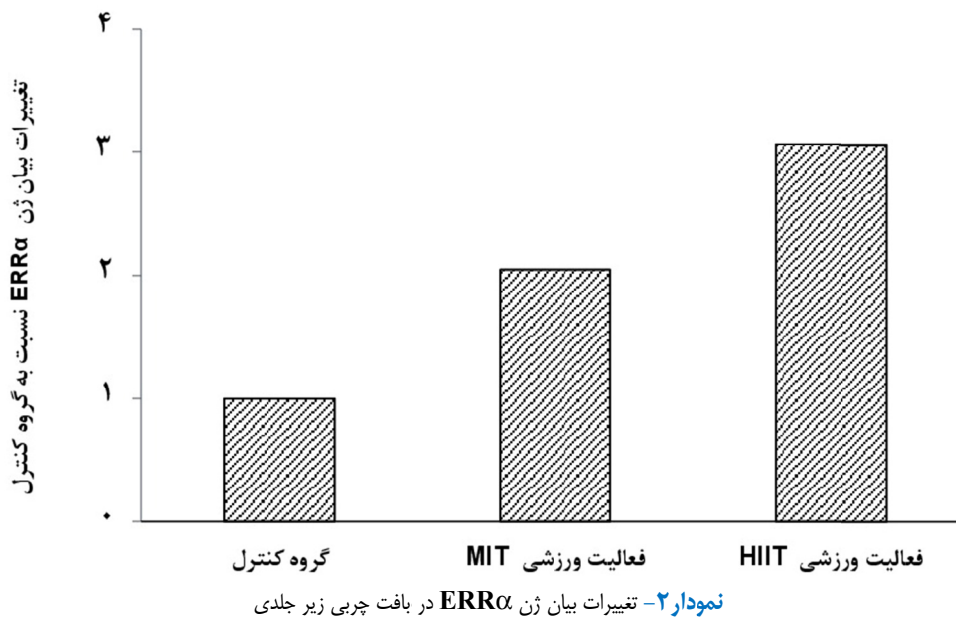
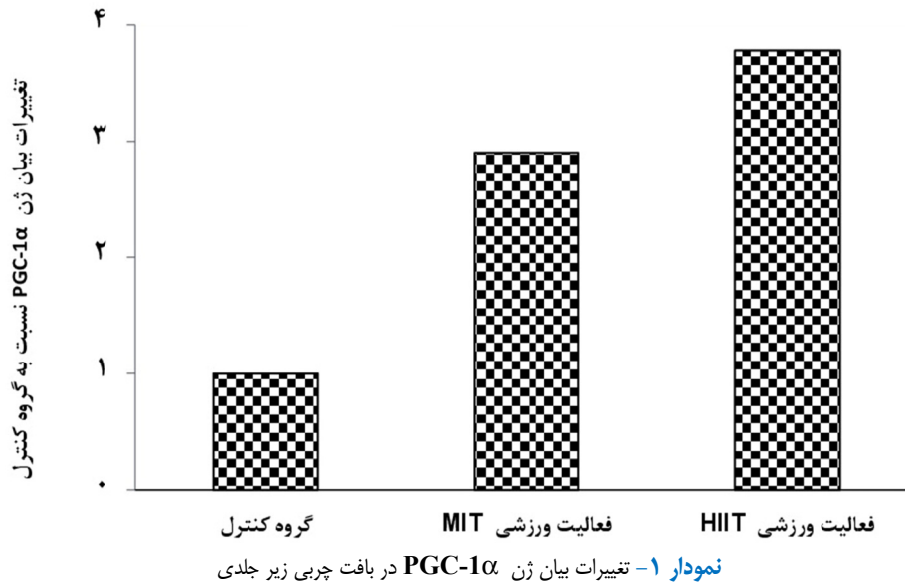
اندازه‌گیری شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت آن بر اساس ضریب رقت برحسب ng/ $\mu$ l به دست آمد.

به‌منظور جلوگیری از تکثیر احتمالی مربوط به DNA ژنومی که همراه با RNA استخراج می‌شود، نمونه‌های استخراج شده با Dnase I (Thermo Fisher) تیمار شدند. ساخت cDNA در دو مرحله با استفاده از کیت Thermo scientific (ساخت کشور آمریکا؛ Cat K1622) انجام شد. توالی پرایمرها از پایگاه داده‌ای مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) تهیه گردید (جدول ۱) و سپس طراحی پرایمرهای ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  با استفاده از برنامه Generunner انجام شد. واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) با استفاده از دستگاه (ABI) و کیت Amplicon (ساخت کشور دانمارک؛ Cat No: 4309155) انجام گرفت. هر واکنش Real-Time PCR شامل ۲ میکرولیتر cDNA رقیق شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ میکرومولار، ۵ میکرولیتر Mster Mix و ۲ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز بود. از دستگاه ABI Stepone (ساخت کشور آمریکا) برای Real-Time PCR استفاده شد. اختصاصی بودن تکثیر Real-Time PCR با ارزیابی منحنی تکثیر و پیک ذوب ارزیابی گردید. ضمناً در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار وزن نمونه‌های پژوهش

HIIT	MIT	CO	متغیر
۲۳۶/۹ $\pm$ ۸/۸۵	۲۳۴/۷ $\pm$ ۷/۶۴	۲۳۷/۵ $\pm$ ۶/۸۷	وزن اولیه (g)
۲۵۸/۴ $\pm$ ۱۱/۵	۲۴۱/۵ $\pm$ ۱۰/۳	۲۹۵/۳ $\pm$ ۸/۸	وزن نهایی (۸ هفته)

CO: گروه کنترل HIIT: گروه تمرین ورزشی تناوبی با شدت بالا MIT: گروه تمرین ورزشی تداومی با شدت متوسط



### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر، افزایش بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی رت‌های نر را پس از هشت هفته تمرین HIIT و MIT نسبت به گروه کنترل نشان داد. مقایسه بین گروه HIIT و گروه کنترل در بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  نشان‌دهنده افزایش به ترتیب ۲۷۸ و ۲۰۶ درصدی بود. مقایسه بین گروه تمرینی MIT و گروه کنترل در بیان ژن PGC-1 $\alpha$

افزایش بیان ژن ERR $\alpha$  در مقایسه با گروه کنترل گردید ( $P \leq 0/001$ ). ولی در بیان ژن ERR $\alpha$  بین گروه MIT و گروه کنترل علی‌رغم افزایش ۱۰۴ درصدی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ( $P=0/052$ ). همچنین در بیان ژن ERR $\alpha$  بین گروه HIIT و MIT تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P=0/062$ ).

غذایی پرچرب و استاندارد گردیده (۲۱) که میزان این افزایش کمتر از تحقیق حاضر بود. احتمالاً تمرین استقامتی به واسطه شدت پایین تر موجب افزایش کمتر  $PGC-1\alpha$  گردیده است. از یافته‌های تحقیق حاضر این گونه برداشت می‌شود که در افزایش  $PGC-1\alpha$  و  $ERR\alpha$  احتمالاً شدت تمرین عامل مهم‌تری می‌تواند باشد. البته متفاوت بودن نوع نمونه‌ها و عدم چاقی نیز می‌تواند از عوامل دیگر آن محسوب گردد. در رابطه با مکانیسم به واسطه شدت این تغییرات می‌توان این‌گونه توجیه کرد که تمرین شدید از جمله تمرینات HIIT نسبت به تمرینات MIT باعث افزایش بیشتر نسبت (Adenosine AMP(monophosphate) و ADP (Adenosine triphosphate) می‌شود و بنابراین احتمالاً با افزایش بیشتر (-AMP AMPK (activated protein kinase) و SIRT1 (Sirtuin 1) (۲۵) به عنوان یک عامل بالادستی همراه می‌باشد. دو فاکتور اخیر از جمله حسگرهای متابولیک داخل سلولی بوده که فعالیت و بیان آن‌ها به وسیله تمرین و در هنگام کمبود ذخیره انرژی افزایش می‌یابد. تنظیم AMPK توسط میزان سلولی و تنظیم SIRT1 توسط میزان  $NAD^+$  سلولی انجام می‌شود (۲۶). البته اندازه‌گیری میزان فاکتورهای بالادست از جمله AMPK و SIRT1 با توجه به محدودیت‌های مالی در محدوده تحقیق حاضر قرار نگرفت ولی با توجه به موارد ذکر شده و نقش اثبات شده بالادستی‌ها از جمله SIRT1 و AMPK در تنظیم مقادیر  $PGC-1\alpha$  در عضله اسکلتی، انتظار می‌رود بافت چربی نیز تابع این مکانیسم باشد. ولی بهتر است در تحقیقات آتی فاکتورهای بالادستی نیز به صورت هم‌زمان بررسی شوند. از سویی دیگر افزایش انرژی مصرفی یکی از عوامل مهم در افزایش بیان ژن  $ERR\alpha$  است. افزایش  $ERR\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی در پی تمرینات ورزشی نشان می‌دهد که این بافت نیز انرژی زیادی حین فعالیت مصرف می‌نماید (۲۷). کارتونی (Cartoni

$ERR\alpha$  نشان‌دهنده نیز افزایش به ترتیب ۱۹۰ و ۱۰۴ درصدی را نشان داد، گرچه اختلاف بین گروه MIT و کنترل معنی‌دار نبود ( $P=0/052$ ) با این حال شاید این عدم معنی‌داری و اختلاف جزئی با افزایش تعداد نمونه می‌توانست معنی‌دار گردد. افزایش چشمگیر این دو فاکتور در پی تمرینات HIIT و MIT می‌تواند نتیجه‌ای ارزشمند باشد چرا که همکاری و فعال شدن متقابل  $PGC-1\alpha$  با  $ERR\alpha$  فرآیندهای متابولیکی بنیادی مانند تمایز آدیپوسیت‌های قهوه‌ای، آدیپوژنز و بایوژنز میتوکندریایی و آنژیوژنز را تنظیم می‌کنند. در مطالعات داخلی و خارجی انجام یافته، تحقیقی که بیان این دو فاکتور را به‌طور هم‌زمان در بافت چربی زیر جلدی در پی دو شیوه تمرینی متفاوت بررسی کرده باشند یافت نگردید و اکثر تحقیقات نقش دو فاکتور را در بافت عضله اسکلتی در شدت‌های متفاوت تمرین بررسی نموده‌اند. با این حال نتایج این تحقیق در افزایش ژن  $PGC-1\alpha$  در بافت چربی با نتایج تحقیق نورهیم (Norheim) و همکاران (۲۰۱۴) که بر روی همین بافت انجام گردیده همسو می‌باشد لیکن دو تحقیق از لحاظ روش تحقیق از جمله نوع تمرین، شدت و مدت تمرین و نوع نمونه متفاوت هستند (۲۳). در تحقیقی دیگر خلفی (Khalafi) و همکاران (۱۳۹۷) تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای میتوکندری و  $PGC-1\alpha$  چربی زیر پوستی رت‌های نر چاق شده با رژیم غذایی پر چرب در شدتی مشابه با تحقیق حاضر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که HIIT به افزایش شایان توجه محتوی پروتئینی  $PGC-1\alpha$  و بیان mtDNA منجر می‌گردد (۲۴). با توجه به استاندارد بودن رژیم غذایی رت‌های مورد مطالعه این تحقیق نمی‌تواند مقایسه دقیقی انجام گیرد. ولی احتمالاً پروتکل مشابه تمرینی می‌تواند عاملی مهم در افزایش بیان  $PGC-1\alpha$  تلقی گردد. همچنین بر اساس نتایج تحقیق رد ریگز (Rodrigues) و همکاران (۲۰۱۶)، تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین‌های  $PGC-1\alpha$  در هر دو گروه رژیم

افزایش یافته باشند. با توجه به این که اندازه‌گیری VEGF در محدوده این تحقیق نبود لذا پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی هم‌زمان با اندازه‌گیری PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$ ، سطح VEGF و میزان چگالی مویرگی در بافت چربی زیر جلدی نیز بررسی گردد.

در تحقیق حاضر هم‌راستا بودن و همبستگی مثبت افزایش دو فاکتور مورد مطالعه در پی تمرینات HIIT و MIT، احتمالاً نمی‌تواند دلیل علت و معلولی باشد. در تحقیق حاضر به دلیل محدودیت‌های مالی و امکانات از عوامل مهار کننده دو فاکتور استفاده نشد. از این رو پیشنهاد می‌گردد تحقیقات آینده با به کارگیری گروه‌های مطالعه بیشتر و استفاده از آگونیست‌هایی که رابطه PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  را مختل می‌کنند، انجام گردد. فاکتورهای ناشناخته دیگری هم ممکن است نقش واسطه‌گری در ارتباط این دو فاکتور داشته باشند که نیازمند مطالعات بیشتری می‌باشد.

به‌طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) در مقایسه با تمرینات تناوبی با شدت متوسط (MIT)، به‌طور قابل ملاحظه‌ای منجر به افزایش بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی می‌گردند. بنابر این، افزایش بیان هر دو ژن مورد مطالعه در بافت چربی زیر جلدی فاکتوری تمرین پذیر بوده ولی تمرینات HIIT احتمالاً به واسطه شدت بالاتر، اثر بخشی بیشتری دارند. با توجه به آثار مفید مرتبط با سلامت افزایش این دو فاکتور در پی تحقیقات انجام یافته پیشین از یک طرف و افزایش قابل ملاحظه بیان هر دو ژن در تمرینات HIIT و MIT، استفاده از هر دو شیوه تمرینی به عنوان راهکاری مناسب برای حفظ سلامتی پیشنهاد می‌گردند. تمرینات HIIT از لحاظ کاربردی به واسطه زمان کوتاه‌تر برای اجرا، مناسب‌تر به نظر می‌رسند.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند قدردانی می‌نماییم.

et) و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که میزان ERR $\alpha$  در پی تمرینات ورزشی افزایش معنی‌داری داشته است که نشانگر سازگاری ایجاد شده با نیازهای متابولیک می‌باشد (۲۸). در تحقیق حاضر نیز افزایش قابل توجه ERR $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی، می‌تواند نشانگر افزایش پاسخ متابولیسمی این بافت به تمرینات ورزشی باشد. از جهتی دیگر در رابطه با مکانیسم توجیه این افزایش می‌توان این‌گونه اظهار داشت که انجام تمرینات با شدت بالا منجر به افزایش سطح لاکتات و اپی نفرین خون و همچنین تخلیه ذخایر انرژی از جمله فسفو کراتین و ATP و افزایش رهایش کلسیم از شبکه سارکو پلاسمی گردیده که این سیگنال‌ها باعث تحریک و افزایش فعالیت PGC-1 $\alpha$  می‌گردند (۲۹). با توجه به افزایش معنی‌دار هم‌زمان هر دو فاکتور مورد مطالعه، این‌گونه برداشت می‌شود که تمرینات HIIT و MIT با بالا بردن فعالیت PGC-1 $\alpha$  باعث فعال‌سازی ERR $\alpha$  می‌گردند. همچنین از آنجایی که PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  باعث افزایش بیان VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز می‌شوند این احتمال وجود دارد که تمرینات تناوبی با شدت بالا با افزایش PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  و در نتیجه افزایش چگالی مویرگ، موجب بهبود هموستاز گلوکز خون شده و از افزایش حجم سلول‌های چربی جلوگیری می‌کنند و در نتیجه یک راه درمانی برای مبارزه با چاقی نیز در نظر گرفته شوند. در مطالعه‌ای برنر (Brenne) و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که افزایش بیان فاکتور رشد و VEGF در بافت چربی در پی تمرینات ورزشی منجر به بهبود عروق و کاهش هیپوکسی، فیبروز و التهاب می‌شود که به نوبه خود، ممکن است خطر سرطان پستان پس از یائسگی را کاهش دهد (۳۰). هم‌چنین این امکان وجود دارد که فاکتور دیگری نیز در فرآیند رگ‌زایی در بافت چربی زیر پوستی نقش داشته باشد. با توجه به افزایش بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و ERR $\alpha$  در تحقیق حاضر، انتظار می‌رود سطح VEGF و دیگر عوامل رشدی آنژیوژنز نیز

## References

1. Frigolet ME, Gutiérrez-Aguilar R. The colors of adipose tissue. *Gaceta Medica de Mexico*. 2020;156(2):142-149.
2. Ultimo S, Zauli G, Martelli AM, Vitale M, McCubrey JA, Capitani S, et al. Cardiovascular disease-related miRNAs expression: potential role as biomarkers and effects of training exercise. *Oncotarget*. 2018;9(24):17238-17254.
3. Shalaby RE, Iram S, Oropeza CE, McLachlan A. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator family members competitively regulate hepatitis b virus biosynthesis. *Virology*. 2019;526:214-221.
4. McKie GL, Wright DC. Biochemical adaptations in white adipose tissue following aerobic exercise: from mitochondrial biogenesis to browning. *Biochem J*. 2020;477(6):1061-1081.
5. Cantó C, Auwerx J. PGC-1 $\alpha$ , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Curr Opin Lipidol*. 2009;20(2):98-105
6. Son YO, Chun JS. Estrogen-related receptor  $\gamma$  is a novel catabolic regulator of osteoarthritis pathogenesis. *BMB Rep*. 2018;51(4):165-166.
7. Deblois G, Giguère V. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Bas Dis*. 2011;1812(8):1032-1040.
8. Angueira AR, Shapira SN, Ishibashi J, Sampat S, et al. Early B cell factor activity controls developmental and adaptive thermogenic gene programming in adipocytes. *Cell Rep*. 2020;30(9):2869-2878
9. Manio MC, Matsumura S, Inoue K. Low-fat diet, and medium-fat diets containing coconut oil and soybean oil exert different metabolic effects in untrained and treadmill-trained mice. *J Int Soc Sports Nutr*. 2018;15(1):29.
10. Shapira SN, Seale P. Transcriptional control of brown and beige fat development and function. *Obesity*. 2019;27(1):13-21.
11. Arany Z, Foo SY, Ma Y, Ruas JL, Bommi-Reddy A, Girmun G, et al. HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$ . *Nature*. 2008;451(7181):1008-1012
12. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*. 2015;5(2):356-377
13. Yan M, Audet-Walsh É, Manteghi S, Dufour CR, Walker B, Baba M, St-Pierre J, Giguère V, Pause A. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1 $\alpha$ /ERR $\alpha$ . *Genes Dev*. 2016;30(9):1034-46.
14. Saito K, Cui H. Emerging roles of estrogen-related receptors in the brain: potential interactions with estrogen signaling. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4):1091.
15. Kleiner S, Mepani RJ, Laznik D, Ye L, Jurczak MJ, Jornayvaz FR, et al. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1 $\alpha$  in adipose tissues. *Proceed Natl Acad Sci*. 2012;109(24):9635-9640.
16. Semple R, Crowley V, Sewter C, Laudes M, Christodoulides C, Considine R, et al. Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1 $\alpha$  is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects. *Int J Obes*. 2004;28(1):176-179
17. Supruniuk E, Mikłosz A, Chabowski A. The implication of PGC-1 $\alpha$  on fatty acid transport across plasma and mitochondrial membranes in the insulin sensitive tissues. *Front Physiol*. 2017;8(923).
18. Austin S, Klimcakova E, St-Pierre J. Impact of PGC-1 $\alpha$  on the topology and rate of superoxide production by the mitochondrial electron transport chain. *Free Rad Biol Med*. 2011;51(12):2243-8.
19. Sharp LZ, Shinoda K, Ohno H, Scheel DW, Tomoda E, Ruiz L, et al. Human BAT possesses molecular signatures that resemble beige/brite cells. *PLoS One*. 2012;7(11).
20. Komen J, Thorburn D. Turn up the power—pharmacological activation of mitochondrial biogenesis in mouse models. *Br J Pharmacol*. 2014;171(8):1818-36.
21. Rocha-Rodrigues S, Rodríguez A, Gouveia AM, Gonçalves IO, Becerril S, Ramírez B, et al. Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet. *Life Sci*. 2016;165:100-108.
22. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14(6):753-760.
23. Norheim F, Langley TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J*. 2014;281(3):739-749..
24. Khalafi M, Mohebbi H, Karimi P, Faridnia M, Tabari E, The effect of high intensity interval training and moderate intensity continuous training on mitochondrial content and PGC-1 $\alpha$  of subcutaneous adipose tissue in male rats with high fat diet induced obesity. *Sport Biosci*. 2018;38:297-315. (Persian)
25. Zhou J, Poudel A, Chandramani-Shivalingappa P, Xu B, Welchko R, Li L. Liraglutide induces beige fat development and promotes mitochondrial function in diet induced obesity mice partially through AMPK-SIRT-1-PGC1- $\alpha$  cell signaling pathway. *Endocrine*. 2019;64(2):271-283.
26. Chandrasekaran K, Anjaneyulu M, Choi J, Kumar P, Salimian M, Ho CY, Russell JW. Role of mitochondria in diabetic peripheral neuropathy:

Influencing the NAD<sup>+</sup>-dependent SIRT1–PGC-1 $\alpha$ –TFAM pathway. *Int Rev Neurobiol.* 2019;145:177-209

27. Deblois G, Giguere V. Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 2017;1812(8):1032-40.

28. Cartoni R, Leger B, Hock MB, Praz M, Crettenand A, Pich S, et al. Mitofusins 1/2 and ERR $\alpha$  expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. *J Physiol.* 2018;567(1):349-358.

29. Ringholm S, Knudsen JG, Leick L, Lundgaard A, Nielsen MM, Pilegaard H. PGC-1 $\alpha$  is required for exercise-and exercise training-induced UCP1 up-regulation in mouse white adipose tissue. *PLoS One.* 2013;8(5):e6412

30. Brenner DR, Ruan Y, Adams SC, Courneya KS, Friedenreich CM. The impact of exercise on growth factors (VEGF and FGF2): results from a 12-month randomized intervention trial. *Eur Rev Aging Physic Act.* 2019;16(1):8.