

تأثیر فعالیت ورزشی هوازی بر بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ و $FNDC5$ در رت‌های نر دیابتی

موسی خلفی^{۱*} - علی اصغر رواسی^۲ - رحمان سوری^۳ - محمد مرادی^۴

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران ۲.
استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۳. دانشیار فیزیولوژی
ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۴. دانشجوی دکتری فیزیولوژی، دانشکده
تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۷/۰۲/۱۳۹۴، تاریخ تصویب: ۱۹/۰۵/۱۳۹۴)

چکیده

تغییر فنوتیپ بافت چربی بر اثر تمرین تئوری جدیدی است که احتمالاً در نتیجه بیان ژن $FNDC5$ عضلانی ایجاد می‌شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر فعالیت ورزشی هوازی بر بیان ژن‌های $PGC-1\alpha$ و $FNDC5$ رت‌های نر دیابتی است. در این مطالعه ۱۸ سر رت نر دیابتی (۱۲ هفته سن و با وزن ۲۲۰-۲۴۰ گرم) به ۳ گروه تقسیم شدند: بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE_0) (۶سر)، ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE_2) (۶سر) و کنترل (C) (۵سر). هر دو گروه فعالیت ورزشی هوازی (AE) با سرعت $2max$ $65\% - 60\%$ به مدت ۴۰ دقیقه به فعالیت روی نوارگردان پرداختند. برای بررسی بیان نسبی mRNA ژن‌های $PGC-1\alpha$ و $FNDC5$ بافت عضلانی از روش Real time PCR استفاده شد. از آزمون ANOVA و تست تعقیبی توکی برای تحلیل داده‌ها استفاده و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که بین گروه‌های تحقیق در بیان ژن $PGC-1\alpha$ تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P \leq 0/01$). نتایج آزمون توکی نشان داد، بیان ژن $PGC-1\alpha$ در گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE_0) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P \leq 0/01$). با این حال، بین گروه‌های تحقیق در بیان ژن $FNDC5$ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/01$). بنابراین، نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت ورزشی هوازی علاوه بر بیان $PGC1-\alpha$ تأثیری بر بیان ژن $FNDC5$ در رت‌های نر دیابتی ندارد.

واژه‌های کلیدی

فعالیت ورزشی هوازی (AE)، بیان ژن، $PGC-1\alpha$ ، $FNDC5$ ، رت‌های نر دیابتی.

مقدمه

دیابت بیماری متابولیکی است که با افزایش غلظت گلوکز خون که ناشی از کمبود ترشح انسولین، مقاومت انسولینی و یا ترکیبی از هر دو مورد مشخص می‌شود (۴). دیابت بیماری مزمنی است که به سرعت در جهان در حال گسترش است و به عنوان یکی از علل مرگ و میر در بیشتر کشورها شناخته می‌شود (۱۳). برنامه‌های مداخله-ای در شیوه‌ی زندگی که می‌تواند ترکیبی از رژیم غذایی و فعالیت ورزشی باشد، راهکارهای درمانی موثری برای بهبود دیابت است (۶،۲۱). در واقع، برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی به تنهایی فواید بالینی مفیدی مانند: بهبود حساسیت انسولین، کاهش هموگلوبین گلیکوزیله و افزایش اکسیژن مصرفی دارد (۲۰،۲۸). از طرفی فعالیت ورزشی انرژی مصرفی بدن را افزایش می‌دهد (۱) که مکانیسم دقیق افزایش هزینه انرژی ناشی از ورزش به وضوح مشخص نیست.

عضله اسکلتی بزرگترین عضو در بدن انسان است و یافته‌ها در طول دهه‌ی گذشته نشان داده که به عنوان یک اندام اندوکراین فعال، پپتیدهایی موسوم به مایوکاین^۱ از خود آزاد می‌کند (۱۸). احتمالاً، مایوکاین‌ها اثرات متابولیکی مفیدی در ارتباطات بافتی بین عضله اسکلتی با سایر اندام‌های بدن مانند کبد و بافت چربی فراهم می‌کنند. فرض بر این است، فعالیت انقباضی عضله اسکلتی ترشح هورمون‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد که می‌تواند ارتباط بین فعالیت ورزشی و اثرات مفید تمرین باشد (۱۶،۱۷). در همین راستا، ایزرین به عنوان مایوکاین جدید به واسطه اثرات مفید فعالیت ورزشی بر متابولیسم به تازگی کشف شده که پس از پروتئولیز پروتئین غشایی FNDC5^۳ تولید می‌شود (۱). FNDC5 به طور عمده از

طریق PGC-1 α ^۳ تنظیم می‌شود. ایزرین از عضله به خون رها می‌شود و برخی اثرات مفید فعالیت ورزشی با ایجاد پروتئین UCP-1^۴ و پس از آن افزایش انرژی مصرفی در سلول‌های چربی سفید، فرایندی که قهوه‌ای شدن سلول‌های چربی نامیده می‌شود، را تحریک می‌کند (۱). ایزرین گیرنده‌های سطح سلولی دارد و باعث قهوه‌ای شدن بافت چربی زیرپوستی و همچنین چربی احشایی و سبب گرمایی در بدن می‌گردد، بنابراین انرژی مصرفی کل بدن را افزایش می‌دهد (۱۲). مطالعات بالینی نشان داده که چربی قهوه‌ای اثرات ضد دیابتی و ضد چاقی در مدل حیوانی اعمال می‌کند و همچنین با لاغری در انسان‌ها مرتبط است (۵،۱۷،۱۵). نتایج مطالعات دیگر نشان داده که بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ دارای سطوح ایزرین کمتر از افراد با تحمل گلوکز طبیعی است (۱۱،۳). تمرین هوازی باعث تغییر در فنوتیپ بافت چربی می‌شود که می‌تواند در نتیجه افزایش بیان ژن FNDC5 عضلانی و ایزرین باشد (۱). در همین راستا، بستروم^۵ و همکارانش (۲۰۱۲) افزایش ۳-۴ برابری ایزرین گردش را پس از ۱۰ هفته تمرین استقامتی گزارش کردند که منجر به بهبود در تحمل گلوکز در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب شده بود (۱). با این حال پیکالا^۶ و همکارانش (۲۰۱۳) تغییراتی در بیان ژن‌های FNDC5، PGC-1 α و ایزرین سرمی بعد از ۲۱ هفته تمرین استقامتی و نیز یک جلسه تمرین هوازی مشاهده نکردند (۱۹). تغییرات در PGC-1 α و ایزرین همواره با تغییرات FNDC5 همراه نیست، علاوه بر این، ایزرین و FNDC5 با تحمل گلوکز و چاقی

3 . Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

4 . Uncoupling protein 1

5 . Bostrom P

6 . Pekkala.s

1. Myokines

2 . Fibronectin type III domain-containing protein 5

۲۳۰ گرم به عنوان گروه پایلوت انتخاب شده و دیابت با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین (STZ)^۱ در آن‌ها القا شد و از آن‌ها برای بررسی‌های مقدماتی و بررسی قابلیت انجام پروتکل فعالیت ورزشی استفاده شد. پس از انجام مطالعه‌ی آزمایشی، نمونه‌ها به ۳ گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE₀)، ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE₂) و گروه کنترل (C) تقسیم شدند.

القاء دیابت.

دیابتی کردن حیوانات، پس از ۸ ساعت محرومیت از غذا، با تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین حل شده در بافر سدیم سیترات با pH=4.5 به مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم به روش درون صفاقی (IP) انجام شد. ۴۸ ساعت بعد از تزریق، رت‌ها مبتلا می‌شوند. برای تأیید دیابت، ۴ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده و قند خون بالای ۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۲).

پروتکل فعالیت ورزشی هوازی (AE)

یک هفته بعد از القای دیابت، رت‌ها با پروتکل فعالیت ورزشی آشنا شدند و در انتهای هفته، حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها اندازه‌گیری شد (۷) و رت‌ها با توجه به درصدی از حداکثر اکسیژن مصرفی (که به متر بر دقیقه تبدیل شد) فعالیت کردند. هر ۲ گروه فعالیت ورزشی هوازی (AE₀ و AE₂)، یک جلسه فعالیت ورزشی را اجرا کردند. فعالیت ورزشی مربوط به این گروه‌ها شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت پایین و سپس تمرین اصلی دویدن بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان با شدت ۶۰-۶۵ درصد VO_{2max} به مدت ۴۰ دقیقه بود که پس از اتمام تمرین اصلی ۵ دقیقه سرد کردن با شدت پایین

شدن و اختلالات متابولیسمی مرتبط نبود (۱۹). با علم به فواید تمرینات هوازی برای سلامتی و همچنین بهبود دیابت، شناخت سازوکار سلولی موثر بر نقش مفید فعالیت هوازی حائز اهمیت است. احتمالاً بخشی از این اثرات در نتیجه بیان ژن‌های PGC-1 α و FNDC5 ایجاد شود. با این حال مطالعات قبلی نتایج متضادی گزارش کرده‌اند و از طرفی بررسی در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی هوازی بر بیان ژن FNDC5 و PGC-1 α در نمونه‌های دیابتی صورت نگرفته است، به نحوی که بیان و فعالیت PGC-1 α در نمونه‌های دیابتی دچار تنظیم کاهشی می‌شود (۱۰). بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر یک جلسه تمرین هوازی با شدت متوسط بر FNDC5 و PGC-1 α در رت‌های نر دیابتی است.

روش تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل بود. ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار، با سن ۸ هفته و با محدوده وزنی ۱۸۰±۲۰ گرم از موسسه پاستور ایران خریداری شد و به حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران منتقل شدند که مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی نگهداری شدند. کلیه رت‌ها در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت نسبی ۵۰ درصد و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش، در قفس‌های ۴ تایی نگهداری شدند. پس از ۲ هفته آشنا سازی و سازگاری با محیط جدید، ۴ سر رت با دامنه وزنی ۲۰۰-

ازت مایع قرار داده شد و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

اندازه‌گیری بیان ژن

استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم عضله نعلی انجام گرفت. بافت با تیغ جراحی به قطعات ریز تبدیل کرده و در ۱ میلی‌لیتر محلول تریزول حل کرده و با دستگاه همگن‌کننده بافت هموژن شد. برای جدا سازی فاز آبی از ۲۰۰ میکروگرم کلروفرم استفاده شد. در ادامه مایع رویی را برداشته و به حجم آن ایزوپروپانول سرد به هدف خالص سازی RNA اضافه کرده و بعد از سانتریفوژ، رسوب شفاف انتهای تیوپ را با اتانول ۷۰٪ استریل شسته و در ۲۰ میکرولیتر آب تزریقی حل شد. برای سنجش کمی RNA از دستگاه بیوفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده بود. سنتز cDNA هم با استفاده از کیت thermo و بر اساس دستور شرکت سازنده انجام شد. جهت ارزیابی کمی بیان ژن‌های PGC-1 α و FNDC5 واکنش Real time-PCR بر روی cDNA های سنتز شده با استفاده از Amplicon 2x master mix انجام گرفته و از دستگاه ترموسایکلر step one با استفاده از برنامه زیر استفاده شد: ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در ۶۹ درجه سانتی‌گراد و ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد که واکنش از مرحله دوم به بعد ۴۰ بار تکرار شد. توالی پرایمرها مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. میزان بیان ژن‌های مورد نیاز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد.

داده شد. لازم به ذکر است که تمام شرایط زیستی برای گروه کنترل به جز پروتکل اصلی فعالیت ورزشی در روز آزمایش، شبیه گروه‌های تمرین بود.

به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم مانند دستگاه تجزیه و تحلیل گر گازهای تنفسی با توجه به پژوهش‌های انجام شده (هویدال و همکارانش، ۲۰۰۷) پروتکل غیر مستقیم ولی با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت (پایلوته‌ها انجام شده است). پژوهش‌ها نشان می‌دهند ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO_{2max} رت‌ها وجود دارد (۰/۹۴-۰/۹۸، $r=0.94$ ، $p < 0.05$). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن میزان VO_{2max} رت‌ها را بدست آورد (۷). همچنین، لازم به ذکر است که در این پژوهش از صدا برای ایجاد تحریک جهت انجام فعالیت ورزشی استفاده شد و از هیچ گونه شوک بادی یا تحریک الکتریکی به کار گرفته نشد

جمع آوری نمونه‌ها

برای جمع آوری نمونه‌ها، گروه AE₀ بلافاصله پس از فعالیت ورزشی و گروه AE₂ ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی با ترکیبی از داروی کتامین (۷۵ میلی-گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، قفسه‌ی سینه حیوان شکافته شده و خون به طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. سپس، عضله‌ی نعلی با دقت برداشته شده و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب منتقل و در

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

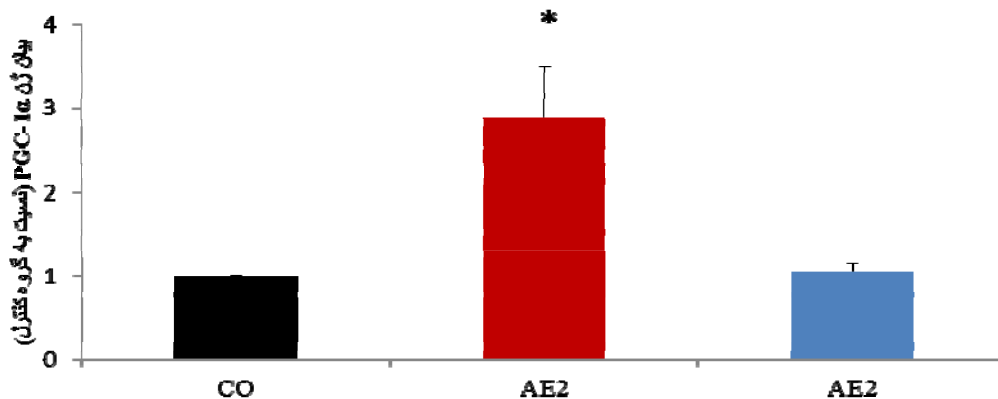
نام	توالی
FNDC5	F 5-GTCTCCCACCACCATCTT-3
FNDC5	R 5-TCTGTCTCTGAGTGTAGCCTTAGC-3
PGC-1 α	F 5-CACAACCGCAGTAACAT-3
PGC-1 α	R 5-GGAGGAGTCGTGGGAGGAGTTA-3

بیان ژن PGC-1 α در گروه بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE₀) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۱). با این حال در گروه ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی (AE₂) نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری در بیان ژن PGC-1 α وجود نداشت (P=۰/۹۶). میزان بیان آن‌ها در نمودار ۱ ارائه شده است. همچنین یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد، بیان ژن FNDC5 عضله‌ی نعلی، بین گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (F=۱/۴۷، P=۰/۲۶). میزان بیان آن در نمودار ۲ ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری (P \leq ۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از اینکه نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف اسمیرنوف (K-S) تأیید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین ۳ گروه تحقیق، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید.

نتایج و یافته‌های تحقیق

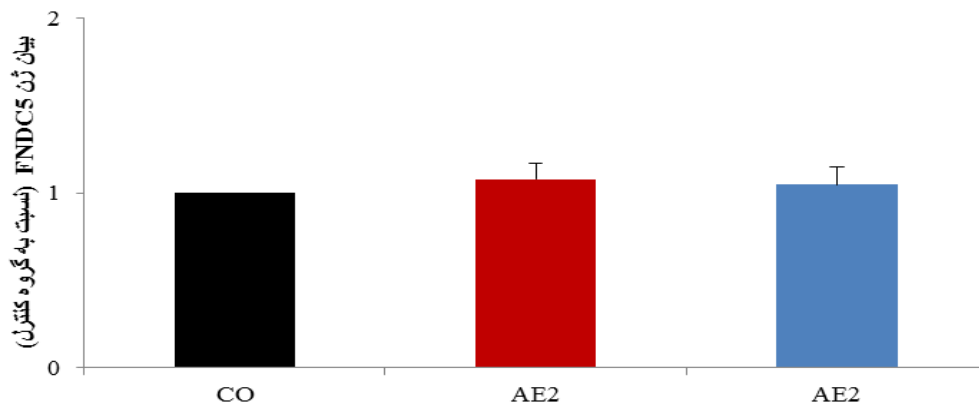
تحلیل داده‌ها مربوط به بیان ژن PGC-1 α عضله‌ی نعلی نشان داد که بین گروه‌های تحقیق، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (F=۴۵/۹۹، P=۰/۰۰۱). سطوح



شکل ۱. تغییرات بیان ژن PGC-1 α

* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل

CO: گروه کنترل. AE₀: بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی. AE₂: ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی



شکل ۲. تغییرات بیان ژن FNDC5

CO: گروه کنترل. AE₀: بلافاصله پس از فعالیت ورزشی هوازی. AE₂: ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر افزایش در بیان ژن PGC-1 α بلافاصله پس از فعالیت ورزشی را نسبت به گروه کنترل نشان داد. اما تغییرات بیان ژن FNDC5 عضله اسکلتی در پاسخ به فعالیت هوازی معنی‌داری نبود. PGC-1 α نقش اصلی را تنظیم متابولیسم انرژی سلولی را ایفا می‌کند (۱) و با اتصال به PPAR- γ ^۱ و تنظیم بیان ژن با بایوژنز میتوکندری و گرم‌زایی ناشی از سرما مرتبط شده است (۲۲). علاوه بر این، نقش مهمی در سوخت ساز اسیدهای چرب/اسیدهای آمینه، ترشح انسولین، حساسیت انسولینی و چاقی ایفا می‌کند. به طوری که گزارش شده، PGC-1 α در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۲ درگیر است (۲۵)، همچنین بیان و فعالیتش در عضله اسکلتی افراد دیابتی نوع ۲ دچار تنظیم کاهش می‌شود (۱۰). در سال‌های اخیر، شواهدی در ارتباط با بهبود سلامتی و طول عمر در موش‌های ترانس ژنیک با PGC1- α بیش بیان شده در عضله اسکلتی مشاهده شد که مدلی شناخته شده برای القای PGC-1 α با فعالیت ورزشی است (۱). بخشی از اثرات سیستمیک در مدل موش یعنی افزایش انرژی مصرفی، کاهش وزن، و بهبود هموستاز گلوکز، در نتیجه‌ی تحریک FNDC5 و شکست پروتئولیکی آن که منجر به ترشح ایزرین می‌شود، ایجاد می‌شود (۱). بستروم و همکارانش (۲۰۱۲) افزایش در ایزرین و بیان FNDC5 را در اثر تمرین استقامتی گزارش کردند (۱) و نشان دادند که افزایش بیان PGC-1 α باعث تحریک FNDC5 عضلانی می‌شود. با این حال، در مطالعه‌ی حاضر علاوه بر تاثیر فعالیت ورزشی هوازی بر تحریک بیان PGC-1 α ، تاثیر بر بیان FNDC5 نداشت که با نتایج مطالعه‌ی بستروم و همکاران (۲۰۱۲) متضاد است. به نظر می‌رسد

که عوامل دیگری در تنظیم بیان FNDC5 به غیر از PGC-1 α درگیر باشند. بر این اساس، پیکالا و همکارانش (۲۰۱۳) تغییری در ایزرین و FNDC5 سرمی در پاسخ به فعالیت هوازی نشان مشاهده نکردند (۱۹) و تغییرات در بیان mRNA PGC1- α به طور مداوم با تغییرات مربوط به FNDC5 همراه نبود. بنابراین مکانیسم‌های مختلف بالادست از جمله آن‌های که در اثر فعالیت ورزشی قرار می‌گیرد مانند AMPK^۲ و p38MAPK^۳، ممکن است بیان PGC-1 α و FNDC5 را تحت تاثیر قرار دهند. در این رابطه تیمونس^۴ و همکاران (۲۰۱۲) ارتباطی بین FNDC5 و PGC1- α مشاهده نکردند (۲۶) و به این نتیجه رسیدند که ژن‌های دیگری به غیر از FNDC5 با فعالیت ورزشی تنظیم می‌شود که اثرات مفید فعالیت برای سلامت را نشان می‌دهد. با این حال، نورهیم^۵ و همکارانش (۲۰۱۳) افزایش غلظت پلاسمایی ایزرین را پس از ۴۵ دقیقه فعالیت ورزشی هوازی مستقل از افزایش در بیان ژن FNDC5 mRNA عضلانی گزارش کردند (۱۴). به نظر می‌رسد افزایش در ایزرین بدون تغییر FNDC5 عضلانی به دلیل تولید ایزرین توسط سایر اندام‌ها باشد (۲۴). اختلاف بین نتایج مطالعات احتمالاً به نوع و شدت فعالیت ورزشی بستگی دارد. هو^۶ و همکارانش (۲۰۱۲) که یک جلسه فعالیت ورزشی حاد دویدن سریع باعث افزایش سطوح ایزرین گردشی می‌شود (۸). در پاسخ به تمرین سطوح ATP و کراتین فسفات کاهش و کراتینین، گلوکز، گلوکز ۶-فسفات، و لاکتات افزایش داشت. همسو با کاهش محتوای ATP عضلانی، سطوح ایزرین گردشی به طور معنی‌داری بعد از فعالیت حاد افزایش داشت. در

2 . AMP-activated protein kinase

3 . p38 mitogen-activated protein kinases

4 . Timmons, J. A

5 . Norheim

6 . Huh, J. Y

1 . Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد، فعالیت ورزشی هوازی علاوه بر بیان PGC1- α تأثیری بر بیان FNDC5 عضلانی ندارد و احتمالاً عوامل دیگری به غیر از PGC1- α در تنظیم بیان FNDC5 در اثر فعالیت ورزشی هوازی در رت‌های دیابتی نقش داشته باشند.

حقیقت سطوح ایزرین زمانی که ATP در عضله تخلیه می‌شود افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد که تخلیه ATP، سیگنالی قوی برای ترشح ایزرین از عضله می‌باشد (۸). هویانگ و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که شدت فعالیت ورزشی عامل موثری بر تحریک بیان FNDC5 عضلانی است که تحت تأثیر فعال شدن AMPK قرار می‌گیرد (۹).

منابع و مأخذ

1. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. **A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis.** Nature. 2012 Jan 26;481(7382):PP:463-8.
2. Calcutt, N. A. (2004). **Modeling diabetic sensory neuropathy in rats.** In Pain Research . Humana Press:PP:55-65.
3. Choi, Y. K., Kim, M. K., Bae, K. H., Seo, H. A., Jeong, J. Y., Lee, W. K., ... & Park, K. G. (2013). **Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes.** Diabetes research and clinical practice, 100(1):PP: 96-101.
4. Coskun, O., Ocakci, A., Bayraktaroglu, T., & Kanter, M. (2004). **Exercise Training Prevents and Protects Streptozotocin-Induced Oxidative Stress and BETA.-Cell Damage in Rat Pancreas.** The Tohoku journal of experimental medicine, 203(3):PP: 145-154.
5. Cypess, A. M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A. B., ... & Kahn, C. R. (2009). **Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans.** New England Journal of Medicine, 360(15):PP: 1509-1517.
6. De Feyter, H. M., Praet, S. F., van den Broek, N. M., Kuipers, H., Stehouwer, C. D., Nicolay, K., ... & van Loon, L. J. (2007). **Exercise training improves glycemic control in long-standing insulin-treated type 2 diabetic patients.** Diabetes Care, 30(10):PP: 2511-2513.
7. Høydal, Morten A., Ulrik Wisløff, Ole J. Kemi, and Øyvind Ellingsen. (2007). **"Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training."** European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation 14, no. 6:PP: 753-760.
8. Huh, J. Y., Panagiotou, G., Mougios, V., Brinkoetter, M., Vamvini, M. T., Schneider, B. E., & Mantzoros, C. S. (2012). **FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating**

- concentrations in response to weight loss and exercise.** *Metabolism*, 61(12):PP: 1725-1738.
9. Huh, J. Y., Mougios, V., Kabasakalis, A., Fatouros, I., Siopi, A., Douroudos, I. I., ... & Mantzoros, C. S. (2014). **Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation.** *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(11):PP: 2154-2161.
 10. Liang, H., & Ward, W. F. (2006). **PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism.** *Advances in physiology education*, 30(4):PP: 145-151.
 11. Liu, J. J., Wong, M. D., Toy, W. C., Tan, C. S., Liu, S., Ng, X. W., ... & Lim, S. C. (2013). **Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus.** *Journal of Diabetes and its Complications*, 27(4):PP:365-369.
 12. Mahajan, R. D., & Patra, S. K. (2013). **Irisin, a Novel Myokine Responsible for Exercise Induced Browning of White Adipose Tissue.** *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28(1):PP:102-103.
 13. Metcalfe L. (2004). **Monitoring skills: diabetes.** *Nurse Prescriber*, 1(2):PP:1-6.
 14. Norheim, F., Langleite, T. M., Hjorth, M., Holen, T., Kielland, A., Stadheim, H. K., ... & Drevon, C. A. (2014). **The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans.** *FEBS Journal*, 281(3):PP:739-749.
 15. Qian, S. W., Tang, Y., Li, X., Liu, Y., Zhang, Y. Y., Huang, H. Y., ... & Tang, Q. Q. (2013). **BMP4-mediated brown fat-like changes in white adipose tissue alter glucose and energy homeostasis.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9):PP:798-807.
 16. Pedersen, B. K., Åkerström, T. C., Nielsen, A. R., & Fischer, C. P. (2007). **Role of myokines in exercise and metabolism.** *Journal of applied physiology*, 103(3):PP:1093-1098.
 17. Pedersen, B. K. (2009). **The disease of physical inactivity—and the role of myokines in muscle–fat cross talk.** *The Journal of physiology*, 587(23):PP: 5559-5568.
 18. Pedersen, B. K. (2011). **Muscles and their myokines.** *The Journal of experimental biology*, 214(2):PP: 337-346.
 19. Pekkala, S., Wiklund, P. K., Hulmi, J. J., Ahtiainen, J. P., Horttanainen, M., Pöllänen, E., ... & Cheng, S. (2013). **Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health?.** *The Journal of physiology*, 591(21):PP:5393-5400.
 20. Praet, S. F., & van Loon, L. J. (2009). **Exercise therapy in type 2 diabetes.** *Acta diabetologica*, 46(4):PP:263-278.
 21. Praet, S. F., & van Loon, L. J. (2007). **Optimizing the therapeutic benefits of exercise in type 2 diabetes.** *Journal of applied physiology*, 103(4):PP:1113-1120.

22. Puigserver, P., Wu, Z., Park, C. W., Graves, R., Wright, M., & Spiegelman, B. M. (1998). **A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis.** *Cell*, 92(6):PP:829-839.
23. Rodgers, J. T., Lerin, C., Gerhart-Hines, Z., & Puigserver, P. (2008). **Metabolic adaptations through the PGC-1 α and SIRT1 pathways.** *FEBS letters*, 582(1):PP: 46-53.
24. Roca-Rivada, A., Castelao, C., Senin, L. L., Landrove, M. O., Baltar, J., Crujeiras, A. B., ... & Pardo, M. (2013). **FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine.** *PloS one*, 8(4):PP:e60563.
25. Soyala, S., Krempler, F., Oberkofler, H., & Patsch, W. (2006). **PGC-1 α : a potent transcriptional cofactor involved in the pathogenesis of type 2 diabetes.** *Diabetologia*, 49(7):PP:1477-1488.
26. Timmons, J. A., Baar, K., Davidsen, P. K., & Atherton, P. J. (2012). **Is irisin a human exercise gene?** *Nature*, 488(7413):PP:9-10.
27. van Marken Lichtenbelt, W. D., Vanhommerig, J. W., Smulders, N. M., Drossaerts, J. M., Kemerink, G. J., Bouvy, N. D., ... & Teule, G. J. (2009). **Cold-activated brown adipose tissue in healthy men.** *New England Journal of Medicine*, 360(15):PP: 1500-1508.
28. Zanuso, S., Jimenez, A., Pugliese, G., Corigliano, G., & Balducci, S. (2010). **Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence.** *Acta diabetologica*, 47(1):PP:15-22.