



Research Article

## Comparison of Eight Weeks of Moderate-intensity Continuous Training (MICT) and High-intensity Intermittent Training (HIIT) with Sodium Citrate Supplementation on PGC-1 $\alpha$ Expression

Maghsoud Nabilpour<sup>1</sup>, Farnaz Seifi-Skishahr<sup>2\*</sup>, Ameneh Pour Rahim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. in Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

**\*Corresponding author:** Farnaz Seifi-Skishahr, Associate Professor, Department of Sports Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: [f.seify@yahoo.com](mailto:f.seify@yahoo.com).

DOI: [10.32592/nkums.15.4.36](https://doi.org/10.32592/nkums.15.4.36)

### How to Cite this Article:

Nabilpour M, Seifi-Skishahr F, Pour Rahim A. Comparison of Eight Weeks of Moderate-intensity Continuous Training (MICT) and High-intensity Intermittent Training (HIIT) with Sodium Citrate Supplementation on PGC-1 $\alpha$  Expression. J North Khorasan Univ Med Sci. 2023;15(4):36-43. DOI: [10.32592/nkums.15.4.36](https://doi.org/10.32592/nkums.15.4.36)

**Received:** 18 Jul 2023

**Accepted:** 30 Sep 2023

### Keywords:

High intensity interval training

Moderate intensity continuous training

PGC-1 $\alpha$

Sodium citrate

### Abstract

**Introduction:** Sports activity increases the expression of PGC-1 $\alpha$ , the regulatory factor of mitochondrial biogenesis. This study aimed to investigate the effect of eight weeks of Moderate-intensity Continuous Training (MICT) and High-intensity Intermittent Training (HIIT), along with sodium citrate supplementation, on PGC-1 $\alpha$  expression in male Wistar rats.

**Method:** Forty rats were placed in the following five groups: Control, MICT, MICT+sodium citrate, HIIT, and HIIT+sodium citrate. The continuous training group ran for eight weeks and five sessions per week with an average intensity of 70% of the maximum running speed for 15-30 minutes. The interval training group ran for 12 minutes with an intensity range of 50% and 90%. In addition to exercise, the exercise+supplement groups received 15 mmol/l sodium citrate supplement daily. The expression of PGC-1 $\alpha$  in the soleus muscle was measured by the western blot method. Data analysis was done using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test.

**Results:** The PGC-1 $\alpha$  protein expression increased in both the training groups and the training+supplement groups compared to the control group ( $P=0.001$ ). Furthermore, adding sodium citrate could significantly increase the PGC-1 $\alpha$  expression in the MICTgroup+supplement compared to the MICT group ( $P=0.005$ ). However, the HIIT had a higher effect on PGC-1 $\alpha$  expression than the MICT group.

**Conclusion:** Despite the effectiveness of both training methods, sodium citrate supplementation before HIIT could have more synergistic effects in increasing the expression of PGC-1 $\alpha$ .



## مقایسه تأثیر هشت هفته تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) همراه با مکمل دهی سترات سدیم بر بیان PGC-1α در رت‌های نر ویستار

مقصود نبیل پور<sup>۱</sup>، فرناز سیفی<sup>۲\*</sup>، آمنه پور رحیم<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی  
<sup>۲</sup>دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی  
<sup>\*</sup>نویسنده مسئول: فرناز سیفی، دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی. ایمیل: f.seify@yahoo.com

DOI: 10.32592/nkums.15.4.36

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>چکیده</b></p> <p><b>مقدمه:</b> فعالیت ورزشی در افزایش بیان PGC-1α (فاکتور تنظیم کننده بیوژنز میتوکندریایی) نقش دارد. هدف از پژوهش حاضر مقایسه اثر هشت هفته تمرین تداومی با شدت متوسط و تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل دهی سترات سدیم بر بیان PGC-1α در رت‌های نر ویستار بود.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۷<br/>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۸</p>                                                        |
| <p><b>روش کار:</b> تعداد ۴۰ سر رت در پنج گروه کنترل، تمرین تداومی با شدت متوسط، تمرین تداومی با شدت متوسط+سترات سدیم، تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تناوبی با شدت بالا+سترات سدیم قرار گرفتند. گروه تمرین تداومی ۸ هفته و در هر هفته، ۵ جلسه با متوسط شدت ۷۰ درصد حداکثر سرعت دویدن، به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه دویدند. گروه تمرینات تناوبی با دامنه شدت ۵۰ و ۹۰ درصد، ۱۲ دقیقه دویدند. گروه تمرین+مکمل علاوه بر اجرای تمرین، روزانه، ۱۵ میلی مول بر لیتر مکمل سترات سدیم دریافت کردند. بیان PGC-1α با روش وسترن بلات در عضله نعلی اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام گرفت (<math>P \leq 0.05</math>).</p> | <p><b>واژگان کلیدی:</b><br/>تمرینات تناوبی با شدت بالا<br/>تمرین تناوبی با شدت متوسط<br/>سترات سدیم<br/>PGC-1α</p> |
| <p><b>یافته‌ها:</b> بیان پروتئین PGC-1α در هر دو گروه تمرین و تمرین+مکمل نسبت به گروه کنترل افزایش یافت (<math>P=0.001</math>). همچنین، مکمل دهی سترات سدیم توانست افزایش بیشتری در بیان PGC-1α در گروه تمرین تداومی با شدت متوسط+مکمل، در مقایسه با گروه تمرین تداومی با شدت متوسط ایجاد کند (<math>P=0.005</math>). با این حال، گروه تناوبی با شدت بالا نسبت به گروه تداومی با شدت متوسط، بیان بیشتری از PGC-1α نشان داد (<math>P=0.001</math>).</p> <p><b>نتیجه‌گیری:</b> با وجود اثربخشی هر دو روش تمرینی، مکمل یاری سترات سدیم پیش از تمرین تناوبی با شدت بالا، می‌تواند در افزایش بیان PGC-1α، اثر هم‌افزایی بیشتری داشته باشد.</p>                                              |                                                                                                                    |

### مقدمه

گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گامای هم فعال‌ساز آلفا (PGC-1α) مهم‌ترین تنظیم‌کننده محتوای میتوکندریایی در شروع پاسخ‌های مولکولی سازگارانه است [۱] که به واسطه اثر تعاملی و برهم‌کنش PGC-1α با دیگر فاکتورهای رونویسی هسته‌ای، از جمله فاکتور تنفس هسته‌ای ۱ و ۲ (NRF1,2) ایجاد می‌شود [۲]. این کوآکتیویتور (هم-فعال‌ساز) رونویسی با تأثیر بر فعالیت رونویسی NRF1,2 و تنظیم بیان ژن‌های هسته‌ای، سبب بیان فاکتور رونویسی A میتوکندریایی (TFAM) و فعال‌سازی آن می‌شود [۳]. به نظر می‌رسد که PGC-1α در کنار سایر پروتئین‌ها در هماهنگ کردن ژن‌های هسته‌ای و میتوکندریایی لازم برای افزایش محتوای میتوکندریایی نقش داشته باشد [۴]. در عضله اسکلتی، فرایند بیوژنز میتوکندریایی به PGC-1α نیاز دارد و بدون وجود این عامل یا غیرفعال کردن آن، محتوای میتوکندریایی کاهش می‌یابد [۵].

سیگنالینگ مختلفی همچون آدنوزین مونوفسفات کیناز، پیام‌رسان پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن و افزایش کلسیم به افزایش بیان و نیز افزایش فعالیت PGC-1α و در پی آن، تغییر عملکرد عضله از نوع گلیکولیتیک به اکسیداتیو و در نتیجه، افزایش استقامت عضلانی منجر می‌شود [۶]. Taylor و همکاران، نشان دادند که ۲ ساعت پس از فعالیت ورزشی، بیان ژن PGC-1α در عضله اسکلتی افزایش می‌یابد و تا ۶ ساعت در اوج می‌ماند و همچنین، پس از ۵۴ روز تمرین تداومی استقامتی، بیان آن به سازگاری می‌رسد [۷].

Konopka و همکاران، افزایش قابل توجه در محتوای پروتئینی PGC-1α و سترات سنتاز را به دنبال ۱۲ هفته تمرین هوازی، در افراد جوان و سالم گزارش کردند که حاکی از این است که تغییرات این دو نشانگر اصلی درگیر در عملکرد و بیوژنز میتوکندری مستقل از سن است [۸]. برخی محققان نشان داده‌اند که PGC-1α mRNA و ژن‌های

مرتبط با آن با حداکثر اکسیژن مصرفی ( $\dot{V}O_{2max}$ ) ارتباط مستقیمی دارند و در این باره، کاهش PGC-1 $\alpha$  mRNA ناشی از بی‌حرکی (شبه به حالت دیابت) در عضلات این افراد دیده می‌شود [۹]. از طرفی، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) نقش قابل قبولی در فرایند سازگاری‌های میتوکندریایی [۱]، از جمله افزایش ظرفیت هوازی و محتوای میتوکندریایی [۱۰] در عضله اسکلتی دارد که این سازگاری‌ها نتیجه اثرهای تجمعی پاسخ‌های رونویسی است [۱۱].

در مطالعات مختلف، اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر بیان فاکتورهای رونویسی و تنظیم بیوژنز میتوکندریایی را بررسی کرده‌اند و نشان داده‌اند که تمرین تناوبی با شدت بالا، همانند ورزش استقامتی، سطح مشابهی از سازگاری‌های فیزیولوژیکی را موجب می‌شود [۱۳، ۱۲]. گزارش شده است که ۲ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با حجم تمرینی پایین سبب افزایش ظرفیت میتوکندریایی عضله، فعالیت و محتوای آنزیم‌های میتوکندریایی و همین‌طور، افزایش PGC-1 $\alpha$  هسته‌ای در عضله اسکلتی انسان می‌شود [۴]. همین‌طور، اثر ۳ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا روی تردمیل در افزایش سطح سرمی و عضلانی ژن‌های میتوکندریایی PGC-1 $\alpha$  در رت‌ها معنادار بوده است [۱۴]. بررسی تأثیرات مولکولی تمرینات HIIT در عضله اسکلتی نشان داده است که با افزایش شدت تمرین، سطح لاکتات خون و عضله [۱۵] و مصرف اکسیژن به‌طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد [۱۶]. در همین راستا، در مطالعه Granata، گزارش شده است که اجرای ۴ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا نسبت به تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)، محرک قوی‌تری برای تحریک PGC-1 $\alpha$  است، اگرچه در این مطالعه، تغییرات چشمگیر در فعالیت آنزیم سیتрат سنتاز گزارش نشد [۱۷]. از طرفی، نشان داده‌اند که مستقل از شدت، حجم، نوع ورزش و جمعیت، فعالیت بدنی همیشه دارای اثرهای آنتی‌اکسیدانی است. در نتیجه، ورزش با شدت متوسط باید سازش مناسبی برای متعادل کردن اثرهای اکسیدانی داشته باشد [۱۸].

با تجمع لاکتات و مصرف اکسیژن، تولید گونه‌های اکسیژن فعال شده (ROS) که یکی از مداخله‌گرهای مهم در سازگاری‌های ورزشی است، افزایش می‌یابد [۱۹]. باین‌حال، افزایش ROS و رادیکال‌های اکسیژن سبب آسیب اکسیداتیو به mtDNA و کاهش پروتئین‌های میتوکندریایی می‌شود [۲۰]. از طرفی، تولید اسیدلاکتیک با تجمع یون هیدروژن ( $H^+$ ) و لاکتات در عضلات فعال و خون همراه است [۲۱] که تجمع  $H^+$ ، فسفریلاسیون اکسیداتیو، فعالیت آنزیمی و تنظیم یون را حین ورزش تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۲]. کاهش سطح pH پیامد تجمع لاکتات و  $H^+$  است [۲۱] که بعضی از آنزیم‌های گلیکولیتیکی را کاهش می‌دهد و رهایی  $Ca^{+2}$  از رتیکولوم سارکوپلاسمایی [۲۳] و نیز سنتز پروتئین عضله [۲۴] را مهار می‌کند. همچنین، میزان اسیدوز حین ورزش، بیان پروتئین‌های سیگنالینگ مولکولی از جمله فسفریلاسیون پروتئین کیناز B و نیز بیان ژن‌های تنظیم‌کننده بیوژنز میتوکندریایی

مثل AMPK را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث کاهش بیش‌تنظیمی PGC-1 $\alpha$  القا شده توسط ورزش می‌شود [۲۴]. مکمل‌های آلکالیزه‌کننده بی‌کربنات سدیم و سیترات سدیم [۲۵] گزینه‌های متداول بهبود ظرفیت بافري خون شناخته شده‌اند [۲۱] و بنابر نتایج مطالعات، مصرف مکمل‌های بی‌کربنات سدیم و سیترات سدیم پیش از فعالیت ورزشی شدید، سبب کاهش تجمع  $H^+$  در عضله اسکلتی، خون و آب میان‌بافتی می‌شود [۲۶] و تجمع بی‌کربنات ( $HCO_3^-$ ) و تولید ATP گلیکولیتیکی را افزایش می‌دهد؛ همچنین، باعث تأخیر در افت pH درون سلولی می‌شود و ظرفیت بافرینگ [۲۵] و عملکرد ورزشی را بهبود می‌بخشد [۲۶]. باین‌حال، مصرف بی‌کربنات سدیم باعث مشکلات گوارشی می‌شود [۲۷] و اغلب ورزش‌کاران ترجیح می‌دهند از این مکمل استفاده نکنند. در مقابل، سیترات سدیم اختلالات گوارشی کمتری از خود نشان داده است [۲۱] و می‌تواند مزیت‌های بی‌کربنات سدیم را بدون اثرهای منفی داشته باشد [۲۳]؛ بنابراین، می‌تواند جایگزین مناسبی برای جلوگیری از اسیدوز عضلات بدون مشکلات گوارشی شود.

اگرچه برخی مطالعات به بررسی تأثیر تمرینات HIIT بر فاکتورهای رونویسی PGC-1 $\alpha$  پرداخته‌اند، تاکنون هیچ مطالعه‌ای تأثیر ۸ هفته تمرین MICT و HIIT همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم بر بیان PGC-1 $\alpha$  را بررسی نکرده است. از طرفی، افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  به بهبود ظرفیت و عملکرد میتوکندریایی منجر می‌شود که نقش محوری در سازگاری عضلانی و فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ ایفا می‌کند. در این بین، شناسایی نوع تمرین بر بیان بیوژنز میتوکندریایی عاملی مهم به شمار می‌آید. باین‌حال، اطلاعات محدودی در زمینه آثار شدت تمرینات بر بیان PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی وجود دارد و از طرفی، کمتر پژوهشی اثر هم‌افزایی مکمل‌یاری سیترات سدیم همراه با شدت‌های مختلف تمرینی بر بیان PGC-1 $\alpha$  را بررسی کرده است؛ بنابراین، هدف از پژوهش حاضر مقایسه ۸ هفته تمرین تداومی با شدت متوسط و تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم بر بیان PGC-1 $\alpha$  در رت‌های نر ویستار است.

## روش کار

در این تحقیق تجربی، تعداد ۴۰ سر رت از نژاد ویستار نر از مرکز تحقیقاتی علوم پزشکی اصفهان تهیه شد و رت‌ها به‌صورت تصادفی ساده، بر اساس وزن، در دسته‌های هشت‌تایی در ۵ گروه کنترل، MICT و MICT+مکمل سترات سدیم، HIIT و HIIT+سیترات سدیم قرار گرفتند. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانی با میانگین دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد، با چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲ به ۱۲ (۴) بعدازظهر تا ۴ صبح با ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. تمام پروتکل‌های آزمایشی مرتبط با کد اخلاقی ارائه شده توسط کمیته اخلاق در دانشگاه محقق اردبیلی (IR.UMA.REC.1400.074) و اصول مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد.

جمع‌آوری شد و غلظت پروتئین آن توسط کیت سانتاکروز ساخت کشور امریکا و دستگاه خوانش میکروپلیت ساخت کمپانی BMG آلمان (Bio-Rad با طول موج ۵۹۵) تعیین شد [۳۱].

در انتها، نمونه‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد زیر صفر نگهداری شدند. هموژن به‌دست‌آمده با نسبت ۱:۱ با نمونه بافر لودینگ (۵۰ میلی‌مولار تریس کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دودسیل سولفات، ۰/۰۰۵ درصد بروموفنل آبی، ۱ درصد گلیسرول و ۵ درصد مرکاپتواتانول بتا) مخلوط شد. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه، جوشانده شدند تا پروتئین کاملاً دناتوره شود. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDSpolyacrylamide جدا شدند و به غشای نیتروسولوزی انتقال داده شدند. غشا به مدت ۱ ساعت در ۰/۱ درصد Tween 2 TBST و ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline مسدود شد و سپس، در درون آنتی‌بادی اولیه با نسبت ۱:۵۰۰ انکوبه شد. انکوباسیون آنتی‌بادی ثانویه روز بعد، به مدت ۱ ساعت، در دمای محیط، با نسبت ۱:۲۰۰ در ۴ درصد TBST انجام شد. پروتئین با واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با آنالیز دستی‌تری نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه ساخت کشور امریکا (SANTA CRUZ sc-47778) PGC-1 $\alpha$ ، (SANTA CRUZ sc-166965)  $\beta$  actin و (SANTA CRUZ ab-54481) CRUZ به کار گرفته شدند.

#### روش تجزیه و تحلیل آماری

برای اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. نتایج حاصل از پژوهش به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد بیان شد. برای بررسی اختلاف در ۳ گروه، از آزمون آماری پارامتریک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح  $P < 0.05$  و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ صورت گرفت. همچنین، از نرم‌افزار گراف پدپریزم ۹ برای ترسیم نمودارها استفاده شد.

#### یافته‌ها

رت‌های نر و استار ۸ هفته سن داشتند و دامنه وزنی آن‌ها ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم بود. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش در بیان PGC-1 $\alpha$  وجود دارد (جدول ۱). به‌طوری که بین گروه کنترل و تمامی گروه‌ها اختلاف معناداری وجود داشت ( $P \leq 0.001$ ). همچنین، بین گروه HIIT و گروه HIIT+مکمل تفاوت معناداری دیده شد ( $P \leq 0.001$ ). از طرفی، تفاوت معناداری بین گروه MICT و MICT+مکمل سیترات سدیم در بیان PGC-1 $\alpha$  وجود داشت ( $P \leq 0.001$ ). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه HIIT و MICT در بیان PGC-1 $\alpha$  وجود ندارد (نمودار ۱). با وجود این، مکمل‌یاری سیترات سدیم در بین دو گروه HIIT و MICT، اختلاف معناداری را به وجود آورد ( $P \leq 0.001$ ) (جدول ۲).

دو هفته پیش از اجرای پروتکل تمرینی، رت‌ها برای آشنایی با تردمیل آموزش دیدند. شیب تردمیل در اولین جلسه خوگیری، صفر درجه و سرعت آن ۱۵ متر بر دقیقه بود. در جلسات بعدی آشناسازی، شیب تردمیل هر دو روز یک بار، ۵ درجه افزایش یافت. همین‌طور، هر روز، سرعت ۲ متر بر دقیقه و مدت تمرین ۲ دقیقه افزایش داده شد [۲۸]. یک هفته بعد از جلسات آشنایی با تردمیل، سرعت دویدن بیشینه در رت‌ها اندازه‌گیری شد.

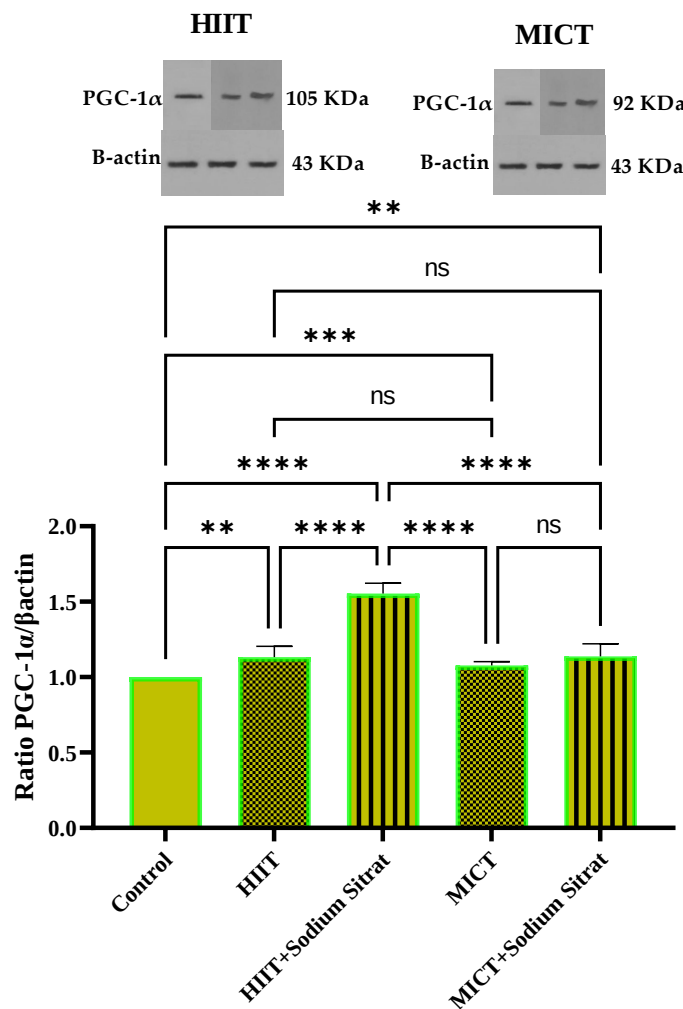
برای برآورد حداکثر سرعت دویدن، آزمون عملکرد ورزشی مدرج با شیب صفر درجه اجرا شد که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و به‌ازای هر ۱ دقیقه، ۱ متر بر سرعت تردمیل افزوده می‌شد تا زمانی که رت دیگر قادر به دویدن نباشد. این سرعت معادل با سرعت رسیدن به  $Vo_{2max}$  در نظر گرفته شد. رت‌های گروه تمرین تناوبی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هر هفته، تمرینات تناوبی را به‌ترتیب، با دامنه شدت ۵۰ و ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیشینه با استفاده از پالساکیسمتردام (مدل Nellcor N-600 ساخت کشور امریکا) به مدت ۳ دقیقه و در ۶ دور اجرا کردند. تمرین هفته اول با ۶ تناوب ۲ دقیقه‌ای با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و دوره‌های استراحتی فعال یک دقیقه‌ای در هر ۱۰ متر بر دقیقه بود و در هفته آخر، به‌تناوب به سرعت ۳۸ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۱۴ متر بر دقیقه رسید [۲۹]. گروه MICT با شدت متوسط ۷۰ درصد حداکثر سرعت روی تردمیل دویدند. در هفته اول، زمان تمرین ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه بود که تدریجاً به ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید. رت‌های گروه تمرین+مکمل نیز همان پروتکل تمرینی مشابه را اجرا کردند و روزانه، ۱۵ میلی‌مول بر لیتر مکمل سیترات سدیم گرفتند.

#### آماده‌سازی و نمونه‌برداری بافت

بعد از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها به‌وسیله ترکیبی از دارویکتامین (شرکت داروی اکسیر بروجد، ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (شرکت Bioveta جمهوری چک، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت تزریق درون‌صفاقی، بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، بلافاصله نمونه‌برداری از بافت عضله نعلی انجام گرفت. استخراج پروتئین عضله نعلی با استفاده از آزمون radio immunoprecipitation assay (RIPA) با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH=8)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EG-TA، ۱ درصد SDS به‌علاوه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ساخت شرکت سیگما آلدیچ‌امریکا، ROCHE) انجام شد [۳۰]. بدین منظور، ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت در ۵۰۰ میکرولیتر محلول بافر آنتی‌پروتئاز با هموژنایزر دستی هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه، در ۴ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شد. سپس، در سانتریفیوژ یخچال‌دار ساخت کشور ایران (bo, sw14rfroil) با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. مایع رویی

جدول ۱. نتایج آنالیز واریانس یکطرفه برای PGC-1 $\alpha$  در گروه HIIT و MICT

| شاخص | گروه       | میانگین $\pm$ انحراف استاندارد | CI 95%       | F      | sig   |
|------|------------|--------------------------------|--------------|--------|-------|
| HIIT | کنترل      | ۱/۰۰ $\pm$ ۰/۰۱                | ۱/۰۰ تا ۱/۰۰ | ۲۳۵/۴۱ | ۰/۰۰۱ |
|      | تمرین      | ۱/۱۳ $\pm$ ۰/۷۰                | ۱/۱۸ تا ۱/۰۷ |        |       |
|      | تمرین+مکمل | ۱/۵۵ $\pm$ ۰/۶۷                | ۱/۶۰ تا ۱/۵۰ |        |       |
| MICT | تمرین      | ۱/۰۸ $\pm$ ۰/۰۲                | ۱/۱۰ تا ۱/۰۶ | ۱۵/۷۷  | ۰/۰۰۱ |
|      | تمرین+مکمل | ۱/۱۳ $\pm$ ۰/۸۵                | ۱/۲۰ تا ۱/۰۶ |        |       |



نمودار ۱. مقایسه تغییرات بیان PGC-1 $\alpha$  با تمرینات HIIT و تمرینات MICT همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم. ns:  $P > 0.05$ , \*\*:  $P \leq 0.01$ , \*\*\*:  $P \leq 0.001$ , \*\*\*\*:  $P \leq 0.0001$ .

جدول ۲. آزمون تعقیبی توکی برای گروه تمرینات HIIT و MICT

| گروه                     | مقایسه                   | P-value |
|--------------------------|--------------------------|---------|
| کنترل                    | MICT                     | ۰/۰۰۸   |
|                          | MICT + سیترات سدیم       | ۰/۰۰۱   |
| MICT + سیترات سدیم       | MICT                     | ۰/۰۸۲   |
|                          | HIIT                     | ۰/۰۰۱   |
| کنترل                    | تمرین HIIT + سیترات سدیم | ۰/۰۰۱   |
|                          | HIIT                     | ۰/۰۰۱   |
| تمرین HIIT + سیترات سدیم | HIIT                     | ۰/۰۰۱   |
|                          | MICT                     | ۰/۱۴۳   |
| تمرین HIIT + سیترات سدیم | MICT                     | ۰/۰۰۱   |
|                          | MICT + سیترات سدیم       | ۰/۰۰۱   |

تفاوت‌های معنادار ( $P \leq 0.001$ ) برجسته شده است.

## بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته فعالیت ورزشی تداومی با شدت متوسط (MICT) و با شدت بالا (HIIT) همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم بر بیان PGC-1 $\alpha$  بود. نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین HIIT و تمرین MICT بر افزایش بیان پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضله نعلی رت‌های ویستار، اثر معناداری دارد. در این رابطه، محسن‌زاده و همکاران، نشان دادند که ۸ هفته تمرین HIIT روی تردمیل به افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  در رت‌ها منجر می‌شود [۱۳]. همچنین، شیروانی و عرب‌زاده، با مقایسه تمرینات تداومی و تناوبی در خصوص موش‌های صحرایی ویستار، به این نتیجه رسیدند که هر دو شیوه تمرین باعث افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  می‌شود؛ درحالی‌که این افزایش در گروه تمرین تناوبی، به‌طور معناداری، بالاتر از گروه تمرین تداومی بود [۲۲]. در همین رابطه، بختیاری و همکاران، به مدت ۱۲ هفته، به بررسی اثر دو نوع فعالیت HIIT و MICT بر بیان پروتئین‌های میتوکندریایی در عضله دوقلوی رت‌های سالمند پرداختند و نشان دادند که هر دو نوع تمرین باعث افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  می‌شود؛ درحالی‌که تمرین HIIT در مقایسه با تمرین MICT، بر بیان PGC-1 $\alpha$  تأثیر بیشتری داشته است [۳۳].

تمرینات HIIT در سطح مولکولی، سبب تحریک مسیرهای سیگنالینگ در عضله اسکلتی و فعال سازی PGC-1 $\alpha$  می‌شود. اجرای تمرینات با شدت بالا سبب افزایش رهایی  $Ca^{+2}$  می‌شود [۱۰].  $Ca^{+2}$  از طریق مکانیسم‌های مختلف، مثل افزایش مصرف اکسیژن یا تولید نیتریک‌اکساید، سبب تولید ROS می‌شود؛ بنابراین، همراه با افزایش  $Ca^{+2}$ ، سطح ROS نیز افزایش می‌یابد. همچنین، افزایش سطح  $Ca^{+2}$  سبب افزایش سنتز ATP می‌شود [۲۴]. از آنجایی‌که فعالیت ورزشی با افزایش تقاضای انرژی همراه است، با شدت یافتن ورزش و افزایش تقاضا، نسبت AMP و ADP به ATP افزایش می‌یابد [۱۵]. افزایش  $Ca^{+2}$ ، ROS و AMP باعث می‌شود که پروتئین‌های سیگنالینگ درون‌سلولی حساس به این مولکول‌ها، ازجمله کلسیم کالمودولین وابسته به کیناز (CaMK)، آدنوزین مونوفسفات کیناز (AMPK) و پروتئین کیناز فعال‌شده توسط میتوژن  $P_{38}$  MAPK) فعال‌سازی شوند [۳۵]. این کینازها به تحریک بیان و تنظیم فاکتور رونویسی کلیدی اثرگذار در متابولیسم انرژی و همچنین، بیوژنز میتوکندریایی منجر می‌شوند [۳۶].

همچنین، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم و تمرین MICT به‌همراه مکمل‌دهی سیترات سدیم بر بیان PGC-1 $\alpha$  تأثیر می‌گذارد. در این بین، تمرینات با شدت بالا همراه با مکمل‌دهی سیترات سدیم توانست تأثیر بیشتری بگذارد. شواهد نشان می‌دهند که مکمل‌دهی بی‌کربنات سدیم و سیترات سدیم پاسخ‌های متابولیکی به ورزش را تغییر و سازگاری‌ها را افزایش می‌دهند. نتایج مطالعه Edge و همکاران، نشان می‌دهد که

مصرف بی‌کربنات سدیم پیش از ورزش، سبب بهبود سازگاری میتوکندریایی می‌شود. در این پژوهش که به مدت ۸ هفته (۳ روز در هفته) تمرین رکاب‌زنی ارگومتر (۶ تا ۱۲ دور به مدت ۲ دقیقه) با ۱۴۰ تا ۱۷۰ درصد آستانه لاکتات اجرا شد، کاهش اسیدوز متابولیک و بهبود حجم و تنفس میتوکندریایی عضلانی با مصرف بی‌کربنات سدیم گزارش شده است [۲۲]. Linossier و همکاران، اثر مکمل سیترات سدیم به‌عنوان عامل آلکالیزه‌کننده برون‌سلولی را در فعالیت فرابیشینه که با ۱۲۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و تا زمان بروز خستگی ادامه داشت، بر عملکرد و متابولیسم عضله اسکلتی ارزیابی کردند. نتایج حاصل نشان داد که مصرف مکمل سیترات سدیم سبب تأخیر در زمان بروز خستگی و بهبود عملکرد شده است. مصرف سیترات سدیم با تأثیر بر آلکالیزه شدن پلاسما، بر عملکرد و متابولیسم عضله اثر کرده است [۲۷]. همچنین، مطالعه Ööpik و همکاران، درباره بررسی اثر مصرف مکمل سیترات سدیم پیش از ورزش بر متابولیسم و ظرفیت عملکرد، نشان داد که مصرف این مکمل احتیاس آب، حجم پلاسما و pH خون را افزایش داده و افزایش تجمع گلوکز خون را مهار کرده است، اگرچه در بهبود عملکرد ورزش کاران تأثیری نداشته است [۳۷].

در راستای تحقیق حاضر، تنها مطالعه موجود که تأثیر مکمل بافرکننده را بر آبشارهای سیگنالینگ و بیان ژن مرتبط با بیوژنز میتوکندریایی بررسی کرده است، مطالعه Percival و همکاران، بود. این مطالعه نشان داد که مصرف مکمل بی‌کربنات سدیم بیان PGC-1 $\alpha$ mRNA را بعد از تمرین و در زمان بازگشت به حالت اولیه، در عضله اسکلتی افزایش داده است. در این پژوهش، آزمودنی‌ها پیش از اجرای پروتکل تمرینی، مقدار ۰/۲ گرم مکمل بی‌کربنات سدیم را به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن مصرف کردند و سپس، پروتکل تمرینی یکسانی را در دو موقعیت با فاصله یک هفته از هم اجرا کردند. تمرین آن‌ها شامل اجرای ۱۰×۶۰ ثانیه رکاب‌زنی با ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب بیشینه، به‌همراه ۶۰ ثانیه بازگشت به حالت اولیه بود. نتایج حاصل از بیوپسی عضله و نمونه خون نشان داد که در گروه مکمل، pH و بی‌کربنات خون بعد از مصرف بی‌کربنات سدیم، افزایش یافته است؛ همین‌طور، مصرف گلیکوکژن عضلانی و تجمع لاکتات خون در طول تمرین، افزایش یافته است. افزایش فسفریلاسیون استیل کوآ کربوکسیلاز، مارکر پایین‌دستی MAPK و P38AMPK در هر دو گروه کنترل (تمرین همراه با مکمل کلراید سدیم) و مکمل (تمرین همراه با بی‌کربنات سدیم) یکسان گزارش شده است؛ اما در مقادیر MAPK و P38AMPK افزایشی مشاهده نشده است. با این حال، بیان PGC-1 $\alpha$  mRNA، ۳ ساعت بعد از ریکاوری در گروه مکمل بالا بوده است [۳۸]. از آنجایی‌که گلیکولیز بی-هوازی با تولید اسیدلاکتیک همراه است، این امر به کاهش pH و بر هم خوردن تعادل اسیدی خون منجر می‌شود [۳۹] که بر عملکرد عضلانی تأثیر می‌گذارد. به عبارتی، تغییرات pH ضمن تغییر خواص کانال‌های پروتئینی، سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کلیدی در گلیکولیز و کاهش



در فعالیت آنزیم سیتрат سنتاز گزارش نشده است [۱۷]. از طرفی، نشان داده‌اند که مستقل از شدت، حجم، نوع ورزش و جمعیت، فعالیت بدنی همیشه دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است؛ در نتیجه، ورزش با شدت متوسط باید سازش مناسبی برای متعادل کردن اثرهای اکسیدانی داشته باشد [۱۸].

### نتیجه‌گیری

از آنجاکه تمرین HIIT به‌عنوان یکی از روش‌های تمرینی محرک سازگاری‌های فیزیولوژیکی، در بیان فاکتورهای رونویسی PGC-1 $\alpha$  تأثیر دارد و با توجه به تأثیرات مکمل سیترات سدیم در افزایش بیان این فاکتورهای رونویسی، به نظر می‌رسد که بتوان با بهره‌گیری از اثرهای هم‌افزایی مکمل‌باری سیترات سدیم در کنار تمرینات HIIT، با افزایش القای بیان پروتئین‌های PGC-1 $\alpha$ ، از اثرهای فیزیولوژیکی آن‌ها در بهبود ظرفیت ورزشی و اجرا و عملکرد ورزش‌کاران بهره برد.

### سپاسگزاری

محققان لازم می‌دانند که از کارکنان آزمایشگاه سارای که با دقت بالا، آزمایش‌های بخش بلاتینگ را انجام دادند، تشکر و قدردانی کنند.

### تعارض منافع

تمامی نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش تمام بخش‌های پژوهش مشارکت کرده‌اند. نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

### References

- Fiorenza M, Gunnarsson T, Hostrup M, Iaia F, Schena F, Pilegaard H, et al. Metabolic stress-dependent regulation of the mitochondrial biogenic molecular response to high-intensity exercise in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2018;596(14):2823-2840. DOI: 10.1113/jp275972 PMID: 29727016
- Perry CG, Lally J, Holloway GP, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet L. Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2010;588(23):4795-4810. DOI: 10.1113/jphysiol.2010.199448 PMID: 20921196
- Gureev AP, Shaforostova EA, Popov VN. Regulation of mitochondrial biogenesis as a way for active longevity: interaction between the Nrf2 and PGC-1 $\alpha$  signaling pathways. *Front Genet*. 2019;10:435. DOI: 10.3389/fgene.2019.00435 PMID: 31139208
- Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol*. 2010;588(6):1011-1022. DOI: 10.1113/jphysiol.2009.181743 PMID: 20100740
- Adhihetty PJ, Uguccioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1 $\alpha$  on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009;297(1):C217-C25. DOI: 10.1152/ajpcell.00070.2009 PMID: 19439529
- Kruk J, Duchnik E. Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity. *Asian Pac J Cancer*. 2014;15(2):561-568. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.2.561 PMID: 24568458
- Taylor EB, Lamb JD, Hurst RW, Chesser DG, Ellingson WJ, Greenwood LJ, et al. Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC-1 $\alpha$  protein abundance: effects of time and intensity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005;289(6):E960-E968. DOI: 10.1152/ajpendo.00237.2005 PMID: 16014350
- Konopka AR, Suer MK, Wolff CA, Harber MP. Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(4):371-378. DOI: 10.1093/gerona/glt107 PMID: 23873965
- Timmons JA, Norrbom J, Schéele C, Thonberg H, Wahlestedt C, Tesch P. Expression profiling following local muscle inactivity in humans provides new perspective on diabetes-related genes. *Genomics*. 2006;87(1):165-172. DOI: 10.1016/j.ygeno.2005.09.007 PMID: 16326070
- MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*. 2017;595(9):2915-2930. DOI: 10.1113/jp273196 PMID: 27748956
- Brandt N, Dethlefsen MM, Bangsbo J, Pilegaard HJ. PGC-1 $\alpha$  and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. *PLoS One*. 2017;12(10):e0185993. DOI: 10.1371/journal.pone.0185993 PMID: 29049322
- Nabilpour M, Sifi-Skshahr F, PourRahim A. The effect of high-intensity interval training with sodium citrate on the expression of pgc-1 $\alpha$  and nrf2 in soleus muscle of rats. *Stu Med Sci*. 2023;34(6):299-307.
- Mohsenzadeh M, Aghaei F, Nameni F. The effect of high intensity interval training on SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  gene expression in soleus muscle of type 2 diabetes in male rat. *Med J Tabriz Univ Med Sci Health Serv*. 2020;42(4):447-455. DOI: 10.34172/mj.2020.067

14. Sharafi DF, Rastegar Mogaddam Mansouri M, Abbasian S. The effect of high intensity interval training on muscular biomarkers of mitochondrial biogenesis in male rats. *J Babol Univ Med*. 2017;**19**(6):57-63.
15. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak ZJ, et al. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Med Health Sci*. 2019;**1**(1):24-32. DOI: 10.1016/j.smhs.2019.08.003 PMID: 35782463
16. Scribbans TD, Vecsey S, Hankinson PB, Foster WS, Gurd BJ. The effect of training intensity on VO<sub>2</sub>max in young healthy adults: a meta-regression and meta-analysis. *Int J Exerc Sci*. 2016;**9**(2):230. PMID: 27182424
17. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC-1α and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *FASEB J*. 2016;**30**(2):959-970. DOI: 10.1096/fj.15-276907 PMID: 26572168
18. de Sousa CV, Sales MM, Rosa TS, Lewis JE, de Andrade RV, Simoes HG. The antioxidant effect of exercise: a systematic review and meta-analysis. *J Sports Med*. 2017;**47**(2):277-293. DOI: 10.1007/s40279-016-0566-1 PMID: 27260682
19. Nikoioe R, Moflehi D, Zand S. Lactate regulates autophagy through ROS-mediated activation of ERK1/2/m-TOR/p-70S6K pathway in skeletal muscle. *J Cell Commun Signal*. 2021;**15**(1):107-123. DOI: 10.1007/s12079-020-00599-8 PMID: 33398722
20. Guo C, Sun L, Chen X, Zhang D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*. 2013;**8**(21):2003. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5374.2013.21.009 PMID: 25206509
21. Cerullo G, Parimbelli M, Perna S, Pecoraro M, Liguori G, Negro M, et al. Sodium citrate supplementation: An updated revision and practical recommendations on exercise performance, hydration status, and potential risks. *Transl. Sports Med*. 2020;**3**(6):518-525. DOI: 10.1002/tsm2.174
22. Edge J, Bishop D, Goodman C. Effects of chronic NaHCO<sub>3</sub> ingestion during interval training on changes to muscle buffer capacity, metabolism, and short-term endurance performance. *J Appl Physiol*. 2006;**101**(3):918-925. DOI: 10.1152/jappphysiol.01534.2005 PMID: 16627675
23. Ööpik V, Saaremetis I, Medijainen L, Karelson K, Janson T, Timpmann S. Effects of sodium citrate ingestion before exercise on endurance performance in well trained college runners. *Br J Sports Med*. 2003;**37**(6):485-489. DOI: 10.1136/bjsm.37.6.485 PMID: 14665584
24. Bishop DJ, Thomas C, Moore-Morris T, Tonkonogi M, Sahlin K, Mercier A, et al. Sodium bicarbonate ingestion prior to training improves mitochondrial adaptations in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;**299**(2):E225-E233. DOI: 10.1152/ajpendo.00738.2009 PMID: 20484007
25. Suvi S, Mooses M, Timpmann S, Medijainen L, Unt E, Ööpik VJM. Influence of sodium citrate supplementation after dehydrating exercise on responses of stress hormones to subsequent endurance cycling time-trial in the heat. *Medicina*. 2019;**55**(4):103. DOI: 10.3390/medicina55040103 PMID: 31013820
26. Mohammadpour HPJ, Azai K, Poozesh R. The effect of sodium bicarbonate supplementation on lactic acid, ammonia and exercise performance in 400 meter male runners. *J Sports Sci*. 2010;**2**(4):79-92.
27. Linossier MT, Dormois D, Bregere P, Geyssant A, Denis C. Effect of sodium citrate on performance and metabolism of human skeletal muscle during supramaximal cycling exercise. *Eur J Appl Physiol*. 1997;**76**(1):48-54. DOI: 10.1007/s004210050211 PMID: 9243169
28. DiCarlo S, Collins H, Rodenbaugh D, Smitha M, Berger R, Yeragani VJC, et al. Daily exercise reduces measures of heart rate and blood pressure variability in hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 2002;**24**(3):221-234. DOI: 10.1081/ceh-120003202 PMID: 11883793
29. Alavi F, Seify F, Nabilpour M. Effect of 8 weeks high intensity interval training with sodium citrate supplementation on PGC-1α and TFAM expression. *J Complement Med*. 2023;**12**(4):22-32. DOI: 10.61186/cmja.12.4.22
30. Nabilpour M, Sadegi A, Hematiafi A, Faal Pakdeh M. The effect of two months of continuous exercise with chia (*Salvia hispanica* L.) supplement on the Internet-1 and 13 in Wistar diabetes rankings. *Feyz*. 2021;**25**(4):1047-1054. DOI: 10.48307/FMSJ.2021.25.4.1047
31. Nabilpour M, Sadeghi A. Effect of eight-week aerobic moderate-intensity continuous training on Il-1β and Il-13 levels of soleus muscle tissue in male diabetic rats. *Iran J Card Surg*. 2021;**21**(3):129-138.
32. Shrivani H, Arabzadeh E. Metabolic cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue in high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training by regulation of PGC-1α. *Eat Weight Disord*. 2020;**25**:17-24. DOI: 10.1007/s40519-018-0491-4 PMID: 29480414
33. Bakhtiyari AGA, Choobineh S, Kordi MR, Hedayati M. The comparison of the influence of 12-week high-intensity interval training and continuous moderate intensity training on PGC-1α and Tfam mitochondrial proteins expressions in gastrocnemius muscle of elderly rats. *Anim Biol J*. 2019;**11**(4):11-20.
34. Brookes PS, Yoon Y, Robotham JL, Anders M, Sheu SS. Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;**287**(4):C817-C33. DOI: 10.1152/ajpcell.00139.2004 PMID: 15355853
35. Kang C, Li J. Role of PGC-1α signaling in skeletal muscle health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;**1271**(1):110-117. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06738.x PMID: 23050972
36. Sabaratnam R, Pedersen AJ, Eskildsen TV, Kristensen JM, Wojtaszewski JF, Höglund K, et al. Exercise induction of key transcriptional regulators of metabolic adaptation in muscle is preserved in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;**104**(10):4909-4920. DOI: 10.1210/je.2018-02679 PMID: 31135885
37. Ööpik V, Saaremetis I, Timpmann S, Medijainen L, Karelson K. Effects of acute ingestion of sodium citrate on metabolism and 5-km running performance: a field study. *Can J Appl Physiol*. 2004;**29**(6):691-703. DOI: 10.1139/h04-044 PMID: 15630143
38. Percival ME, Martin BJ, Gillen JB, Skelly LE, MacInnis MJ, Green AE, et al. Sodium bicarbonate ingestion augments the increase in PGC-1α mRNA expression during recovery from intense interval exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2015;**119**(11):1303-1312. DOI: 10.1152/jappphysiol.00048.2015 PMID: 26384407
39. Chycki J, Kurylas A, Maszczyk A, Golas A, Zajac A. Alkaline water improves exercise-induced metabolic acidosis and enhances anaerobic exercise performance in combat sport athletes. *PloS One*. 2018;**13**(11):e0205708. DOI: 10.1371/journal.pone.0205708 PMID: 30452459
40. Gharahdaghi N, Kordi M, Gaein A. Fatigue specific functional and metabolic factors changes in response to a period of high intensity aerobic training in soccer players. *J Sport Exerc Psychol*. 2014;**5**(20):81-96.
41. Genders AJ, Martin SD, McGee SL, Bishop D. A physiological drop in pH decreases mitochondrial respiration, and HDAC and Akt signaling, in L6 myocytes. *J Cell Physiol*. 2019;**316**(3):C404-C414. DOI: 10.1152/ajpcell.00214.2018 PMID: 30649921