



Original Article

## The Impact of High-Intensity Interval Training Combined with Alternate Day Fasting on PGC-1 $\alpha$ and UCP-1 Protein Levels in Visceral Adipose Tissue of Rats Fed a High-Fat and High-Carbohydrate Diet

Hasan Ali Hosein Al-Moslehi<sup>1</sup>, Mousa Khalafi<sup>1</sup> , Aref Habibi Maleki<sup>2</sup>

1. Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, University of Kashan, Kashan, Iran

2. Physiology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Received: 15/09/2024, Revised: 01/12/2024, Accepted: 10/02/2024**

\* Corresponding Author: M. Khalafi, E-mail: [mousa.khalafi@kashanu.ac.ir](mailto:mousa.khalafi@kashanu.ac.ir) Tel: +98-9145843996

**How to Cite:** Ali Hosein Al-Moslehi, H; Khalafi, M; Habibi Maleki, A. (2024). The Impact of High-Intensity Interval Training Combined with Alternate Day Fasting on PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 Protein Levels in Visceral Adipose Tissue of Rats Fed with a High-Fat and High-Carbohydrate Diet. *Sport Shysiology*, 16(61), 135-152. In Persian.

### Abstract

Nutritional and exercise training interventions are key strategies for combating and treating obesity. This study aimed to investigate the effects of High-Intensity Interval Training (HIIT) and Alternate Day Fasting (ADF) on the protein levels related to the browning of visceral adipose tissue in rats fed a high-fat and high-carbohydrate diet (HFD+HC). This experimental research employed a post-test design with a control group. Forty male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to five groups of eight: 1) Normal Diet (ND), 2) HFD+HC, 3) HFD+HC+HIIT, 4) HFD+HC+ADF, and 5) HFD+HC+HIIT+ADF. The HIIT group underwent five sessions per week, each consisting of seven four-minute intervals at 85-90% of their maximum speed ( $S_{max}$ ), with two-minute rest intervals at 50%  $S_{max}$ . Alternate Day Fasting (ADF) was implemented every other day. Protein levels of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 in adipose tissue was evaluated using Western blot analysis. Data analysis was performed using independent t-tests, ANOVA, and the Tukey post hoc test. The HFD+HC group showed a significant increase in body weight. Protein levels of PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 significantly decreased in the HFD+HC group ( $p < 0.05$ ). In the HIIT, ADF, and HIIT+ADF groups, a significant weight loss was observed. In the HIIT and HIIT+ADF groups, PGC-1 $\alpha$  levels significantly increased ( $p < 0.05$ ). However, no significant differences were observed in UCP-1 levels across the intervention groups ( $p > 0.05$ ). In summary, HFD+HC leads to weight gain. Conversely, HIIT, ADF, and especially the combination of HIIT+ADF, not only reduce weight but also increase PGC-1 $\alpha$  protein levels, likely linked to mitochondrial biogenesis and enhanced lipolysis.

**Keywords:** Obesity, Diet, High-Intensity Interval Training, Fasting.



## Abstract

### Background and Purpose

The epidemic of overweight and obesity in both developing and developed countries is staggering in its scope and impact on public health (1). A sedentary lifestyle, coupled with the consumption of high-calorie foods—particularly those rich in fats and carbohydrates—has played a significant role in the sharp rise in obesity prevalence. This condition is linked to an elevated risk of various metabolic diseases, including type 2 diabetes, cardiovascular diseases, cognitive disorders, certain cancers, and consequently, higher mortality (2). In general, obesity is characterized by an excessive accumulation of adipose tissue in various parts of the body. However, fat accumulation, particularly in visceral areas, is more closely associated with adverse metabolic and cardiovascular outcomes (3).

Histologically, humans have two types of adipose tissue: white adipose tissue (WAT) and brown adipose tissue (BAT). WAT primarily functions as an energy-storing tissue, while BAT acts as an energy-consuming tissue. As a result, enhancing BAT function and promoting the "browning" of WAT have become strategies to increase energy expenditure and prevent weight gain (4). In this context, PGC-1 $\alpha$  expression in white adipocytes has been shown to upregulate the expression of several mitochondrial and thermogenic genes, including UCP-1. As a result, it is widely accepted that PGC-1 $\alpha$  is crucial for the differentiation of brown adipocytes and for the expression of the UCP-1 gene (5).

One factor that contributes to the conversion of WAT phenotypes to brown or beige adipose tissue is exercise. In addition to exercise, calorie restriction is another effective preventive and therapeutic strategy for reducing fat stores. Therefore, this study aims to investigate the effects of HIIT and ADF on the browning of visceral adipose tissue, with a particular focus on changes in UCP-1 and PGC-1 $\alpha$  protein levels in rats fed a HFD+HC.

### Materials and Methods

Forty male Sprague-Dawley rats, aged eight weeks and weighing  $180 \pm 20$  g, were acquired from the Pasteur Institute of Iran. The rats were randomly divided into five groups of eight: 1) standard diet (ND), 2) high-fat and high-carbohydrate diet (HFD+HC), 3) HFD+HC with high-intensity interval training (HFD+HC+HIIT), 4) HFD+HC with intermittent fasting (HFD+HC+ADF), and 5) HFD+HC with both HIIT and ADF (HFD+HC+HIIT+ADF).

The HIIT groups exercised on a treadmill five days per week for 12 weeks. During the intervention, ADF groups had access to food and water every other day while being fed a high-fat diet consisting of 60% energy from fat, 20% from protein, and 20% from carbohydrates, along with a 10% fructose drink (6). The ND group was fed a diet consisting of 10% energy from fat, 70% from carbohydrates, and 20% from protein.

Samples were collected 48 hours after the final exercise session, and Western blotting was used to measure PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 protein levels. A p-value of  $<0.05$  was deemed statistically significant. Data were analyzed using independent t-tests and one-way ANOVA, followed by Tukey's post hoc test.

### Findings

HFD+HC resulted in a significant increase in rat body weight compared to the standard diet ( $p = 0.001$ ). In contrast, HIIT, ADF, and HIIT+ADF led to a significant weight reduction compared to HFD+HC ( $p = 0.001$ ). Additionally, a significant difference in body weight was observed between the HIIT and HIIT+ADF groups ( $p = 0.044$ ), while no significant difference was found between the

ADF and HIIT+ADF groups ( $p < 0.05$ ). The HFD+HC diet significantly decreased UCP-1 protein levels in visceral adipose tissue compared to ND ( $p = 0.002$ ). However, HIIT, ADF, and HIIT+ADF resulted in non-significant increases in UCP-1 levels compared to HFD+HC ( $p < 0.05$ ). Furthermore, obesity induced by the HFD+HC diet caused a significant decrease in PGC-1 $\alpha$  protein levels in visceral adipose tissue compared to the ND group ( $p = 0.004$ ). Conversely, HIIT and HIIT+ADF were associated with significant increases in PGC-1 $\alpha$  levels compared to HFD+HC ( $p = 0.01$  and  $p = 0.003$ , respectively).

### **Conclusion**

Obesity (HFD+HC) can decrease UCP-1 protein levels in the visceral adipose tissue of rats. In contrast, HIIT, ADF, and their combination (HIIT+ADF) increase these protein levels. Although the increase was not statistically significant, the most substantial improvement was seen in the HIIT+ADF group, indicating a synergistic effect.

Additionally, HFD+HC reduced PGC-1 $\alpha$  protein levels in visceral adipose tissue, while HIIT and HIIT+ADF training increased PGC-1 $\alpha$  levels. The increase in the ADF group was not statistically significant. Overall, HIIT, especially when combined with ADF, appears to enhance PGC-1 $\alpha$  levels, potentially counteracting the negative effects of HFD+HC-induced obesity. Thus, combining ADF and HIIT may provide effective strategies to reduce adipogenesis and enhance lipolysis. However, more research is required to explore the relationship between PGC-1 $\alpha$  levels and adipose tissue browning under HFD+HC conditions.

### **Article Message**

Our study provides evidence that obesity induced by HFD+HC downregulates UCP-1 and PGC-1 $\alpha$  protein levels in visceral adipose tissue. We found that HIIT, ADF, and especially HIIT+ADF can effectively upregulate and maintain these proteins. These interventions not only promote weight loss but may also enhance metabolic health by increasing lipolysis and promoting adipocyte browning, potentially protecting against metabolic dysfunction caused by HFD+HC.

### **Ethical Considerations**

#### **Compliance with ethical guidelines**

Ethical considerations were adhered to in accordance with the guidelines set forth by the ethical committee of the University of Tehran. **Funding**

This research received no funding from government, commercial, or non-profit organizations.

#### **Authors' Contributions**

All authors contributed to the design, execution, and writing of all sections of this study.

#### **Conflict of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

#### **Acknowledgement**

This research is based on a master's thesis in Exercise Physiology at Kashan University. We sincerely thank everyone who assisted us in conducting this research.



نوع مقاله: پژوهشی

## تأثیر ترکیب تمرین تناوبی با شدت بالا و روزه‌داری متناوب بر مقادیر پروتئینی PGC-1 $\alpha$ و UCP-1 بافت چربی احشایی رت‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات

حسن علی حسین المصلحی<sup>۱</sup>، موسی خلفی<sup>۱</sup>، عارف حبیبی ملکی<sup>۲</sup>

۱. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان ایران

۲. گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه کاشان، کاشان ایران

۳. مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵، تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۰

\* Corresponding Author: M. Khalafi, Tel: +98-9145843996, E-mail: [mousa.khalafi@kashanu.ac.ir](mailto:mousa.khalafi@kashanu.ac.ir)

**How to Cite:** Ali Hosein Al-Moslehi, H; Khalafi, M; Habibi Maleki, A. (2024). The Impact of High-Intensity Interval Training Combined with Alternate Day Fasting on PGC-1 $\alpha$  and UCP-1 Protein Levels in Visceral Adipose Tissue of Rats Fed with a High-Fat and High-Carbohydrate Diet. *Sport Physiology*, 16(61), 135-152. In Persian.

### چکیده

**اهداف:** مداخلات تغذیه‌ای و فعالیت ورزشی از راهبردهای اصلی مقابله و درمان چاقی هستند. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و روزه‌داری متناوب (ADF) بر مقادیر پروتئین‌های مرتبط با قهوه‌ای شدن بافت چربی احشایی رت‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (HFD+HC) انجام شد. **مواد و روش‌ها:** پژوهش حاضر از نوع تجربی و با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل بود. بدین منظور، ۴۰ سر رت نر اسپرگ-داولی به‌طور تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: (۱) رژیم غذایی استاندارد (ND)، (۲) HFD+HC، (۳) HIIT+HFD+HC، (۴) HFD+HC+ADF و (۵) HFD+HC+HIIT+ADF. رت‌های HIIT پنج روز در هفته و در هفت تناوب چهار دقیقه‌ای با ۸۵-۹۰ درصد حداکثر سرعت (Smax) و تناوب‌های استراحتی دو دقیقه‌ای با ۵۰ درصد Smax دویند. ADF به‌صورت یک روز در میان انجام می‌شد. مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 بافت چربی با تکنیک وسترن بلات ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل، ANOVA و آزمون توکی استفاده شد. **یافته‌ها:** رژیم HFD+HC منجر به افزایش معنی‌دار وزن شد. مقادیر پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$  و UCP-1 در گروه HFD+HC کاهش معنی‌داری یافت ( $P < 0.05$ ). در گروه‌های HIIT+ADF و ADF، HIIT+ADF وزن کاهش معنی‌داری داشت. در گروه‌های HIIT و HIIT+ADF مقادیر پروتئینی PGC-1 $\alpha$  افزایش معنی‌داری یافت ( $P < 0.05$ ). با این حال، مقادیر پروتئینی UCP-1 تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های HIIT+ADF و HFD+HC نداشت ( $P > 0.05$ ). **نتیجه‌گیری:** رژیم HFD+HC منجر به افزایش وزن می‌شود. در مقابل، HIIT، HIIT+ADF و به‌ویژه HIIT+ADF علاوه بر کاهش وزن، منجر به افزایش مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  می‌شوند که احتمالاً با بیوزنز میتوکندریایی و افزایش لیپولیز همراه است.

**واژگان کلیدی:** چاقی، رژیم غذایی، تمرین اینتروال پرشدت، روزه‌داری.



## مقدمه

اپیدمی اضافه‌وزن و چاقی در کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته از نظر وسعت و تأثیر بر سلامت عمومی بسیار چشمگیر است (۱). در این راستا، سبک زندگی کم‌تحرک و مصرف مواد غذایی پرکالری (به‌ویژه پرچرب و پرکربوهیدرات) باعث افزایش شدید شیوع چاقی شده است. این شرایط با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیکی گوناگون مانند دیابت نوع دو، بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات شناختی، برخی سرطان‌ها و در نتیجه مرگ و میر مرتبط است (۲). به‌طور کلی، چاقی با تجمع مفرط بافت چربی در نواحی مختلف بدن شناخته می‌شود. با این حال، تجمع چربی به‌خصوص در نواحی احشایی بیشتر با پیامدهای متابولیکی و قلبی عروقی همراه است (۳).

از لحاظ بافت‌شناسی، دو نوع بافت چربی در انسان وجود دارد: بافت چربی سفید (WAT) <sup>۱</sup> و بافت چربی قهوه‌ای (BAT) <sup>۲</sup>. به‌طور کلی، WAT سلول‌های ذخیره‌کننده انرژی هستند و BAT سلول‌های مصرف‌کننده انرژی. BAT دارای شبکه عروقی و میتوکندری فراوانی است که باعث می‌شود این بافت به رنگ قهوه‌ای دیده شود. مهم‌ترین عملکرد BAT تولید گرمای سازشی و گرمایی غیرلرزشی در پاسخ به محرک‌هایی مانند تحریک بتا آدرنرژیک، سرما، مصرف غذا و موارد دیگر است (۴). به‌همین دلیل، در سال‌های اخیر، ارتقاء عملکرد بافت چربی قهوه‌ای و «قهوه‌ای شدن» بافت چربی سفید به عنوان هدفی برای افزایش هزینه انرژی و جبران افزایش وزن مد نظر قرار گرفته است (۵). همچنین، در سال‌های اخیر، آدیپوسیت‌های بزرگ <sup>۳</sup> (یا برایت) شناسایی شده‌اند که دارای مشخصه‌های بینابینی آدیپوسیت سفید و قهوه‌ای هستند. این سلول‌ها دارای ویژگی‌های فنوتیپی و بیان ژن ترموزنیک قابل مقایسه با BAT هستند، اما در WAT قرار دارند (۶). سلول‌های چربی بزرگ برای متابولیسم مفید هستند و خطر چاقی و دیابت را کاهش می‌دهند (۷). همچنین، قهوه‌ای شدن WAT به بافت بزرگ، که پتانسیل چربی‌سوزی بالاتری دارد، می‌تواند برای درمان چاقی کمک‌کننده باشد (۷، ۸). سازوکارهایی که در قهوه‌ای شدن WAT به بافت بزرگ نقش دارند، عمدتاً از طریق تحریک نورآدرنالین و آدرنالین رخ می‌دهند که پس از اتصال به گیرنده‌های مختلف آدرنالین بر لیپولیز تأثیر می‌گذارند (۸). این عملکرد همچنین از طریق افزایش تعداد میتوکندری و پروتئین جفت‌نشده ۱ (UCP-1) <sup>۴</sup> که در دیواره داخلی میتوکندری قرار دارد، انجام می‌شود. (۴). UCP-1 مسئول آزادسازی انرژی به شکل گرما است و با فعال کردن BAT به افزایش برداشت گلوکز و لیپیدها کمک می‌کند (۴). علاوه بر این، گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما هم-فعال‌ساز ۱-آلفا (PGC-1 $\alpha$ ) <sup>۵</sup> به‌عنوان یک پروتئین مداخله‌گر PPAR $\gamma$  شناخته می‌شود و در بیوزن میتوکندری نقش دارد (۹). نشان داده شده است که بیان PGC-1 $\alpha$  در آدیپوسیت‌های سفید باعث تنظیم‌افزایشی بیان برخی ژن‌های میتوکندریایی و ترموزنی از جمله UCP-1 می‌شود، بنابراین به‌طور کلی پذیرفته شده است که PGC-1 $\alpha$  برای تمایز آدیپوسیت‌های قهوه‌ای و نیز بیان ژن UCP-1 ضروری است (۱۰).

1. white adipose tissue
2. Brown adipose tissue
3. beige adipocytes
4. Uncoupling protein 1
5. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 $\alpha$ )

بر اساس مطالعات پیشین، یکی از عواملی که در تغییر فنوتیپ‌های WAT به بافت چربی BAT یا بژ نقش دارد، تمرینات ورزشی می‌باشد که از طریق افزایش ظرفیت گرمایی منجر به کاهش وزن و بهبود مقاومت انسولین می‌گردند (۱۱-۱۳). بنابراین، تمرینات ورزشی نه تنها منجر به افزایش هزینه انرژی در حین فعالیت ورزشی و پس از آن برای مقابله با تجمع WAT می‌شود بلکه تغییر فنوتیپ بافت چربی در نتیجه تمرینات ورزشی می‌تواند به عنوان مکانیسم مهم دیگری در افزایش هزینه انرژی نقش موثری در این روند داشته باشد (۱۴، ۱۵). در این راستا، خلفی و همکاران (۲۰۲۰) با مقایسه تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)<sup>۲</sup> بر بیومارکرهای تمایز آدیپوسیتی و قهوه‌ای شدن WAT در رت‌های نر چاق نشان دادند هر دو نوع تمرین باعث قهوه‌ای شدن بافت چربی می‌شوند. با این حال، این سازگاری در HIIT میزان قابل توجهی بیشتر از MICT بود (۱۶).

موتاز<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نیز با بررسی تأثیر تمرین HIIT بر تشکیل سلول‌های چربی بژ در بافت چربی زیرپوستی در موش‌هایی که از رژیم غذایی پرکربوهیدرات تغذیه می‌کردند، نشان دادند که HIIT ممکن است قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی را در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرکربوهیدرات تحریک کند و منجر به بهبود متابولیک کل بدن شود (۱۷). امروزه ارزش بالقوه تمرینات HIIT در زمینه توسعه سلامتی و آمادگی و حتی در شرایط بیماری نیز درک شده است (۱۸). به علاوه، مطالعات نشان داده‌اند تمرینات HIIT در مدت زمان کوتاه‌تر و به صورت کارآمدتری موجب دستیابی به آثار مفید مشابهی در مقایسه با تمرینات تداومی می‌شوند (۱۹).

علاوه بر تمرینات ورزشی، یکی دیگر از راهبردهای پیشگیری و درمان، محدودیت کالری دریافتی (CR)<sup>۴</sup> است که در کاهش ذخایر چربی موثر است (۱۹-۲۱). اگرچه CR (کاهش حدود ۵۰۰ تا ۷۵۰ کیلوکالری انرژی دریافتی روزانه یا ۳۰ درصد از نیازهای انرژی اولیه) رویکردی است که برای درمان چاقی به همراه مداخله سبک زندگی توصیه می‌شود (۲۲)؛ با این حال، این رویکرد کاهش وزن متوسطی را ایجاد می‌کند (۵ تا ۱۰ درصد برای کمتر از یک سال) و پایبندی به آن کم است (۲۱). بنابراین، شناسایی استراتژی‌های کاهش وزن در رژیم غذایی افزایش یافته است. در این راستا، روزه‌داری متناوب (IF)<sup>۵</sup> مانند تغذیه با محدودیت زمانی (TRE)<sup>۶</sup>، رژیم تقلید روزه‌داری (FMD)<sup>۷</sup> و روزه‌داری به صورت یک روز در میان (ADF)<sup>۸</sup> استراتژی‌های تغذیه‌ای خوبی برای کنترل وزن بدن و بهبود سلامت متابولیک هستند (۲۳، ۲۴). IF بر متابولیسم انرژی تأثیر می‌گذارد و با کاهش چربی بدن، به‌ویژه ذخایر احشایی، باعث کاهش وزن می‌شود (۵). به‌علاوه، نشان داده شده است که ADF در مقایسه با CR رویکردی مطمئن‌تر و قابل تحمل برای کاهش وزن است (۲۱، ۲۵، ۲۶). مارینیو و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داده‌اند که IF با قهوه‌ای شدن آدیپوسیت‌های زیرپوستی (۲۴ ساعت تغذیه / ۲۴ ساعت ناشتایی) همراه است (۵).

1. High-intensity interval training
2. Moderate- intensity continuous training
3. Motta
4. calorie-intake restriction
5. intermittent fasting
6. Time-restricted eating
7. Fasting mimicking diet
8. Alternate day fasting

بنابراین، علاوه بر اهمیت اثرگذاری تمرینات ورزشی و IF بر کاهش WAT، توجه به اثرگذاری آن‌ها بر روی BAT نیز حائز اهمیت است. مطالعات نشان داده‌اند که قهوه‌ای شدن WAT از موش‌ها در برابر اختلالات متابولیک محافظت می‌کند و امکان رویکردهای درمانی جدید برای درمان چاقی و دیابت نوع دو را نشان می‌دهد (۸، ۱۲). همچنین، اثر ترکیبی تمرینات ورزشی و IF احتمالاً بتواند اثر فزاینده‌ای بر قهوه‌ای شدن WAT و کاهش خطرات چاقی داشته باشد (۲۷).

با توجه به پیشینه پژوهش حاضر، هر دوی این روش‌ها (HIIT و IF) علاوه بر کنترل چاقی، محرک‌هایی اثرگذار بر قهوه‌ای شدن WAT هستند که هدف درمانی بالقوه‌ای برای بیماری‌های متابولیک می‌باشند. از آنجایی که مطالعات در رابطه با IF بر قهوه‌ای شدن WAT محدود است و همچنین مطالعه‌ای اثر هم‌افزایی تمرین HIIT به همراه ADF را مورد بررسی قرار نداده است، پژوهش حاضر در نظر دارد تأثیر تمرین HIIT و ADF بر قهوه‌ای شدن بافت چربی احشایی را با تمرکز بر تغییرات مقادیر پروتئینی UCP-1 و PGC-1 $\alpha$  رت‌های تحت تغذیه با HFD+HC بررسی کند.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل است. پس از تأیید این پژوهش توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش (IR.U.T.SPORT.REC.1403.021)، ۴۰ سر رت نر نژاد اسپراگ داوولی هشت هفته‌ای با محدوده وزنی  $180 \pm 20$  گرم از انستیتو پاستور ایران، تهران خریداری شد. رت‌ها در قفس‌های پلی‌کربنات، با شرایط کنترل شده محیطی، با میانگین دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، و رطوبت نسبی ۵۰ درصد، با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش، در حیوان‌خانه گروه علوم ورزشی دانشگاه کاشان نگهداری شدند.

### گروه‌بندی

ابتدا رت‌ها به روش تصادفی به پنج گروه هشت‌تایی تقسیم شدند: (۱) گروه رژیم غذایی استاندارد (ND)، (۲) گروه رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (HFD+HC)، (۳) گروه رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات همراه با تمرین تناوبی با شدت زیاد (HFD+HC+HIIT)، (۴) گروه رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات همراه با روزه‌داری متناوب (HFD+HC+ADF) و (۵) گروه رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات همراه با تمرین تناوبی با شدت زیاد و روزه‌داری متناوب (HFD+HD+HIIT+ADF). پس از دو هفته آشنایی و سازگاری با محیط آزمایشگاهی و همچنین آشناسازی با قرار گرفتن، راه رفتن و دویدن بر روی تردمیل مخصوص رت، آزمون حداکثر سرعت دویدن (Smax) برای رت‌های گروه‌های دارای HIIT به صورت مجزا اجرا شد. پس از برآورد Smax، گروه‌های دارای HIIT پنج روز در هفته به مدت ۱۲ هفته روی تردمیل دویدند. در طول دوره مداخله‌ای، گروه‌های دارای ADF به صورت یک روز در میان به آب و غذا دسترسی کامل (Ad libitum) داشتند و یک روز در میان فاقد دسترسی به غذا بودند (۲۵). لازم به ذکر است که تمرین HIIT در انتهای زمان دسترسی به غذا انجام می‌شد.

### رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (HFD+HC)

رژیم غذایی آزمودنی‌ها در گروه‌های HFD+HC متشکل از ۶۰ درصد انرژی از چربی، ۲۰ درصد انرژی از پروتئین و ۲۰ درصد انرژی از کربوهیدرات، همراه با دریافت نوشیدنی دارای فروکتوز ۱۰ درصد بود (۲۸). به عبارتی، این رژیم غذایی شامل پروتئین:

۲۶ g، کربوهیدرات: ۲۶ g، چربی: ۳۵ g، متشکل از کازئین، نشاسته ذرت، مالتودکسترین، ساکارز، روغن سویا و مخلوطی از چربی‌های گیاهی و حیوانی بود.

### رژیم غذایی استاندارد (ND)

رت‌ها در گروه رژیم غذایی استاندارد (ND) از رژیم غذایی متشکل از ۱۰ درصد انرژی از چربی، ۷۰ درصد از کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین تغذیه می‌شدند (۲۹). این رژیم شامل پروتئین: ۲۵/۶ g، کربوهیدرات: ۵۰/۳ g، چربی: ۵/۱ g، متشکل از کازئین، نشاسته ذرت، مالتودکسترین، ساکارز، روغن سویا و مخلوطی از چربی‌های گیاهی و حیوانی بود.

### آزمون برآورد حداکثر سرعت دویدن (Smax)

در آزمودنی‌های گروه‌های دارای HIIT پروتکل Smax با اقتباس از پژوهش‌های منتشر شده قبلی (۲۵، ۳۰-۳۲) و پس از مرحله آشناسازی رت‌ها با دویدن بر روی تردمیل اجرا شد. در ابتدا، رت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر در دقیقه (شدت کم) بر روی تردمیل گرم کردند. سپس، سرعت تردمیل هر دو دقیقه یک بار به میزان دو متر در دقیقه افزایش یافت. این کار تا مرحله‌ای ادامه یافت که رت‌ها دیگر حاضر و یا قادر به ادامه دویدن نبودند. سرعتی که در آن رت وامانده/درمانده شد و نتوانست به آزمون Smax ادامه دهد به عنوان رکورد ثبت شد و شدت تمرین بر اساس آن محاسبه شد.

### پروتکل تمرین HIIT

تمرین HIIT بعد از برآورد Smax برنامه‌ریزی شد. پروتکل تمرینی این پژوهش با اقتباس از پژوهش خلفی و همکاران (۲۰۲۰) طراحی و اجرا شد (۱۶). این برنامه شامل هفت تناوب بود؛ هر تناوب شامل چهار دقیقه دویدن با شدت ۸۵-۹۰ درصد Smax با شیب پنج درجه بر روی تردمیل بود و بین هر تناوب نیز دو دقیقه استراحت فعال با شدت ۵۰ درصد Smax در نظر گرفته شد. برای اینکه رت‌ها با تمرین ورزشی سازگار شوند، شدت تمرین به صورت پیش‌رونده افزایش یافت. مدت زمان کل تمرین تقریباً ۵۷ دقیقه بود. رت‌ها در گروه دارای تمرین HIIT پنج روز در هفته به مدت ۱۲ هفته روی تردمیل دویدند. در ابتدا و انتهای پروتکل تمرینی ۱۰ دقیقه گرم کردن/پنج دقیقه سرد کردن اجرا می‌شد.

### تشریح رت‌ها

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ورزشی، نمونه‌برداری‌ها انجام گرفت. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا رت‌ها با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. سپس، شکم رت‌ها با استفاده از تیغ جراحی شکافته شد و بافت چربی سفید (WAT) احشایی برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو گردید و پس از آن بلافاصله به میکروتیوب منتقل و در ازلت مایع منجمد گردید. نمونه‌ها برای سنجش‌های سلولی و مولکولی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### وسترن بلات

برای استخراج پروتئین‌های بافت چربی احشایی، از بافر RIPA استفاده شد که شامل ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (با pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، ۱ درصد SDS و ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتل (ROCHE) بود. به این ترتیب، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز با استفاده از یک هموژنایزر دستی هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس نمونه در سانتریفیوژ یخچال دار (rfroil14sw, bo) با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و غلظت پروتئین آن با استفاده از کیت تعیین‌کننده پروتئین (Rad-Bio) اندازه‌گیری شد (در طول موج ۵۹۵ نانومتر). در نهایت،



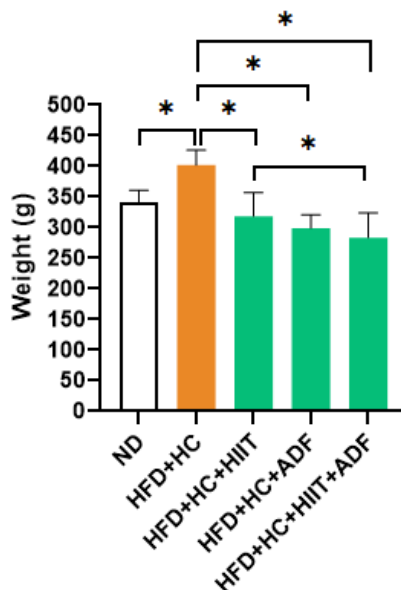
نمونه‌ها در دمای ۲۰ درجه زیر صفر در فریزر نگهداری شدند. هموزن به‌دست‌آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر (۵۰ میلی‌مولار تریس - کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا - مریکاپتواتانول و ۰/۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا تمامی پروتئین‌ها به‌طور کامل دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید - SDS جدا شده و به غشای نیتروسولوز منتقل شدند. غشا به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در سالین بافر شده - تریس و ۰/۱ درصد Tween 20 (TBST) مسدود گردید و سپس در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام گرفت. پروتئین‌ها با استفاده از یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل دنیسیتومتری با نرم‌افزار J Image اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه UCP-1 (SANTA CRUZ, sc-293418), PGC-1 $\alpha$ , (Proteintech, 66369-1-Ig) و  $\beta$ -Actin (SANTA CRUZ, sc-517582) استفاده شدند.

### آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش حاضر، پس از جمع‌آوری داده‌های خام، با استفاده از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف، توزیع نرمال داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. همه داده‌ها به میانگین (MD)  $\pm$  انحراف معیار (SD) ارائه شدند. همچنین،  $p < 0/05$  به لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. از t مستقل، آنالیز واریانس یک‌راهه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل یافته‌های کمی استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار آماری Graphpad Prism تهیه شدند.

### یافته‌ها

میانگین وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۱ آمده است. نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (HFD+HC) در مقایسه با رژیم غذایی استاندارد (ND) منجر به افزایش معنی‌دار وزن رت‌ها می‌شود ( $p=0/001$ ). در مقابل، تمرین HIIT، رژیم ADF و ترکیب این دو (HIIT+ADF) در مقایسه با HFD+HC منجر به کاهش معنی‌دار وزن رت‌ها می‌شود ( $p=0/001$ ). همچنین، بعد از ۱۲ هفته مداخله بین گروه تمرین HIIT و گروه HIIT+ADF تفاوت معنی‌داری در وزن رت‌ها وجود دارد ( $p=0/044$ ). با وجود این، وزن رت‌ها بین گروه‌های ADF و HIIT+ADF تفاوت معنی‌داری ندارد ( $p>0/05$ ).



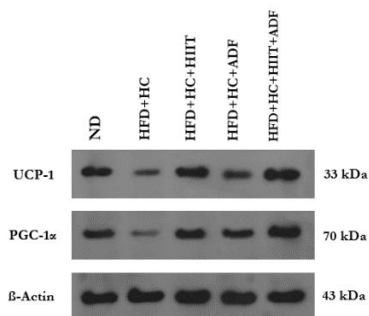
#### نمودار ۱. تغییرات وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش

ND: رژیم غذایی استاندارد، HFD+HC: رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، ADF: رژیم غذایی روزه‌داری یک روز در میان، \*: تفاوت معنی‌دار

#### Figure 1. Weight changes of rats in different research groups

ND: Standard diet, HFD+HC: High-fat and high-carbohydrate diet, HIIT: High-intensity interval training, ADF: Alternate-day fasting diet, \*: Significant difference

اثرات چاقی (HFD+HC)، تمرین HIIT، ADF و ترکیب این دو (HIIT+ADF) بر بیان پروتئینی UCP-1 و PGC-1 $\alpha$  با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن بلات ارزیابی شد. یافته‌ها نشان داد که رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (HFD+HC) در مقایسه با رژیم غذایی استاندارد (ND) منجر به کاهش معنی‌دار مقادیر پروتئینی UCP-1 بافت چربی احشایی می‌شود ( $p=0/002$ ). با وجود این، تمرین HIIT، رژیم ADF و ترکیب این دو (HIIT+ADF) در مقایسه با HFD+HC منجر به افزایش غیرمعنی‌دار مقادیر پروتئینی UCP-1 بافت چربی احشایی رت‌ها می‌شود ( $p>0/05$ ). علاوه بر این، یافته‌ها نشان داد که چاقی (HFD+HC) در مقایسه با رژیم غذایی استاندارد (ND) منجر به کاهش معنی‌دار مقادیر پروتئینی PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی می‌شود ( $p=0/004$ ). در مقابل، تمرین HIIT و HIIT+ADF در مقایسه با HFD+HC با افزایش معنی‌دار مقادیر پروتئینی PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی همراه است (به ترتیب  $p=0/003$  و  $p=0/01$ ).



فصلنامه فیزیولوژی ورزشی، بهار ۱۴۰۳، دوره ۱۶، شماره ۶۱

نمودار ۲. تغییرات مقادیر پروتئینی UCP-1 و PGC-1 بافت چربی احشایی رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش  
 ND: رژیم غذایی استاندارد، HFD+HC: رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، ADF: رژیم غذایی روزه‌داری  
 یک روز در میان، \*: تفاوت معنی‌دار

**Figure 2. Changes in protein levels of UCP-1 and PGC-1 in the visceral fat tissue of rats in different research groups**

ND: Standard diet, HFD+HC: High-fat and high-carbohydrate diet, HIIT: High-intensity interval training, ADF: Alternate-day fasting diet, \*: Significant difference

جدول ۱- اندازه اثر متغیرهای پژوهش

**Table 1- Effect sizes of research variables**

HFD+HC+ADF	HFD+HC+HIIT	HFD+HC+HIIT+ADF	گروه
Glass's delta	Glass's delta	Glass's delta	مقیاس اندازه اثر پروتئین
۱ (اثر بزرگ)	۲/۰۶ (اثر بزرگ)	۲/۵۰ (اثر بسیار بزرگ)	UCP-1
۰/۸۸ (اثر متوسط تا بزرگ)	۱/۵۵ (اثر بزرگ)	۲/۱۱ (اثر بسیار بزرگ)	PGC-1 $\alpha$

### بحث و نتیجه‌گیری

به‌خوبی ثابت شده است که رژیم غذایی پرچرب و پرکربوهیدرات (پرکالری) منجر به تجمع بافت چربی سفید (WAT) می‌شود. تجمع WAT با افزایش التهاب، فیبروز و اختلال عملکرد بافت چربی همراه است و این شرایط پاتولوژیک بافت چربی به‌ویژه در مناطق احشایی، ریسک ابتلا به بسیاری از بیماری‌های متابولیکی مزمن را افزایش می‌دهد.

بر این اساس، در پژوهش حاضر، اثرات بهبود بخش HIIT، ADF و ترکیب این دو (HIIT+ADF) بر تاثیرات نامطلوب حاصل از HFD+HC با تمرکز بر تغییرات پارامترهای قهوه‌ای شدن WAT مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌های اصلی پژوهش حاضر نشان داد چاقی (HFD+HC) می‌تواند مقادیر پروتئین UCP-1 بافت چربی احشایی رت‌ها را کاهش دهد. در مقابل، پروتکل‌های تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)، روزه‌داری متناوب (ADF) و ترکیب این دو (HIIT+ADF) باعث افزایش مقادیر این پروتئین شدند.

اگرچه این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (تفاوت بین گروه‌های مختلف پژوهش  $p=0/06$ )، اما بیشترین بهبودی به‌ترتیب در گروه ترکیبی (HIIT+ADF) با اندازه اثر بسیار بزرگ، HIIT و سپس ADF - هر دو - با اندازه اثر بزرگ مشاهده گردید. این نتایج نشان‌دهنده این است که ترکیب HIIT و ADF می‌تواند با اثر هم‌افزایی تأثیر مثبت بیشتری بر افزایش مقادیر پروتئین UCP-1 داشته باشد.

علاوه بر این، HFD+HC می‌تواند مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی رت‌ها را کاهش دهد. در مقابل، تمرین HIIT و HIIT+ADF منجر به افزایش مقادیر این پروتئین شدند. مقادیر PGC-1 $\alpha$  در گروه ADF افزایش یافت، اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

یادآور می‌شویم که UCP-1 یک پروتئین میتوکندریایی است که در BAT و به‌ویژه در میتوکندری آدیپوسیت‌ها وجود دارد. این پروتئین نقش کلیدی در فرآیند گرمزایی ایفا می‌کند که در شرایطی مانند سرما یا افزایش متابولیسم انرژی فعال می‌شود (۳۳، ۳۴). UCP-1 به عنوان یک کانال پروتونی عمل می‌کند که پروتون‌ها را از فضای بین میتوکندری و ماتریکس میتوکندری عبور می‌دهد. این عمل باعث جفت‌نشدن در زنجیره انتقال الکترون می‌شود که در نتیجه ATP کمتری تولید می‌شود و انرژی به شکل گرما آزاد می‌گردد.

به عبارتی، با افزایش فعالیت UCP-1، گرمزایی در بافت چربی افزایش می‌یابد و گرمزایی از ویژگی‌های بارز BAT و تبدیل آدیپوسیت‌های سفید به فنوتیپ مشابه با آدیپوسیت قهوه‌ای است (۱۲، ۳۵). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، کاهش UCP-1 بافت چربی احشایی در گروه HFD، اهمیت UCP-1 را در ترویج تجمع آدیپوسیت‌های سفید نشان می‌دهد. همراستا با یافته‌های این بخش از پژوهش حاضر، خلفی و همکاران (۲۰۲۰)، مصطفویان و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که HFD منجر به کاهش مقادیر UCP-1 بافت چربی می‌شود (۱۲، ۳۶). در مقابل، معلوم شده است که WAT می‌تواند در پاسخ به محرک‌هایی چون تمرین ورزشی، سرما یا برخی هورمون‌ها به «قهوه‌ای شدن» تغییر کند، که در آن آدیپوسیت‌های سفید به فنوتیپ مشابه با آدیپوسیت‌های قهوه‌ای تبدیل می‌شوند. این تغییرات عموماً با افزایش بیان UCP-1 همراه است (۱۲)، که منجر به افزایش توانایی این بافت در گرمزایی می‌شود.

همراستا با خلفی و همکاران (۲۰۲۰) و مصطفویان و همکاران (۲۰۲۰)، در پژوهش حاضر نیز تمرین HIIT، منجر به افزایش مقادیر پروتئین UCP-1 بافت چربی احشایی می‌شود. با این تفاوت که در این پژوهش این بهبودی معنی‌دار نبود. از دلایل ناهمسانی این بخش از پژوهش حاضر با پژوهش‌های قبلی، احتمالاً نوع و شدت مدالیته تمرین ورزشی، ترکیب رژیم

پرکالری (پرچرب و پرکربوهیدرات) مورد استفاده در پژوهش حاضر و تغذیه با این رژیم تا انتهای پژوهش می‌باشد. هرچند که مقادیر UCP-1 افزایش غیرمعنی‌داری داشت، اما HIIT بر افزایش مقادیر این پروتئین دارای اندازه اثر بزرگی بود. سازوکار افزایش مقادیر UCP-1 بافت چربی در نتیجه تمرین ورزشی را احتمالاً بتوان به افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب نسبت داد (۳۷). با این حال، ناهمسو با یافته‌های ما، براندو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که هشت هفته تمرین ترکیبی (هوازی + مقاومتی) منجر به کاهش بیان mRNA UCP-1 در WAT زنان چاق می‌شود (۳۸). در این راستا، معلوم شده است که در مدل‌های جوندگان، تمرینات ورزشی به افزایش بیوزن و فعالیت میتوکندری در هر دو نوع WAT و BAT کمک می‌کند. همچنین، تمرین ورزشی بیان UCP-1 را در هر دو نوع بافت چربی افزایش می‌دهد، هرچند که این اثرات در بافت چربی سفید زیرپوستی (scWAT) به‌طور قابل توجه‌تری مشاهده می‌شود (۳۷). ما در پژوهش حاضر مقادیر UCP-1 بافت چربی احشایی نمونه‌های حیوانی (رت) را مورد ارزیابی قرار داده بودیم و شیوه تمرینی ما HIIT بود. با افزایش UCP-1، حضور سلول‌های چربی قهوه‌ای‌مانند در WAT افزایش می‌یابد که به این فرآیند قهوه‌ای شدن یا بژینگ نیز گفته می‌شود که با بهبودی‌های بارزی در هومئوستاز متابولیک کل بدن همراه است (۳۷).

در پژوهش حاضر نشان داده شد که HFD+HC منجر به تنظیم کاهشی مقادیر پروتئین UCP-1 بافت چربی احشایی می‌شود. در مقابل، علاوه بر HIIT، ADF نیز منجر به افزایش مقادیر پروتئین UCP-1 بافت چربی احشایی می‌شود؛ هرچند این افزایش معنی‌دار نبود، اما اندازه اثر ADF بر این مارکر بزرگ بود.

مارینهو<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۲۰) نیز همسو با یافته‌های این بخش از پژوهش حاضر نشان دادند که چهار هفته روزه‌داری متناوب (ADF) (۲۴ ساعت غذا خوردن / ۲۴ ساعت روزه‌داری) منجر به افزایش بیان ژن UCP-1 در موش‌های چاق (HFD) می‌شود و گزارش کردند که ADF با افزایش قهوه‌ای شدن آدیپوسیت‌های WAT همراه است. این وضعیت منجر به افزایش ترموزن، کاهش وزن و بهبود پروفایل پیش‌التهابی بافت چربی می‌شود (۳۹).

همچنین، کاردوسو<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۲۳) همسو با یافته‌های پژوهش حاضر نشان دادند که هشت هفته HIIT و ADF به تنهایی یا در ترکیب با هم منجر به افزایش UCP-1 (قهوه‌ای شدن) WAT می‌شوند. در پژوهش آن‌ها، حیواناتی که تحت پروتکل HIIT قرار گرفتند، مقادیر بالاتری از بیان این پروتئین را نشان دادند. حیوانات تحت پروتکل‌های ADF اندازه اثر بزرگی در مقادیر UCP-1 نشان دادند که کمتر از اندازه اثر در گروه HIIT بود. تعامل بین مداخلات نیز تأثیر متوسطی را نشان داد، که حاکی از این است که IF و HIIT به‌طور همزمان ممکن است بر بیان UCP-1 تأثیر بگذارند (۴۰).

همان‌طور که دیگر یافته پژوهش حاضر نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی HIIT+ADF بر مقادیر پروتئین UCP-1 بافت چربی احشایی بود، به طوریکه بیشترین افزایش UCP-1 با اندازه اثر بسیار بزرگ در این گروه (HIIT+ADF) مشاهده شد. می‌توان گفت که HIIT و ADF - هر دو - باعث ایجاد انعطاف‌پذیری متابولیکی می‌شوند که منجر به افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش اکسیداسیون گلوکز می‌گردد (۴۱).

وجود اسیدهای چرب آزاد که از لیپولیز آزاد می‌شوند، UCPها را در WAT و BAT فعال می‌کند (۴۲). نشت پروتون که توسط UCP تنظیم می‌شود، گرادیان پروتون را از سنتز ATP جدا می‌کند و انرژی آزاد شده به صورت گرما منتشر می‌شود.

1. Brandao
2. Marinho
3. Cardoso

به نوبه خود، فعال سازی UCP اکسیداسیون اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد تا ناکارآمدی تنفسی و کاهش پتانسیل غشای میتوکندری را جبران کند (۴۳). با این حال، این‌ها تنها نتایج فرضیه‌زایی پژوهش حاضر هستند. به‌طور کلی، فعال سازی هر دو نوع آدیپوسیت در شرایط چاقی می‌تواند با افزایش هزینه‌کرد انرژی، منجر به کاهش وزن گردد (۴۴) و به بهبود متابولیسم کلی بدن کمک کند (۴۵).

علاوه بر این، بر اساس یافته‌های پژوهش، چاقی HFD+HC می‌تواند مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  بافت چربی احشایی رت‌ها را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. در مقابل، تمرین HIIT و HIIT+ADF منجر به افزایش مقادیر این پروتئین شدند. همچنین، مقادیر PGC-1 $\alpha$  در گروه ADF افزایش یافت، اما این افزایش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

همسو با یافته‌های این بخش از پژوهش حاضر، خلفی و همکاران (۲۰۲۰) در مقایسه HIIT با MICT بر بیومارکرهای تمایز آدیپوسیت‌ها و قهوه‌ای شدن WAT (UCP-1 و PGC-1 $\alpha$ ) در رت‌های نر چاق نشان دادند، سازگاری‌های و تعدیل‌های مرتبط با قهوه‌ای شدن WAT در HIIT به میزان قابل توجهی بیشتر از MICT بود (۱۲).

موتا و همکاران (۲۰۱۹) نیز در بررسی HIIT بر تشکیل سلول‌های چربی بزرگ در WAT موش‌هایی که از رژیم غذایی با فروکتوز بالا تغذیه می‌کردند، نشان دادند که HIIT ممکن است قهوه‌ای شدن WAT در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی با فروکتوز بالا همراه با تعدیل مثبت بیوژنز میتوکندریایی و نشانگرهای بتا اکسیداسیون تحریک کند و منجر به افزایش سوخت و ساز کل بدن شود (۱۷).

فابیانو<sup>۱</sup> و همکارانش (۲۰۱۶) در بررسی موش‌های تحت شرایط CR نشان دادند که این رژیم منجر به القاء چربی بزرگ عملکردی در WAT می‌شود (۴۶). مارینهو و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی تأثیر چهار هفته روزه‌داری متناوب (ADF) (۲۴ ساعت غذا خوردن/ ۲۴ ساعت روزه‌داری) گزارش کردند که ADF با افزایش قهوه‌ای شدن آدیپوسیت‌های sWAT همراه است (۳۹). به علاوه، شیائو<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه‌ای با بررسی تأثیر ترکیب CR با HIIT نشان دادند که ترکیب CR با HIIT موثرتر از HIIT به تنهایی برای ترویج قهوه‌ای شدن WAT با افزایش فعالیت مسیر وابسته به PGC-1 $\alpha$ /UCP-1/PPAR $\gamma$  است (۲۷). در پژوهش ما نیز، بیشترین بهبودی به‌ترتیب در گروه ترکیبی (HIIT+ADF) با اندازه اثر بسیار بزرگ، سپس در گروه HIIT با اندازه اثر بزرگ و پس از آن در گروه ADF با اندازه اثر متوسط تا بزرگ مشاهده شد.

در این راستا، معلوم شده است که PGC-1 $\alpha$  به عنوان یک فاکتور رونویسی عمل می‌کند و می‌تواند به افزایش بیان ژن‌های مرتبط با میتوکندری و UCP-1 کمک کند. تمرین ورزشی می‌تواند به فعال سازی PGC-1 $\alpha$  منجر شود که به قهوه‌ای شدن WAT کمک می‌کند (۱۲). همچنین، PGC-1 $\alpha$  به عنوان یک پروتئین مداخله‌گر PPAR $\gamma$  شناخته می‌شود و در بیوژنز میتوکندریایی نقش دارد (۹). پیش از این نیز گزارش شده بود که تمرینات ورزشی با تحریک مسیر PGC-1 $\alpha$  باعث ترویج قهوه‌ای شدن WAT می‌شود (۲۷). بیان PGC-1 $\alpha$  در آدیپوسیت‌های سفید باعث بیان تعدادی از ژن‌های میتوکندریایی و ترموژنی شامل UCP-1 می‌شود. در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که مقادیر پروتئین UCP-1 بواسطه مداخلات تمرینی و تغذیه‌ای بهبودی نشان داد. بنابراین به‌طور گسترده‌ای پذیرفته می‌شود که PGC-1 $\alpha$  برای تمایز یافتن آدیپوسیت‌های قهوه‌ای و نیز بیان شدن ژن UCP-1 ضروری باشد (۱۰). فعال کردن PPAR  $\gamma$  و PGC-1 $\alpha$  منجر به افزایش بیوژنز میتوکندریایی و بیان دیگر ژن‌های مرتبط با ترموژنز در بافت چربی بزرگ و قهوه‌ای می‌شوند (۴۷). همانطور که در مطالعه‌ای شیائو و همکاران

1. Fabbiano  
2. Xiao

(۲۰۲۳) نشان دادند که تنظیم‌کننده‌های اصلی قهوه‌ای شدن WAT در طی تمرینات ورزشی و CR مسیر PPAR $\gamma$ /PGC-1 $\alpha$ /UCP1 می‌باشد (۲۷).

در پژوهش حاضر نیز در رابطه با CR و سازوکارهای اثربخشی آن می‌توان گفت که CR که به معنای کاهش مصرف انرژی از طریق غذا است، به‌طور قابل توجهی فرآیند کاتابولیسم چربی‌ها را در کل بدن افزایش می‌دهد. این افزایش در کاتابولیسم چربی‌ها کمبود انرژی ناشی از محدودیت دریافت غذا را جبران می‌کند و این فرآیند به متابولیسم کارآمدتر کمک می‌کند (۲۱). بنابراین، با توجه به اینکه میتوکندری‌ها در لیپولیز نقش مهمی ایفا می‌کنند، PGC-1 $\alpha$  القا شده به وسیله CR می‌تواند نمایانگر افزایش لیپولیز بافت چربی احشایی در نتیجه بتا اکسیداسیون باشد که در گروه ترکیبی (HIIT+ADF) احتمالاً مقدار آن بیشتر بوده، چرا که کاهش وزن بیشتری در این گروه مشاهده شده بود. به‌طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نیز نشان‌دهنده این است که HIIT و به‌ویژه ترکیب HIIT با ADF می‌تواند با اثر هم‌افزایی تأثیر مثبت بیشتری بر افزایش مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  داشته باشد و احتمالاً با افزایش مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  به کاهش اثرات منفی چاقی ناشی از HFD+HC کمک کند. بنابراین، HIIT + ADF می‌تواند راهکارهای مؤثری برای مقابله با آدیپوزنز و افزایش لیپولیز ارائه دهد. با وجود این، شواهد بیشتری برای بررسی ارتباط بین مقادیر PGC-1 $\alpha$  و قهوه‌ای شدن بافت چربی در شرایط HFD+HC مورد نیاز است.

### پیام مقاله

مطالعه ما شواهدی ارائه می‌دهد که چاقی حاصل از HFD+HC می‌تواند منجر به تنظیم‌کاهشی مقادیر پروتئینی UCP-1 و PGC-1 بافت چربی احشایی شود. علاوه بر این، ما نشان دادیم که تمرین ورزشی (HIIT)، روزه‌داری متناوب (ADF) و به‌ویژه ترکیب این دو مداخله تمرینی و تغذیه‌ای (HIIT+ADF) در طول دوره تغذیه با HFD+HC می‌تواند مقادیر پروتئینی UCP-1 و PGC-1 را تنظیم‌افزایشی یا حفظ کند.

در نهایت، نتایج ما نشان می‌دهد که مداخلات HIIT، ADF، و به‌ویژه HIIT+ADF، می‌تواند علاوه بر کاهش وزن، باعث تنظیم‌افزایشی مقادیر UCP-1 و PGC-1 گردد، که نه تنها می‌تواند به حفظ تعامل‌های متابولیکی کمک کند، بلکه احتمالاً با افزایش لیپولیز و تا حدودی با قهوه‌ای شدن آدیپوسیت‌ها به سلامت متابولیک کل بدن کمک کرده و در برابر اختلال متابولیکی ناشی از HFD+HC محافظت کند.

### ملاحظات اخلاقی

#### انطباق با دستورالعمل‌های اخلاقی تحقیق

پروتکل مطالعه حیوانات مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه تهران قرار گرفت (کد اخلاق: IR.UT.SPORT.REC.1403.021).

#### منابع مالی

پژوهش حاضر هیچ بودجه‌ای از سازمان‌های دولتی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

#### مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش تمامی بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

**تعارض منافع**

نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارند.

**تشکر و قدردانی**

پژوهش حاضر برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه کاشان است. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام پژوهش حاضر یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

**منابع**

1. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*. 2014;311(8):806-14.
2. Barranco P, Delgado J, Gallego L, Bobolea I, Pedrosa M, García de Lorenzo A, et al. Asma, obesidad y dieta. *Nutr Hosp*. 2012;27(1):138-45.
3. Langin D. Recruitment of brown fat and conversion of white into brown adipocytes: strategies to fight the metabolic complications of obesity? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2010;1801(3):372-6.
4. Frühbeck G, Becerril S, Sáinz N, Garrastachu P, García-Veloso MJ. BAT: a new target for human obesity? *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(8):387-96.
5. de Souza Marinho T, Ornellas F, Aguila MB, Mandarin-de-Lacerda CA. Browning of the subcutaneous adipocytes in diet-induced obese mouse submitted to intermittent fasting. *Mol Cell Endocrinol*. 2020;513:110872.
6. Shabalina IG, Petrovic N, de Jong JM, Kalinovich AV, Cannon B, Nedergaard J. UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic. *Cell reports*. 2013;5(5):1196-203.
7. Bartelt A, Heeren J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nature Reviews Endocrinology*. 2014;10(1):24-36.
8. Machado SA, Pasquarelli-do-Nascimento G, da Silva DS, Farias GR, de Oliveira Santos I, Baptista LB, et al. Browning of the white adipose tissue regulation: New insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases. *Nutr Metab*. 2022;19(1):1-27.
9. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*. 1998;92(6):829-39.
10. Gill J, La Merrill MA. An emerging role for epigenetic regulation of Pgc-1 $\alpha$  expression in environmentally stimulated brown adipose thermogenesis. *Environmental epigenetics*. 2017;3(2):dvx009.
11. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
12. 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).
13. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei Azar J, ehsani far m. The effect of three different exercise training on blood lipid profile, fetuin-A, and fibroblast growth factor 21 (FGF-21) in visceral adipose tissue of obese rats. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2020;19(1):109-22. (In Persian).
14. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi PF, Tolouei AJ. The effect of 12 weeks of moderate intensity continuous training (mict) on inflammatory and angiogenesis factors of visceral and subcutaneous adipose tissue in obese rats: a semi-experimental study. 2019. (In Persian).
15. Habibi Maleki A, Tofighi A, Ghaderi Pakdel F, Tolouei azar J. The Effect of 12 Weeks of High Intensity Interval Training and High Intensity Continuous Training on VEGF, PEDF and PAI-1 Levels of Visceral and Subcutaneous Adipose Tissues in Rats fed with High Fat Diet. *Sport Physiology & Management Investigations*. 2020;12(1):101-20. (In Persian).



16. 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.
17. Motta VF, Bargut TL, Souza-Mello V, Aguilá MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Browning is activated in the subcutaneous white adipose tissue of mice metabolically challenged with a high-fructose diet submitted to high-intensity interval training. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2019;70:164-73.
18. Barak Y, Nelson MC, Ong ES, Jones YZ, Ruiz-Lozano P, Chien KR, et al. PPAR $\gamma$  is required for placental, cardiac, and adipose tissue development. *Mol Cell*. 1999;4(4):585-95.
19. Thivel D, Masurier J, Baquet G, Timmons BW, Pereira B, Berthoin S, et al. High-intensity interval training in overweight and obese children and adolescents: systematic review and meta-analysis. 2018.
20. Khalafi M, Symonds ME, Habibi Maleki A, Sakhaei MH, Ehsanifar M, Rosenkranz SK. Combined versus independent effects of exercise training and intermittent fasting on body composition and cardiometabolic health in adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition journal*. 2024;23(1):7.
21. Khalafi M, Habibi Maleki A, Ehsanifar M, Symonds ME, Rosenkranz SK. Longer-term effects of intermittent fasting on body composition and cardiometabolic health in adults with overweight and obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*. n/a(n/a):e13855.
22. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Part B):2985-3023.
23. Dedual MA, Wueest S, Borsigova M, Konrad D. Intermittent fasting improves metabolic flexibility in short-term high-fat diet-fed mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2019;317(5):E773-E82.
24. Chung H, Chou W, Sears DD, Patterson RE, Webster NJ, Ellies LG. Time-restricted feeding improves insulin resistance and hepatic steatosis in a mouse model of postmenopausal obesity. *Metabolism*. 2016;65(12):1743-54.
25. Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, et al. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell metabolism*. 2012;15(6):848-60.
26. Khalafi M, Habibi Maleki A, Symonds ME, Rosenkranz SK, Rohani H, Ehsanifar M. The effects of intermittent fasting on body composition and cardiometabolic health in adults with prediabetes or type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2024;26(9):3830-41.
27. Xiao M, Zhang Y, Xu X. Calorie Restriction Combined with High-Intensity Interval Training Promotes Browning of White Adipose Tissue by Activating the PPAR $\gamma$ /PGC-1 $\alpha$ /UCP1 Pathway. 2023.
28. Cho J, Johnson BD, Watt KD, Niven AS, Yeo D, Kim C-H. Exercise training attenuates pulmonary inflammation and mitochondrial dysfunction in a mouse model of high-fat high-carbohydrate-induced NAFLD. *BMC Medicine*. 2022;20(1):429.
29. Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, Tofighi A. The Effect of Different Exercise Modalities on Sertoli-germ Cells Metabolic Interactions in High-fat Diet-induced Obesity Rat Models: Implication on Glucose and Lactate Transport, Igf1, and Igf1R-dependent Pathways. *Reproductive Sciences*. 2024;31(8):2246-60.
30. Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, Tofighi A. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on GLUT-3 expression and lactate levels in testicular tissue of obese rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2023. (In Persian).
31. Azar JT, Maleki AH, Moshari S, Razi M. The effect of different types of exercise training on diet-induced obesity in rats, cross-talk between cell cycle proteins and apoptosis in testis. *Gene*. 2020;754:144850.
32. Habibi Maleki A, Tolouei Azar J, Razi M, Tofighi A. The Effect of Different Exercise Modalities on Sertoli-germ Cells Metabolic Interactions in High-fat Diet-induced Obesity Rat Models: Implication on Glucose and Lactate Transport, Igf1, and Igf1R-dependent Pathways. *Reproductive Sciences*. 2024:1-15.

33. Tabuchi C, Sul HS. Signaling pathways regulating thermogenesis. *Frontiers in endocrinology*. 2021;12:595020.
34. KHALAFI M, RAVASI AA, SHABKHIZ F, MORADI M, ZAREI Y. The effects of high intensity interval exercise (HIIE) and moderate intensity continuous exercise (mice) on serum irisin and subcutaneous UCP-1 in diabetic male rats. 2016. (In Persian).
35. Krauss S, Zhang C-Y, Lowell BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2005;6(3):248-61.
36. Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. Effect of eight weeks of aerobic progressive training with capsaicin on changes in PGC-1 $\alpha$  and UPC-1 expression in visceral adipose tissue of obese rats with diet. *Complementary medicine journal*. 2020;10(2):106-17.
37. Stanford KI, Middelbeek RJ, Goodyear LJ. Exercise effects on white adipose tissue: being and metabolic adaptations. *Diabetes*. 2015;64(7):2361-8.
38. Brandao CFC, de Carvalho FG, Souza AdO, Junqueira-Franco MVM, Batitucci G, Couto-Lima CA, et al. Physical training, UCP1 expression, mitochondrial density, and coupling in adipose tissue from women with obesity. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2019;29(11):1699-706.
39. Marinho TdS, Ornellas F, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Browning of the subcutaneous adipocytes in diet-induced obese mouse submitted to intermittent fasting. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020;513:110872.
40. Cardoso ELdS, Cahuê F, Miranda IEF, Sant'Anna MdL, Andrade CBV, Barbosa RAQ, et al. Combined effects of intermittent fasting with swimming-based high intensity intermittent exercise training in Wistar rats. *Tissue and Cell*. 2023;82:102099.
41. Goodpaster BH, Sparks LM. Metabolic Flexibility in Health and Disease. *Cell Metab*. 2017;25(5):1027-36.
42. Blondin DP, Labbé SM, Phoenix S, Guérin B, Turcotte É E, Richard D, et al. Contributions of white and brown adipose tissues and skeletal muscles to acute cold-induced metabolic responses in healthy men. *J Physiol*. 2015;593(3):701-14.
43. Demine S, Renard P, Arnould T. Mitochondrial Uncoupling: A Key Controller of Biological Processes in Physiology and Diseases. *Cells*. 2019;8(8).
44. Owen BM, Ding X, Morgan DA, Coate KC, Bookout AL, Rahmouni K, et al. FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell metabolism*. 2014;20(4):670-7.
45. Scheja L, Heeren J. Metabolic interplay between white, beige, brown adipocytes and the liver. *Journal of hepatology*. 2016;64(5):1176-86.
46. Fabbiano S, Suárez-Zamorano N, Rigo D, Veyrat-Durebex C, Dokic AS, Colin DJ, et al. Caloric restriction leads to browning of white adipose tissue through type 2 immune signaling. *Cell metabolism*. 2016;24(3):434-46.
47. Qiang L, Wang L, Kon N, Zhao W, Lee S, Zhang Y, et al. Brown remodeling of white adipose tissue by SirT1-dependent deacetylation of Ppar $\gamma$ . *Cell*. 2012;150(3):620-32.