

The effect of eight weeks of high-intensity interval training on hypertrophy-related proteins in the heart tissue of male rats with type 2 diabetes

Esmail Sharafi Mooliz^{1*}, Saeed Shakerian², Ali Akbar Alizadeh³, Saeed Ahmadi Barati⁴

1. PhD student in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

4. Instructor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

* Corresponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran;

Email: e-sharafimooliz@stu.scu.ac.ir

Abstract

Background and Aim: Diabetes is one of the most common metabolic diseases that causes numerous complications in the heart tissue. Today, the effect of various therapeutic approaches, including exercise, on the heart tissue has been considered. The aim of this study was to investigate the effects of high-intensity interval training on changes in the levels of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway proteins in the heart tissue of male Wistar rats with type 2 diabetes. **Materials and Methods:** In this study, 40 eight-week-old rats with an average weight of 191 ± 16 grams were randomly divided into four groups: healthy control, healthy training, diabetes control, and diabetes training. The training program consisted of eight weeks of high-intensity interval training with a sequence of five sessions per week. The levels of PI3K/AKT/mTOR proteins were measured by Western blotting. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc test were used to examine the differences between groups in each variable. A significance level of $p < 0.05$ was considered. **Results:** Diabetes significantly decreased the levels of PI3K/AKT/mTOR proteins in the heart tissue of diabetic rats ($p = 0.001$). However, eight weeks of high-intensity interval training significantly increased the levels of PI3K protein ($p = 0.037$), AKT protein ($p = 0.009$), and mTOR protein ($p = 0.043$) in the heart tissue of diabetic rats. **Conclusion:** Given these results, it is recommended that high-intensity interval training plays a beneficial role in regulating and controlling signaling pathways associated with physiological hypertrophy and inhibiting pathological hypertrophy in animal models with type 2 diabetes. Further investigation of this issue in human models should be considered by researchers.

Keywords: High-intensity interval training, Type 2 diabetes, Rats, Hypertrophy.



اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر پروتئین‌های مرتبط با هایپرتروفی در بافت قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو

اسماعیل شرفی مولیز^{۱*}، سعید شاکریان^۲، علی اکبر علی‌زاده^۳، سعید احمدی براتی^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۴. مربی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول، آدرس: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی؛

پست الکترونیک: e-sharafimooliz@stu.scu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک است که موجب عوارض متعددی در بافت قلب می‌گردد. امروزه اثر رویکردهای مختلف درمانی از جمله فعالیت ورزشی بر بافت قلب مورد توجه قرار گرفته است. هدف این پژوهش بررسی اثرات تمرین تناوبی با شدت بالا بر تغییرات سطوح پروتئین‌های مسیر پیام‌دهی PI3K/AKT/mTOR در بافت قلب موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع دو بود.

روش تحقیق: در این تحقیق تعداد ۴۰ سر موش صحرایی هشت‌هفته‌ای با میانگین وزنی 191 ± 16 گرم به طور تصادفی به چهار گروه سالم‌کنترل، سالم‌تمرین، دیابت‌کنترل و گروه دیابت‌تمرین تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با توالی پنج جلسه در هفته بود. با روش وسترن‌بلات میزان سطوح پروتئین‌های PI3K/AKT/mTOR اندازه‌گیری شد. از روش آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تفاوت بین گروه‌ها در هر متغیر استفاده شد. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بیماری دیابت سبب کاهش معنی‌دار مقادیر پروتئین‌های PI3K/AKT/mTOR در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی گردید ($p = 0.001$). با این حال، هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا، افزایش معنی‌دار مقادیر پروتئین PI3K ($p = 0.037$)، پروتئین AKT ($p = 0.009$) و پروتئین mTOR ($p = 0.043$) در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی را در پی داشت.

نتیجه‌گیری: باتوجه به این نتایج، تمرین تناوبی با شدت بالا نقش مفیدی در تنظیم و کنترل مسیرهای پیام‌دهی مرتبط با هایپرتروفی فیزیولوژیک و مهار هایپرتروفی پاتولوژیک در نمونه‌های حیوانی مبتلا به دیابت نوع دو داشت توصیه می‌شود، بررسی بیشتر این موضوع در نمونه‌های انسانی مورد توجه محققین قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، بیماری دیابت نوع دو، موش صحرایی، هایپرتروفی.



مقدمه

دیابت یک مشکل سلامتی بزرگ در سراسر جهان است. این بیماری به دلیل سطوح بالای گلوکز خون در نتیجه ناتوانی سلول‌های در پانکراس برای تولید انسولین کافی یا استفاده ناکارآمد از انسولین توسط سلول‌های بدن ایجاد می‌شود (۱). یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی مشکلات قلبی-عروقی مانند آسیب قلبی ناشی از آترواسکلروز^۱ و کاردیومیوپاتی^۲ مرتبط با دیابت است (۲). افزایش فعالیت بدنی و بهبود عادات تغذیه‌ای در قالب رژیم‌های کم‌کالری برای کنترل دیابت نوع دو اهمیت ویژه‌ای دارد (۳). تمرین ورزشی مناسب، می‌تواند باعث ایجاد تغییرات تطبیقی در قلب شود و این پاسخ قلبی هاپیروتروپی فیزیولوژیکی قلب نامیده می‌شود. شواهد علمی نشان داده که فعال‌شدن هاپیروتروپی فیزیولوژیکی می‌تواند به طور مؤثر خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش دهد و برای حفظ عملکردهای فیزیولوژیکی طبیعی دستگاه قلبی-عروقی مفید باشد (۴). هاپیروتروپی فیزیولوژیک معمولاً باعث تقویت عملکرد قلبی می‌شود و در این شرایط قلب هیچ ناهنجاری عملکردی یا ساختاری ندارد (۵). هاپیروتروپی فیزیولوژیکی قلب فرایندی است که طی آن قلب در پاسخ به افزایش بار کاری؛ مانند ورزش، بدون آسیب‌رساندن به قلب، اندازه آن افزایش می‌یابد. این نوع هاپیروتروپی برگشت‌پذیر است و منجر به نارسایی قلبی نمی‌شود. مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی هاپیروتروپی فیزیولوژیکی شامل فعال‌سازی مسیرهای پیام‌دهی مانند؛ مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز/پروتئین کیناز (PI3K/AKT)^۵ است. این مسیر منجر به افزایش سنتز پروتئین و رشد سلولی در کاردیومیوسیت‌ها^۶ می‌شود (۶). در مقابل، هاپیروتروپی پاتولوژیک قلب ناشی از فشارخون، جهش‌های ژنتیکی و سایر بیماری‌ها است که معمولاً سطح بالایی از اختلال عملکرد قلب، بازسازی قلب و فیبروز^۷ قلبی را نشان می‌دهد. در نهایت، هاپیروتروپی پاتولوژیک قلب، اغلب به سمت نارسایی قلبی پیش می‌رود که می‌تواند مرگ‌ومیر بیماران را افزایش دهد (۷). علاوه بر این، برخی از عوامل مهم درون سلولی هاپیروتروپی فیزیولوژیکی و پاتولوژیک قلب را تنظیم می‌کنند. به‌عنوان مثال، مسیر پیام‌دهی PI3K/AKT، مسیر پیام‌دهی p38 و هدف پستانداران راپامایسین^۸ (mTOR) در تعدیل هاپیروتروپی قلبی مشارکت می‌کنند که همگی می‌توانند بر رونویسی ژن، ترجمه پروتئین و متابولیسم تأثیر بگذارند، همچنین تحریک مکانیکی همانند انجام فعالیت ورزشی می‌تواند فاکتور رشد شبه انسولین^۹ (IGF-1) و Akt را فعال کند و از این طریق سبب فعال‌شدن، هاپیروتروپی میوکارد شود (۷). هاپیروگلیسمی مداوم، تولید بیش از حد یا حذف ناکافی گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن^{۱۰} (ROS) در بدن منجر به بروز استرس اکسیداتیو می‌شود که یک عامل تأثیرگذار کلیدی برای میکروآنژیوپاتی^{۱۱} دیابتی است و همچنین یکی از دلایل اصلی کاردیومیوپاتی^{۱۲} دیابتی به شمار می‌رود (۸). بیماری دیابت می‌تواند آپوپتوز را از طریق مسیرهای متعددی فعال کند. هاپیروگلیسمی مزمن می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو، التهاب و فعال‌شدن مسیرهای پیام‌دهی پرو آپوپتوتیک شود که در نهایت منجر به مرگ سلول‌های بتا و سایر سلول‌های تولیدکننده انسولین می‌شود (۹).

تمرین ورزشی منظم، راهبردی غیردارویی است که به‌عنوان درمان کمکی در نارسایی قلبی استفاده می‌شود (۱۰). تمرین ورزشی به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر در جهت کاهش عوارض ناشی از بیماری دیابت توصیه شده است. تمرین‌های تناوبی با شدت بالا^{۱۳} (HIIT)، به‌عنوان یکی از شیوه‌های جدید تمرین ورزشی، نسبت به تمرینات هوازی و مقاومتی سنتی تأثیر بیشتری بر ترکیب بدن، کاهش درصد چربی و مقاومت به انسولین دارد (۱۱). با توجه به تنوع زیاد در برنامه تمرین‌های HIIT (شدت و مدت‌های مختلف)، این تمرین‌ها مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (۱۱). محققان گزارش می‌دهند که سازگاری‌های قلبی-عروقی، عضلانی و متابولیکی به دنبال فعالیت ورزشی در جمعیت‌های سالم و بیمار وابسته به شدت تمرین هستند و نتایج مفید ناشی از تمرین HIIT در مقایسه با تمرین استقامتی تداومی برای محافظت از قلب مشهودتر است (۱۲). از طرفی دیگر، ناهمسو با این یافته بیان شده که اگر شدت تمرین بالا باشد، احتمال افزایش مرگ سلولی وجود دارد (۱۳). طبق تحقیقات انجام‌شده فعالیت بدنی با شدت‌های بالا علاوه بر ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیک، ممکن است با دستگاه دفاع ضد اکسایشی ناکارآمد بدن همراه شود و به استرس اکسیداتیو و آسیب‌های سلولی منجر شود (۱۳). نتایج مطالعات اخیر در این زمینه نشان داده‌اند که در تمرین HIIT، به دلیل افزایش

1. Atherosclerosis
2. Cardiomyopathy
3. Phosphatidylinositol-3 kinases
4. Protein kinase B

5. Cardiomyocytes
6. Fibrosis
7. mammalian target of rapamycin
8. Insulin-like growth factor 1

9. Reactive oxygen species.
10. Microangiopathy
11. Cardiomyopathy
12. High-Intensity Interval Training



اکسیژن مصرفی و سطوح بالای از سوخت و ساز بی‌هوازی، به تولید گونه‌های واکنش پذیر نیتروژن^۱ (RNS) و NADPH اکسیداز که یک آنزیم مسئول تولید ROS در عروق است، ختم می‌شود و همچنین باعث تغییرات هموستاز کلسیم و هنگام بروز فرایند آسیب خون‌رسانی مجدد می‌شود (۱۳). همچنین مهار و فعال‌شدن فرایند مرگ سلولی، تحت تأثیر میزان شدت انجام فعالیت ورزشی قرار می‌گیرد (۱۴). در مطالعه‌ای بیان شده که هشت هفته تمرین HIIT و تمرین تداومی با شدت متوسط از محتوای پروتئین FOXO3، AKT، PI3K و بیان ژن کاسپاز ۸ در بافت قلب محافظت می‌کند و هر دو تمرین تأثیر قابل توجهی بر کاردیومیوپاتی دیابتی دارد (۱۵). در مطالعه‌ای دیگر بیان شده که چهار هفته تمرین HIIT، منجر به تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین AKT1 و mTOR در بطن چپ موش‌های چاق دیابتی نوع دو در مقایسه با گروه کنترل دیابتی نمی‌شود (۱۶). بنابراین از یک سو تحقیقات بیان می‌کنند که تمرین با شدت بالا می‌تواند سبب سازگاری در دستگاه قلبی و عروقی و کنترل هایپرگلیسمی گردد (۱۲، ۱۷) و از سوی دیگر برخی تحقیقات خطر افزایش مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی به دنبال افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و فرایندهای التهابی را در تمرینات با شدت بالا گزارش کرده‌اند و همچنین بیان کرده‌اند که تمرینات با شدت کم و متوسط برای بیماران دیابتی نوع دو مفیدتر از تمرینات HIIT می‌باشد (۱۳، ۱۸). با توجه به چنین نتایج متناقضی از اثرات این تمرینات تحقیق حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که آیا تمرینات HIIT می‌تواند به عنوان یک راهبرد غیردارویی با تغییر در سطوح سلولی و مولکولی بر فاکتورهای مرتبط با هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب تأثیر بگذارد؟ از این رو، در این پژوهش به بررسی تأثیر تمرین HIIT بر تغییرات سطوح پروتئین‌های مسیور پیام‌دهی PI3K/AKT/mTOR مرتبط با هایپرتروفی‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک در بافت قلب موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو پرداخته شده است.

روش تحقیق

نمونه‌های پژوهش: از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هشت هفته و میانگین وزنی 16 ± 191 استفاده شد که از دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شدند. موش‌های صحرایی با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 45 ± 5 درصد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ در قفس‌های مخصوص جوندگان از جنس پلی‌کربنات نگهداری شدند (هر قفس پنج موش). موش‌های صحرایی در محل نگهداری ابتدا به مدت یک هفته با شرایط محیط سازگار شدند و بعد به صورت تصادفی به چهار گروه (هر گروه ۱۰ سر موش)؛ سالم کنترل، سالم تمرین، دیابت کنترل، دیابت تمرین تقسیم شدند. ابتدا به گروه‌های دیابتی بیماری دیابت منتقل شد و سپس گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته برنامه تمرینی را انجام دادند و همچنین در طول پژوهش به صورت آزادانه به آب و غذای مخصوص و استاندارد حیوانات، دسترسی داشتند. در تمامی مراحل پژوهش، طبق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه شهید چمران اهواز، با شماره EE/1401.1.2.24.222048/scu.ac.ir رعایت شد.

روش ایجاد دیابت: برای ایجاد دیابت نوع دو در گروه‌های دیابتی، موش‌های صحرایی ابتدا به مدت دو ماه (مطابق جدول ۱) از رژیم غذایی پرچرب که از پژوهشکده رویان اصفهان خریداری شد، استفاده کردند (۱۹). سپس با یک دوز استرپتوزوتوسین^۳ (STZ) (۳۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) در حالتی که موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت ناشتا بودند، به صورت درون صفاقی تزریق شد و برای اطمینان از دیابتی شدن، موش‌های صحرایی ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، میزان قند خون سیاه‌رگ دمی با استفاده از دستگاه گلوکومتر مدل Roche^۴ ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد و موش‌هایی وارد پژوهش شدند که سطح قند خون ناشتا بالای ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر داشتند (۲۰). در صورتی که تغذیه گروه‌های سالم رژیم غذایی عادی بود.

جدول ۱. محتوای رژیم‌های غذایی عادی و پرچرب

مواد تشکیل‌دهنده رژیم غذایی	چربی	کربوهیدرات	پروتئین	مواد معدنی	فیبر	ویتامین
رژیم غذایی عادی	۱۰ درصد	۷۰ درصد	۲۰ درصد	۵۰ گرم	۵۰ گرم	۳ گرم
رژیم غذایی پرچرب	۶۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۵۰ گرم	۵۰ گرم	۳ گرم

برنامه تمرینی: قبل از شروع تمرین ورزشی، مرحله آشناسازی موش‌ها شامل ۵ روز تمرین روی نوارگردان، هر روز ۱۰ دقیقه

1. Residue Number System

3. Streptozotocin

4. Roche Diagnostics K.K., Japan

2. Ischemiareperfusion



با سرعت ۸ متر بر دقیقه و شیب صفر بود و بعد برای به دست آوردن سرعت بیشینه، موش‌ها با سرعت ۸ متر بر دقیقه روی نوارگردان شروع به دویدن کردند و سرعت هر ۲ دقیقه تا زمان خستگی ۱ متر بر دقیقه افزایش یافت. خستگی به گونه‌ای بود که در آن موش‌ها به جای دویدن، روی شوکرهای نوارگردان که محرکی برای دویدن هستند، بیش از ۱۰ ثانیه بمانند، در این لحظه خستگی، زمان و سرعت ثبت شد (۲۱). در نهایت برنامه اصلی تمرین به مدت هشت هفته (هر هفته شامل ۵ جلسه تمرین) بر اساس درصدی از حداکثر سرعت بیشینه مطابق جدول ۲ اجرا شد (۲۲).

جدول ۲. برنامه تمرین (شیب در تمام طول تمرین صفر بود).

هفته	تعداد تناوب‌ها	مدت زمان فعالیت با شدت بالا (دقیقه)	استراحت فعال بین تناوب‌ها (دقیقه)	شدت تمرین (%V _{max})	شدت استراحت (%V _{max})	کل زمان تمرین در یک جلسه (دقیقه)
۱	۴	۲	۱	۸۰	۵۰	۱۲
۲	۴	۲	۱	۸۵	۵۰	۱۲
۳	۶	۲	۱	۸۵	۵۰	۱۸
۴	۶	۲	۱	۹۰	۵۰	۲۱
۵	۸	۲	۱	۹۰	۵۰	۲۴
۶	۸	۲	۱	۹۵	۵۰	۲۴
۷	۱۰	۲	۱	۹۵	۵۰	۳۰
۸	۱۰	۲	۱	۱۰۰	۵۰	۳۰

سرعت بیشینه موش‌های صحرایی هر دو هفته یکبار اندازه‌گیری شد و بر اساس آن برنامه تمرینی برای دو هفته بعد طراحی می‌شد تا به این شکل اصل اضافه بار نیز رعایت شود.

نحوه استخراج بافت قلب: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، تمام موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی، ترکیبی از کتامین (۸۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس بافت قلب از بدن حیوان خارج و با نرمال سالین شست و شو داده شد و برای سنجش پروتئین‌ها بلافاصله در دمای ۷۰- فریز شد.

روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین (H&E): بافت قلب توسط اتانول (۷۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت، ۹۰ درصد به مدت یک ساعت و ۱۰۰ درصد به مدت یک ساعت) ابتدا آبزدایی و سپس با گزپلول (زایلنول) پاک سازی گردید و در پارافین جاسازی شد. بعد نمونه‌ها با ضخامت پنج میکرون به وسیله دستگاه میکروتوم Leica RM2025 ساخت کشور آلمان برش خوردند که بعد این برش‌ها روی اسلاید شیشه‌ای تثبیت شدند. برای رنگ آمیزی ابتدا مقاطع بافتی در ظرف گزپلول به مدت پنج دقیقه و سپس در غلظت‌های نزولی الکل، در هر ظرف به مدت دو دقیقه قرار داده شدند. پس از دو دقیقه غوطه‌وری در آب مقطر، نمونه‌ها در رنگ هماتوکسیلین به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و سپس به مدت پنج دقیقه با آب جاری شست و شو شدند. در این مرحله، نمونه‌ها در اتوزین به مدت چهار دقیقه قرار گرفتند و سپس به مدت پنج دقیقه با آب جاری شست و شو شدند. در مرحله بعد مقاطع بافتی در الکل اتیلیک با غلظت‌های صعودی ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت دو دقیقه قرار گرفتند و در آخر نمونه‌ها درون دو ظرف حاوی گزپلول، هر کدام به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. برای حفظ برش و ثابت ماندن روی لام از لامل و چسب کانادا بالزام استفاده شد (۲۳).

روش رنگ آمیزی تانل (TUNEL): آپوپتوز با روش تانل که DNA تکه‌تکه شده را در محل هسته سلول تشخیص می‌دهد، ارزیابی شد. برش‌های قلبی تهیه شده، با ۵۰ میکرولیتر پروتئیناز K به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه مرطوب انکوبه شدند و سپس با PBS شسته شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کار DNase I روی لام اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۱۰-۳۰ دقیقه انکوبه شد. بافر تعادل (۵×) TdT [E-CK-A334A] با ddH₂O تا بافر تعادل TdT×۱ رقیق شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر بافر کار تعادل TdT×۱ به هر لام اضافه و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. هر مرحله با شست و شوی PBS انجام می‌شود. مایع اطراف بافت روی



اسلایدها با کاغذ جاذب خشک شد و سپس DAPI (یک رنگ آبی فلورسنت است که به مناطق غنی از DNA متصل می‌شود و در غلظت‌های بالا به سلول نفوذ می‌کند) اضافه شد و در دمای اتاق به مدت پنج دقیقه انکوبه شد. به بخش‌های تیمار شده (Treated) با DNase I به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. بخش‌هایی که در آن‌ها تیمار پروتئیناز K با PBS جایگزین شد به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. بعد، برش‌ها با میکروسکوپ (Olympus BX50 Microscope fluorescent) و دوربین دیجیتال Microbin 20 مشاهده شد و سلول‌های تائل مثبت با استفاده از نرم افزار ImageJ مورد ارزیابی قرار گرفت و به صورت Fold of Control گزارش شد (۲۴).

روش آزمایشگاهی: برای سنجش پروتئین‌ها از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات استفاده شد. به ازای هر ۱۰۰ میلی گرم بافت ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیزکننده سرد افزوده و نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (اسپید مایل پلاس ساخت آلمان) و با دور ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژن شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد. به منظور تعیین مقدار پروتئین در هموژن بافتی، از روش برادفورد^۱ استفاده شد. در این روش، نمونه‌ها با بافر نمونه 2X^۲ با نسبت یک به یک مخلوط و به مدت پنج دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین‌ها حالت خطی پیدا کنند. سپس برای از بین رفتن بخار ایجاد شده، پنج ثانیه سانتریفیوژ سریع انجام داده و درون یخ قرار دادیم. در این مرحله، نمونه‌ها در چاهک‌های الکتروفورز حاوی ژل (SDS-PAGE) ریخته شدند و ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با ولتاژ ۶۰ و سپس به مدت یک ساعت با ولتاژ ۱۰۰ ولت فرایند الکتروفورز انجام شد. سپس در مرحله انتقال پروتئین‌ها با ولتاژ ۶۰ و به مدت ۱۰۵ دقیقه در درون بافر انتقال روی کاغذ نیترو- سلولز منتقل شدند. پس از عمل انتقال سه مرتبه و هر مرتبه به مدت پنج دقیقه با محلول سالین بافر فسفات (PBS) شست‌وشو داده شد. عمل مسدودسازی توسط بافر بلاک‌کننده به مدت یک شب در یخچال و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد انجام شد. کاغذ نیترو- سلولز با آنتی‌بادی‌های اولیه با رقت ۱/۲۰۰۰ تا ۱/۵۰۰۰ در بافر PBS به مدت یک ساعت در دمای محیط روی شیکر با ۶۵ دور در دقیقه انکوبه گردید. از آنتی‌بادی‌های ثانویه با رقت ۱/۲۰۰۰ در بافر PBS به مدت یک ساعت برای اتصال به آنتی‌بادی‌های اولیه استفاده شد. در این مرحله کاغذها با دو محلول کیت لومینسانس شیمیایی تقویت‌شده^۳ (ECL) با شماره سریال ۱۳۳۴۰۸ ساخت آمریکا) در اتاق تاریک و زیر نور قرمز، به مدت یک دقیقه آغشته و پس از خشک شدن در محیط، کاغذها درون کاست محافظ پلاستیکی حاوی فیلم حساس قرار داده و در دستگاه برداشگر X-RAY (مدل LD-14، ساخت چین) ظهور باندها انجام شد. سرانجام کاغذهای حساس به نور با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 (مدل BonninTech، ساخت چین) اسکن شده و دانسیته باندها توسط نرم‌افزار دستگاه JS 2000 مورد بررسی قرار گرفت.

تحلیل آماری: برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۴ استفاده شد. با استفاده از آزمون لون^۵ همگن بودن واریانس‌ها تأیید شد و همچنین با استفاده از آزمون تحلیل واریانس مرکب، تغییرات وزنی و سطح قند خون مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۶ و سپس از آزمون تعقیبی توکی^۷ به منظور بررسی تفاوت میان گروه‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ $p <$ در نظر گرفته شد. برای عملیات آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ و نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

یافته‌ها

مطابق شکل ۱، نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب نشان داد که وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه‌های دیابتی با شروع برنامه تمرینی و مصرف رژیم غذایی پرچرب تا قبل از تزریق STZ افزایش معنی‌داری پیدا کرده است ($p = ۰/۰۰۱$) و در پایان برنامه تمرین کاهش معنی‌داری یافت ($p = ۰/۰۰۱$). همچنین، پس از اتمام برنامه تمرین وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه دیابت کنترل نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود (در همه مقایسه‌ها $p = ۰/۰۰۱$).

میزان وزن بدن گروه دیابت کنترل نسبت به گروه‌های سالم، در مراحل قبل از تزریق STZ و یک هفته بعد از تزریق STZ افزایش

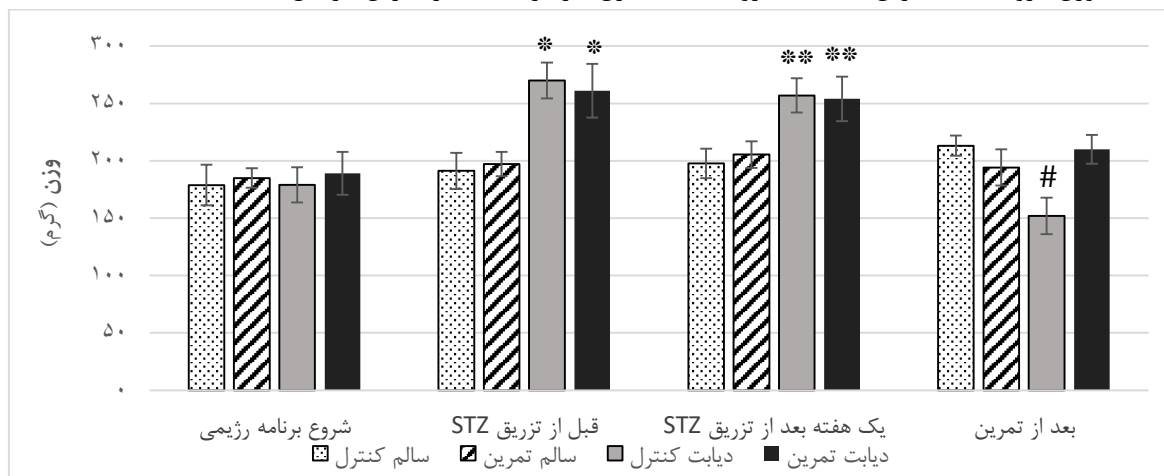
1. Western blots
2. Bradford
3. Loading Buffer

4. Phosphate-buffered saline
5. Enhanced chemiluminescence
6. Shapiro-Wilk

7. Levene
8. One-way analysis of variance
9. Tukey



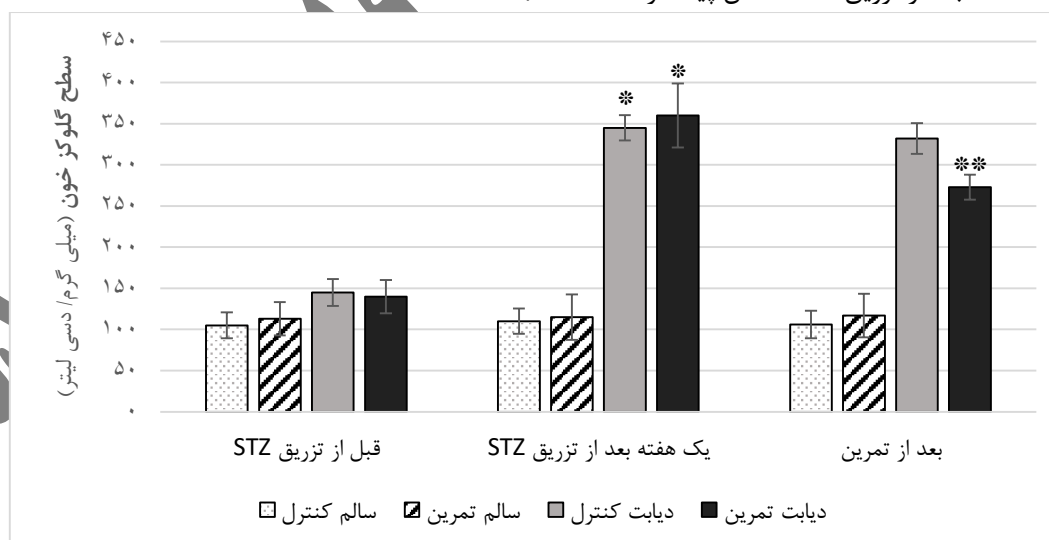
یافت (در همه مقایسه ها $p=0/001$)؛ همچنین این گروه در مرحله بعد از تمرین نسبت به سایر گروه‌ها کاهش پیدا کرد (در همه مقایسه ها $p=0/001$). وزن گروه دیابت کنترل در مراحل قبل از تزریق STZ و یک هفته بعد از تزریق STZ نسبت به مرحله شروع برنامه رژیمی، افزایش یافت (هر دو $p=0/001$). میزان وزن بدن گروه دیابت تمرین نسبت به گروه‌های سالم، در مراحل قبل از تزریق STZ و یک هفته بعد از تزریق STZ افزایش پیدا کرد (در همه مقایسه ها $p=0/001$)؛ همچنین این گروه در مراحل قبل از تزریق STZ و یک هفته بعد از تزریق STZ نسبت به مراحل شروع برنامه رژیمی و بعد از تمرین، افزایش یافت (هر دو $p=0/001$). وزن گروه دیابت تمرین نسبت به گروه دیابت کنترل، در مرحله بعد از تمرین افزایش یافت ($p=0/001$).



شکل ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب در مورد تغییرات وزن بدن گروه‌های پژوهش در چهار مرحله

*نشانه تفاوت معنی‌دار گروه‌های دیابتی با گروه‌های سالم در مرحله قبل از تزریق STZ **نشانه تفاوت معنی‌دار گروه‌های دیابتی با گروه‌های سالم در مرحله یک هفته بعد از تزریق STZ #نشانه تفاوت معنی‌دار گروه دیابت کنترل با سایر گروه‌ها در مرحله بعد از تمرین؛ سطح معنی‌داری $p<0/05$.

مطابق شکل دو، نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب نشان داد که میزان قند خون موش‌های صحرایی گروه‌های دیابتی یک هفته بعد از تزریق STZ افزایش یافته است ($p=0/001$)؛ اما بعد از اتمام برنامه تمرین، میزان قند خون گروه دیابت تمرین نسبت به مرحله یک هفته بعد از تزریق STZ کاهش پیدا کرد ($p=0/001$).



شکل ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب در مورد تغییرات میزان قند خون گروه‌های پژوهش در سه مرحله

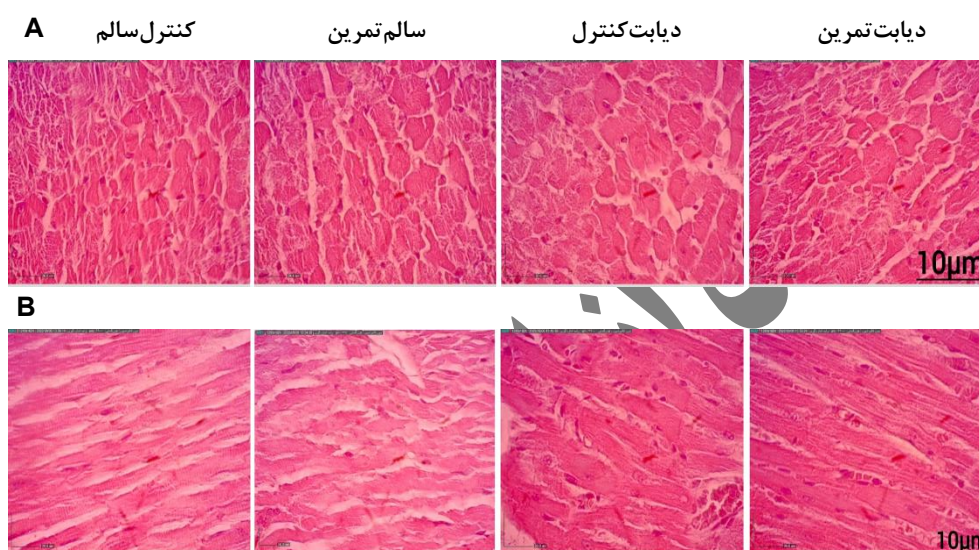
*نشانه تفاوت معنی‌دار گروه‌های دیابتی با گروه‌های سالم در مرحله یک هفته بعد از تزریق STZ **نشانه تفاوت معنی‌دار گروه دیابت تمرین با سایر گروه‌ها در مرحله بعد از تمرین؛ سطح معنی‌داری $p<0/05$.

در جدول ۳ میانگین میزان پروتئین‌های PI3K، AKT و mTOR در بافت قلب موش‌های صحرایی گزارش شده است. نتایج



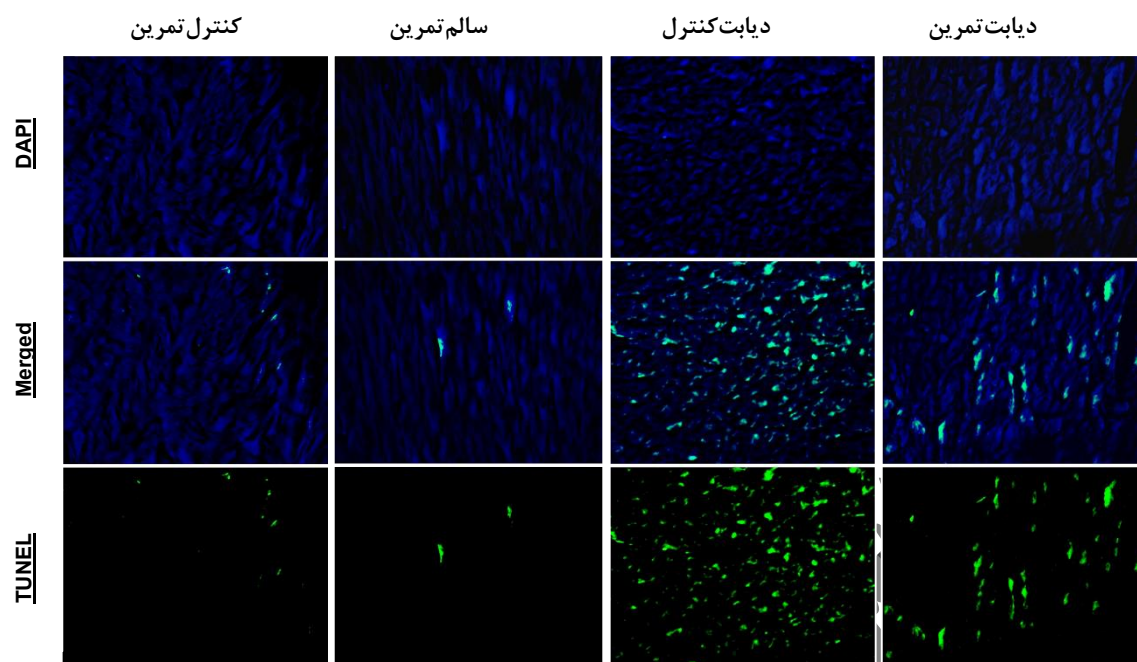
حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (جدول ۴) نشان داد که میانگین میزان پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری (به ترتیب $p=0/001$ ، $p=0/001$ و $p=0/003$) پیدا کرده است. بر اساس نتایج آزمون تعقیبی توکی، میزان نسبی پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR در گروه دیابت‌کنترل نسبت به گروه کنترل سالم به صورت معنی‌داری کاهش یافت (هر سه $p=0/001$)؛ در حالی که میزان این پروتئین‌ها در گروه دیابت‌تمرین نسبت به گروه دیابت‌کنترل، افزایش معنی‌داری (به ترتیب $p=0/003$ ، $p=0/009$ و $p=0/004$) پیدا کرد (شکل پنج).

شکل سه تغییرات هیستولوژیک هایپرتروفی ناشی از بیماری دیابت و تمرین HIIT بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. برش‌ها به دو صورت برش عرضی (A) و طولی (B) هستند. فرایند اندازه‌گیری نمونه‌های بافتی برای بررسی میزان هایپرتروفی قلبی با استفاده از نرم‌افزار Dinocapture و عدسی Dino-Eye Microscope AM- 423X (مدل ANMO، تایوان) استفاده شد.

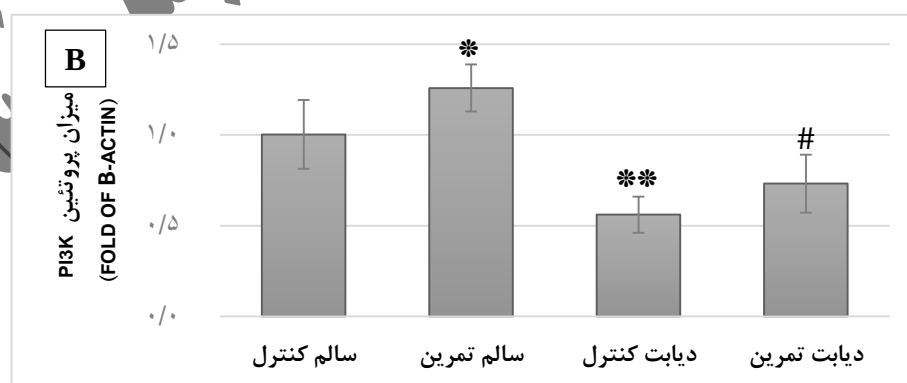
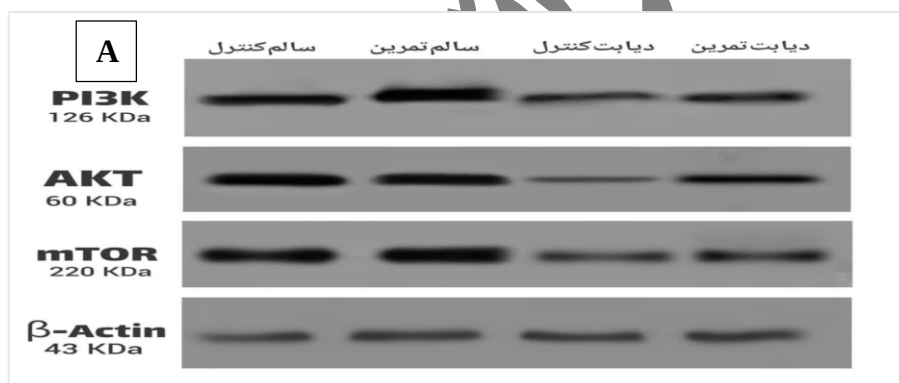


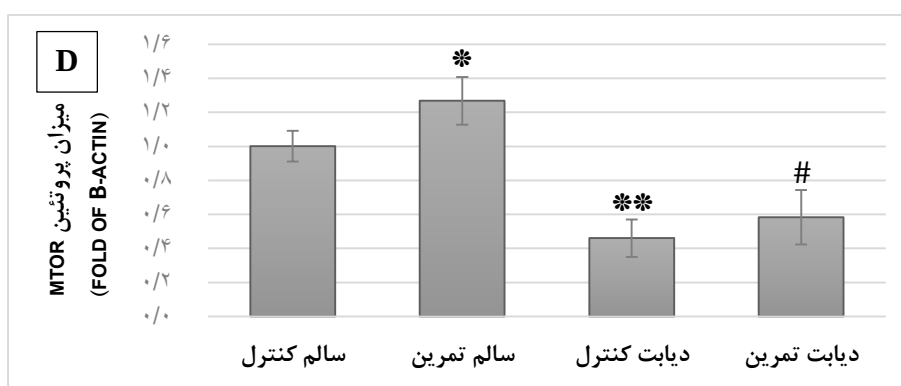
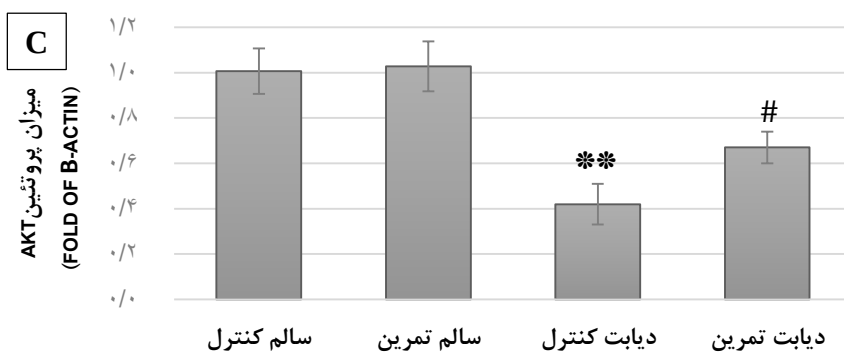
شکل ۳. رنگ آمیزی قلب به روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) انجام شد. نوار سیاه رنگ ۱۰ میکرومتر را نشان می‌دهد.

شکل ۴ میزان تغییرات آپوپتوز ناشی از بیماری دیابت و تمرین HIIT بافت قلب موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. با استفاده از رنگ آمیزی DAPI سلول‌های زمینه به رنگ آبی رنگ آمیزی شده و سلول‌های TUNEL با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنت^۱ و دوربین دیجیتال^۲ به صورت سبز رنگ قابل نمایان هستند. با استفاده از ارزیابی دانسیته سلول‌های آپوپتوزی از طریق نرم‌افزار Image J میزان آپوپتوز مشخص شد (میزان بزرگ‌نمایی X400).



شکل ۴. میزان تغییرات آپوپتوز بافت قلب در گروه‌های مختلف با استفاده از رنگ‌آمیزی TUNEL





شکل 5. A مقادیر پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR در گروه‌های مختلف با استفاده از روش‌های وسترن بلات

B، C و D تجزیه و تحلیل باندهای وسترن بلات پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR در گروه‌های مختلف.

*افزایش معنی‌دار گروه سالم‌تمرین با سایر گروه‌ها. **کاهش معنی‌دار گروه دیابت کنترل با سایر گروه‌ها. #تفاوت معنی‌دار گروه دیابت‌تمرین با سایر گروه‌ها؛ سطح معنی‌داری ($p < 0.05$)

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR

گروه	سالم کنترل	سالم تمرین	دیابت کنترل	دیابت تمرین
متغیر	میانگین $\pm$ انحراف معیار			
PI3K	1.00 $\pm$ 0.18	1.25 $\pm$ 0.11	0.46 $\pm$ 0.08	0.73 $\pm$ 0.15
AKT	1.00 $\pm$ 0.20	1.02 $\pm$ 0.11	0.42 $\pm$ 0.08	0.67 $\pm$ 0.07
mTOR	1.00 $\pm$ 0.09	1.26 $\pm$ 0.12	0.46 $\pm$ 0.09	0.58 $\pm$ 0.14

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راه درمورد مقایسه تغییرات بین گروهی پروتئین‌های AKT، PI3K و mTOR

متغیر	df	F	p
PI3K	3	413/27	0.001*
AKT	3	389/70	0.001*
mTOR	3	29/83	0.003*

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیماری دیابت سبب افزایش معنی‌دار طول و ضخامت سلول‌های میوسیت قلب شد. این این



فرایند هایپرتروفی پاتولوژیک است که به موجب بیماری، در قلب موش‌های صحرایی ایجاد شده است. پس از انجام هشت هفته تمرین HIIT به صورت منظم، علاوه بر این که هایپرتروفی پاتولوژیک در موش‌های صحرایی دیابتی کنترل شد، در موسیت‌های قلب موش‌های صحرایی نیز هایپرتروفی فیزیولوژیک مشاهده شد. همسو با این نتایج مطالعه نووا^۱ و دیگران (۲۰۱۷) مبنی بر اینکه تمرین HIIT ضخامت و سطح مقطع سلول‌های میوسیت قلب را در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت را کنترل می‌کند (۲۵).

نتایج این پژوهش نشان داد که بیماری دیابت منجر به افزایش معنی‌دار میزان قند خون موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه‌های سالم می‌شود، درحالی‌که پس از انجام تمرین HIIT در گروه دیابت‌تمرین میزان قند خون به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. همسو با این نتایج در مطالعه‌ای بیان شده که سطح گلوکز خون گروه دیابت‌کنترل و دیابت‌تمرین یک هفته بعد از تزریق STZ، به‌صورت معنی‌دار افزایش پیدا می‌کند درحالی‌که پس از اجرای HIIT در گروه دیابت‌تمرین با کاهش معنی‌دار همراه است (۲۶). در مطالعه امری و دیگران (۲۰۱۹) تمرینات HIIT با تمرینات استقامتی مقایسه شد که تمرینات HIIT منجر به کاهش قابل توجهی در قند خون ناشتا در مقایسه با تمرینات استقامتی موش‌های دیابتی ناشی از STZ شد. یکی از عوامل بروز کاردیومیوپاتی، آپوپتوزیس ناشی از هایپرگلیسمی و اختلال در گلوکز پلاسما و میزان انسولین است، به شکلی که هایپرگلیسمی مزمن یکی از علت‌های اصلی اختلال در تنظیم کلسیم سیتوپلاسمی، ROS و مقاومت به انسولین است که سلول‌های قلب را مستعد مرگ سلولی می‌کند و در نهایت بافت قلب دچار نارسایی و تغییر در انقباض می‌شود (۲۷).

دیگر نتایج این پژوهش نشان داد که بیماری دیابت منجر به کاهش معنی‌دار میزان پروتئین‌های PI3K/AKT/mTOR در قلب موش‌های صحرایی می‌شود. همسو با این نتایج اخیراً در مطالعه لی^۲ و دیگران (۲۰۲۵) بیان شده است که مسیر PI3K/AKT عملکردهای مهمی در تکثیر سلولی دارد. فعال‌شدن این مسیر انقباض قلب را بهبود می‌بخشد و آپوپتوز قلب را کاهش می‌دهد و ثابت شده است که بیماری دیابت مسیر PI3K/AKT را مختل می‌کند (۲۸). همچنین در مطالعه لاکشمیپاتی^۳ و دیگران (۲۰۱۶) بیان شده که بیماری دیابت فعالیت mTOR را در قلب سرکوب می‌کند و این درحالی‌است که فعالیت mTOR می‌تواند در تنظیم اتوفاجی بیماران نارسایی قلبی نقش مهمی را ایفا کند (۲۹). در این زمینه مطالعه ناهمسوی پیدا نشد. مقاومت به انسولین در دیابت نوع دو منجر به اختلال در سوخت و ساز و سنتز پروتئین‌ها از طریق مسیر پیام‌دهی PI3K/AKT می‌شود. هنگامی که بیماری دیابت کنترل نشود در سنتز پروتئین عضلات، اختلال ایجاد می‌شود و تجزیه پروتئین افزایش می‌یابد (۳۰).

به‌علاوه، این پژوهش نشان داد که تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین‌های PI3K/AKT/mTOR در قلب موش‌های صحرایی می‌شود. همسو با این نتایج در مطالعه‌ای بیان شده است که با بررسی فعالیت ورزشی روی قلب موش‌های دیابتی، هشت هفته تمرین HIIT می‌تواند مسیر پیام‌دهی PI3K/AKT را در قلب فعال کند که همین امر منجر به هایپرتروفی فیزیولوژیک می‌شود (۳۱). فعالیت ورزشی PI3K، AKT را فعال می‌کند و AKT سوبستراهای پایین‌دستی را فسفریله می‌کند که در تنظیم عملکردهای مختلف سلولی از جمله آپوپتوز، متابولیسم و پیشرفت چرخه سلولی نقش دارند (۳۲). همچنین در مطالعه کمی^۴ و دیگران (۲۰۰۸) بیان شد که تمرین HIIT مسیر پیام‌دهی AKT/mTOR را در قلب فعال می‌کند و فعال‌شدن این مسیر منجر به رشد فیزیولوژیک قلب می‌شود. در مقابل، هنگام هایپرتروفی پاتولوژیک که تقریباً وزن قلب را دو برابر می‌شود، این مسیر پیام‌دهی غیرفعال است (۳۳). بررسی microRNA‌های مرتبط با پیام‌دهی mTOR، در بطن چپ موش‌های صحرایی نشان داد که AKT به‌عنوان پروتئین بالادست mTOR فعال می‌شود و احتمالاً هایپرتروفی بطن چپ در اثر تمرین با حجم بالا افزایش می‌یابد که می‌تواند تأثیر مطلوبی بر عملکرد قلبی داشته باشد (۳۴). مکانیسم‌های مولکولی هایپرتروفی فیزیولوژیک منجر به افزایش سنتز پروتئین و رشد سلولی در کاردیومیوسیت‌ها می‌شود که در نهایت سبب افزایش اندازه قلب می‌شود (۶). با این حال در مطالعه‌ای ناهمسو، آقایی بهمن بگلو و دیگران (۲۰۲۱) بیان کردند که چهار هفته تمرین HIIT بر محتوای تام پروتئین‌های AKT1 و mTOR بطن چپ موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت تأثیری ندارد. در مطالعه آقایی بهمن بگلو و همکاران با توجه به این‌که مدت زمان پژوهش چهار هفته تمرین HIIT بوده و در کل پژوهش فقط یک‌بار از موش‌های صحرایی V_{max} گرفته شده، احتمالاً دلیل عدم هم‌سویی مربوط به مدت زمان، شدت تمرین، V_{max} و نوع آزمودنی باشد (۱۶).

1. Novoa

2. Li

3. Lakshmipathi

4. Kemi



نتایج این مطالعه در کنار سایر مطالعات انجام شده نشان می دهد که بیماری دیابت سبب هایپرتروفی پاتولوژیک می شود در صورتی که تمرین HIIT علاوه بر کاهش قند خون در موش های صحرایی دیابتی، منجر به هایپرتروفی فیزیولوژیک نیز شده است. همچنین تغییر در نوع و شدت تمرین ورزشی بر پروتئین های مسیر سلولی مانند مسیر مرگ سلولی می تواند اثرات متفاوتی داشته باشد. در این مطالعه اگر همراه با متغیرهای پژوهش، نیمرخ عوامل اکسیدانی و آنتی اکسیدانی، طول و ضخامت بافت قلب و همچنین رنگ آمیزی های تخصصی پیکروسایروس رد¹ و تری کروم ماسون² میزان فیروز در بافت قلب مورد بررسی و اندازه گیری قرار می گرفت، با اطمینان بیشتری می توانستیم نتایج را تجزیه و تحلیل کنیم.

نتیجه گیری: به طور کلی نتایج پژوهش حاضر، نشان داده شد که تمرینات HIIT می تواند میزان قند خون و مقادیر پروتئین های مسیر پیام دهی PI3K، AKT، mTOR را در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا شده به دیابت را تنظیم کند. به سبب این تنظیم، از هایپرتروفی پاتولوژیک جلوگیری شده و منجر به سنتز پروتئین و هایپرتروفی فیزیولوژیک می شود. همچنین ارزیابی های هیستومورفومتری نشان داد، تمرینات انجام شده توانسته است که هایپرتروفی پاتولوژیک ناشی از بیماری دیابت را تا حد زیادی کنترل کند و راهکار مؤثری در کنترل عوارض قلبی- عروقی ناشی از بیماری دیابت باشد؛ پیشنهاد می شود که سایر عوامل و مسیرهای پیام دهی در این زمینه شناسایی شود تا در نهایت به اثر تمرین ورزشی به عنوان یک راهکار غیردارویی برای کنترل بیماری دیابت و عوارض آن برسیم.

قدردانی و تشکر

از تمامی افرادی که در این پژوهش کمک داشتند، تشکر می شود.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

1. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine*. 1998;15(7):539-53. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9136\(199807\)15:7%3C539::aid-dia668%3E3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9136(199807)15:7%3C539::aid-dia668%3E3.0.co;2-s).
2. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Blaha MJ, et al. Heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association. *circulation*. 2014;129(3):e28-e292. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000441139.02102.80>.
3. Schwingshackl L, Hoffmann G. Comparison of the long-term effects of high-fat v. low-fat diet consumption on cardiometabolic risk factors in subjects with abnormal glucose metabolism: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition*. 2014;111(12):2047-58. <https://doi.org/10.1017/s0007114514000464>.
4. Deloux R, Vitiello D, Mougnot N, Noirez P, Li Z, Mericskay M, et al. Voluntary exercise improves cardiac function and prevents cardiac remodeling in a mouse model of dilated cardiomyopathy. *Frontiers in physiology*. 2017;8:899. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00899>.
5. McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2007;34(4):255-62. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04585.x>.
6. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Nature Reviews Cardiology*. 2018;15(7):387-407. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0007-y>.
7. Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2016;97:245-62. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.06.001>.
8. Lu S, Liao Z, Lu X, Katschinski DM, Mercola M, Chen J, et al. Hyperglycemia acutely increases cytosolic reactive oxygen species via O-linked GlcNAcylation and CaMKII activation in mouse ventricular myocytes. *Circulation research*. 2020;126(10):e80-e96. <https://doi.org/10.1161/circresaha.119.316288>.
9. Wang L-H, Wang Y-Y, Liu L, Gong Q. From Diabetes to Diabetic Complications: Role of Autophagy. *Curr Med Sci*. 2023;43(3):434-44. <https://doi.org/10.1007/s11596-023-2727-4>.
10. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey Jr DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American



Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*. 2013;128(16):1810-52. <https://doi.org/10.1161/cir.0b013e31829e8807>.

11. Mohammadi S, Monazzami A. Effects of eight-week high-intensity interval training on some metabolic, hormonal and cardiovascular indices in women with PCOS: a randomized controlled trial. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*. 2023;15(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/s13102-023-00653-z>.
12. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*. 2012;590(5):1077-84. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224725>.
13. Lu Z, Xu Y, Song Y, Biró I, Gu Y. A mixed comparisons of different intensities and types of physical exercise in patients with diseases related to oxidative stress: a systematic review and network meta-analysis. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:700055. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.700055>.
14. Quindry JC, Miller L, McGinnis G, Kliszczewicz B, Irwin JM, Landram M, et al. Ischemia reperfusion injury, KATP channels, and exercise-induced cardioprotection against apoptosis. *J Appl Physiol (1985)*. 2012;113(3):498-506. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00957.2011>.
15. Khajehlandi M, Bolboli L. The Role of Quercetin and Exercise in Modulating Apoptosis and Cardiomyopathy via PI3K/AKT/FOXO3 Pathways in Diabetic Obese Rats. *Cell J*. 2025;26(9):559-68. <https://doi.org/10.22074/cellj.2024.2042044.1682>.
16. Aghaei Bahman Beglou N, Shadmehri S, Jahani Golbar S, Sharafati Moghadam M. The effect of four weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the Left ventricular muscle tissue of the heart obese rats with type 2 diabetic. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2021;14(1):85-94. <https://doi.org/10.52547/joeppa.14.1.85>.
17. Alvarez C, Ramirez-Campillo R, Martinez-Salazar C, Mancilla R, Flores-Opazo M, Cano-Montoya J, et al. Low-Volume High-Intensity Interval Training as a Therapy for Type 2 Diabetes. *Int J Sports Med*. 2016;37(9):723-9. <https://doi.org/10.1055/s-0042-104935>.
18. Hansen D, Dendale P, Jonkers RA, Beelen M, Manders RJ, Corluy L, et al. Continuous low- to moderate-intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia*. 2009;52(9):1789-97. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1354-3>.
19. Lee MR, Kim JE, Choi JY, Park JJ, Kim HR, Song BR, et al. Anti-obesity effect in high-fat-diet-induced obese C57BL/6 mice: Study of a novel extract from mulberry (*Morus alba*) leaves fermented with *Cordyceps militaris*. *Experimental and therapeutic medicine*. 2019;17(3):2185-93. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7191>.
20. Eliza J, Daisy P, Ignacimuthu S, Duraipandian V. Antidiabetic and antilipidemic effect of eremanthin from *Costus speciosus* (Koen.) Sm., in STZ-induced diabetic rats. *Chemico-Biological Interactions*. 2009;182(1):67-72. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.08.012>.
21. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular metabolism*. 2015;4(12):903-15. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.09.006>.
22. Orumiyehei A, Khoramipour K, Rezaei MH, Madadzadeh E, Meymandi MS, Mohammadi F, et al. High-Intensity Interval Training-Induced Hippocampal Molecular Changes Associated with Improvement in Anxiety-like Behavior but Not Cognitive Function in Rats with Type 2 Diabetes. *Brain Sciences*. 2022;12(10):1280. <https://doi.org/10.3390/brainsci12101280>.
23. Bancroft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques: *Elsevier health sciences*; 2008. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-10279-0.50004-x>.
24. Kanashiro-Takeuchi RM, Takeuchi LM, Rick FG, Dulce R, Treuer AV, Florea V, et al. Activation of growth hormone releasing hormone (GHRH) receptor stimulates cardiac reverse remodeling after myocardial infarction (MI). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(2):559-63. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-10279-0.50004-x>.
25. Novoa U, Arauna D, Moran M, Nuñez M, Zagmutt S, Saldivia S, et al. High-Intensity Exercise Reduces Cardiac Fibrosis and Hypertrophy but Does Not Restore the Nitroso-Redox Imbalance in Diabetic Cardiomyopathy. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:7921363. <https://doi.org/10.1155/2017/7921363>.
26. Rami M, Rahdar S, Ahmadi Hekmatikar A, Awang Daud DM. Highlighting the novel effects of high-intensity interval training on some histopathological and molecular indices in the heart of type 2 diabetic rats. *Frontiers in endocrinology*. 2023;14:1175585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1175585>.
27. Amri J, Parastesh M, Sadegh M, Latifi SA, Alaee M. High-intensity interval training improved fasting blood glucose and lipid profiles in type 2 diabetic rats more than endurance training; possible involvement of irisin and betatrophin. *Physiol Int*. 2019;106(3):213-24. <https://doi.org/10.1556/2060.106.2019.24>.
28. Li H, Luo ZR, Huang MY, Cai H, Lu PP, Xu YW, et al. Modified Taohong Siwu Decoction Improved Cardiac Function after Myocardial Infarction by Activating PI3K/Akt Signaling Pathway. *Curr Pharm Des*. 2025. <https://doi.org/10.2174/0113816128341178241028062518>.



29. Lakshmipathi J, Alvarez-Perez JC, Rosselot C, Casinelli GP, Stamateris RE, Rausell-Palamos F, et al. **PKC ζ Is Essential for Pancreatic β -Cell Replication During Insulin Resistance by Regulating mTOR and Cyclin-D2.** *Diabetes*. 2016;65(5):1283-96. <https://doi.org/10.2337/db15-1398>.
30. Liu PJ, Hu YS, Wang MJ, Kang L. Nutrient weight against sarcopenia: regulation of the IGF-1/PI3K/Akt/FOXO pathway in quinoa metabolites. *Curr Opin Pharmacol*. 2021;61:136-41. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.10.001>.
31. Yuan G, Qin Y, Peng P. High-intensity interval training for treating pathological cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats: effects and mechanisms. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*. 2020;24(23):3708. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2692>.
32. Huang X, Liu G, Guo J, Su Z. The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. *International journal of biological sciences*. 2018;14(11):1483. <https://doi.org/10.7150/ijbs.27173>.
33. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *Journal of cellular physiology*. 2008;214(2):316-21. <https://doi.org/10.1002/jcp.21197>.
34. Pelozin BR, Soci UP, Gomes JL, Oliveira EM, Fernandes T. mTOR signaling-related microRNAs as cardiac hypertrophy modulators in high-volume endurance training. *Journal of Applied Physiology*. 2022;132(1):126-39. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00881.2020>.

نسخه پیش از انتشار ویدایش نشده