

Skeletal muscle metabolomics analysis after high-intensity interval training in rats fed a high-fat diet

Mansoureh Karimi¹, Marziyeh Saghebjoon¹, Hadi Sarir², Mehdi Hedayati³

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Birjand, Birjand, Iran
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
3. Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: m_saghebjoon@birjand.ac.ir

Abstract

Background and Objective: High-fat diet (HFD) causes disturbances in energy production pathways and increases the possibility of insulin resistance (IR). The purpose of this study was to investigate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on metabolic profile associated with IR in male rats fed with HFD and standard diet (SD).

Materials and Methods: 32 male rats (aged 7-8 weeks) were divided into four equal groups including HIIT+HFD, HIIT+SD, HFD control, and SD control. Then, HIIT (12 weeks, five sessions per week at intensity of 85-90% of maximum oxygen consumption) and diet interventions were applied and finally, the gastrocnemius muscle was removed for tissue examination by gas chromatography-mass spectrometry. One-way analysis of variance, one-way analysis of covariance, and Kruskal-Wallis tests were used for data analysis at a significance level of $P < 0.05$.

Results: The level of citric acid in the gastrocnemius muscle was significantly lower in the HFD control group than in the SD control group. In addition, the level of citric acid in HIIT+SD and HIIT+HFD groups was significantly higher than in the HFD control group. There was no significant difference between the levels of malate, glucose 6-phosphate, ribose, xylose, and ribulose 5-phosphate metabolites among the groups. Also, the body weight in the HIIT+SD and HIIT+HFD groups was significantly lower than the HFD control group.

Conclusion: HFD limits the aerobic energy provision of skeletal muscles by reducing the level of muscle citric acid as an important intermediate metabolite in the TCA cycle. HIIT can be effectively reduced metabolic disorders caused by HFD by increasing the level of citric acid and reducing the slope of body weight gain.

Keywords: High-intensity interval training, High-fat diet, Citric acid, Pentose phosphate, Metabolomics

Received: Oct 27, 2023

Revised: Dec 21, 2023

Accepted: Dec 31, 2023

How to cite this article: Karimi M, Saghebjoon M, Sarir H, Hedayati M. Skeletal muscle metabolomics analysis after high-intensity interval training in rats fed a high-fat diet. *Daneshvar Medicine* 2024; 31(5):76-91. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.18381.1415

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تجزیه و تحلیل متابولومیکی عضله اسکلتی پس از تمرین تناوبی شدید در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب

منصوره کریمی^۱، مرضیه ثاقب‌جو^{۱*}، هادی سریر^۲، مهدی هدایتی^۳

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۳. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

Email: m_saghebjoo@birjand.ac.ir

*نویسنده مسئول: مرضیه ثاقب‌جو

چکیده

مقدمه و هدف: رژیم غذایی پرچرب (HFD)، باعث اختلال در مسیرهای تولید انرژی شده و احتمال بروز مقاومت به انسولین (IR) را افزایش می‌دهد. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر نیم‌رخ متابولیکی مرتبط با بروز IR در موش‌های تغذیه‌شده با HFD و رژیم غذایی استاندارد (SD) بود.

مواد و روش‌ها: ۳۲ سر موش صحرایی نر (سن ۷-۸ هفته) به چهار گروه مساوی شامل HIIT+SD، HIIT+HFD، HFD control و کنترل دریافت‌کننده SD (SD control) تقسیم شدند. سپس مداخله‌های HIIT (۱۲ هفته، پنج جلسه در هفته با شدت ۹۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و رژیم غذایی اعمال شد و در نهایت، عضله دوقلو به‌منظور بررسی بافتی به‌روش کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی برداشته شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه، آنالیز کوواریانس یک‌طرفه و کروسکال-والیس در سطح معناداری $P < 0/05$ انجام شد.

نتایج: میزان اسیدسیتریک عضله دوقلو در گروه HFD control نسبت به گروه SD control به‌طور معناداری پایین‌تر بود. علاوه‌براین، میزان اسیدسیتریک در گروه‌های HIIT+SD و HIIT+HFD نسبت به گروه HFD control به‌طور معناداری بالاتر بود. بین میزان متابولیت‌های ملات، گلوکز ۶-فسفات، ریبوز، گزیلوز و ریبولوز ۵-فسفات در بین گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. همچنین، وزن بدن در گروه‌های HIIT+SD و HIIT+HFD در مقایسه با گروه HFD control به‌طور معناداری پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری: HFD از طریق کاهش میزان اسیدسیتریک عضلانی به‌عنوان واسطه متابولیتی مهم چرخه TCA، در تأمین انرژی عضلات اسکلتی از مسیر هوازی محدودیت ایجاد می‌کند. انجام HIIT می‌تواند به‌واسطه افزایش میزان اسیدسیتریک و کاهش شیب افزایش وزن بدن، در کاهش اختلالات متابولیکی ناشی از HFD مؤثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، رژیم غذایی پرچرب، اسیدسیتریک، پنتوز فسفات، متابولومیکس

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۰۸/۰۵

اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۳۰

پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۰

مقدمه

بیشتر التهاب، استرس سلولی، احتمال بروز IR و در نهایت بیماری دیابت خواهد شد (۹، ۱۰). تشکیل توده چربی اضافی و تولید بیش‌ازحد رادیکال‌های آزاد متعاقب HFD، باعث پیشرفت مشکلات قلبی-عروقی، پرفشاری خون و بیماری‌های عضلانی می‌شود (۱۱، ۱۲). رژیم‌های غذایی مختلط مانند رژیم‌های غذایی غربی نیز که شامل سطوح بالایی از گلوکز و اسیدهای چرب آزاد هستند (۱۳)، موجب افزایش تدریجی توده چربی، قند خون و ایجاد اختلال در حساسیت به انسولین شده و مشکلات متابولیکی همچون IR را توسعه خواهند داد (۱۴، ۱۵). مسیر پنتوز فسفات^۸ (PP)، مسیری است که هگروزاها و پنتوزها را به یکدیگر تبدیل می‌کند و از جمله مسیرهایی هست که متابولیت‌های حاصل از آن، در بروز IR تأثیر به‌سزایی دارد. اختلال در اکسایش مسیر PP در ماکروفاژهای بافت چربی و نیز در عضله اسکلتی (۱۶)، به اختلال عملکرد بافت‌های مذکور منجر می‌شود (۱۷). این مسیر، با مسیر گلیکولیز برای کاتابولیسم G6P رقابت می‌کند. در مسیر اکسایشی PP، G6P با از دست‌دادن CO₂ و تشکیل دو مولکول نیکوتین آمیدآدنین دی نوکلئوتید فسفات^۹ (NADPH) به ریبولوز ۵-فسفات تبدیل می‌شود (۱۸). در یک گزارش مروری بیان شده است که فعالیت مسیر PP در عضله اسکلتی در طول تمرین ورزشی افزایش می‌یابد (۱۶). همچنین، گزارش شده است که بالاترین افزایش نسبی در فعالیت آنزیم‌های عضلانی پس از یک دوره تمرین خسته‌کننده، مربوط به گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز^{۱۰} (G6PD) است که نشان می‌دهد فعال‌شدن مسیر PP در عضله اسکلتی و ایجاد تغییر در آنزیم‌ها و متابولیت‌های این مسیر، برای فراهم‌کردن بستری برای بازسازی عضله مهم است (۱۹). علاوه‌براین، کاهش توده و قدرت عضلانی مرتبط با سن، منجر به کاهش فعالیت G6PD و محتوای پروتئین در عضله اسکلتی می‌شود و با انجام تمرین ورزشی می‌توان این عوارض را به تأخیر انداخت (۲۰). از آنجایی که بین

دیابت نوع ۲، نتیجه تعامل پیچیده ژنتیک، سبک زندگی و عوامل محیطی است. با وجود پیشرفت‌های اخیر در مطالعات ژنتیکی، سازوکارهای متابولیک زیربنایی دیابت نوع ۲، به‌ویژه مقاومت به انسولین (IR)^۱، به‌خوبی شناخته نشده است. ظهور فناوری‌هایی برای تجزیه و تحلیل جامع متابولیک، که اغلب متابولومیکس^۲ نامیده می‌شود، قابلیت‌های جدیدی را برای درک بیماری‌های متابولیک ایجاد کرده است (۱). تکنیک تحلیلی متابولومیک همانند طیف‌سنجی جرمی (MS)^۳، با هدف اندازه‌گیری نیم‌رخ تغییرات در میزان متابولیت‌های موجود در داخل سلول، بافت یا ارگانیزم در پاسخ به یک تنوع ژنتیکی یا محرک‌های پاتوفیزیولوژیک مطرح است و می‌تواند یک بازتاب آنی و کامل از کل فیزیولوژی یک ارگانیزم ارائه دهد (۲، ۳). متابولیسم قندها، لیپیدها و اسیدهای آمینه و متابولیت‌های حاصل از آنها، به دنبال افزایش وزن و بروز IR احتمالاً دستخوش تغییر می‌شوند (۴)، لذا تغییر میزان متابولیت‌های مربوطه در افراد مستعد ابتلا به IR در مقایسه با افراد سالم، ممکن است به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص عوارض بعدی مدنظر قرار گیرند (۵). با توجه به اینکه تغییرات متابولیکی خوش‌خیم نیستند، تجمع برخی از واسطه‌های متابولیکی باعث تقویت بیشتر التهاب و استرس سلولی و در نهایت احتمال بروز IR و دیابت می‌شود (۶). از این‌رو، متابولیت‌های تغییر یافته یا نیم‌رخ متابولومیکی می‌توانند بیماری‌های متابولیکی خاص را با دقت بالا پیش‌بینی کرده و به درک سازوکارهای اساسی مرتبط و همچنین مسیرهای متابولیکی تأثیرگذار کمک کنند (۷).

استفاده از رژیم غذایی پرچرب^۴ (HFD)، باعث ایجاد درجات متفاوتی از التهاب می‌شود. گزارش شده است که متعاقب مصرف طولانی‌مدت HFD، واسطه‌های سمی در بدن افزایش می‌یابد. از این‌رو تجمع و یا کاهش برخی از واسطه‌های متابولیکی مانند گلوکز ۶-فسفات^۵ (G6P)، ریبولوز ۵-فسفات^۶ (R5P) (۸) و ملات^۷ باعث تقویت

¹ Insulin resistance

² Metabolomics

³ Mass spectrometry

⁴ High-fat diet

⁵ Glucose 6-phosphate

⁶ Ribulose 5-phosphate

⁷ Malate

⁸ Pentose phosphate

⁹ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

¹⁰ Glucose-6-phosphate dehydrogenase

(HIIT)، دارای تناوب‌های کوتاه فعالیت و استراحت) به دلیل دارا بودن تأثیرات فیزیولوژیکی قابل توجه بر چاقی، التهاب و افزایش اکسایش چربی در مقایسه با تمرین استقامتی، اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است (۳۰). چنین گزارش شده است که ۱۲ هفته HIIT (۵ جلسه در هفته، با شدت معادل ۹۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی^۴ (VO_{2max}))، باعث کاهش IR و افزایش اکسایش چربی در موش‌های تغذیه‌شده با HFD می‌شود (۳۱، ۳۲). وو^۵ و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشاهده کرده‌اند که HIIT، باعث بهبود عملکرد میتوکندری عضلانی می‌شود (۳۳). از این رو انتظار می‌رود که HIIT بتواند روی نیم‌رخ متابولیتی مسیرهای PP و TCA عضله اسکلتی موش‌ها در شرایط تغذیه با HFD، مؤثر واقع شود.

همان‌گونه که اشاره شد، احتمالاً مسیر PP و TCA در سازوکارهای مولکولی ایجاد IR ایفای نقش می‌کنند (۸)؛ بنابراین شناخت صحیح و روشن این مسیرها و متابولیت‌های مداخله‌کننده، می‌تواند به شناسایی سازوکار ایجاد IR کمک کرده و نقش هر یک از مسیرهای احتمالی را به روشنی مشخص کند (۳۴). از سوی دیگر، در برخی مطالعات گزارش شده است که انجام تمرین ورزشی به‌تنهایی و بدون اصلاح برنامه رژیم‌های غذایی، عوارض احتمالی رژیم‌های غذایی نامناسب را از بین نمی‌برد (۳۵). از این رو، مطالعه حاضر در نظر دارد به بررسی این موضوع بپردازد که آیا انجام HIIT هم‌زمان با دریافت HFD در مقایسه با انجام هم‌زمان HIIT و دریافت SD، اثرات احتمالی متفاوتی بر برخی متابولیت‌های مسیرهای انرژی‌درگیر در بروز IR ایجاد می‌کند؟، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر انجام ۱۲ هفته HIIT همراه با دریافت HFD و SD بر برخی متابولیت‌های مرتبط با بروز IR به روش کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی^۶ (GC-MS) در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر بود.

فشار اکسایشی، التهاب و IR رابطه مستقیم وجود دارد، لذا مسیر PP ممکن است به‌عنوان یک هدف جدید و امیدوارکننده برای تعدیل التهاب ناشی از چاقی و حساسیت به انسولین در بافت‌های مختلف مورد توجه قرار گیرد (۸). در موش‌های چاق شده با HFD، کاهش فعالیت مسیر PP مشاهده شد (۲۱). علاوه‌براین، HFD با فسفوریلاسیون اکسایشی ارتباط نزدیکی دارد و به‌طور قابل توجهی بیان ژن‌های بافت عضلانی مرتبط با فسفوریلاسیون اکسایشی را کاهش می‌دهد (۲۲).

از سوی دیگر، چرخه اسید تری کربوکسیلیک^۱ (TCA) به‌عنوان جایگاه نهایی اکسایش چربی، منبع اصلی الکترون‌ها برای زنجیره تنفسی و پیش‌ساز متابولیکی گلوکونئوزن است (۲۳). همچنین این چرخه با میزان تقاضای تنفسی سلول مطابقت دارد و با تبدیل استیل کوآ به CO₂ و تولید سه NADH و یک FADH₂، به‌ترتیب برای کمپلکس‌های تنفسی یک و دو، اکسایش چربی را با زنجیره تنفسی مرتبط می‌کند (۲۴، ۲۵). از این رو، در شرایط IR، عملکرد چرخه TCA کبدی به دلیل افزایش رسوب الکترون در یک زنجیره تنفسی ناکارآمد، تولید ROS اضافی و نیز افزایش سوبستراهای گلوکونئوزن، دچار اختلال می‌شود (۲۳). گزارش شده است که تجمع چربی نقش عمده‌ای در افزایش انتشار H₂O₂ میتوکندریایی در عضلات اسکلتی متعاقب دریافت HFD (سه روز در هفته، به مدت سه هفته) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده غذای استاندارد^۲ (SD)، در نمونه‌های انسانی و جوندگان دارد. علاوه‌براین، انتشار H₂O₂ در افراد چاق، تقریباً دو برابر بیشتر از افراد لاغر است که این یافته‌ها علت‌شناسی IR را در حوزه بیوانرژی‌های میتوکندری قرار می‌دهد و بیان می‌کند که انتشار H₂O₂ میتوکندریایی، به‌عنوان عامل سنجش تعادل انرژی و تنظیم‌کننده محیط اکسیداسیون عمل می‌کند؛ علاوه‌براین تعادل متابولیک درون‌سلولی را با کنترل حساسیت به انسولین مرتبط می‌کند (۲۶).

انجام تمرین ورزشی منظم به کاهش بروز بیماری‌های التهابی منجر می‌شود و اثر محافظتی در برابر ابتلا به IR و بروز دیابت دارد (۲۷-۲۹). امروزه تمرین تناوبی شدید^۳

⁴ Maximum rate of oxygen consumption

⁵ Wu

⁶ Gas chromatograph-mass spectrometer

¹ Tricarboxylic acid cycle

² Standard diet

³ High-intensity interval training

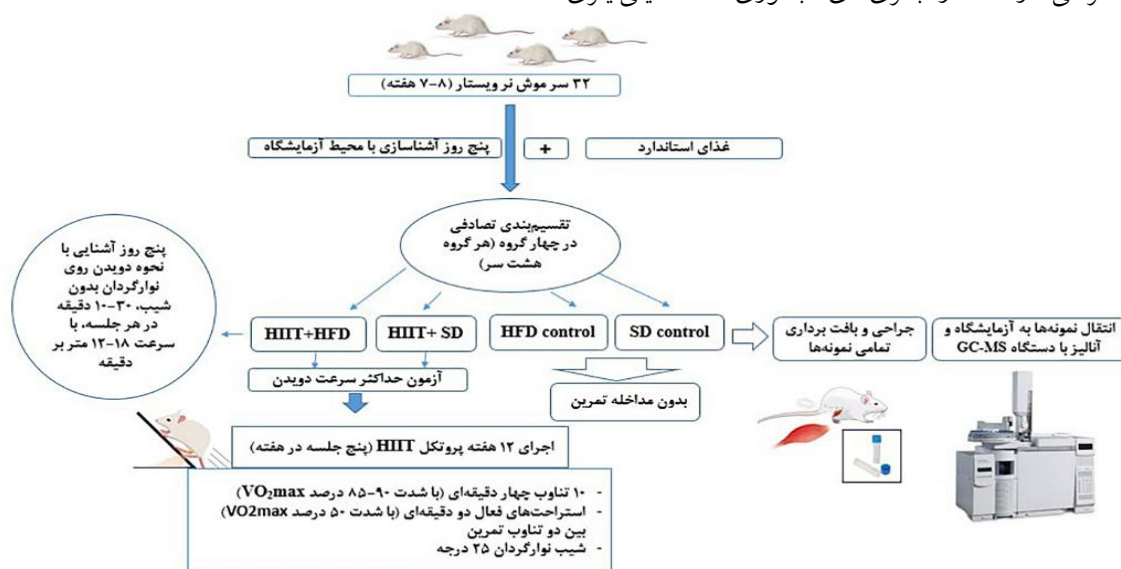
مواد و روش‌ها

حیوانات و روش گروه‌بندی

تحقیق حاضر از نوع تجربی و آزمایشگاهی بود. تعداد ۳۲ سر موش صحرائی نر بالغ و یستار با سن ۷-۸ هفته و با دامنه وزنی ۲۰۰-۱۵۰ گرم، از مرکز تحقیقات انستیتو پاستور (کرج، ایران) خریداری و به آزمایشگاه حیوانات دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند منتقل و نگهداری شدند. موش‌ها در گروه‌های سه‌تایی، داخل قفس‌های پلی‌کربنات شفاف، در دمای محیطی ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳۰-۲۰ درصد و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت (۷ صبح، ۷ شب) تحت مراقبت قرار گرفتند.

حیوانات طی مراحل تحقیق، محدودیتی در دسترسی به آب و غذا نداشتند. آب مورد نیاز هر حیوان به صورت دسترسی آزادانه در بطری‌های آبخوری ۵۰۰ میلی‌لیتری

ویژه حیوانات آزمایشگاهی و غذا به شکل پلت در اختیار آنها قرار داده شد. پس از پنج روز آشناسازی با محیط، موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه مساوی (هر گروه هشت سر) شامل: *SD control*، *HFD control*، *HIIT+* و *SD+HIIT* تقسیم شدند. این توضیح لازم است که *SD* و *HIIT+HFD* دوره مداخله، تمام موش‌های هر چهار گروه زنده ماندند؛ بنابراین نرخ بقای موش‌ها در انتهای مطالعه ۱۰۰ درصد بود. شایان ذکر است که تمام مراحل آزمایشات حیوانی، با دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی مطابقت داشت و توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه بیرجند با کد *IR.BIRJAND.REC.1400.012* مورد تأیید قرار گرفت. شکل یک طرح‌واره مراحل مختلف تحقیق را نشان می‌دهد.



شکل ۱. طرح‌واره مراحل مختلف تحقیق، HIIT: تمرین تناوبی شدید، SD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، SD control: کنترل دریافت‌کننده HFD control، SD: کنترل دریافت‌کننده HFD

D11112201 بود (۳۷). شایان ذکر است که در مدت پنج روز آشناسازی با محیط، هر چهار گروه مورد مطالعه و در طول مداخله و پنج روز آشنایی با نوارگردان نیز، موش‌های گروه‌های *HIIT+SD* و *SD control* با این غذا تغذیه شدند.

غذای پرچرب: ترکیب این غذا در هر گرم شامل ۴۳ درصد کالری از کربوهیدرات، ۴۰ درصد کالری از چربی و ۱۷ درصد کالری از پروتئین بر اساس رژیم غذایی در

برنامه رژیم‌های غذایی

غذای استاندارد و پرچرب از پژوهشکده زیست‌فناوری رؤیان اصفهان خریداری و در فریز منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند.

غذای استاندارد: ترکیب این غذا به‌گونه‌ای بود که هر گرم تأمین‌کننده ۶۴ درصد کالری از کربوهیدرات، ۱۶ درصد کالری از چربی و ۲۰ درصد کالری از پروتئین بر اساس رژیم غذایی در تحقیقات روی نمونه‌های حیوانی با کد

تحقیقات روی نمونه‌های حیوانی با کد D12079B بود (۳۸). در مدت پنج روز آشنایی با نوارگردان و همچنین در طول ۱۲ هفته مداخله، موش‌های گروه‌های HIIT+HFD و HFD control با استفاده از این غذا تغذیه شدند.

پروتکل اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن و ارزیابی VO2max

در مطالعات پیشین بیان شده است که همبستگی بالایی بین سرعت نوارگردان و رسیدن به VO2max در موش‌ها وجود دارد (۳۹ و ۴۰) و از حداکثر سرعت دویدن به‌طور بالقوه می‌توان برای تخمین VO2max موش استفاده کرد (۴۱ و ۴۲)؛ بنابراین در مطالعه حاضر، دویدن با درصد خاصی از حداکثر سرعت نوارگردان، معادل با همان درصد VO2max در نظر گرفته شد و برای تعیین شدت تمرین از آزمون حداکثر سرعت دویدن استفاده شد. بدین صورت که بعد از پنج دقیقه گرم‌کردن با سرعت شش متر در دقیقه، هر دو دقیقه یکبار سرعت نوارگردان به میزان دو متر در دقیقه افزایش یافت (شیب نوارگردان در تمامی مراحل این آزمون، ۲۵ درجه بود) (۳۹). سرعتی به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد که موش‌ها بلافاصله پس از افزایش سرعت نوارگردان، به مدت ۱۵ ثانیه روی نوارگردان استراحت کنند و تلاش مجددی برای ادامه حرکت روی نوارگردان انجام ندهند (۴۳-۴۵). لازم به یادآوری است که پروتکل اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن، هر دو هفته یکبار به‌منظور تعیین سرعت جدید دویدن موش‌ها روی نوارگردان اجرا شد.

پروتکل HIIT

در ابتدا موش‌ها به مدت پنج روز با دویدن روی نوارگردان (شیب صفر درجه، یک جلسه در هر روز به مدت ۳۰-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۸-۱۲ متر بر دقیقه معادل شدت ۵۰-۴۰ درصد VO2max) آشنا شدند (۴۰). سپس برنامه تمرین به مدت ۱۲ هفته (پنج روز در هفته) اجرا شد. هر جلسه HIIT با احتساب زمان گرم کردن و سرد کردن، حدود ۷۰ دقیقه دویدن روی نوارگردان بود (شیب نوارگردان در تمام مراحل تمرین، ۲۵ درجه بود) که شامل پنج دقیقه گرم‌کردن با شدت ۵۰-۴۵ درصد VO2max، ۱۰ تناوب چهار دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵

درصد VO2max، دو دقیقه استراحت فعال با شدت ۵۰ درصد VO2max بین هر تناوب و پنج دقیقه سردکردن با شدت ۵۰-۴۵ درصد VO2max بود (شکل ۱) (۳۱). در تمام مدتی که موش‌های دو گروه تمرینی در حال دویدن روی نوارگردان بودند، به دلیل همسان‌کردن دریافت استرس احتمالی ناشی از صدای نوارگردان، قفس‌های نگهداری موش‌های گروه کنترل (بدون وجود آب و غذا)، در مجاورت نوارگردان قرار می‌گرفت.

بافت‌برداری و آماده‌سازی نمونه بافتی برای آنالیز GC-MS

پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه مداخله و بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه، موش‌ها با ترکیبی از کتامین و زایلازین (به ترتیب ۱۰۰ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس عضله دوقلوی موش‌ها با عمل جراحی در شرایط کاملاً استریل خارج و در میکروتیوب‌های کرایوویال قرار داده شدند و بی‌فاصله به‌منظور انجماد ناگهانی در نیتروژن مایع (منفی ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد) غوطه‌ور شدند. سپس نمونه‌ها تحت شرایط زنجیره سرما به آزمایشگاه تحقیقاتی (واقع در مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران)، منتقل و در فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا انجام آنالیزهای بیوشیمیایی نگهداری شدند. لازم به یادآوری است مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، پس از اتمام بافت‌برداری، لاشه حیوانات در محیطی مناسب و دور از دسترس حیوانات، منابع آبی (جاری، سدها و سفره‌های زیرزمینی) و مناطق مسکونی دفن شد.

برای آنالیز پروفایل متابولیت‌های نمونه‌های عضله اسکلتی از روش GC-MS استفاده شد. یک نمونه ۱۰۰ میلی‌گرمی از هر نمونه عضله در ۸۰۰ میکرولیتر کلروفرم/متانول/آب (۱:۳:۲، v/v/v) همگن شده و روی یخ خنک شد. نمونه‌های هموژن‌شده در 14200 g و چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی به میکرو سانتریفیوژ ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. رسوب باقی‌مانده در ۴۰۰ میکرولیتر از مخلوط حلال سرد معلق شد. کل محلول رویی به‌طور مساوی بین سه میکرو

لوله تقسیم شد و تا زمان آنالیز در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج و مشتق‌سازی متابولیت

متابولیت‌ها از نمونه‌های بافت عضله با افزودن یک میلی‌لیتر رسوب‌دهنده پروتئین (متانول/آب/ایزوپروپانول، ۵:۲:۲، v/v/v) به ۵۰ میکرولیتر نمونه مایع در لوله‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استخراج شدند. لوله‌ها تکان داده شده و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سرد شدند و سپس با سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند تا پروتئین رسوب‌شده حذف شود. مایع رویی جمع‌آوری و با استفاده از سانتریفیوژ خلأ به مدت سه ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تا خشک شدن تغلیظ شد. سپس نمونه‌های خشک‌شده متوکسیمه^۱ و تری متیل سیلیله^۲ شدند تا گروه‌های عاملی آلدهید و کتون به مشتقاتی فرار و پایدار برای آنالیز GC-MS تبدیل شوند. این کار با افزودن ۳۰ میکرولیتر از محلول ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متوکسی‌آمین هیدروکلراید^۳ در پیریدین^۴ به نمونه‌های خشک‌شده و حرارت دادن آنها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت روی یک شیکر حرارتی انجام شد. سپس ۶۰ میکرولیتر N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) به‌عنوان یک عامل سیلیله اضافه شد. نمونه‌ها تکان داده شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند.

آنالیز GC-MS به روش غیرهدفمند

آنالیز GC-MS غیرهدفمند با استفاده از یک سیستم GC Agilent 5975C MSD/Agilent 7890A مجهز به ستون موئین HP-5ms (30m_0.25mm_0.25mm) انجام گرفت. یک میکرولیتر از هر نمونه مشتق‌شده با نسبت اسپیلیت ۱:۴ و جریان ثابت هلیوم ۱ میلی‌لیتر در دقیقه تزریق شد. دمای ورودی، خط انتقال و منبع یون به ترتیب روی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۵۰ درجه

سانتی‌گراد و ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. همه نمونه‌ها به‌صورت تصادفی برای جلوگیری از سوگیری سیستماتیک اجرا شدند. شرایط کروماتوگرافی به شرح: الف) دمای اولیه: ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ب) زمان نگهداری: یک دقیقه، ج) شیب سرعت: ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، د) دمای نهایی: ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و ه) زمان نگهداری: ۲۲ دقیقه بود. طیف جرمی تحت شرایط یونیزاسیون ضربه الکترون (EI) در محدوده ۵۰-۶۰۰ m/z به دست آمد. نتایج GC-MS ۴/۵ دقیقه پس از تأخیر حلال جمع‌آوری شد.

پردازش داده‌های GC-MS

داده‌های خام GC-MS با استفاده از نرم‌افزار آنالیز داده‌های کیفی Agilent Mass Hunter برای برداشت پیک و دکالوشن طیف جرمی پردازش شد. سپس از داده‌ها به فرمت CDF (NetCDF) خروجی گرفته شد و برای پردازش بیشتر با استفاده از نرم‌افزار MS-DIAL (نسخه ۴/۰) برای حاشیه‌نویسی متابولیت به فرمت "abf" تبدیل شد. حاشیه‌نویسی خودکار متابولیت با استفاده از کتابخانه‌های مرجع MS/MS داخلی در MS-Dial انجام شد. قبل از آنالیز آماری، MS-Dial یک لیست از پیک‌های هر نمونه تهیه شد. این لیست شامل میانگین زمان ماند (RT)، مقادیر m/z، طیف MS/MS، و شدت پیک (ارتفاع) بود. تمام طیف‌های متابولیت‌هایی که در MS-Dial در برابر طیف مرجع از کتابخانه‌های replib، mainlib و Fiehn با معیار شباهت ۷۰ درصد حاشیه‌نویسی شده بودند، با استفاده از برنامه جستجوی طیف جرمی NIST (نسخه ۲/۰) تأیید شدند. در نهایت، داده‌های پیش‌پردازش‌شده با MS-Dial تحت مراحل پس از پردازش زیر قرار گرفتند: الف) تمام یون‌های آلوده‌کننده تولیدشده توسط معرف‌های مشتق‌سازی از مجموعه داده‌های اصلی حذف شدند؛ ب) شدت پیک با تکرار دوتایی از یک مولکول (در نتیجه مشتق‌سازی ناکافی) اضافه شد و ج) پیک‌های متابولیت با استفاده از روش mTIC با تقسیم شدت هر متابولیت بر مجموع متابولیت‌های شناسایی شده ضربدر میانگین mTIC، نرمال شد.

¹ Methoximated

² Trimethylsilylated

³ Methoxyamine hydrochloride

⁴ Pyridine

جدول ۱. مقادیر میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن گروه‌های تحقیق در قبل و بعد از مداخله

گروه‌ها متغیر	HIIT+HFD	HIIT+SD	SD control	HFD control
وزن اولیه (گرم)	۱۵۶/۹۳±۲۰/۲۹	۱۶۴/۰۰±۱۹/۸۰	۱۶۵/۹۱±۱۹/۸۹	۱۷۰/۲۸±۱۵/۹۳
وزن پایانی (گرم)	۳۰۱/۹۸±۳۷/۹۹	۳۴۴/۰۱±۴۱/۱۵	۳۸۴/۵۰±۴۲/۷۴	۴۲۷/۱۶±۲۴/۹۳

HIIT: تمرین تناوبی شدید، SD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، SD control: کنترل دریافت‌کننده SD، HFD control: کنترل دریافت‌کننده HFD.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، بین میانگین وزن بدن گروه‌های مورد مطالعه در ابتدای تحقیق، تفاوت معناداری وجود نداشت ($P=0/57$). بعد از ۱۲ هفته مداخله، میانگین وزن گروه‌های HIIT+HFD ($P<0/001$) و HIIT+SD ($P=0/001$) در مقایسه با گروه HFD control و همچنین در HIIT+HFD ($P=0/001$) در مقایسه با گروه SD control، به‌طور معناداری پایین‌تر بود. در مجموع، میزان افزایش وزن بدن موش‌ها در هفته ۱۲ نسبت به هفته اول، در گروه‌های SD control، HFD control، HIIT+SD، HIIT+HFD و به ترتیب ۱۳۳/۰۴، ۱۵۲/۳۰، ۱۱۰/۱۶ و ۹۴/۲۷ درصد بود.

اثر HIIT و HFD بر متابولیت‌های مسیر PP

بر اساس نتایج آزمون کروسکال-والیس در میزان گزیلوز (نمودار ۱ A، $P=0/78$)، ریبوز (نمودار ۱ B، $P=0/59$) و R5P (نمودار ۱ C، $P=0/57$) و همچنین بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، در میزان G6P (نمودار ۱ D، $P=0/12$) عضله دوقلو، بین گروه‌های مختلف تحقیق تفاوت معناداری مشاهده نشد.

آنالیز آماری داده‌ها

از آزمون شاپیرو-ویلک^۱ برای بررسی نرمال بودن توزیع تمامی داده‌ها و از آزمون لون^۲ برای بررسی فرض برابری واریانس‌ها استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها و برقراری فرض برابری واریانس‌ها، اطلاعات توصیفی به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد بیان شدند. با توجه به برقراری پیش‌فرض‌های مربوطه، برای آنالیز متغیرهای وزن بدن (مقادیر پایه)، مالات، اسیدسیتریک و G6P از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه^۳ (ANOVA) و جهت آنالیز نتایج وزن بدن پس از مداخله از آزمون‌های آنالیز کوواریانس یک‌طرفه^۴ (ANCOVA) و تعقیبی توکی^۵ استفاده شد. همچنین برای متغیرهایی که توزیع نرمال نداشتند (ریبوز^۶، گزیلوز^۷ و R5P) از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس^۸ بهره گرفته شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت و سطح معناداری $P<0/05$ در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار گراف‌پد پریسم^۹ نسخه نهم استفاده شد.

نتایج

اثر HIIT و HFD بر وزن بدن: در جدول یک اطلاعات مربوط به مقادیر وزن گروه‌های مختلف تحقیق آورده شده است.

¹ Shapiro-Wilk

² Levene

³ One-way analysis of variance

⁴ One-way analysis of covariance

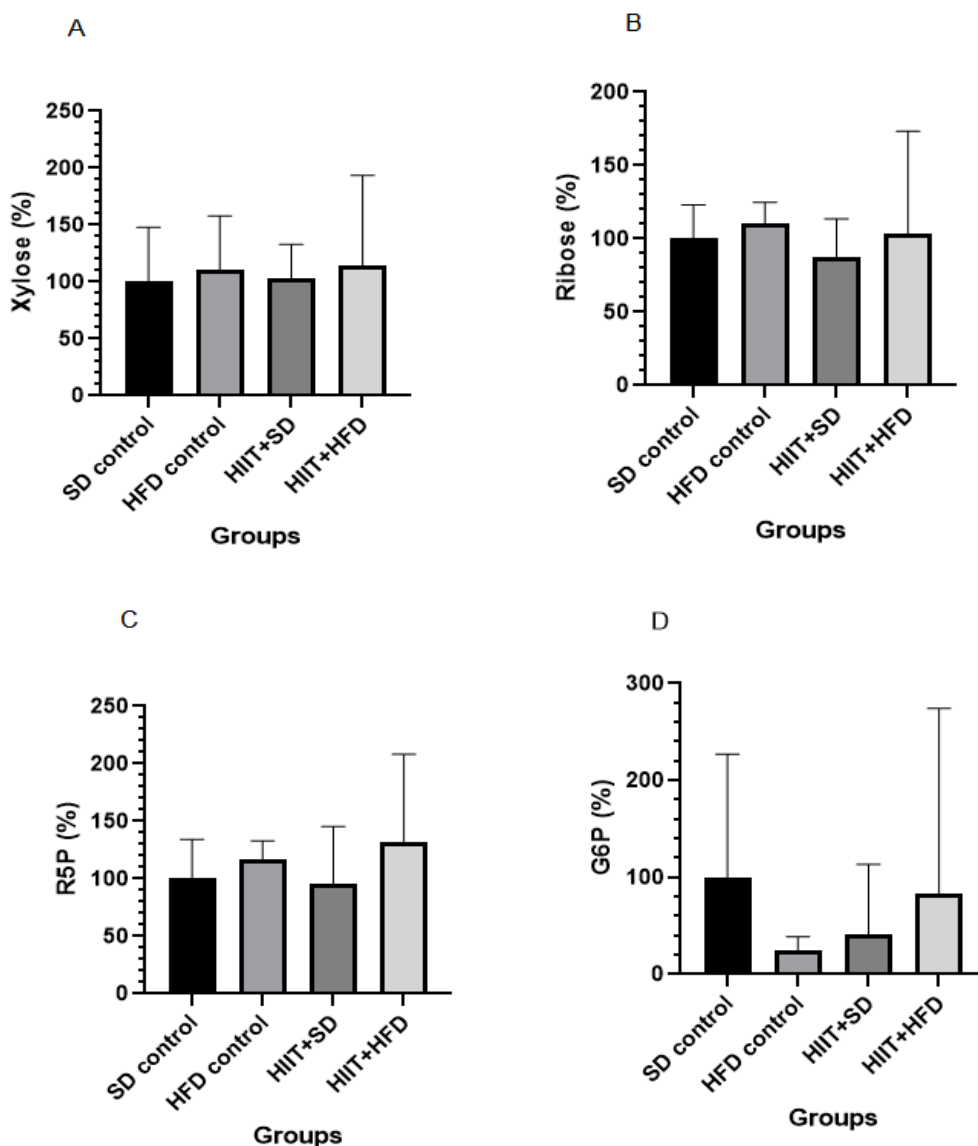
⁵ Tukey

⁶ Ribose

⁷ Xylose

⁸ Kruskal-Wallis

⁹ GraphPad prism

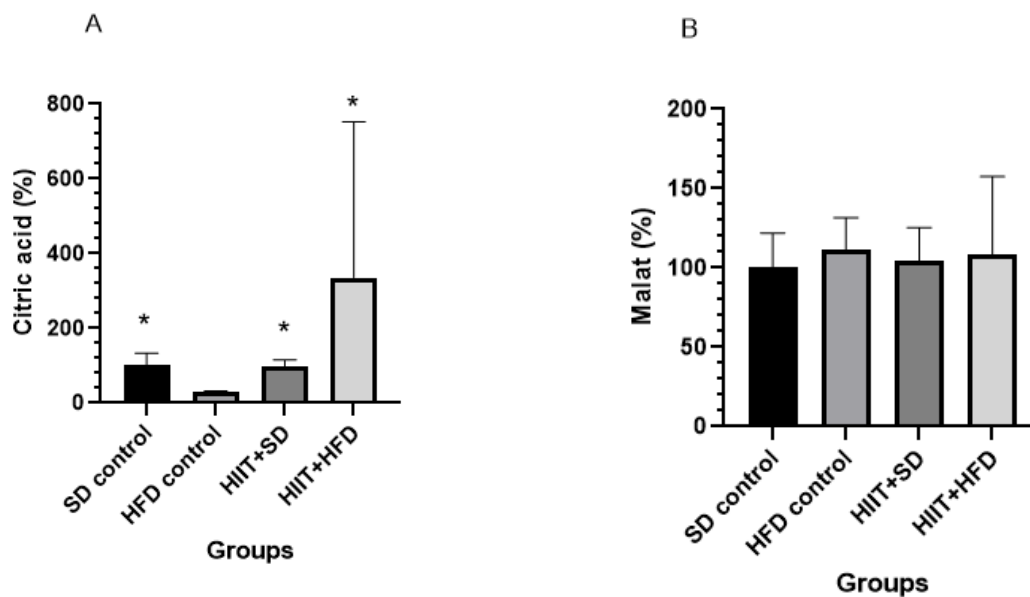


نمودار ۱. مقایسه تغییرات گزیلوز (A)، ریبوز (B)، ریبولوز ۵-فسفات (C) و گلوکز ۶-فسفات (D) پس از ۱۲ هفته مداخله در گروه‌های تحقیق. HIIT: تمرین تناوبی شدید، SD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، SD control: کنترل دریافت‌کننده SD، و HFD control: کنترل دریافت‌کننده HFD.

اثر HIIT و HFD بر متابولیت‌های چرخه TCA

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین میانگین میزان اسیدسیتریک عضله دوقلو در بین گروه‌های مداخله، تفاوت معناداری وجود دارد (نمودار ۲ A، $P = 0.02$). بر اساس نتایج آزمون توکی، میزان اسیدسیتریک در گروه HFD control نسبت به گروه SD control ($P = 0.001$) به‌طور معناداری پایین‌تر بود. همچنین، میزان این متغیر در گروه‌های HIIT+SD و HIIT+HFD نسبت به گروه HFD control به‌طور معناداری بالاتر بود

(به ترتیب $P = 0.002$ و $P < 0.001$). علاوه بر این، در میزان اسیدسیتریک گروه HIIT+HFD در مقایسه با گروه HIIT+SD ($P = 0.83$) و در گروه‌های HIIT+SD و SD control نسبت به گروه SD control (به ترتیب $P = 0.65$ و $P = 0.98$) تفاوت معناداری مشاهده نشد. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه مربوط به میزان ملات در عضله دوقلوی موش‌های صحرائی نیز نشان داد که بین میزان این متغیر در گروه‌های مداخله تفاوت معناداری وجود ندارد (نمودار ۲ B، $P = 0.07$).



نمودار ۲. مقایسه تغییرات میزان اسیدسیتریک (A) و مالات (B) پس از ۱۲ هفته مداخله در گروه‌های تحقیق. HIIT: تمرین تناوبی شدید، SD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، SD control: کنترل دریافت‌کننده SD، HFD control: کنترل دریافت‌کننده HFD، HIIT+SD: تفاوت معنادار ($P < 0.05$) با گروه HFD control، HIIT+HFD: تفاوت معنادار ($P < 0.05$) با گروه HFD control

کوهساکا^۲ و همکاران (۲۰۰۷)، شش هفته HFD موجب افزایش فعالیت حرکتی طی چرخه روشنایی به همراه تغییر هم‌زمان در ژن‌های درگیر در متابولیسم چربی می‌شود و این امر را عامل افزایش وزن موش‌ها در مطالعه خود مطرح کردند (۴۷). همان‌گونه که در گزارش نتایج مطالعه حاضر آمده است، در پایان ۱۲ هفته مداخله، گروه HFD control بالاترین میزان افزایش وزن را نشان داد و انجام HIIT، از میزان افزایش وزن در گروه HIIT+HFD نسبت به گروه HFD control کاست. در واقع افزایش انرژی مصرفی در گروه‌های تمرین، موجب کاهش شیب افزایش وزن بدن در موش‌ها شده است.

از یافته‌های دیگر این مطالعه، عدم وجود تفاوت در متغیرهای مسیر PP بود. گزارش شده است که فعالیت G6PD در گلبول‌های قرمز انسان پس از یک دوره تمرین شدید، تقریباً ۴۰ درصد کاهش یافت که احتمالاً به دلیل تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی است (۱۶). در یک مطالعه، تغییر بیان G6PD در عضله اسکلتی متعاقب شدت‌های مختلف تمرین مورد بررسی قرار گرفت و نشان

بحث

مطالعه حاضر به تجزیه و تحلیل متابولومیکی عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر پس از ۱۲ هفته دریافت HFD و SD و انجام HIIT پرداخت. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، بعد از ۱۲ هفته مداخله HFD و HIIT، میانگین وزن بدن موش‌های گروه HIIT+HFD نسبت به دیگر گروه‌ها به‌طور معناداری پایین‌تر بود. همچنین میزان اسیدسیتریک در گروه‌های HIIT+HFD و گروه HIIT+SD نسبت به گروه HFD control به‌طور معناداری بالاتر بود، اما بین میزان متابولیت‌های چرخه TCA و مسیر PP در بین گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. در مطالعه گروسارد^۱ و همکاران (۲۰۱۹)، انجام ۱۰ هفته HIIT، موجب کاهش معنادار وزن بدن موش‌ها شد (۴۰). همچنین در مطالعه خورسند ذاکر و همکاران (۲۰۲۲)، انجام ۱۰ هفته HIIT روی نوارگردان (با شدت ۹۰ درصد VO_{2max})، موجب پایین‌تر بودن وزن بدن در موش‌های گروه‌های HIIT و ترکیب HIIT با رژیم پروتئین در مقایسه با گروه‌های کنترل شد (۴۶). طبق گزارش

² Kohsaka

¹ Groussard

توسعه باکتری‌های چاقی و دیس‌بیوزیس و احتمال بروز تغییر در برخی آنزیم‌ها و مسیرهای تولید انرژی شود (۵۰). در تأیید این موضوع، در یک مطالعه مروری جی^۵ و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که مسیر PP از G6P منشعب می‌شود، NADPH و R5P تولید می‌کند و کربن‌ها را به مسیر گلیکولیتیک یا گلوکونوژنیک بازمی‌گرداند. همچنین ذکر شد که مسیر PP، یک تنظیم‌کننده اصلی برای هومئوستاز و بیوستتاز سلولی است. در گزارش آمده است که کاهش متابولیت‌ها و آنزیم‌های موجود در مسیر PP، نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت نوع ۲ و سرطان ایفا می‌کند (۸). در مطالعه حاضر HIIT تفاوت معناداری در متابولیت‌های مسیر PP ایجاد نکرد. با توجه به اینکه شدت و مدت تمرین عامل مهمی در اثرگذاری و سازگاری به مداخله‌هاست؛ بنابراین ناهم‌سویی در نتایج مطالعات مختلف دور از انتظار نیست. از این رو اثر مداخلات HFD و HIIT بر تغییر متابولیت‌های مسیر PP مبهم بوده و نیازمند بررسی بیشتر است. بر اساس نتایج مطالعه رومنس^۶ و همکاران (۲۰۲۰)، افزایش بیان G6PD در سلول‌های کبدی افراد دارای اضافه وزن/چاق، باعث تولید NADPH بیشتری برای لیپوزنز نوپدید^۷ (DNL) می‌شود که می‌تواند باعث استئاتوز کبدی و IR شود (۵۱). جالب توجه است که NADPH بیش از حد در کبد، از طریق خانواده NADPH اکسیداز^۸ (NOX) می‌تواند به فشار اکسایشی، آسیب کبدی و IR منجر شود (۸، ۵۲، ۵۳). در تحقیق حاضر، HIIT+HFD نتوانست تأثیر معناداری بر متغیرهای مسیر PP داشته باشد، لذا به نظر می‌رسد اگر تمرین ورزشی هم‌زمان با HFD انجام شود، این رژیم غذایی مانع ایجاد برخی سازگاری‌های مثبت ناشی از تمرین ورزشی می‌شود.

از نتایج دیگر مطالعه حاضر، پایین‌تر بودن میزان متابولیت اسیدسیتریک در گروه HFD control در مقایسه با گروه

داده شد که دویدن با شدت کم روی نوارگردان، باعث افزایش بیشتر بیان ژن G6P در عضله نعلی موش در مقایسه با دویدن بی‌هوازی می‌شود (۴۸). مدت‌زمان تمرین نیز عامل مهمی در فعال‌شدن G6PD در عضله اسکلتی است و همبستگی مستقیمی بین مدت‌زمان دویدن (در مدت ۳۰ یا ۹۰ دقیقه) و فعالیت G6PD در گروه‌های مختلف عضلانی در موش‌های تمرین‌نکرده گزارش شده است (۱۹). در مطالعه ساویکج^۱ و همکاران (۲۰۲۲)، مردان دیابتی به مدت دو هفته به انجام HIIT در دو زمان صبح یا بعدازظهر پرداختند. بر اساس نتایج حاصل، نیم‌رخ متابولیک و پروتئومیک^۲ متعاقب دو هفته تمرین، بدون تغییر باقی‌ماند. همچنین تمرین صبح و بعدازظهر به‌طور مشابه باعث افزایش دی‌آسیل گلیسرول‌های پلاسما، آسیل کارنیتین‌های عضله اسکلتی و اسفنگومیلین‌ها و لیزو فسفولیپیدهای بافت چربی زیرجلدی شد. علاوه‌براین، پس از تمرین صبح در مقایسه با تمرین بعدازظهر، کربوهیدرات‌های پلاسما افزایش (از طریق مسیر PP) و چربی‌های عضله اسکلتی کاهش یافت (۴۹). پلازا-دیاز^۳ و همکاران (۲۰۲۲) نیز کاهش فعالیت مسیر PP بافت روده موش‌های چاق ناشی از HFD را مشاهده کردند. محققان بیان کردند که دریافت طولانی‌مدت HFD، منجر به دیس‌بیوزیس روده^۴ (به‌هم‌خوردن تعادل میکروبیوتای روده) در حیوانات آزمایشگاهی (موش‌های صحرایی و سوری) و افزایش نفوذپذیری بافت روده و پاسخ‌های ایمنی موکوسی می‌شود و به بروز چاقی و التهاب مزمن کمک می‌کند. در نتیجه افزایش نفوذپذیری روده، لیپوبلی ساکارید به کبد، کلیه و قلب موش‌های چاق منتقل می‌شود. در نتیجه فشار اکسایشی و پراکسیداسیون لیپیدی القا می‌شود و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد؛ بنابراین دریافت HFD ممکن است به تغییر ساختار میکروبیوتای روده منجر شود و در نتیجه، باعث

⁵ Ge⁶ Roumans⁷ De novo lipogenesis⁸ NADPH oxidase¹ Savikj² Proteomic³ Plaza-Díaz⁴ Gut dysbiosis

التهاب و IR باشد (۵۹). تمرین ورزشی به‌ویژه HIIT، از طریق بهبود عملکرد عضلات اسکلتی و میتوکندریایی می‌تواند باعث افزایش واسطه‌های چرخه TCA (مانند اسیدسیتریک، اسید فوماریک و اسید سوکسینیک) شود (۶۰، ۶۱). با مقایسه بین دو نوع تمرین ورزشی شدید و وامانده‌ساز و تمرین استقامتی، مصرف انرژی با افزایش حجم و شدت تمرین افزایش می‌یابد و چرخه TCA برای تولید بیشتر ATP (همراه با افزایش قابل توجهی در میزان واسطه‌های چرخه TCA) فعال‌تر می‌شود (۶۱، ۶۲). با توجه به پیشینه اندکی که در زمینه بررسی متابولیسی این مسیر و ارتباط آن با IR و انجام تمرینات ورزشی وجود دارد، شناسایی نشانگرهای متابولیسی این مسیر و تغییرات آنها چالش‌برانگیز بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. در مجموع، مطالعه حاضر نشان داد که HIIT اثر افزایشی بر برخی واسطه‌های مسیر TCA داشته و میزان اسیدسیتریک به دنبال ۱۲ هفته HIIT افزایش یافت، درحالی‌که تغییر معناداری در میزان مالات مشاهده نشد. در مطالعه‌ای که توسط یوسف^۵ و همکاران (۲۰۲۳) انجام شد، ۱۲ هفته HIIT به همراه مکمل یاری سیترولین، تغییراتی در مسیرهای متابولیسی مردان چاق ایجاد کرد و در نهایت ۴۴ متابولیت شناسایی شدند که از میان آنها، متابولیت‌های مسیر TCA (مالات، فومارات، سوکسینات) به دلیل افزایش متابولیسم سلولی افزایش معناداری را نشان دادند. محققان نتیجه‌گیری کردند که HIIT به همراه مکمل سیترولین، ظرفیت عملکردی و جسمانی را نیز افزایش می‌دهد. از این رو، با افزایش میزان متابولیسم سلولی، متابولیت‌های این مسیر نیز احتمالاً افزایش می‌یابند (۶۳). طبق گزارش شرانر و همکاران (۲۰۲۰)، هیچ عاملی به اندازه یک تمرین شدید، نمی‌تواند سرعت واکنش‌های متابولیسی را تغییر دهد (۶۴) و در مطالعه حاضر نیز HIIT علی‌رغم دریافت HFD، باعث تولید سطوح بالاتر اسیدسیتریک، حتی بیش از مقادیر گروه SD control

SD control بود. همچنین میزان متابولیت اسیدسیتریک در گروه‌های HIIT+SD و HIIT+HFD در مقایسه با گروه HFD control بالاتر بود. محققان بیان کرده‌اند که مصرف HFD، سبب تجمع اسیدهای چرب در بدن می‌شود. سپس تحت فرایند بتا اکسیداسیون، اسیدهای چرب تجمع یافته، به استیل کوآنزیم تبدیل و وارد چرخه TCA می‌شوند (۵۴). از سویی دیگر، اسیدسیتریک یکی از اجزای مهم در چرخه TCA است. تغییر در میزان اسیدسیتریک بر سنتز استیل کوآ تأثیر می‌گذارد که به‌نوبه خود چرخه TCA را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵۵). در مطالعه زنگ^۱ و همکاران (۲۰۲۱)، پس از شش هفته دریافت HFD در موش‌های صحرایی، میزان اسیدسیتریک پلازما در گروه دریافت‌کننده HFD نسبت به گروه دریافت‌کننده SD کاهش یافت. کاهش میزان اسیدسیتریک می‌تواند به انسداد متابولیسم انرژی منجر شود و در نتیجه متابولیسم چربی افزایش یابد و باعث افزایش چربی خون^۲ شود (۵۶). در رابطه با اثر تمرین ورزشی بر افزایش متابولیسم و کاهش وزن بدن، مطالعه ماتوس^۳ و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که هشت هفته HIIT (شدت ۸۰-۱۱۰ درصد VO2peak) با بهبود محتوی و عملکرد میتوکندری در عضله اسکلتی، میزان IR را در افراد کاهش می‌دهد (۵۷). در یک مطالعه مروری گزارش شده است که دریافت HFD باعث کاهش اکسیداسیون FA در میتوکندری عضله اسکلتی و افزایش محتوای چربی، سایتوکین‌های پیش‌التهابی و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی در عضله اسکلتی می‌شود که این تغییرات، به اختلال در سیگنال‌دهی انسولین و بروز IR منجر می‌شود (۵۸). سرویدیو^۴ و همکاران (۲۰۰۸) نیز بیان کردند که اختلال چرخه TCA طی دوره IR، نشان‌دهنده افزایش قابل توجهی در رسوب الکترون در زنجیره تنفسی است که ممکن است عامل مهمی در ارتباط بین استرس اکسایشی،

¹ Zeng² Hyperlipidemia³ Matos⁴ Serviddio⁵ Youssef

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دکتری خانم منصوره کریمی، دانشجوی دکترای دانشگاه بیرجند است. بدین وسیله از تمام افرادی که در انجام این مطالعه همکاری داشته‌اند، به‌خصوص از کارشناسان محترم بیوشیمی مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، خانم‌ها لاله حقوقی‌راد و هدی قدکساز، برای انجام سنجش‌های آزمایشگاهی قدردانی می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

تمامی اقدامات انجام‌شده در این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه بیرجند با کد IR.BIRJAND.REC.1400.012 قرار گرفت.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

شد. البته مطالعه حاضر دارای یک محدودیت مهم بود، به‌گونه‌ای که میزان گلوکز و انسولین خون و نیز IR موش‌ها اندازه‌گیری نشد. در صورت سنجش متغیرهای مذکور در مطالعات آینده، می‌توان در خصوص تغییر متابولیت‌های اندازه‌گیری‌شده و ارتباط آنها در احتمال بروز IR در شرایط HFD و HIIT، با اطمینان بیشتری به بحث پرداخت.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد کاهش میزان اسیدسیتریک عضلانی به‌عنوان واسطه متابولیتی مهم چرخه TCA متعاقب دریافت ۱۲ هفته HFD، می‌تواند در تأمین انرژی عضلات اسکلتی از مسیر هوازی محدودیت ایجاد کند. با این وجود، انجام HIIT در شرایط دریافت HFD، به‌واسطه افزایش میزان اسیدسیتریک و کاهش شیب افزایش وزن بدن، می‌تواند عامل مهمی در کاهش اختلالات متابولیکی ناشی از دریافت HFD باشد.

منابع

1. Palmer ND, Stevens RD, Antinozzi PA, Anderson A, Bergman RN, Wagenknecht LE, et al. Metabolomic profile associated with insulin resistance and conversion to diabetes in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(3):E463-E8.
2. Goodacre R, Vaidyanathan S, Dunn WB, Harrigan GG, Kell DB. Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global metabolite data. *Trends in Biotechnology*. 2004;22(5):245-52.
3. Hameed A, Mojsak P, Buczynska A, Suleria HAR, Kretowski A, Ciborowski M. Altered metabolome of lipids and amino acids species: a source of early signature biomarkers of T2DM. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(7):2257.
4. Savolainen O, Fagerberg B, Vendelbo Lind M, Sandberg A-S, Ross AB, Bergström G. Biomarkers for predicting type 2 diabetes development—Can metabolomics improve on existing biomarkers? *PLoS One*. 2017;12(7):e0177738.
5. Wang-Sattler R, Yu Z, Herder C, Messias AC, Floegel A, He Y, et al. Novel biomarkers for pre-diabetes identified by metabolomics. *Molecular Systems Biology*. 2012;8(1):615.
6. Goetzman ES, Gong Z, Schiff M, Wang Y, Muzumdar RH. Metabolic pathways at the crossroads of diabetes and inborn errors. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2018;41:5-17.
7. Kim OY, Lee JH, Sweeney G. Metabolomic profiling as a useful tool for diagnosis and treatment of chronic disease: focus on obesity, diabetes and cardiovascular diseases. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2013;11(1):61-8.
8. Ge T, Yang J, Zhou S, Wang Y, Li Y, Tong X. The role of the pentose phosphate pathway in diabetes and cancer. *Frontiers in Endocrinology*. 2020;11:365.
9. Gaster M, Nehlin JO, Minet AD. Impaired TCA cycle flux in mitochondria in skeletal muscle from type 2 diabetic subjects: marker or maker of the diabetic phenotype? *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2012;118(3):156-89.
10. Cesari M, Kritchevsky SB, Baumgartner RN, Atkinson HH, Penninx BW, Lenchik L, et al. Sarcopenia, obesity, and inflammation—results from the trial of angiotensin converting enzyme inhibition and novel cardiovascular risk factors study—. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005;82(2):428-34.

11. Silva TJ, Barrera-Arellano D, Ribeiro APB. Margarines: Historical approach, technological aspects, nutritional profile, and global trends. *Food Research International*. 2021;147:110486.
12. Baghaiee B, Karimi P, Ebrahimi K. Effects of a 12-week aerobic exercise on markers of hypertension in men. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 2018;10(3):162.
13. Malesza IJ, Malesza M, Walkowiak J, Mussin N, Walkowiak D, Aringazina R, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells*. 2021;10(11):3164.
14. Kopp W. How western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2019;2221-36.
15. Dunmore SJ, Brown J. The role of adipokines in b-cell failure of type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology*. 2013;216(1): T37-T45.
16. García-Domínguez E, Carretero A, Viña-Almunia A, Domenech-Fernandez J, Olaso-Gonzalez G, Viña J, et al. Glucose 6-P dehydrogenase—an antioxidant enzyme with regulatory functions in skeletal muscle during exercise. *Cells*. 2022;11(19):3041.
17. Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2017;127(1):1-4.
18. Ghergurovich JM, García-Cañaveras JC, Wang J, Schmidt E, Zhang Z, TeSlaa T, et al. A small molecule G6PD inhibitor reveals immune dependence on pentose phosphate pathway. *Nature Chemical Biology*. 2020;16(7):731-9.
19. Schwane J, Armstrong R. Effect of training on skeletal muscle injury from downhill running in rats. *Journal of Applied Physiology*. 1983;55(3):969-75.
20. Boström S, Fahlen M, Hjalmarson Å, Johansson R. Activities of rat muscle enzymes after acute exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1974;90(3):544-54.
21. Katare PB, Dalmao-Fernandez A, Mengeste AM, Hamarsland H, Ellefsen S, Bakke HG, et al. Energy metabolism in skeletal muscle cells from donors with different body mass index. *Frontiers in Physiology*. 2022;13:982842.
22. Liu Y, Wang Y, Ni Y, Cheung CK, Lam KS, Wang Y, et al. Gut microbiome fermentation determines the efficacy of exercise for diabetes prevention. *Cell Metabolism*. 2020;31(1):77-91. e5.
23. Satapati S, Sunny NE, Kucejova B, Fu X, He TT, Méndez-Lucas A, et al. Elevated TCA cycle function in the pathology of diet-induced hepatic insulin resistance and fatty liver [S]. *Journal of Lipid Research*. 2012;53(6):1080-92.
24. Krebs H. Rate control of the tricarboxylic acid cycle. *Advances in Enzyme Regulation*. 1970;8:335-53.
25. McGarry J, Foster D. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Annual Review of Biochemistry*. 1980;49(1):395-420.
26. Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin C-T, et al. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *The Journal of Clinical Investigation*. 2009;119(3):573-81.
27. Nezamdoost Z, Saghebjo M, Hoshyar R, Hedayati M, Keska A. High-Intensity Training and Saffron: Effects on Breast Cancer-related Gene Expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2020;52(7):1470-6.
28. Akbari, A., H. Mohebbi, and E. Tabari, The effects of high fat diet-induced obesity and interval and continue exercise training on visceral fat SIRT1 and insulin resistance in male rats. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders*, 2020. 19(2): 93-102.
29. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *Journal of Applied Physiology*. 2011;111(6):1554-60.
30. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Medicine and Health Science*. 2019;1(1):24-32.
31. Khalafi M, Mohebbi H, Symonds ME, Karimi P, Akbari A, Tabari E, et al. The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. *Nutrients*. 2020;12(4):925.
32. Khalafi M, Symonds ME. The impact of high-intensity interval training on inflammatory markers in metabolic disorders: A meta-analysis. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2020;30(11):2020-36.
33. Wu LH, Chang SC, Fu TC, Huang CH, Wang JS. High-intensity interval training improves mitochondrial function and suppresses thrombin generation in platelets undergoing hypoxic stress. *Scientific Reports*. 2017;7(1):4191.
34. Honardoost M, Sarookhani M, Arefian E. Molecular mechanism of insulin resistance. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 2014;18(5):57-64.
35. St Aubin CR, Fisher AL, Hernandez JA, Broderick TL, Al-Nakkash L. Mitigation of MAFLD in high fat-high sucrose-fructose fed mice by a combination of genistein consumption and exercise training. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*. 2022:2157-72.
36. Valsdottir TD, Øvrebø B, Falck TM, Litlekare S, Johansen EI, Henriksen C, et al.

- Low-carbohydrate high-fat diet and exercise: Effect of a 10-week intervention on body composition and CVD risk factors in overweight and obese women—A randomized controlled trial. *Nutrients*. 2020;13(1):110.
37. Pirman T, Lenardič A, Nemeč Svetla A, Horvat S. Supplementation with Your iron syrup corrects iron status in a mouse model of diet-induced iron deficiency. *Biology*. 2021;10(5):357.
 38. Gopalan V, Yaligar J, Michael N, Kaur K, Anantharaj R, Verma SK, et al. A 12-week aerobic exercise intervention results in improved metabolic function and lower adipose tissue and ectopic fat in high-fat diet fed rats. *Bioscience Reports*. 2021;41(1):BSR20201707.
 39. Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral effects of continuous endurance training and high intensity interval training on genes expression of miR-21 and bcl-2 in breast cancer bearing female mice. *Iranian Journal of Breast Diseases*. 2017;10(2):49-57.
 40. Groussard C, Maillard F, Vazeille E, Barnich N, Sirvent P, Otero YF, et al. Tissue-specific oxidative stress modulation by exercise: A comparison between MICT and HIIT in an obese rat model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019.
 41. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2007;14(6):753-60.
 42. Maherinia H, Peeri M, Azarbayjani M, Delfan M. Aerobic exercise training combined with probiotic supplement improves antioxidant defence of cardiomyocytes by regulating Nrf2 and caspase3 gene expression in type 2 diabetic rats. *Comparative Exercise Physiology*. 2022;18(3):255-63.
 43. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific Reports*. 2017;7(1):204.
 44. Batista Jr M, Rosa J, Lopes R, Lira F, Martins Jr E, Yamashita A, et al. Exercise training changes IL-10/TNF- α ratio in the skeletal muscle of post-MI rats. *Cytokine*. 2010;49(1):102-8.
 45. Capalonga L, Karsten M, Hentschke VS, Rossato DD, Dornelles MP, Sonza A, et al. Light-emitting diode therapy (LEDT) improves functional capacity in rats with heart failure. *Lasers in Medical Science*. 2016;31:937-44.
 46. Zaker BSK, Saghebjo M, Islami F. Effectiveness of high-intensity interval training and high-protein diet on TNF- α protein level in colon tissue of obese male rats: The importance of diet modifying. *Obesity Medicine*. 2022;31:100403.
 47. Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, et al. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metabolism*. 2007;6(5):414-21.
 48. Farenia R, Lesmana R, Uchida K, Iwasaki T, Koibuchi N, Shimokawa N. Changes in biomarker levels and myofiber constitution in rat soleus muscle at different exercise intensities. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2019;458:79-87.
 49. Savikj M, Stocks B, Sato S, Caidahl K, Krook A, Deshmukh AS, et al. Exercise timing influences multi-tissue metabolome and skeletal muscle proteome profiles in type 2 diabetic patients—A randomized crossover trial. *Metabolism*. 2022;135:155268.
 50. Plaza-Díaz J, Manzano M, Ruiz-Ojeda FJ, Giron MD, Salto R, López-Pedrosa JM, et al. Intake of slow-digesting carbohydrates is related to changes in the microbiome and its functional pathways in growing rats with obesity induced by diet. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:992682.
 51. Roumans KH, Lindeboom L, Veeraiah P, Remie CM, Phielix E, Havekes FB, et al. Hepatic saturated fatty acid fraction is associated with de novo lipogenesis and hepatic insulin resistance. *Nature Communications*. 2020;11(1):1891.
 52. Matikainen N, Adiels M, Söderlund S, Stennabb S, Ahola T, Hakkarainen A, et al. Hepatic lipogenesis and a marker of hepatic lipid oxidation, predict postprandial responses of triglyceride-rich lipoproteins. *Obesity*. 2014;22(8):1854-9.
 53. Lambert JE, Ramos-Roman MA, Browning JD, Parks EJ. Increased de novo lipogenesis is a distinct characteristic of individuals with nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2014;146(3):726-35.
 54. Pietrocola F, Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Madeo F, Kroemer G. Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. *Cell Metabolism*. 2015;21(6):805-21.
 55. Akram M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2014;68(3):475-8.
 56. Zeng L, Luo L, Xue Q, He Q, Chen X, Meng J, et al. LC-MS based plasma metabolomics study of the intervention effect of different polar parts of Hawthorn on hyperlipidemia rats. *Journal of Separation Science*. 2021;44(5):963-72.
 57. Matos MAD, Vieira DV, Pinhal KC, Lopes JF, Dias-Peixoto MF, Pauli JR, et al. High-intensity interval training improves markers of oxidative metabolism in skeletal muscle of individuals with obesity and insulin resistance. *Frontiers in Physiology*. 2018;9:1451.
 58. Gilbert M. Role of skeletal muscle lipids in the pathogenesis of insulin resistance of obesity and type 2 diabetes. *Journal of*

- Diabetes Investigation. 2021;12(11):1934-41.
59. Serviddio G, Bellanti F, Tamborra R, Rollo T, Capitanio N, Romano AD, et al. Uncoupling protein-2 (UCP2) induces mitochondrial proton leak and increases susceptibility of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) liver to ischaemia-reperfusion injury. *Gut*. 2008;57(7):957-65.
60. Pataky MW, Kumar AP, Gaul DA, Moore SG, Dasari S, Robinson MM, et al. Divergent Skeletal Muscle Metabolomic Signatures of Different Exercise Training Modes Independently Predict Cardiometabolic Risk Factors. *Diabetes*. 2023;db230142.
61. Zhou W, Zeng G, Lyu C, Kou F, Zhang S, Wei H. The effect of exhaustive exercise on plasma metabolic profiles of male and female rats. *Journal of Sports Science & Medicine*. 2019;18(2):253.
62. Peake JM, Tan SJ, Markworth JF, Broadbent JA, Skinner TL, Cameron-Smith D. Metabolic and hormonal responses to isoenergetic high-intensity interval exercise and continuous moderate-intensity exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014;307(7):E539-E52.
63. Youssef L, Durand S, Aprahamian F, Lefevre D, Bourgin M, Maiuri MC, et al. Serum metabolomic adaptations following a 12-week High-Intensity Interval Training combined to citrulline supplementation in obese older adults. *European Journal of Sport Science*. 2023;1-13.
64. Schraner D, Kastenmüller G, Schönfelder M, Römisch-Margl W, Wackerhage H. Metabolite concentration changes in humans after a bout of exercise: a systematic review of exercise metabolomics studies. *Sports Medicine-Open*. 2020;6:1-17.