



The effect of eight weeks of high-intensity interval training with caloric restriction on the expression of SIRT1, ERR α and PDK4 genes in the liver of male Wistar rats: Comparison of high-fat diet and standard diet

Zahra Seddighi Khovidak¹, Daruosh Moflehi², Soheil Aminizadeh^{3*}

1. MSc in Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3. Assistant Professor at Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Afzalipour School of Medicine, and Physiology Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

Abstract

Background and Aim: A calorie restriction diet is one way to reduce calorie intake without malnutrition. The purpose of this study was to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) combined with calorie restriction using high-fat or standard diet regimens on the expression of sirtuin 1 (SIRT1), estrogen-related receptor alpha (ERR α) and pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) in the liver of male Wistar rats. **Materials and Methods:** 48 rats were randomly divided into six groups (n=8) including control, HIIT, high-fat diet with caloric restriction, standard diet with caloric restriction, standard diet with caloric restriction + HIIT, and fatty diet with caloric restriction + HIIT. The HIIT was performed for eight weeks and five days a week with an intensity of 90 to 100% of the maximum speed as a running treadmill. The expression of SIRT1, ERR α and PDK4 genes in liver tissue was measured using the Real-Time PCR method and one-way ANOVA statistical method was used to compare between groups at the p<0/05 level. **Results:** HIIT could led to a significant increase in ERR α gene expression compared to the control group (p=0.001). Moreover, fatty diet with calorie restriction significantly decreased SIRT1 gene expression compared to standard diet with calorie restriction (p=0.002). Also, eight weeks of standard diet with caloric restriction led to a significant increase in PDK4 gene expression compared to the control group (p=0.02). **Conclusion:** In the condition of calorie restriction, high-intensity interval training can play a key role in increasing hepatic gluconeogenesis through the upregulation of ERR α gene expression. Interestingly, high-fat diet may have negative effects on the liver even under caloric restriction by reducing the expression of SIRT1, which plays an important role in the antioxidant capacity of the liver.

Keywords: High-intensity interval training, Calorie restriction, Energy metabolism, Gene expression.

Cite this article:

Seddighi Khovidak, Z., Moflehi, D., & Aminizadeh, S. (2024). The effect of eight weeks of high-intensity interval training with caloric restriction on the expression of SIRT1, ERR α and PDK4 genes in the liver of male Wistar rats: Comparison of high-fat diet and standard diet. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 12(29), 8-20.

* Corresponding Author, Address: Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran;

E-mail: soheilaminizadeh@gmail.com

doi <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2023.6220.1774>





تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با محدودیت کالریک بر بیان ژن‌های SIRT1، ERR α و PDK4 در کبد رت‌های نر نژاد ویستار: مقایسه رژیم غذایی چرب و غذای استاندارد

زهرا صدیقی خویدک^۱، داریوش مفلحی^۲، سهیل امینی زاده^{۳*}

۱. کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

۳. استادیار گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی افضلی پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، انستیتو نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: رژیم غذایی محدودکننده کالری، یکی از روش‌های کاهش دریافت کالری بدون سوء تغذیه است. هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و رژیم غذایی چرب و یا استاندارد، همراه با محدودیت کالریک، بر بیان ژن‌های سیرتوئین ۱ (SIRT1)، گیرنده وابسته استروژن آلفا (ERR α) و پیرووات دهیدروژناز کیناز-۴ (PDK4) در بافت کبد رت‌های نر نژاد ویستار بود. **روش تحقیق:** تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر به طور تصادفی به شش گروه (n=۸) شامل کنترل، تمرین تناوبی با شدت بالا، رژیم غذایی چرب با محدودیت کالریک، رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + تمرین تناوبی، و رژیم غذایی چرب با محدودیت کالریک + تمرین تناوبی تقسیم شدند. تمرین ورزشی به مدت هشت هفته با تکرار پنج روز در هفته با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه به صورت دویدن روی نوارگردان اجرا شد. بیان ژن‌های SIRT1، ERR α و PDK4 در بافت کبد به روش Real-Time PCR اندازه‌گیری گردید و از روش آماری تحلیل واریانس یک راهه برای مقایسه بین گروهی در سطح $p < 0.05$ استفاده شد. **یافته‌ها:** تمرین تناوبی با شدت بالا، منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن ERR α نسبت به گروه کنترل شد ($p=0.001$). رژیم غذایی چرب با محدودیت کالریک، باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن SIRT1 نسبت به رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک ($p=0.002$)؛ و رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک، منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن PDK4 نسبت به گروه کنترل شد ($p=0.002$). **نتیجه‌گیری:** در شرایط محدودیت کالریک، تمرین تناوبی با شدت بالا از طریق بیش تنظیمی بیان ژن ERR α می‌تواند نقش کلیدی در افزایش گلوکونئوژنز کبدی داشته باشد. به طور جالب، رژیم غذایی چرب ممکن است حتی در شرایط محدودیت کالریک، با کاهش بیان SIRT1 - که نقش مهمی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد دارد-، اثر منفی بر کبد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، محدودیت کالریک، متابولیسم انرژی، بیان ژن.

مقدمه

تغذیه نقش اساسی در پیشگیری از بیماری ها و ارتقای سلامتی دارد (ریزا^۱ و دیگران، ۲۰۱۴). کالری دریافتی، زمان مصرف غذا (مانند زمان روزه داری) و برخی از مواد مغذی؛ اساساً در پاتوژنز بیماری های مزمن نقش دارند (فوتانا^۲ و دیگران، ۲۰۰۵؛ ماتسون^۳، ۲۰۱۰). تغذیه با رژیم غذایی پر چرب^۴ می تواند باعث چاقی، بیماری های سیستمیک مزمن مانند بیماری های قلبی - عروقی، فشار خون بالا، قند خون بالا، مقاومت به انسولین و دیابت شود (حیدری و دیگران، ۲۰۲۱). امروزه مردم در کشورهای پیشرفته از غذاهای پرکالری که سرشار از قند و چربی های اشباع هستند، استفاده می کنند (لوزانو^۵ و دیگران، ۲۰۱۶) و همین مصرف زیاد غذاهای پر انرژی، باعث ایجاد اختلالات متابولیک می شود (وانگ ایکس^۶ و دیگران، ۲۰۲۰). محدودیت کالری^۷ به یک رژیم غذایی کم کالری و بدون سوء تغذیه اشاره دارد (مک کی^۸ و دیگران، ۲۰۱۲). محدودیت کالری که سرعت متابولیسم و آسیب ناشی از اکسیداسیون را کاهش می دهد و نشانگرهای دیابت مانند حساسیت به انسولین را بهبود می بخشد، منجر به کاهش بروز بیماری های قلبی - عروقی می شود (کوربی^۹ و دیگران، ۲۰۱۲).

سیرتوئین - ۱^{۱۰} (SIRT1) متعلق به خانواده پروتئین داستیلاز وابسته به NAD⁺ است که نقش کلیدی در هموستاز گلوکز، متابولیسم لیپیدها، استرس اکسایشی و همچنین حساسیت به انسولین دارد (نیکرو و دیگران، ۲۰۲۰). داده های اخیر نشان می دهند افزایش فعالیت SIRT1 به افزایش نسبت NAD⁺/NADH بستگی دارد و زمانی که مواد مغذی به ویژه قند خون کاهش می یابد، NAD⁺ تجمع یافته و SIRT1 فعال می شود (نیکرو و دیگران، ۲۰۲۰). سرکوب و یا حذف SIRT1 در موش ها، بیان پروتئین های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی مانند گیرنده وابسته به استروژن آلفا^{۱۱} (ERR α) را دچار اختلال می کند (بختیاری و دیگران، ۲۰۱۸). ERR ها دارای سه ایزوفرم آلفا، بتا و گاما هستند که نقش مهمی در تنظیم متابولیسم انرژی

سلولی دارند (هاس^{۱۳} و دیگران، ۲۰۰۴). سطوح ERR α در بافت های فعال متابولیکی، مانند چربی قهوه ای، قلب، کلیه و عضله اسکلتی بالا است و سطح بیان آن می تواند در پاسخ به سرما، استرس، روزه داری، ورزش و موقعیت هایی که نیاز به انرژی را تحمیل می کنند، افزایش یابد (تنگ^{۱۴} و دیگران، ۲۰۱۷). نشان داده شده است که ERR α به طور مثبتی پیروات دهیدروژناز کیناز-۴^{۱۵} (PDK4) را در سلول های عضلانی و کبدی کنترل می کند (چو^{۱۶} و دیگران، ۲۰۱۳؛ ونده^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۳). آنزیم PDK آنزیمی کلیدی در میتوکندری است که فعالیت کمپلکس پیروات دهیدروژناز^{۱۸} (PDH) را از طریق فسفوریلاسیون زیر واحد آن، به طور منفی تنظیم می کند. بنابراین، در تنظیم مصرف گلوکز و متابولیسم لیپید نقش دارد. تغییرات در بیان و فعالیت PDK در فرآیندهای فیزیولوژیکی و مرتبط با بیماری، از جمله مقاومت به انسولین، دیابت، سرطان و چاقی نقش ایفا می کند. PDK4 ایزوفرم غالب در بافت هایی مانند عضله اسکلتی، قلب و کبد است که نیاز به انرژی بالایی دارند (ما^{۱۹} و دیگران، ۲۰۲۰). نشان داده شده که مصرف یک رژیم غذایی پر چرب در طول ریکاوری پس از تمرین ورزشی، منجر به افزایش بیان ژن PDK4 می شود (پیلگارد^{۲۰} و دیگران، ۲۰۰۴). یکی از بافت هایی که در محدودیت کالری به عنوان منبع انرژی جهت تامین مواد مغذی در خون نقش مهمی ایفا می کند، کبد است (ما و دیگران، ۲۰۲۰) و طبق مطالعات گذشته، تمرین می تواند مسیرهای تولید انرژی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کبد را تحت تاثیر قرار دهد (پیلگارد و دیگران، ۲۰۰۴).

تمرین ورزشی منجر به بیان پروتئین های مرتبط با بیوژنز میتوکندریایی و انعطاف پذیری متابولیکی می شود (امینی زاده و دیگران، ۲۰۲۱). تمرین استقامتی با شدت کم و زیاد - هردو - باعث افزایش بیان ژن های SIRT1 و هم فعال کننده گیرنده گامای فعال کننده تکثیر پروکسی زوم^{۲۱} (PGC-1 α) در عضله نعلی می شود (بیلات^{۲۲}، ۲۰۰۱). همچنین، ۱۲ هفته تمرین هوازی شنا، مقادیر بیان ژن های

1. Rizza
2. Fotana
3. Mattson
4. High fat diet
5. Lozano
6. Wang X
7. Calorie restriction
8. MacCay

9. Corbi
10. Sirtuin1
11. NAD-dependent deacetylase
12. Estrogen related receptor alpha
13. Huss
14. Teng
15. Pyruvate dehydrogenase 4
16. Choa

17. Wende
18. Pyruvate dehydrogenase
19. Ma
20. Pilgard
21. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator
22. Billat

می‌گذارند و در مطالعات قبلی، محدودیت کالریک تنها با رژیم غذایی استاندارد مورد بررسی قرار گرفته است، کماکان اثر محدودیت کالریک با رژیم غذایی چرب بر مسیرهای ذکر شده در بافت کبد مورد سوال است. لذا هدف اول در تحقیق حاضر، بررسی اثر محدودیت کالریک همراه با رژیم غذایی چرب و رژیم غذایی استاندارد بر بیان ژن های SIRT1، ERR α ، PDK4 در بافت کبد است و در ادامه، به دنبال بررسی اثر توأمان محدودیت کالریک همراه با رژیم غذایی چرب یا استاندارد و HIIT بر بیان ژن های ذکر شده در بافت کبد رت های نر نژاد ویستار هستیم.

روش تحقیق

حیوانات و شرایط نگهداری آن‌ها: چهل و هشت سر موش صحرایی نر نژاد ویستار دو ماهه (وزن: $35 \pm$ گرم) از دانشگاه علوم پزشکی کرمان خریداری شدند و در شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه نور و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شده و به غذا و آب آزادانه دسترسی داشتند. پس از دو هفته سازگاری، موش‌ها به طور تصادفی به شش گروه و هر گروه مشتمل بر هشت سر تقسیم شدند؛ گروه کنترل؛ گروه HIIT؛ گروه رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک (که ۵۰ درصد غذای سایر گروه‌ها را دریافت کرد)؛ گروه رژیم چرب با محدودیت کالریک (که ۵۰ درصد غذای سایر گروه‌ها را دریافت کرد)؛ رژیم چرب با محدودیت کالریک + HIIT؛ و نهایتاً، گروه رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT. مطالعه حاضر دارای شناسه اخلاق IR.K-1401.023 MU.REC از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان می‌باشد.

رژیم غذایی پر چرب: رژیم غذایی پر چرب از پژوهشکده رویان اصفهان خریداری شد و مشتمل بر ۶۰ درصد چربی (۲۴۵ گرم Lard و ۲۵ گرم روغن سویا)، ۲۰ درصد کربوهیدرات (۱۲۵ گرم Lodex10 و ۷۲۸/۰ گرم سوکروز)، ۲۰ درصد پروتئین (۲۰۰ گرم کازئین و سه گرم سیستئین)، ۵۰ گرم فیبر (Solca Floc)، ۵۰ گرم مواد معدنی، سه گرم ویتامین، و ۵/۰ گرم رنگ بود (چن^۲ و دیگران، ۲۰۲۱).

نحوه اعمال محدودیت کالریک: طی دو هفته

SIRT1 و PGC-1 α را در عضلات نعلی و دوقلو موش‌های با سنین مختلف (۳، ۱۲، و ۱۸ ماهه) افزایش داده است (هوآنگ^۱ و دیگران، ۲۰۱۶). در پژوهشی دیگر، پس از چهار هفته تمرین استقامتی، بیان ژن ERR α به طور قابل توجهی در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی افزایش یافت که می‌توان این عامل را در بهره‌وری انرژی در بافت‌هایی که به سطوح بالایی از انرژی به ویژه در طول دوره نیاز دارند، جستجو کرد. به علاوه، گزارش شده که تمرینات استقامتی بیان ژن PDK4 را افزایش می‌دهند و در نتیجه، گلیکوژن عضلانی را پس از تمرین جایگزین می‌کنند. همچنین، ورزش در حضور و عدم وجود ERR α ، بیان ژن PDK4 را افزایش می‌دهد (امینی زاده و دیگران، ۲۰۲۱). از طرف دیگر، نشان داده شده که برنامه‌های تمرینی تناوبی در مقایسه با تمرین‌های سنتی، تاثیرگذاری زیادتری در استفاده از ظرفیت قلبی - تنفسی دارند (بختیاری و دیگران، ۲۰۱۸). تمرین تناوبی با شدت بالا^۲ (HIIT)، تناوب‌های بار کاری خیلی شدید و استراحتی کم شدت دارند. بنابراین، HIIT می‌تواند محرک تمرینی شدیدی باشد که در اثر آن، حداکثر ظرفیت هوازی افزایش می‌یابد. HIIT منجر به افزایش VO_{2max} ، حداکثر ضربان قلب، افزایش بیان ناقل‌های گلوکز، آنزیم‌های اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش هورمون‌های آنابولیکی می‌شود (هویدال^۳ و دیگران، ۲۰۰۷). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تمرینات تناوبی و محدودیت کالری می‌توانند از طریق بهبود متابولیسم گلوکز و چربی‌ها، منجر به بهبود ظرفیت متابولیکی عضله اسکلتی و بافت چربی شوند (هوآنگ^۴ و دیگران، ۲۰۱۶). همچنین در تحقیق دیگری بکارگیری همزمان تمرینات تناوبی و محدودیت کالریک، توانسته آمادگی قلبی - تنفسی و شاخص‌های خطر مرتبط با سندرم‌های متابولیک را بهبود بخشد (رینا^۵ و دیگران، ۲۰۲۰).

مطالعات پیشین ارتباط عوامل SIRT1، ERR α و PDK4 را در مسیرهای تولید انرژی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌هایی مانند عضله اسکلتی مورد بررسی قرار داده‌اند، اما مطالعات کمی تغییر این عوامل را به همراه محدودیت کالریک همراه با فعالیت ورزشی بررسی کرده‌اند. از آنجایی که غذاهای چرب بیشترین تاثیر منفی را بر بافت کبد

1. Huang

2. High intensity interval training

3. Hoydal

4. Huang

5. Rina

6. Chen

متر در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه تمرین کردند. پروتکل HIIT در جدول یک قابل مشاهده است (بختیاری و دیگران، ۲۰۲۰؛ زار علی و اعتماد، ۲۰۱۸). برای محاسبه VO_{2max} از سرعت بیشینه (V_{max}) استفاده شد و آزمون فزاینده با افزایش تدریجی سرعت (۰/۳ متر در دقیقه) تا زمان رسیدن به واماندگی موش ادامه یافت (امینی زاده و دیگران، ۲۰۲۱) و سپس سطح لاکتات با استفاده از لاکتومتر اندازه‌گیری شد (شرکت اسکات لاکتات، کد: ۳۷، آلمان) و مقادیر بالاتر از شش میلی مول بر لیتر به عنوان شاخص تمرین با شدت بالا در نظر گرفته شد و نهایتاً، VO_{2max} محاسبه شد (لونبرو^۳، ۲۰۱۹). هر دو هفته یکبار شدت تمرینی با توجه به نتایج آزمون فزاینده و اندازه‌گیری لاکتات، باز طراحی شد. تناوب‌های استراحت در پروتکل تمرینی دو دقیقه استراحت فعال و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه بود.

آشناسازی با محیط، مقدار غذای روزانه موش‌های صحرایی هر گروه محاسبه و در گروه‌های با محدودیت کالریک، ۵۰ درصد میزان غذای مصرفی به حیوانات داده شد (سیویتارآز^۱ و دیگران، ۲۰۰۷). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات با تزریق زایلازین و کتامین بیهوش شده و بافت کبد آن‌ها استخراج گردید؛ سپس در نیتروژن مایع گذاشته شد و برای نگهداری به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه منتقل گردید.

پروتکل HIIT: موش‌ها به مدت دو هفته با نحوه دویدن روی نوارگردان (ساخت شرکت تجهیز گستر ایرانیان) آشنا شدند. در مطالعه حاضر، پروتکل HIIT به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه در گروه‌های HIIT، رژیم پر چرب با محدودیت کالریک + HIIT و گروه رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT انجام شد. در طی آشنا سازی، موش‌ها به مدت دو هفته روی نوارگردان با سرعت ۱۵

جدول ۱. جزئیات پروتکل HIIT

پروتکل تمرینی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
شدت تمرین	۸۰-۹۰ درصد	۸۰-۹۰ درصد	۸۰-۹۵ درصد	۸۰-۹۵ درصد	۹۰-۱۰۰ درصد	۹۰-۱۰۰ درصد	۹۰-۱۰۰ درصد	۹۰-۱۰۰ درصد
	V_{max}	V_{max}	V_{max}	V_{max}	V_{max}	V_{max}	V_{max}	V_{max}
تعداد تناوب	۱۲	۱۶	۱۷	۱۷	۱۸	۲۰	۲۰	۲۰

هر نمونه با دستگاه ABI Step One Plus ۴۰ سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه و ۶۱ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه انجام شد. همچنین تجزیه و تحلیل منحنی ذوب توسط دستگاه انجام شد. وجود نوارهای خاص با الکتروفورز ژل آگارز (ژل آگارز ۲٪، ۹۵ ولت) تایید شد. جدول دو توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد. سطح بیان نسبی هر ژن با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تعیین شد و 18S به عنوان کنترل داخلی استفاده شد (لانوین^۴ و دیگران، ۲۰۰۷).

روش Real-Time PCR: به منظور استخراج RNA تام، حدود ۲۵-۵۰ میلی گرم از بافت کبد برداشته شد و استخراج RNA با استفاده از کیت سیناکلون طبق پروتکل کیت انجام شد. cDNA از ۵۰۰ نانوگرم RNA کل توسط کیت Prime Script RT برای PCR (Parstous) مطابق دستورالعمل کیت سنتز شد. واکنش Real-time PCR (۲۰ میکرولیتر) حاوی 2X RealQ Plus و Master Mix Green High ROX، پرایمرهای ژن هدف، آب و ۱۰۰ نانوگرم از cDNA بود. واکنش‌های Real-Time PCR برای

جدول ۲. توالی پرایمرها

ژن	پرایمر رفت	پرایمر برگشت
SIRT1	CGGGGTACCTATGCTATGAACAATGGAAC	CCGCTCGAGTTGCCTGTTCAGGATTTGGT
ERR α	AGCGCCTCTGCCTGGTCTGT	GATGAGAAGCCTGGGATGCTCTTGG
PDK4	AAGCCCTGATGGACACCTC	GAAGCCTGGGATGCTCTTG
18S	GCAATTATTCCCCATGAACG	GGCCTCACTAAACCATCCAA

1. Civitarese

3. Lonbro

2. Lactate Scout company/code: 37, Germany

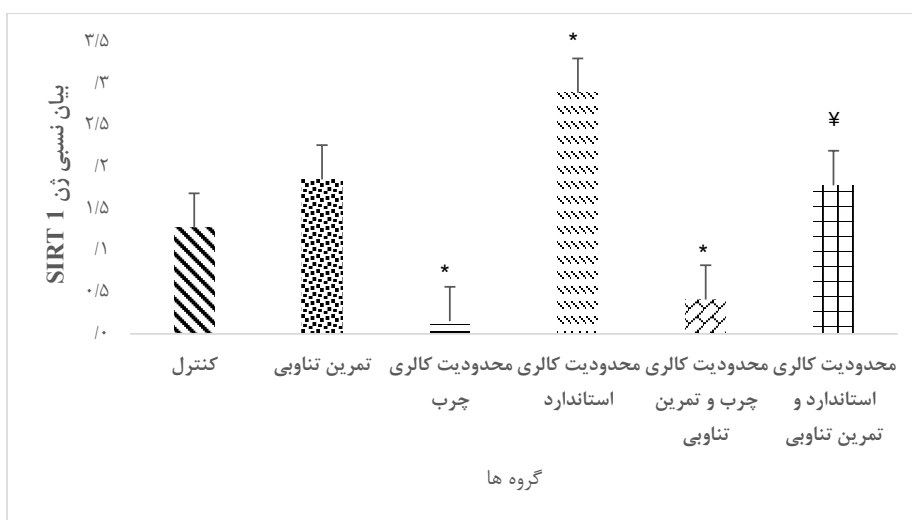
4. Lanvin

چرب با محدودیت کالریک به تنهایی و توامان با HIIT، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن SIRT1 در بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل می شود (به ترتیب با $p=0/009$ ، $p=0/001$). در مقابل، رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن هدف در بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل شد ($p=0/001$). همچنین، در گروه رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT، میزان بیان ژن SIRT1 در مقایسه با گروه غذای استاندارد با محدودیت کالریک، به طور معنی داری کاهش یافت ($p=0/001$) (شکل یک).

روش های تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. پس از بررسی توزیع طبیعی داده ها با آزمون شاپیرو-ویلک^۱ و آزمون فرض برابری واریانس با آزمون لون^۲، برای مقایسه بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۳ و در صورت لزوم، آزمون تعقیبی توکی^۴ استفاده شد و سطح معنی داری $p<0/05$ منظور گردید.

یافته ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که HIIT به تنهایی بر بیان ژن SIRT1 در بافت کبد تاثیر معنی داری ندارد ($p=0/07$)؛ اما غذای



شکل ۱. مقایسه بیان نسبی ژن SIRT1 در گروه های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $p<0/05$ ؛ † نشانه تفاوت معنی دار با گروه محدودیت کالریک استاندارد $p<0/05$ ؛ ‡ نشانه تفاوت معنی دار با گروه محدودیت کالریک استاندارد $p<0/05$.

معنی داری افزایش داد ($p=0/002$) (شکل دو). از طرف دیگر، بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی، هشت هفته رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن PDK4 نسبت به گروه کنترل شد ($p=0/002$)؛ در حالی که هشت هفته رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT، منجر به کاهش معنی دار بیان ژن PDK4 نسبت به گروه رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک گردید ($p=0/044$) (شکل سه).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که HIIT با افزایش بیان

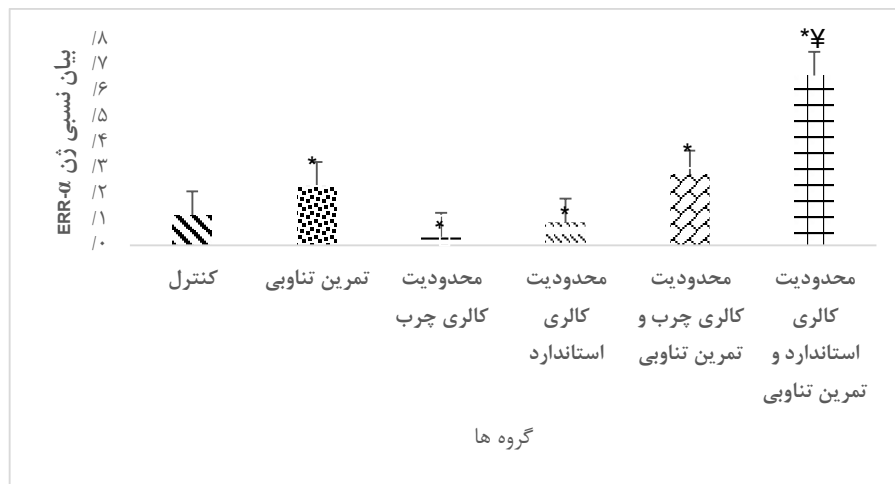
نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که هشت هفته رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن $ERR\alpha$ نسبت به گروه کنترل در بافت کبد شد ($p=0/16$). همچنین، هشت هفته رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک + HIIT، منجر به افزایش معنی دار بیان ژن $ERR\alpha$ نسبت به گروه HIIT شد ($p=0/001$). هشت هفته رژیم غذایی چرب با محدودیت کالریک نیز منجر به کاهش معنی دار بیان ژن $ERR\alpha$ در مقایسه با گروه کنترل گردید ($p=0/001$)؛ اما غذای پر چرب با محدودیت کالریک + HIIT میزان بیان ژن هدف را در بافت کبد به طور

1. Shapiro-Wilk test

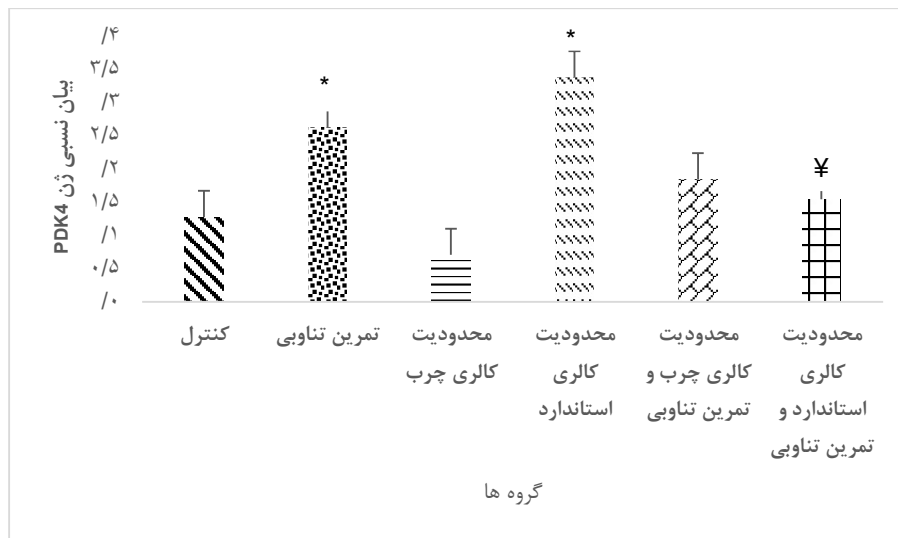
2. Levene test

3. One-way ANOVA

4. Tukey test



شکل ۲. مقایسه بیان ژن ERR-α در گروه های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$; † نشانه تفاوت معنی دار با گروه محدودیت کالری استاندارد $p < 0.05$.



شکل ۳. مقایسه بیان ژن PDK4 در گروه های مورد مطالعه. * نشانه تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$; † نشانه تفاوت معنی دار با گروه محدودیت کالری استاندارد $p < 0.05$.

فعال کننده رونویسی PGC-1α ژن بالا دستی ERRα محسوب می شود و یک تنظیم کننده اصلی بیوژنز میتوکندری است (اسکارپولا^۱، ۲۰۰۸). مطالعات نقش کلیدی ERRα را در هموستاز کبدی نشان داده اند (ژیا^۲ و دیگران، ۲۰۱۹). محدودیت کالری می تواند بیان ژن هایی که پروتئین های دخیل در بیوژنز میتوکندریایی را در عضله اسکلتی انسان رمزگذاری می کنند، افزایش دهد (سیویتارز^۳ و دیگران، ۲۰۰۷؛ مرکن^۴ و دیگران، ۲۰۱۳). از بدن در برابر هیپوگلیسمی در طول دوره های محرومیت

ژن ERRα و بالطبع، بهبود فرآیند گلوکونئوژنز کبدی، اثر خود را برجای می گذارد. به علاوه، محدودیت کالریک زمانی که با HIIT ترکیب شود، می تواند با بیش تنظیمی بیان ERRα، بهبود بیشتری در فرآیند گلوکونئوژنز کبدی ایجاد نماید. از طرف دیگر، مشخص گردید که محدودیت کالریک، غذای استاندارد و تمرین می توانند منجر به بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی کبد با بیش تنظیمی بیان SIRT1 شوند، اما به طور جالبی، رژیم غذایی چرب حتی اگر با محدودیت کالریک همراه شود، اثر منفی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت کبد خواهد داشت.

1. Scarpulla
2. Xia

3. Civitarese
4. Mercken

دیگران، ۲۰۰۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رژیم غذایی پر چرب اثرات منفی خود را حتی در شرایط محدودیت کالریک القا می کند، به طوری که محدودیت کالریک در صورت داشتن رژیم غذایی پر چرب، نسبت به داشتن رژیم غذایی استاندارد، کاهش معنی داری بر بیان ژن SIRT1 در بافت کبد دارد و حتی در گروه رژیم پر چرب و HIIT، با وجود حساسیت بالای ژن SIRT1 به کمبود کالری و شدت تمرین (وانگ^{۱۵}، ۲۰۱۴)، افزایش معنی داری در بیان این ژن مشاهده نشد. در پژوهش حاضر، رژیم غذایی استاندارد با محدودیت کالریک، منجر به افزایش بیان SIRT1 شد و در تحقیق مشابه دیگر، لیماس^{۱۶} و دیگران (۲۰۱۵) نتایج مشابهی به دست آورده و نشان داده اند که محدودیت کالری می تواند بیان ژن SIRT1 را با افزایش نسبت NAD⁺/NADH فعال کند و در نتیجه، تکثیر و تمایز سلولی، سنتز و تخریب پروتئین، آپوپتوزیس، التهاب، پیری و سایر فرآیندهای فیزیولوژیک را تنظیم نماید.

عامل PDK4 به عنوان یک سوئیچ متابولیکی عمل می کند و استفاده از سوبسترا را به نفع اسیدهای چرب در شرایط فیزیولوژیک که غلظت اسیدهای چرب بالا می رود و انسولین کاهش می یابد، تغییر می دهد (ماجر^{۱۷} و دیگران، ۱۹۹۸). در تحقیق حاضر، با اعمال رژیم غذایی استاندارد، میزان بیان این ژن به طور چشم گیری در بافت کبد افزایش یافت که خود نشان دهنده افزایش سهم چربی ها در فرآیند های متابولیکی است؛ اما در رژیم غذایی پر چرب میزان بیان این ژن با کاهش همراه بود که به نوعی نشان دهنده اثر منفی غذای چرب همراه با محدودیت کالریک بر انعطاف پذیری متابولیکی است. همچنین، کمپلکس پیرووات دهیدروژناز^{۱۸} (PDC) در کبد موش های حذفی PDK4 که با رژیم غذایی پر چرب تغذیه می شوند، فعالیت کمتری دارد که نشان دهنده نقش مهم PDK4 در انعطاف پذیری متابولیکی می باشد (جنونگ^{۱۹} و دیگران، ۲۰۰۸)؛ اما رژیم غذایی چرب محتوای پروتئین PDK4

از غذا و در برابر سطوح بالا کربوهیدرات محافظت می کند و در حالت ناشتا و محدودیت کالریک، گلوکونوژنز اهمیت بیشتری پیدا می کند (نوردیل^۱ و دیگران، ۱۹۹۲؛ پیلکس^۲ و دیگران، ۱۹۹۲). مطالعات نشان می دهد که ژن PGC-1 توسط cAMP و گلوکوکورتیکوئیدها با ناشتا بودن و سایر حالت های کمبود نسبی انسولین به شدت در کبد القا می شود و متعاقب آن، PGC-1 بیان ژن های کلیدی مسیر گلوکونوژنیک را در سلول های کبدی تحریک می کند (یوون^۳، ۲۰۰۱). در پژوهش حاضر نیز میزان بیان ژن ERR α متعاقب محدودیت کالریک طولانی، به جهت القا بیشتر گلوکونوژنز، افزایش یافت؛ تغییراتی که نشان دهنده اثر مثبت این نوع رژیم غذایی بر بهبود احتمالی عملکرد کبد در شرایط محدودیت کالریک می باشد.

فعال شدن SIRT1، نقش کلیدی این عامل را در کنترل متابولیک در سطوح سلولی و بافتی، از طریق تاثیر بر عوامل رونویسی پاسخگو به استرس، تنظیم کننده ها و آنزیم ها نشان می دهد (اسچور^۴ و دیگران، ۲۰۰۸). فعال سازی ژن SIRT1 می تواند با کاهش استرس اکسیداتیو، در جلوگیری از پیری اندوتلیال و بیوژنز میتوکندری نقش داشته باشد (ماناگاجاسینگو^۵ و دیگران، ۲۰۱۰؛ چین^۶ و دیگران، ۲۰۱۰؛ زو^۷ و دیگران، ۲۰۱۰؛ السودور^۸ و دیگران، ۲۰۱۰). اهداف ژن SIRT1 متنوع هستند (به عنوان مثال PGC1- α و ...) (هاگاشیدا^۹ و دیگران، ۲۰۱۶؛ دمنینگو^{۱۰} و دیگران، ۲۰۱۳) و تغییرات آن ها منجر به فرآیند های مختلف در سلول از جمله، آپوپتوزیس^{۱۱}، استرس اکسیداتیو، بیوژنز میتوکندری و پاسخ التهابی می شود (مندس^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۷). افزایش مصرف یک رژیم غذایی پر چرب می تواند منجر به تولید بیشتر گونه های فعال اکسیژن (ROS) یا تجمع بیشتر چربی در کبد شود و توانایی آن در تنظیم هموستاز انرژی بدن را به خطر بیندازد (دوبریان^{۱۳} و دیگران، ۲۰۰۱) و بیش تنظیمی SIRT1 در بافت هدف، از آسیب ناشی از رژیم غذایی پر چرب محافظت می کند (پیفلوگر^{۱۴} و

1. Nordlie

2. Pilkis

3. Yoon

4. Schwer

5. Mattagajasingh

6. Chen

7. Zu

8. Alcendor

9. Higashida

10. De mingo

11. Apoptosis

12. Mendes

13. Dobrian

14. Pfluger

15. Wang

16. Lima

17. Majer

18. Pyruvate dehydrogenase complex

19. Jeong

ژن $ERR\alpha$ در کبد در پاسخ به HIIT به طور معنی داری افزایش می یابد که موید سازگاری ایجاد شده در جهت بهبود گلوکونئوژنز کبدی می باشد. همچنین کاهش بیان ژن SIRT1 در پاسخ به محدودیت کالریک و رژیم غذایی پر چرب نشان دهنده اثرات منفی رژیم غذایی پر چرب حتی در شرایط محدودیت کالریک، بر بافت کبد است. اگر محدودیت کالریک و رژیم غذایی استاندارد با تمرین تناوبی ترکیب شود، می تواند اثر گذاری بیشتری را در بیان ژن PDK4 نسبت به محدودیت کالری رژیم غذایی استاندارد به تنهایی داشته باشد. در نتیجه، ترکیب HIIT با محدودیت کالریک رژیم غذایی استاندارد می تواند منجر به بهبود بیشتری در هموستاز انرژی و انعطاف پذیری متابولیکی در کبد شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

از پرسنل مرکز تحقیقات فیزیولوژی کرمان به جهت همکاری بی دریغ شان در انجام طرح تحقیقاتی حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

فعالیت کلی PDK را در افراد لاغر پس از یک روز به طور قابل توجهی افزایش می دهد (پیترز^۱ و دیگران، ۲۰۰۱) و mRNA PDK4 در افراد لاغر، پس از یک رژیم غذایی پنج روزه با ۶۰ درصد چربی افزایش می یابد (بویل^۲ و دیگران، ۲۰۱۱). در گروه های تمرینی، با توجه به این که آنزیم PDK4 تحت تأثیر تمرین است، HIIT بیشتر نقش تعدیل کنندگی را در میزان بیان ژن، هم در محدودیت کالریک با رژیم پر چرب و هم محدودیت کالریک با رژیم استاندارد ایفا می کند و به نوعی، سطوح بیان ژن را در سطح طبیعی حفظ می نماید. در تحقیق حاضر، میزان بیان پروتئین ها مورد سنجش قرار نگرفت و با توجه به این که بررسی مسیرهای سیگنالی مرتبط با عوامل اندازه گیری شده می تواند دید روشن تری در مورد اثر محدودیت کالریک بر بافت کبد داشته باشد، پیشنهاد می شود که مسیرهای سیگنالی به صورت جزئی تر مورد بررسی قرار گیرند. بیان پروتئین ها نیز جهت اثبات تغییرات سنجش شوند و هم چنین اثر محدودیت کالریک بر سایر بافت های مهم در انجام فعالیت بدنی، مانند عضله اسکلتی و بافت قلب نیز مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان

منابع

- Alcendor, R.R., Gao, S., Zhai, P., Zablocki, D., Holle, E., Yu, X., ... & Sadoshima, J. (2007). Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circulation Research*, 100(10), 1512-1521. <http://dx.doi.org/10.1161/01.res.0000267723.65696.4a>
- Aminizadeh, S., Habibi, A., Masoumi-Ardakani, Y., Shahouzehi, B., Marefati, H., & Shakerian, S. (2021). The role of estrogen-related receptor α ($ERR\alpha$) in metabolic adaptations by endurance training in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Sport Sciences for Health*, 17(3), 585-596. <http://dx.doi.org/10.1007/s11332-020-00714-7>
- Bakhtiyari, A., Gaeini, A., Chobineh, S., Kordi, M.R., & Hedayati, M. (2018). Effect of 12-week high-intensity interval training on SIRT1, PGC-1 α and $ERR\alpha$ protein expression in aged rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*, 5(2), 95-102. <http://dx.doi.org/10.22049/JASSP.26555.1223>.
- Billat, L.V. (2001). Interval training for performance: a scientific and empirical practice. *Sports Medicine*, 31(1), 13-31. <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-200131010-00002>
- Boyle, K., Canham, J., Consitt, L., Zheng, D., Koves, T., Gavin, T., ... & Muoio, D. (2011). A high-fat diet elicits differential responses in genes coordinating oxidative metabolism in skeletal muscle of lean and obese individuals. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(3), 775-781. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2010-2253>

- <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2010-2253> Chen, Z., Peng, I.C., Cui, X., Li, Y.S., Chien, S., & Shyy, J.Y. (2010). Shear stress, SIRT1, and vascular homeostasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(22), 10268-10273. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1003833107>
- Chen, J., Lin, Y., Li, T., Zhu, H., Huang, F., Yang, C., & Guo, F. (2022). Calorie restriction on normal body weight mice prevents body weight regain on a follow-up high-fat diet by shaping an obesity-resistant-like gut microbiota profile. *Food & Function*, 13(14), 7684-96. <http://dx.doi.org/10.1039/d1fo04358g>
- Cho, Y., Hazen, B.C., Russell, A.P., & Kralli, A. (2013). Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 (PGC-1)-and estrogen-related receptor (ERR)-induced regulator in muscle 1 (Perm1) is a tissue-specific regulator of oxidative capacity in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288(35), 25207-25218. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m113.489674>
- <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m113.489674> Civitarese, A.E., Carling, S., Heilbronn, L.K., Hulver, M.H., Ukropcova, B., Deutsch, W.A., ... & Ravussin, E. (2007). Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Medicine*, 4(3), e76. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0040076>
- Corbi, G., Conti, V., Scapagnini, G., Filippelli, A., & Ferrara, N. (2012). Role of sirtuins, calorie restriction and physical activity in aging. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 4(2), 768-778. <http://dx.doi.org/10.2741/e417>
- Davis R.A.H., Halbrooks J.E., Watkins E.E., Fisher G., Hunter G.R., & Nagy T.R. (2017). High-intensity interval training and calorie restriction promote remodeling of glucose and lipid metabolism in diet-induced obesity. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 313(2), 243-256. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00445.2016>
- De Mingo, Á., De Gregorio, E., Moles, A., Tarrats, N., Tutusaus, A., Colell, A., ... & Marí, M. (2016). Cysteine cathepsins control hepatic NF- κ B-dependent inflammation via sirtuin-1 regulation. *Cell Death & Disease*, 7(11), 2464-2464. <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2016.368>
- <http://dx.doi.org/10.1038/cddis.2016.368> Dobrian, A.D., Davies, M.J., Schriver, S.D., Lauterio, T.J., & Prewitt, R.L. (2001). Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension*, 37(2), 554-560. <http://dx.doi.org/10.1161/01.hyp.37.2.554>
- Fontana, L., Partridge, L., & Longo, V.D. (2010). Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*, 328(5976), 321-326. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1172539>
- Heydari, H., Ghiasi, R., Hamidian, G., Ghaderpour, S., & Keyhanmanesh, R. (2021). Voluntary exercise improves sperm parameters in high fat diet receiving rats through alteration in testicular oxidative stress, mir-34a/SIRT1/p53 and apoptosis. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 42(3), 253-263. <http://dx.doi.org/10.1515/hmbci-2020-0085>
- Higashida, K., Kim, S.H., Jung, S.R., Asaka, M., Holloszy, J.O., & Han, D.H. (2013). Effects of resveratrol and SIRT1 on PGC-1 α activity and mitochondrial biogenesis: a reevaluation. *PLoS Biology*, 11(7), 1001603. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1001603>
- Høydal, M.A., Wisløff, U., Kemi, O.J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology*, 14(6), 753-760. <http://dx.doi.org/10.1097/hjr.0b013e3281eacef1>

- Huang, C.C., Wang, T., Tung, Y.T., & Lin, W.T. (2016). Effect of exercise training on skeletal muscle SIRT1 and PGC-1 α expression levels in rats of different age. *International Journal of Medical Sciences*, 13(4), 260. <http://dx.doi.org/10.7150/ijms.14586>
- Huss, J.M., Torra, I.P., Staels, B., Giguere, V., & Kelly, D.P. (2004). Estrogen-related receptor α directs peroxisome proliferator-activated receptor α signaling in the transcriptional control of energy metabolism in cardiac and skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biology*, 24(20), 9079-9091. <http://dx.doi.org/10.1128/mcb.24.20.9079-9091.2004>
- Jeoung, N.H., & Harris, R.A. (2008). Pyruvate dehydrogenase kinase-4 deficiency lowers blood glucose and improves glucose tolerance in diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(1), 46-54. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00536.2007>
- Lanvin, O., Bianco, S., Kersual, N., Chalbos, D., & Vanacker, J.M. (2007). Potentiation of ICI182, 780 (Fulvestrant)-induced estrogen receptor- α degradation by the estrogen receptor-related receptor- α inverse agonist XCT790. *Journal of Biological Chemistry*, 282(39), 28328-28334. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m704295200>
- Leite A.B., Lima H.N., de Oliveira Flores C., Oliveira C.A., Cunha L.E.C., ... & Neves J.L. (2021). High-intensity interval training is more effective than continuous training to reduce inflammation markers in female rats with cisplatin nephrotoxicity. *Life Sciences*, 266,118880. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118880>
- Lønbro, S., Wiggins, J.M., Wittenborn, T., Elming, P.B., Rice, L., Pampo, C., ... & Horsman, M.R. (2019). Reliability of blood lactate as a measure of exercise intensity in different strains of mice during forced treadmill running. *Plos One*, 14(5), 0215584. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0215584>
- Lozano, I., Van der Werf, R., Bietiger, W., Seyfritz, E., Peronet, C., Pinget, M., ... & Sigrist, S. (2016). High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition & Metabolism*, 13(1), 1-13. <http://dx.doi.org/10.1186/s12986-016-0074-1>
- Ma, L., Dong, W., Wang, R., Li, Y., Xu, B., Zhang, J., ... & Wang, Y. (2015). Effect of caloric restriction on the SIRT1/mTOR signaling pathways in senile mice. *Brain Research Bulletin*, 116, 67-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.06.004>
- Ma, W.Q., Sun, X.J., Zhu, Y., & Liu, N.F. (2020). PDK4 promotes vascular calcification by interfering with autophagic activity and metabolic reprogramming. *Cell Death & Disease*, 11(11), 1-23. <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-020-03162-w>
- Majer, M., Popov, K.M., Harris, R.A., Bogardus, C., & Prochazka, M. (1998). Insulin downregulates pyruvate dehydrogenase kinase (PDK) mRNA: potential mechanism contributing to increased lipid oxidation in insulin-resistant subjects. *Molecular Genetics and Metabolism*, 65(2), 181-186. <http://dx.doi.org/10.1006/mgme.1998.2748>
- Mattagajasingh, I., Kim, C.S., Naqvi, A., Yamamori, T., Hoffman, T.A., Jung, S.B., ... & Irani, K. (2007). SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(37), 14855-14860. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0704329104>
- Mattson, M.P. (2005). Energy intake, meal frequency, and health: a neurobiological perspective. *Annual Review of Nutrition*, 25, 237. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.050304.092526>
- McCay, C.M., Crowell, M.F., & Maynard, L.A. (1935). The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size: one figure. *The Journal of Nutrition*, 10(1), 63-79. <http://dx.doi.org/10.1093/jn/10.1.63>

- Mendes, K.L., de Farias Lelis, D., & Santos, S.H.S. (2017). Nuclear sirtuins and inflammatory signaling pathways. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 38, 98-105. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2017.11.001>
- Mercken, E.M., Crosby, S.D., Lamming, D.W., JeBailey, L., Krzysik-Walker, S., Villareal, D.T., ... & Becker, K. (2013). Calorie restriction in humans inhibits the PI 3 K/AKT pathway and induces a younger transcription profile. *Aging Cell*, 12(4), 645-651. <http://dx.doi.org/10.1111/ace1.12088>
- Nikroo, H., Attarzadeh Hosseini, S.R., Fathi, M., Sardar, M.A., & Khazaei, M. (2020). The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR- α , SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-induced NAFLD male rats. *Physiology & Behavior*, 227, 113149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113149>
- Nordlie, R.C., Foster, J.D., & Lange, A.J. (1999). Regulation of glucose production by the liver. *Annual Review of Nutrition*, 19, 379. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.nutr.19.1.379>
- Parnow, A., Gharakhanlou, R., Gorginkaraji, Z., Rajabi, S., Eslami, R., Hedayati, M., & Mahdian, R. (2012). Effects of endurance and resistance training on calcitonin gene-related peptide and acetylcholine receptor at slow and fast twitch skeletal muscles and sciatic nerve in male wistar rats. *International Journal of Peptides*, 2012(2012), 962651. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/962651>
- Peters, S.J., Harris, R.A., Wu, P., Pehleman, T.L., Heigenhauser, G.J., & Spriet, L.L. (2001). Human skeletal muscle PDH kinase activity and isoform expression during a 3-day high-fat/low-carbohydrate diet. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 281(6), 1151-1158. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.2001.281.6.e1151>
- Pfluger, P.T., Herranz, D., Velasco-Miguel, S., Serrano, M., & Tschöp, M.H. (2008). Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(28), 9793-9798. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0802917105>
- Pilegaard, H., & Neufer, P.D. (2004). Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in skeletal muscle during and after exercise. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(2), 221-226. <http://dx.doi.org/10.1079/pns2004345>
- Pilkis, S.J., & Granner, D. (1992). Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annual Review of Physiology*, 54(1), 885-909. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.54.1.885>
- Rina S., & Tomoaki M. (2020). Effects of using high-intensity interval training and calorie restriction in different orders on metabolic syndrome: A randomized controlled trial. *Nutrition*, 75, 110666. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2019.110666>
- Rizza, W., Veronese, N., & Fontana, L. (2014). What are the roles of calorie restriction and diet quality in promoting healthy longevity? *Ageing Research Reviews*, 13, 38-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2013.11.002>
- Scarpulla, R.C. (2008). Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiological Reviews*, 88(2), 611-638. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00025.2007>
- Schwer, B., & Verdin, E. (2008). Conserved metabolic regulatory functions of sirtuins. *Cell Metabolism*, 7(2), 104-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2007.11.006>
- Teng, C.T., Hsieh, J.H., Zhao, J., Huang, R., Xia, M., Martin, N., ... & Witt, K.L. (2017). Development of novel cell lines for high-throughput screening to detect estrogen-related receptor alpha modulators. *Stem Cell Discovery: Advancing Life Sciences*

R&D, 22(6), 720-731. <http://dx.doi.org/10.1177/2472555216689772>

Wang, X., Yang, J., Lu, T., Zhan, Z., Wei, W., Lyu, X., ... & Xue, X. (2020). The effect of swimming exercise and diet on the hypothalamic inflammation of ApoE-/-mice based on SIRT1-NF-kB-GnRH expression. *Aging (Albany NY)*, 12(11), 11085. <http://dx.doi.org/10.18632/aging.103323>

Wang, Y. (2014). Molecular links between caloric restriction and Sir2/SIRT1 activation. *Diabetes & Metabolism Journal*, 38(5), 321-329. <http://dx.doi.org/10.4093/dmj.2014.38.5.321>

Wende, A.R., Huss, J.M., Schaeffer, P.J., Giguere, V., & Kelly, D.P. (2005). PGC-1 α coactivates PDK4 gene expression via the orphan nuclear receptor ERR α : a mechanism for transcriptional control of muscle glucose metabolism. *Molecular and Cellular Biology*, 25(24), 10684-10694. <http://dx.doi.org/10.1128/mcb.25.24.10684-10694.2005>

Xia, H., Dufour, C.R., & Giguère, V. (2019). ERR α as a bridge between transcription and function: role in liver metabolism and disease. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 216. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2019.00206>

Yoon, J.C., Puigserver, P., Chen, G., Donovan, J., Wu, Z., Rhee, J., ... & Granner, D.K. (2001). Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*, 413(6852), 131-138. <http://dx.doi.org/10.1038/35093050>

Zarali, M., Etemad, Z., Azizbeigi, K., & Karimi, P. (2020). Effect of 8 Weeks of High Intensity Interval Training (HIIT) With and Without Calorie Restriction on Gene Expression of Caspase-3 and Caspase-9 Proteins in Male Rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, 23(3), 300-313. <http://dx.doi.org/10.32598/jams.23.3.5960.1>

Zu, Y., Liu, L., Lee, M. Y., Xu, C., Liang, Y., Man, R.Y., ... & Wang, Y. (2010). SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells. *Circulation Research*, 106(8), 1384-1393. <http://dx.doi.org/10.1161/circresaha.109.215483>