

The Effect of High-Intensity Interval Training and Rutin Supplementation on the Expression of PGC-1 α , SIRT1, and TFAM Genes in the Cardiac Tissue of Male Rats with Type 2 Diabetes

Mehran Noroozi^{ID}, Bahman Mirzaei^{ID}

Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, University of Guilan, Rasht, Iran

Abstract

Background and Objective Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a progressive metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia, insulin resistance, and impaired cellular energy homeostasis. One of the major complications of T2DM is its detrimental effect on the cardiovascular system, where prolonged metabolic stress leads to structural and functional alterations in cardiac tissue. Mitochondria, as the primary organelles responsible for cellular energy supply, play a crucial role in maintaining normal myocardial contractility and function. Among the key regulators of mitochondrial health are PGC-1 α , SIRT1, and TFAM, which are strongly implicated in mitochondrial biogenesis and metabolic adaptation. Evidence indicates that diabetes downregulates the expression of these genes, thereby disrupting mitochondrial biogenesis. This impairment in mitochondrial biogenesis reduces cardiac energy availability, promotes contractile dysfunction, and ultimately contributes to the development of diabetic cardiomyopathy and heart failure. Consequently, non-pharmacological interventions such as structured exercise and natural compounds have gained attention as potential therapeutic strategies. High-intensity interval training (HIIT), owing to its intense and intermittent nature, has been shown to stimulate mitochondrial biogenesis and improve energy metabolism. Similarly, rutin, a natural flavonoid with potent antioxidant and anti-inflammatory properties, has been reported to protect cardiomyocytes against oxidative stress and may also influence mitochondrial biogenesis pathways. Therefore, the present study aimed to investigate the independent and combined effects of HIIT and rutin supplementation on the expression of PGC1- α , SIRT1, and TFAM in the cardiac tissue of type 2 diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male wistar rats with type 2 diabetes (induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin and nicotinamide) were selected and randomly divided into five groups of eight rats each: 1) Diabetic Control (DC), 2) Normal Control (NC), 3) High-Intensity Interval Training (D+HIIT), 4) Rutin Supplementation (D+R), and 5) High-Intensity Interval Training plus Rutin Supplementation (D+HIIT+R). The HIIT groups underwent a 4-week training protocol, consisting of five sessions per week (5-6 bouts of 2-minute running at 80-90% of maximum achieved speed, interspersed with 1-minute recovery periods at 30% of maximum achieved speed) on a specialized rodent treadmill. The rutin supplementation groups received 100 mg/kg of rutin daily via oral gavage for 4 weeks. Data analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-hoc test ($p < 0.05$).

Results: Induction of diabetes significantly reduced the expression of PGC1- α , SIRT1, and TFAM genes in the diabetic control (DC) group compared to the normal control (NC) group ($p < 0.05$). Each of the interventions, high-intensity interval training and rutin supplementation alone, significantly increased the expression of these genes (PGC1- α : $p = 0.001$; SIRT1: $p = 0.001$; TFAM: $p = 0.001$). Moreover, the combination of high-intensity interval training and rutin supplementation showed a significant effect in increasing the expression of PGC1- α ($p = 0.001$), SIRT1 ($p = 0.001$), and TFAM ($p = 0.001$).

Conclusion: High-intensity interval training (HIIT) and rutin supplementation, either alone or in combination, enhance the expression of PGC1- α , SIRT1, and TFAM genes in the cardiac tissue of male type 2 diabetic rats. This upregulation may strengthen mitochondrial biogenesis and improve ATP production, thereby promoting cardiac energy metabolism, reducing oxidative stress, and, together with lowering blood glucose, contributing to the prevention or attenuation of diabetic cardiomyopathy.

Keywords: Mitochondria, Rutin, HIIT Exercise, Type 2 diabetes, Diabetic Cardiomyopathy

How to cite this article: Noroozi, M., Mirzaei, B. The Effect of High-Intensity Interval Training and Rutin Supplementation on Improving Cardiac Mitochondrial Biogenesis in Male Rats with Type 2 Diabetes: A Molecular Approach Based on the Expression of PGC-1 α , SIRT1, and TFAM Genes. 2026;19(1):1-?.

*Corresponding Author's E-mail: mirzaee@guilan.ac.ir

Received: 19/08/2025

Revised: 22/09/2025

Accepted: 09/10/2025

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۵، دوره ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۱-۲

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل روتین بر بیان ژن‌های PGC1- α ، SIRT1 و TFAM در بافت قلب رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

مهران نوروزی ، بهمن میرزایی* 

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت نوع ۲ (T2DM) یک اختلال متابولیکی پیشرونده است که با هیپرگلیسمی مزمن، مقاومت به انسولین و اختلال در هموستاز انرژی سلولی مشخص می‌شود. یکی از عوارض عمده دیابت نوع ۲، اثرات مخرب آن بر سیستم قلبی-عروقی است؛ به‌طوری‌که استرس متابولیکی طولانی‌مدت منجر به تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت قلب می‌گردد.

میتوکندری‌ها به عنوان اندامک‌های اصلی تأمین‌کننده انرژی سلولی، نقشی حیاتی در حفظ انقباض‌پذیری و عملکرد طبیعی میوکارد دارند. در میان تنظیم‌کننده‌های کلیدی سلامت میتوکندری $PGC1-\alpha$ ، SIRT1 و TFAM از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند و در بیوژنز میتوکندری و سازگاری متابولیکی نقش محوری ایفا می‌کنند. شواهد نشان می‌دهد که دیابت با کاهش بیان این ژن‌ها، بیوژنز میتوکندری را مختل می‌سازد. این اختلال در بیوژنز میتوکندری، در دسترس بودن انرژی قلب را کاهش داده، موجب اختلال در عملکرد انقباضی می‌شود و در نهایت در بروز کاردیومیوپاتی دیابتی و نارسایی قلبی نقش دارد. در نتیجه، مداخلات غیردارویی نظیر تمرینات ورزشی ساختارمند و ترکیبات طبیعی به عنوان رویکردهای درمانی بالقوه مورد توجه قرار گرفته‌اند. تمرین تناوبی پرشدت (HIIT) به دلیل ماهیت شدید و متناوب خود، نشان داده است که می‌تواند بیوژنز میتوکندری را تحریک کرده و متابولیسم انرژی را بهبود بخشد. به طور مشابه، روتین به عنوان یک فلاونوئید طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی، توانایی محافظت از کاردیومیوسیت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو را دارد و ممکن است مسیرهای بیوژنز میتوکندری را نیز تحت تأثیر قرار دهد. از این رو، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات مستقل و ترکیبی تمرین تناوبی پرشدت و مکمل روتین بر بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ ، SIRT1 و TFAM در بافت قلب رت‌های دیابتی نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر رت نر ویستار دیابتی نوع ۲ (القا شده با یک بار تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید) انتخاب و به طور تصادفی در پنج گروه هشت سری (۱) کنترل دیابتی (DC) (۲) کنترل نرمال (NC) (۳) تمرین تناوبی پر شدت (D+HIIT)، (۴) مکمل روتین (D+R) و (۵) تمرین تناوبی پر شدت و مکمل روتین (D+HIIT+R) تقسیم شدند. گروه‌های تمرین تناوبی پر شدت به مدت ۴ هفته، پنج جلسه در هفته (۶-۵) و هله دو دقیقه ای دویدن با شدت ۹۰٪-۸۰٪ حداکثر سرعت دست یافته به همراه یک دقیقه یکاوری با ۳۰٪ از حداکثر سرعت دست یافته) به تمرین روی نوارگردان ویژه جوندگان پرداختند و گروه‌های مصرف روتین به مدت ۴ هفته روزانه ۱۰۰ mg/kg روتین را به صورت گاوژ دریافت کردند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد (۰/۰۵ < p).

یافته‌ها: القای دیابت باعث کاهش معنادار بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ ، SIRT1 و TFAM در گروه کنترل دیابتی (DC) نسبت به گروه کنترل سالم (NC) شد (۰/۰۵ < p). هر یک از مداخلات تمرین تناوبی پرشدت و مصرف مکمل روتین به تنهایی موجب افزایش معنادار بیان این ژن‌ها گردید ($PGC1-\alpha$: p= ۰/۰۰۱، SIRT1: p= ۰/۰۰۱، TFAM: p= ۰/۰۰۱). همچنین، ترکیب تمرین تناوبی پر شدت با مصرف روتین اثر معنی‌داری در افزایش بیان ژنی $PGC1-\alpha$ (p= ۰/۰۰۱)، SIRT1 (p= ۰/۰۰۱) و TFAM (p= ۰/۰۰۱) نشان داد.

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی پرشدت (HIIT) و مکمل روتین، به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر، بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ ، SIRT1 و TFAM را در بافت قلب رت‌های نر دیابتی نوع ۲ افزایش می‌دهند. این افزایش می‌تواند با تقویت بیوژنز میتوکندری و بهبود تولید ATP، متابولیسم انرژی قلب را ارتقاء بخشد، استرس اکسیداتیو را کاهش دهد و همراه با کاهش قند خون، در پیش‌گیری یا کاهش عوارض کاردیومیوپاتی دیابتی مشارکت می‌کند.

واژگان کلیدی: میتوکندری، روتین، تمرین HIIT، دیابت نوع ۲، کاردیومیوپاتی دیابتی

نحوه استناد به این مقاله: نوروزی، مهران، میرزایی، بهمن. تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل روتین بر بهبود بیوژنز میتوکندریایی قلب در موش‌های نر دیابتی نوع ۲: رویکردی مولکولی بر پایه بیان ژن‌های $PGC1-\alpha$ ، SIRT1 و TFAM. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۱): ۹-۹.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۸

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۴

مقدمه

طبق گزارش انجمن بین‌المللی دیابت، در سال ۲۰۲۱ حدود ۵۳۷ میلیون بزرگسال در محدوده سنی ۲۰-۷۹ سال دچار دیابت بوده‌اند و پیش‌بینی شده تعداد افراد مبتلا به دیابت تا سال ۲۰۴۵ به ۷۸۳ میلیون نفر خواهد رسید (۱). دیابت نوع ۲ و قند خون بالا، به‌طور مستقیم با استرس اکسیداتیو مرتبط هستند. در واقع، تولید بالای گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) و تغییر متعاقب در سطوح (دوکس و هموستاز سلولی در دیابت نوع ۲ توصیف شده‌اند (۲). قابل توجه است که بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نسبت به بیماران مشابه غیر دیابتی در معرض خطر بالای بیماری‌های قلبی مرتبط با مرگ و میر قرار دارند. توسعه بیماری قلبی-عروقی از جمله زیان بارترین عواقب دیابت می‌باشد و خطر اختلالات قلبی-عروقی در بیماران مبتلا به دیابت در مقایسه با افراد غیردیابتی دو برابر است (۳). بیماران دیابتی بدون علل مشخص و با عروق کرونری نرمال از نارسایی قلبی رنج می‌برند (۴). این یافته‌ها منجر به تعریف نارسایی جدیدی به نام کاردیومیوپاتی دیابتی (DCM) گردید. در واقع، DCM مشخصه خاصی از بیماری‌های قلبی-عروقی است که توسط فیبروز قلبی، اختلال در عملکرد دیاستولیک با کسر خروجی و هایپرتروفی بطن چپ مشخص می‌شود (۵). DCM به‌طور غیرطبیعی منجر به رسوب در ماتریس، افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب، ایجاد اختلال در میتوکندری و تغییر در تولید انرژی و سوخت و ساز بدن می‌گردد (۶). قلب، به عنوان اندامی با اتکای بالا به متابولیسم هوازی به‌طور ویژه‌ای تحت تاثیر اختلال عملکرد میتوکندری قرار دارد (۷). از آنجایی که قلب برای عمل خود به مقادیر بالایی انرژی نیاز دارد، توسعه کاردیومیوپاتی دیابتی غالباً با اختلال عملکرد میتوکندری مرتبط است. مشخص شده که کاهش در سطوح ATP با هایپرتروفی بطن چپ قلب و کاهش عملکرد سیستولیک مرتبط است که این یافته‌ها همبستگی بین کاردیومیوپاتی دیابتی و اختلال عملکرد میتوکندری را مشخص می‌کند. بنابراین، تمرکز بر میتوکندری می‌تواند انتخابی مناسب برای بازگرداندن تعادل انرژی در بیماران قلبی باشد (۸، ۹).

بیوژنز میتوکندری فرآیندی تنظیم شده و چند مرحله‌ای است که طی آن، تولید، تکثیر و جایگزینی میتوکندری‌های جدید در سلول انجام می‌شود. این فرآیند برای حفظ ظرفیت اکسیداتیو سلول به ویژه در بافت‌های پر مصرف انرژی مانند قلب و عضله اسکلتی حیاتی است. تنظیم بیوژنز میتوکندری توسط شبکه‌ای از عوامل رونویسی و تنظیم‌کننده‌های بالادستی صورت می‌گیرد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به گیرنده پروکسی زوم گامای فعال شده به وسیله کوآکتیوینور ۱ آلفا (PGC-1α)؛ سیرتوئین ۱ (SIRT1)؛ و عامل رونویسی میتوکندری A (TFAM) اشاره کرد (۱۰). از جمله عواملی که در پیش‌گیری از تخریب میتوکندری نقش مهمی دارند، سیرتوئین‌ها از جمله SIRT1 است (۱۱). سیرتوئین‌ها، پروتئین‌های کلاس III یک خانواده از آنزیم‌های هیستون د استیلاز هستند (۱۲). در شرایط هیپرگلیسمی و ایجاد مقاومت به انسولین تولید سیرتوئین کاهش و پراکسیداسیون لیپید افزایش می‌یابد. طبق نتایج برخی تحقیقات SIRT1 مجموعه‌ای گسترده از تنظیم‌گرهای متابولیکی از جمله PGC1-α را فعال می‌کند که خود منجر به فعال شدن مسیر بیوژنز میتوکندری می‌شود (۱۵). بیوژنز میتوکندری از

¹ Reactive oxygen species

² Heart failure

³ Diabetic cardiomyopathy

⁴ Mitochondrial Biogenesis

⁵ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

⁶ Sirtuin 1

⁷ Mitochondrial transcription factor A

طریق رشد و تقسیم میتوکندری‌های موجود تنظیم می‌شود و نیازمند هماهنگی بین هر دو ژن‌های DNA میتوکندری (mtDNA)^۱ و DNA هسته‌ای (nDNA)^۲ است. هر دو این ژن‌ها به‌طرز شگرفی توسط PGC-1 α به عنوان تنظیم‌کننده مهم بیوژنز و بلوغ میتوکندری تولید می‌شوند (۱۶). PGC1- α باعث فعال‌سازی TFAM به عنوان یک فاکتور هم‌رونویس^۳ برای عامل تنفس هسته‌ای ۱ (NRF1)^۴ می‌شود، بنابراین بیوژنز میتوکندری را تنظیم می‌کند (۱۷). TFAM یک پروتین متصل به DNA است که متابولیسم و اختلال عملکرد میتوکندری را از طریق تنظیم رونویسی ژنوم و سازماندهی mtDNA کنترل می‌کند (۱۸). TFAM برای هردو رونویسی و جایگزینی mtDNA لازم است (۱۹). بنابراین، این سه فاکتور در کنار یکدیگر نقش محوری در بیوژنز میتوکندری و همچنین پاسخ سلول به محرک‌های متابولیکی ایفا می‌کنند.

با نگاه به تاریخچه پیشین، می‌توان دید که فعالیت فیزیکی به عنوان یک راهکار موثر و ارزان برای درمان و کنترل بیماری‌ها در نظر گرفته می‌شود (۲۰). با این حال برخی از مطالعات، به‌طور اختصاصی به تاثیر فعالیت فیزیکی بر درمان دیابت پرداخته‌اند (۲۱). اخیراً، تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT)^۵ جایگاه ویژه‌ای در میان محققان کسب کرده است (۲۲). HIIT شامل تناوب‌های فعالیت ورزشی شدید و وهله‌های استراحتی فعال با شدت متوسط تا کم است که برای افراد مختلف به فراخور موقعیت و شرایط جسمانی قابلیت تغییر دارد (۲۳). به‌نظر می‌رسد که فعالیت فیزیکی منجر به بهبود سلامت قلبی-عروقی در بیماران دارای دیابت نوع ۲ می‌گردد، اما تاثیرات آن بر ساختار و عملکرد قلب هنوز ناشناخته است. با این وجود، HIIT یک راهکار درمانی بالقوه برای تعدیل خطر قلبی، کاردیومیوپاتی، فشار خون و قند خون می‌باشد (۲۲). بر خلاف تمرینات هوازی مداوم (MICT)، تمرین HIIT با وارد کردن تنش شدید و کوتاه مدت، موجب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با بیوژنز میتوکندری می‌شود و می‌تواند حتی در مدت زمان کوتاه‌تری نسبت به تمرینات سنتی اثر گذار باشد (۲۴). مطالعات نشان داده‌اند که تمرین HIIT منجر به افزایش بیان SIRT1 و PGC-1 α در عضله قلبی و اسکلتی می‌شود که نتیجه آن افزایش تعداد و کیفیت میتوکندری‌ها است (۲۵). علاوه بر این، گزارش شده است که در افراد جوان، بیان پروتئین‌های بیوژنز میتوکندری، بخصوص پروتین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK)، NRF1-2، TFAM، SIRT1 و PGC-1 α به‌طور معناداری متعاقب تمرین HIIT نسبت به MICT افزایش داشته است (۲۶).

در کنار تمرین، استفاده از مکمل‌های طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی، رویکرد نوینی برای تقویت عملکرد میتوکندری در شرایط آسیب‌زا مانند دیابت به شمار می‌رود. روتین^۶، یکی از فلاونوئیدهای^۷ طبیعی موجود در گیاهان دارویی و مرکبات، با داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و محافظت‌کننده از میتوکندری، می‌تواند در فعال‌سازی مسیرهای بیوژنز موثر واقع شود (۲۷). در چندین مطالعه اثرات محافظ قلب روتین در مدل‌های حیوانی با آسیب قلبی ناشی از دیابت نشان داده شده است. مشاهدات اکوکاردیوگرافیک نشان داده‌اند که روتین پارامترهای عملکرد سیستمولیک و دیاستولیک (از جمله کسر تزریقی) را بهبود بخشیده و همینطور از تغییر شکل قلب (هایپرتروفی بطن چپ، گشادی بطن چپ، گشادی دهلیز چپ، ضخیم شدن دیواره قلب) در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین جلوگیری می‌کند (۲۸).

¹ Mitochondrial DNA

² Nuclear DNA

³ Co-transcription factor

⁴ nuclear respiratory factor 1

⁵ High intensity interval training

⁶ Moderate intensity continuous training

⁷ mitogen-activated protein kinases

⁸ Rutin

⁹ Flavonoids

¹ Cardioprotective

در مجموع درمان با کمک ترکیبات گیاهی با خواص آنتی اکسیدانی و تمرینات ورزشی به عنوان رویکردهایی موثر برای بهبود دیابت پیشنهاد می‌شوند (۲۹). با توجه به تشابهات ساختاری بین روتین و سایر فلاونوئیدها که بیوژنز میتوکندری را افزایش می‌دهند. همچنین، مشاهدات ذکر شده در رابطه با تاثیر تمرینات HIIT بر بیوژنز و عملکرد میتوکندری در سلول‌های قلبی، می‌توان این فرضیه را مطرح کرد که هر دوی روتین و تمرینات HIIT می‌توانند باعث افزایش بیوژنز میتوکندری شده و تاثیرات مثبتی را در بهبود عملکرد قلب و جلوگیری از وقوع یا پیشرفت کاردیومیوپاتی در سلول‌های قلبی بیماران دیابتی ایفا کنند.

با وجود این شواهد، هنوز مشخص نیست که آیا ترکیب تمرین HIIT با روتین می‌تواند اثرات تقویتی یا هم‌افزایی بر بیوژنز میتوکندری در بافت قلبی بیماران دیابتی داشته باشد یا خیر. تاکنون، اغلب مطالعات اثر هر یک از این مداخلات را به صورت جداگانه بررسی کرده‌اند و داده‌های محدودی درباره‌ی اثرات ترکیبی آن‌ها در دسترس است. از این رو، پژوهش حاضر با هدف پر کردن این شکاف دانشی طراحی شد.

بنابراین، اهمیت این مطالعه در آن است که با روشن کردن اثرات مستقل و ترکیبی HIIT و روتین بر بیان ژن‌های کلیدی بیوژنز میتوکندری (PGC-1 α ، SIRT1 و TFAM) می‌تواند چشم‌انداز تازه‌ای برای طراحی مداخلات غیردارویی در مدیریت و پیشگیری از کاردیومیوپاتی دیابتی فراهم آورد. در صورت اثبات، این نتایج می‌توانند زمینه‌ساز توسعه راهکارهای پیش‌بالینی و بالینی جهت بهبود عملکرد قلب در بیماران دیابتی باشند.

در مطالعه حاضر نقش محافظتی تمرین HIIT و مصرف مکمل روتین به صورت جداگانه و هم‌زمان بر بیوژنز میتوکندری در بافت قلب رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بررسی شد.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: تحقیق حاضر از نوع تجربی در قالب یک طرح پس آزمون دو عاملی است. در ابتدا تعداد ۴۸ سر رت نر ویستار ۱۵-۱۴ هفته‌ای با میانگین وزنی 15 ± 380 از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه رویان خریداری و به حیوان خانه شرکت رشد آزما منتقل شدند. نمونه‌ها در قفس‌های جداگانه از جنس پلی اتیلن شفاف، در دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد و چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از القای دیابت تعداد ۸ سر از رت‌ها به دلیل مرگ ناشی از عوارض هیپرگلیسمی یا عدم موفقیت در القای دیابت حذف شدند. در نهایت تعداد ۴۰ سر رت باقی‌مانده به آزمون راه یافتند. اصول اخلاقی (IR.GuilAN.REC.1403.072) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه گیلان انجام گرفت. پس از دوهفته سازگاری با محیط جدید رت‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه مساوی ۸ سری به شرح زیر تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل سالم (NC) ۲. گروه کنترل دیابتی (DC) ۳. گروه دیابتی + مکمل روتین (D+R) ۴. گروه دیابتی + تمرین تناوبی پر شدت (D+HIIT) ۵. گروه دیابتی + مکمل روتین + تمرین تناوبی پر شدت (D+R+HIIT).

روش اجرای پژوهش: پیرو سازگاری به شرایط محیطی و قبل از شروع مداخلات تمرینی، دیابت در چهار گروه از رت‌ها از طریق تزریق درون صفاقی (IP) استرپتوزوتوسین (STZ) در یک دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حل شده در بافر سیترات ۰/۰۵ مولار (PH=۴/۵)، و نیکوتین آمید (NA) 120^3 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن حل شده در محلول آب نمک القا شد.

¹ Intraperitoneal injection

² Streptozotocin

³ Nicotinamid

(۳۰). سطوح قند خون ناشتا ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ-NA با استفاده از گلوکومتر از یک قطره خون گرفته شده از رگ دم اندازه‌گیری شد. قند خون بالاتر از ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر (۱۱/۱ میلی مول در لیتر) به عنوان تشخیص دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۳۱).

رت‌های موجود در دو گروه (D+R) و (D+R+HIIT) مکمل روتین با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. روتین به‌طور سوسپاشن با کربوکسی متیل سلولز (CMC) ۰/۱ گرم در لیتر از طریق دهان و با لوله داخل معده‌ای به مدت چهار هفته هر روز به رت‌ها خوراندن شد (۳۲).

به‌منظور سازگاری با دویدن روی تردمیل، حیوانات به مدت یک هفته هر روز ۱۰ دقیقه با سرعت ۲ متر بر دقیقه در روز اول و سپس با افزایش تدریجی سرعت در روزهای بعدی بر روی تردمیل دویدند. حداکثر سرعت بدست آمده در پایان هفته از طریق پروتکل تست پلکانی تعدیل شده محاسبه گردید. پروتکل تست پلکانی تردمیل شامل مجموعه‌ای از مراحل پیش‌رونده بود که هر مرحله به مدت ۲ دقیقه اجرا می‌شد و سرعت تردمیل در هر مرحله ۳ متر بر دقیقه افزایش می‌یافت در تمامی مراحل شیب تردمیل صفر درجه بود. سرعت اولیه برای رت‌ها ۱۰ متر بر دقیقه تعیین شد. آزمون تا رسیدن رت‌ها به حالت واماندگی کامل ادامه یافت. واماندگی زمانی ثبت می‌شد که رت‌ها قادر به حفظ سرعت تردمیل نبودند و به‌صورت مکرر به انتهای تردمیل برخورد می‌کردند یا به تحریکات ملایم پاسخ نمی‌دادند. حداکثر سرعت دویدن در مرحله‌ای که رت‌ها به واماندگی رسیدند، ثبت شد. (۳۳). تمام رت‌ها در گروه‌های تمرینی، برنامه HIIT را به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته انجام دادند. حداکثر سرعت در روز ششم هر هفته تمرینی اندازه‌گیری مجدد شد. تست حداکثر سرعت در پایان هفته چهارم تکرار شد. روش تمرین HIIT از سه بخش گرم کردن، بدنه اصلی و سرد کردن تشکیل شده بود. به ترتیب بخش گرم کردن سه دقیقه ای (دویدن با ۳۰٪ حداکثر سرعت، برابر با ۱۱ متر بر دقیقه)، به دنبال آن بخش اصلی تمرین (دو دقیقه دویدن با شدت بالا به همراه وقفه ریکاوری یک دقیقه‌ای با شدت پایین) و سپس سرد کردن سه دقیقه‌ای (دویدن با ۳۰٪ حداکثر سرعت، برابر با ۱۱ متر بر دقیقه) اجرا گردید. پروتکل بخش اصلی تمرین شامل دو دقیقه دویدن با شدت‌های ۸۰٪ (۲۸ متر بر دقیقه)، ۸۵٪ (۳۰ متر بر دقیقه) و ۹۰٪ (۳۲ متر بر دقیقه) حداکثر سرعت دست یافته به ترتیب در هفته‌های اول، دوم، سوم و چهارم بود. هر دوره ریکاوری با شدت پایین شامل دویدن با ۳۰٪ حداکثر سرعت دست یافته (۱۱ متر بر دقیقه) به مدت یک دقیقه بود (۳۴) (جدول ۱).

جدول ۱- اطلاعات مرتبط با پروتکل تمرینی

هفته‌های تمرینی	مدت زمان اجرای پروتکل (دقیقه)	تعداد تناوب در هر جلسه	شدت هر تناوب (% از حداکثر سرعت دست یافته)	شدت ریکاوری (% از حداکثر سرعت دست یافته)	شدت گرم کردن و سرد کردن (% از حداکثر سرعت دست یافته)
۱	۲۰	۵	۸۰	۳۰	۳۰
۲	۲۰	۵	۸۵	۳۰	۳۰
۳	۲۳	۶	۹۰	۳۰	۳۰
۴	۲۳	۶	۹۰	۳۰	۳۰

متغیرهای غیر قابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بیهوش شدند. سپس بافت عضله قلبی از بدن حیوان برداشته

شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو و بلافاصله با هیدروژن مایع منجمد شد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- درجه سانتیگراد فریز گردید.

روش‌های آزمایشگاهی: میزان ۳۰ میلی گرم از بافت به منظور استخراج و ایزوله سازی RNA طبق پروتکل شرکت سازنده (سیناکلون، ایران) استفاده گردید. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop Technologies، آمریکا) در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ در محدوده ۱/۸ تا ۲ نشان دهنده خلوص مناسب RNA بود. پس از استخراج RNA با خلوص بالا از تمامی نمونه‌های تحقیق، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده ExcelRT™ Reverse Transcription Kit (SMOBIO، تایوان) انجام و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. سطوح بیان ژنی از طریق پرایمرهای اختصاصی SIRT1، PGC1- α و TFAM (پرایمرها توسط شرکت Metabion طراحی و سنتز شدند) و توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (qPCR) با استفاده از RealQ Plus 2x Master Mix Green (Amplicon، دانمارک) و در دستگاه Bio-Rad iQ5 Real-Time PCR (Bio-Rad، آمریکا) انجام شد. سطوح رونویسی ژن‌های هدف نسبت به ژن بتا-۲-میکروگلوبولین (B2M)^۱ به عنوان ژن مرجع^۲ نرمال سازی شدند. واکنش تکثیر در طی ۴۰ سیکل بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به شکل زیر انجام شد: ۹۵ درجه سانتیگراد ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه. لازم به ذکر است که دنا تورا سیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵ دقیقه بود. در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم افزار موجود در سیستم تجزیه تحلیل و رسم شد. از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ برای کمی سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر استفاده شد.

جدول ۲- فهرست پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

Genes	Primer sequences	Sizes (bp)
B2M	Forward: 5'-CGTCGTGCTTGCCATTTCAG-3' Reverse: 5'-GCAGTTGAGGAAGTTGGGC-3'	۸۸
Pgc1a	Forward: 5'-CTGCCATTGTGAAGACCGAG-3' Reverse: 5'-TGTTCTCTGTGGGTTTGGT-3'	۱۴۷
Sirt1	Forward: 5'-TTCAAGGCTGTTGGTTCCAG-3' Reverse: 5'-AGGCGTCATCTTCAGAGTCT-3'	۱۹۹
Tfam	Forward: 5'-TGTGTAGGCACAGTGTCG-3' Reverse: 5'-CAGATAAGGCTGACAGGCG-3'	۱۷۶

تحلیل
آماري:
بخش

توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف استاندارد استفاده گردید. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها و همگنی واریانس‌ها از آزمون‌های شاپیرو-ویلک^۳ و لوین^۴ استفاده گردید. در بخش آمار استنباطی، برای مقایسه میانگین متغیرها در گروه‌های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) استفاده شد. در صورت معنی دار بودن آزمون تحلیل واریانس و داشتن تعامل معنی دار از آزمون تعقیبی توکی^۵ استفاده شد. سطح معنی داری نیز برابر $p < 0.05$ در نظر گرفته شده است.

¹ Beta-2-Microglobulin

² House Keeping Gene

³ Shapiro-Wilk Test

⁴ Levene Test

⁵ Tukey's post-hoc test

به منظور تحلیل آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ و برای رسم نمودار بیان نسبی ژن‌ها از GraphPad Prism 10 استفاده شد.

نتایج

در جدول ۳ اطلاعات توصیفی مربوط به متغیر قند خون و وزن رت‌ها در گروه‌های پژوهش ارائه شده است. نتایج میانگین قند خون نشان داد که تفاوت معنی‌داری در قند خون رت‌ها میان گروه‌های مختلف پژوهش حاضر وجود دارد ($P=0/001$, $\eta^2=0/89$). میانگین قند خون در گروه DC به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه NC ($P=0/001$, $\eta^2=0/89$) بود. تیمارهای بکار گرفته شده در این مطالعه سبب کاهش قند خون نسبت به گروه DC گردید. به‌طوری که در هر سه گروه D+R+HIIT، D+HIIT و D+R میزان قند خون کاهش معنی‌داری نسبت به گروه DC داشت ($P=0/001$). از سویی، در این مطالعه مشاهده شده است که میزان قند خون در گروه D+R+HIIT نسبت به سایر گروه‌ها بیشترین میزان کاهش را داشته است. در مطالعه حاضر مشاهده شد که وزن رت‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش حاضر به‌طور معنی‌داری با هم تفاوت دارند ($P=0/001$, $\eta^2=0/69$). وزن رت‌ها در گروه DC به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه NC کاهش یافته است ($P<0/05$). تیمارهای اعمال شده منجر به افزایش وزن رت‌ها نسبت به گروه DC گردید. با این حال، فقط در گروه D+R+HIIT افزایش وزن معنی‌دار نسبت به گروه DC مشاهده شد ($P=0/03$).

در جدول ۴ مقادیر آستانه چرخه (Ct) از میانگین دو تکرار فنی برای هر نمونه ($n=8$) محاسبه شدند. ژن مرجع B2M دارای انحراف معیار پایین ($0/25-0/53$) در تمام گروه‌ها بود که نشان‌دهنده پایداری مناسب و دقت بالای آزمایش است. در مقابل، ژن‌های هدف (SIRT1، PGC1- α و TFAM) با انحراف معیار بالاتر (تا $1/23$) همراه بودند که می‌تواند بازتابی از تنوع بیولوژیک ناشی از دیابت نوع ۲ و پاسخ متفاوت به مداخلات باشد. از آنجا که مقایسه بین گروه‌ها بر اساس تحلیل فولدچنج ($\Delta\Delta Ct$) انجام شد، این مقادیر Ct صرفاً به‌عنوان شاخص کیفی و مکمل برای تفسیر نتایج گزارش می‌شوند.

جدول ۳- اطلاعات توصیفی متغیر قند خون و وزن رت‌ها (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد)

D+R+HIIT	D+HIIT	D+R	DC	NC	
$177/75 \pm 41/3^{\#}$ *	$202/37 \pm 34/5^{\#}$ *	$244/41 \pm 44/3^{\#}$ *	$432/87 \pm 56/8^{\#}$	$99 \pm 7/50$	قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)
$378/87 \pm 17/9^{\#}$ *	$359/62 \pm 16/8^{\#}$	$367 \pm 17/8^{\#}$	$355/37 \pm 13/5^{\#}$	$415/62 \pm 9/53$	وزن (کیلوگرم)

¹ Cycle threshold

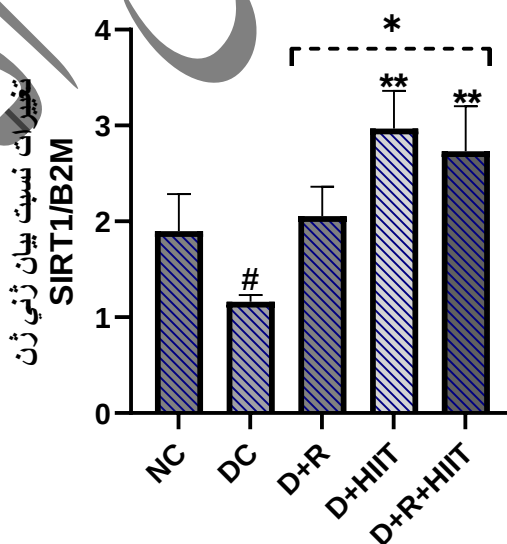
NC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابتی، D+R: مکمل روتین، D+HIIT: تمرین تناوبی پر شدت، D+R+HIIT: تمرین + مکمل (#)
معنی داری نسبت به گروه NC، (*) معنی داری نسبت به گروه DC، (^) معنی داری نسبت به گروه D+R

جدول ۴- اطلاعات توصیفی مقادیر Ct ژن‌ها (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) بر اساس خروجی ریل تایم PCR

D+R+HIIT	D+HIIT	D+R	DC	NC	
25/98 $\pm$ 0/64	25/72 $\pm$ 0/32	25/20 $\pm$ 0/46	25 $\pm$ 0/25	25/88 $\pm$ 0/40	SIRT1
24/57 $\pm$ 0/37	25/09 $\pm$ 0/38	24/08 $\pm$ 0/43	24/17 $\pm$ 1/23	24/77 $\pm$ 0/26	PGC1- α
26/33 $\pm$ 0/37	26/45 $\pm$ 0/53	26/03 $\pm$ 0/29	26/60 $\pm$ 0/84	26/26 $\pm$ 0/26	TFAM
19/65 $\pm$ 0/53	19/54 $\pm$ 0/29	18/51 $\pm$ 0/43	17/26 $\pm$ 0/32	19/01 $\pm$ 0/25	B2M

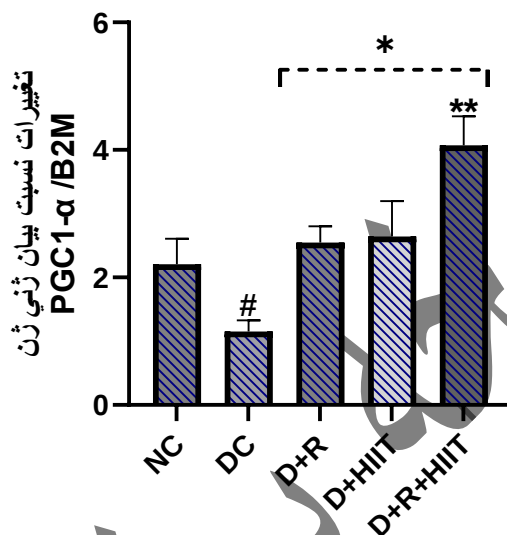
نتایج آزمون آنالیز واریانس یک راهه نشان داد تفاوت معنی داری در مقادیر بیان ژنی SIRT1 ($\eta^2 = 0/78$ ، $P = 0/001$)، PGC1- α ($F(4,35) = 32/90$ ، $\eta^2 = 0/86$ ، $P = 0/001$) و TFAM ($F(4,35) = 56/92$ ، $\eta^2 = 0/87$ ، $P = 0/001$) در بین گروه‌های رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ وجود دارد.

همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد مقادیر SIRT1 در گروه DC ($P = 0/001$) به طور معنی داری کمتر از گروه NC بود. در گروه‌های D+R ($p = 0/001$) و D+HIIT ($p = 0/001$) و D+R+HIIT ($p = 0/001$) به طور معنی داری بالاتر از گروه DC بود، همچنین در گروه‌های D+HIIT ($p = 0/001$) و D+R+HIIT ($p = 0/004$) به طور معنی داری بالاتر از گروه D+R بود، ولی تفاوت معنی داری بین گروه D+HIIT و D+R+HIIT مشاهده نشد ($p = 0/671$) (شکل ۱).



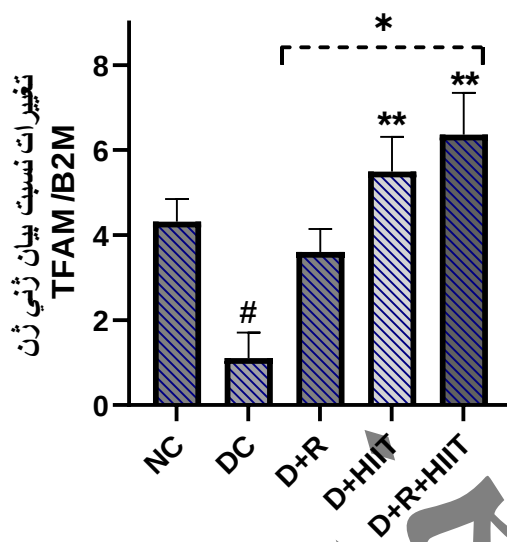
شکل ۱. سطوح بیان ژنی SIRT1 در بافت قلب رت‌ها در گروه‌های تحقیق، گروه کنترل سالم (NC)، گروه کنترل دیابتی (DC)، گروه دیابت + مکمل (D+R)، گروه دیابت + تمرین تناوبی (D+HIIT)، گروه دیابت + مکمل + تمرین تناوبی (D+R+HIIT). # ($p = 0/002$) کاهش معنی دار نسبت به گروه NC. * ($p = 0/001$) افزایش معنی دار نسبت به گروه DC. ** ($p = 0/004$) افزایش معنی دار نسبت به گروه D+R

مقادیر بیان ژن $PGC1-\alpha$ در گروه DC کاهش معنی‌داری ($p=0/001$) نسبت به گروه NC داشت. در گروه‌های D+R و D+HIIT و ($p=0/001$) و D+R+HIIT ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه DC داشت. در گروه D+R+HIIT ($p=0/001$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه D+R و D+HIIT مشاهده شد، اما بین گروه D+R و D+HIIT تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/990$) (شکل ۲).



شکل ۲. سطوح بیان ژنی $PGC1-\alpha$ در بافت قلب رت‌ها در گروه‌های تحقیق، گروه کنترل سالم (NC)، گروه کنترل دیابتی (DC)، گروه دیابت+مکمل (D+R)، گروه دیابت+تمرین تناوبی (D+HIIT)، گروه دیابت+مکمل+تمرین تناوبی (D+R+HIIT). # ($p=0/001$) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه NC. * ($p=0/001$) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه DC. ** ($p=0/001$) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه D+R و D+HIIT

میزان بیان ژن Tfam در گروه DC نسبت به NC کاهش معنی‌دار ($p=0/001$) داشت. در گروه‌های D+R ($p=0/001$)، D+HIIT ($p=0/001$) و D+R+HIIT ($p=0/001$) نسبت به گروه DC افزایش معنی‌دار داشت. همچنین گروه‌های D+HIIT ($p=0/001$) و D+R+HIIT ($p=0/001$) نسبت به گروه D+R افزایش معنی‌داری را نشان دادند، ولی بین گروه‌های D+HIIT و D+R+HIIT تفاوت معنی‌داری ($p=0/128$) مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳. سطوح بیان ژنی **Tfam** در بافت قلب رت‌ها در گروه‌های تحقیق، گروه کنترل سالم (NC)، گروه کنترل دیابتی (DC)، گروه دیابت+مکمل (D+R)، گروه دیابت+تمرین تناوبی (D+HIIT)، گروه دیابت+مکمل+تمرین تناوبی (D+R+HIIT). # (p=0/001) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه NC. * (p=0/001) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه DC. ** (p=0/001) افزایش معنی‌دار نسبت به گروه D+R

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که هر دو مداخله تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و مکمل روتین به‌طور مستقل موجب افزایش بیان ژن‌های کلیدی بیوژنز میتوکندری در بافت قلب رت‌های دیابتی شدند (SIRT1, PGC-1 α و TFAM). ترکیب این دو مداخله اثر تقویتی قابل توجهی بر PGC-1 α و TFAM نشان داد، در حالی که افزایش SIRT1 در پاسخ به HIIT به‌تنهایی برجسته‌تر بود. همچنین مداخلات با کاهش معنی‌دار قند خون ناشتا و بهبود نسبی وزن بدن همراه بود.

در شرایط دیابت نوع ۲، اختلالات متابولیکی ناشی از مقاومت انسولینی، هیپرگلیسمی مزمن و تجمع اسیدهای چرب، منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری می‌شوند که این موضوع به‌ویژه در بافت‌های با مصرف انرژی بالا مانند قلب، با کاهش بیوژنز میتوکندری، افت ظرفیت اکسیداتیو و افزایش استرس اکسیداتیو همراه است (۶، ۹). در مدل‌های حیوانی دیابت نوع ۲، اختلال در بیوژنز میتوکندری در بافت قلبی به‌صورت کاهش بیان ژن‌های کلیدی از جمله PGC-1 α , SIRT1, TFAM, NRF1/2 و همچنین AMPK مشاهده شده است. این تغییرات با کاهش سنتز mtDNA، اختلال در دینامیک میتوکندری و افت ظرفیت اکسیداتیو همراه بوده و از شاخص‌های پاتولوژیک در ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی محسوب می‌شوند (۳۵). در چنین شرایطی، فعال‌سازی مسیرهای بیوژنز میتوکندری می‌تواند نقش کلیدی در حفظ عملکرد سلولی، تعادل انرژی و مهار پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی ایفا کند (۹، ۳۶).

مطالعات متعددی اثر مداخلات ورزشی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را بر بیوژنز میتوکندری و پیامدهای متابولیکی در دیابت نوع ۲ بررسی کرده‌اند. در این راستا وانگ و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که ۸ هفته تمرینات هوازی (۵ روز/هفته، شدت متوسط تا بالا) در رت‌های دیابتی بیان ژن PGC-1 α را افزایش داده و عملکرد میتوکندریایی قلب را بهبود می‌بخشد که با کاهش استرس اکسیداتیو و تقویت ظرفیت اکسیداتیو قلب همراه است (۳۰). به‌طور مشابه، کو و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۸ هفته تمرین مقاومتی (۳-۵ روز/هفته) بیان PGC-1 α و TFAM را در قلب رت‌های دیابتی افزایش می‌دهد و

کارایی میتوکندری را ارتقاء می‌بخشد (۳۷). سمایی و همکاران (۱۴۰۱) نیز نشان دادند که ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط (۷۰ درصد VO_{2max} ، ۵ روز/هفته) در رت‌های دیابتی القاشده با استرپتوزوتوسین، بیان ژن‌های $SIRT1$ و $PGC-1\alpha$ را در بطن چپ به‌طور معنی‌داری افزایش داده و گلوکز خون و مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد (۳۸). همچنین، جوکار و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که ۸ هفته تمرین تناوبی پرشدت (HIIT، ۴ روز/هفته) در رت‌های نر دیابتی نوع ۲ (القاشده با STZ-NA) محتوای پروتئین‌های $AMPK$ و $PGC-1\alpha$ را در بافت قلبی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد، که می‌تواند بیوژنز میتوکندری و متابولیسم قلب را بهبود بخشد (۳۹). این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم‌راستاست. با این حال، مطالعه ما با استفاده از پروتکل HIIT متفاوت، اثرات متابولیکی سریع‌تری را نسبت به تمرینات هوازی، مقاومتی با HIIT به‌تنهایی نشان داد. این نتایج می‌تواند به دلیل استفاده از پروتکل HIIT با شدت بالاتر و وقفه‌های ریکاوری کوتاه‌تر، اثر هم‌افزایی روتین و همچنین حساسیت بیشتر بافت قلب به این مداخلات باشد.

در ارتباط با مداخلات آنتی‌اکسیدانی و تمرینات ورزشی، سنو و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که مصرف روتین طی ۱۲ هفته در رت‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب، بیان ژن‌های $SIRT1$ ، $PGC-1\alpha$ و $NRF1$ و $TFAM$ را افزایش داده و موجب بهبود محتوای $mtDNA$ شد (۴۰). نتایج مطالعه حاضر نیز افزایش معنی‌دار $SIRT1$ ، $PGC-1\alpha$ و $TFAM$ را در گروه روتین نشان داد. پاسخ‌های سریع‌تر و نسبتاً برجسته‌تر در بیان ژن‌های تحقیق حاضر می‌تواند ناشی از تفاوت در دوز و مدت زمان مصرف روتین و نحوه خوراندن روتین به رت‌ها (گاواژ در برابر اضافه شدن به غذا) و همچنین مدل القای بیماری (دیابت القاشده با STZ-NA در برابر چاقی ناشی از رژیم پرچرب) باشد. در مطالعه حق‌پرست آزاد و همکاران (۲۰۲۲) نشان داده شد که ترکیب گیاهی $SGTC$ همراه با تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته در رت‌های دیابتی با رژیم پرچرب، بیان $PGC-1\alpha$ و $TFAM$ را تعدیل کرده و تولید ATP را به‌طور هم‌افزایی افزایش می‌دهد (۴۱). همسویی این نتایج با یافته‌های گروه ترکیبی (D+R+HIIT) در مطالعه حاضر، مؤید آن است که ترکیب تمرین و مکمل‌های گیاهی می‌تواند سازوکارهای بیوژنز میتوکندری را تقویت کند. علانی و همکاران (۲۰۲۰) اثر تعاملی ۸ هفته تمرینات HIIT (شدت ۸۵-۸۰٪ سرعت حداکثری، ۳ جلسه/هفته) و LICT (شدت ۵۵-۵۰٪ سرعت حداکثری، ۳ جلسه/هفته) همراه با کروسین (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه) را بر بیان ژن‌های $PGC-1\alpha$ و $UCP1$ در قلب موش‌های دیابتی نوع ۲ القاشده با رژیم پرچرب و STZ بررسی کردند. نتایج نشان داد که تمرینات و کروسین به‌طور معنی‌دار بیان $PGC-1\alpha$ و $UCP1$ را افزایش دادند، و ترکیب آن‌ها اثرات هم‌افزایی قابل توجهی بر این ژن‌ها داشت (۴۲). مقایسه این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که ترکیب تمرین ورزشی با مکمل‌های پلی‌فنولی می‌تواند به‌صورت هم‌افزا مسیرهای بیوژنز میتوکندری را در بافت قلب دیابتی فعال کند. در حالی که مطالعه علانی و همکاران این اثر هم‌افزا را عمدتاً محدود به $PGC-1\alpha$ و $UCP1$ گزارش کردند، نتایج تحقیق حاضر این الگو را به ژن‌های $TFAM$ و $SIRT1$ نیز گسترش داد و نشان داد که محور $AMPK/SIRT1/PGC-1\alpha$ در قلب دیابتی به‌طور کامل‌تری فعال شد. بنابراین، می‌توان گفت هر دو مطالعه مکمل یکدیگرند و در مجموع بر ظرفیت بالقوه مداخلات ترکیبی (ورزش به همراه پلی‌فنول‌ها) در ارتقای عملکرد میتوکندریایی و بهبود متابولیسم قلب در شرایط دیابت نوع ۲ تأکید دارند. رفعتی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که ترکیب HIIT (۱۲ هفته، ۵ جلسه/هفته) و مکمل کوآنزیم $Q10$ (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در رت‌های چاق شده با رژیم پرچرب، محتوای میتوکندری، $SIRT1$ و $NRF2$ (در گروه HIIT و در گروه ترکیبی) را در عضله نعلی افزایش داد، اما $TFAM$ تغییر معناداری نداشت (۴۳). این عدم افزایش $TFAM$ احتمالاً به تفاوت در نوع بافت (عضله اسکلتی در برابر قلب)، اثر محدود $CoQ10$ بر مسیر

¹ Salvia-Ginseng-Trigonella-Cinnamon

² Uncoupling Protein 1

³ Coenzyme Q10

NRF1/TFAM، یا مهار رونویسی mtDNA در شرایط چاقی القاشده با رژیم پرچرب مربوط است، که مقاله رفعتی به طور صریح به آن اشاره نکرده. در مقابل، مطالعه ما با تمرکز بر قلب و استفاده از روتین، افزایش معنادار TFAM را نشان داد، که احتمالاً نتیجه تعامل روتین با NRF2 و کاهش ROS است، که به طور مؤثری عملکرد میتوکندری را تقویت می کند.

پرامشا و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که در قلب رت های دیابتی تغذیه شده با رژیم پرچرب، بیان ژن های SIRT1 و SIRT3 به طور معناداری کاهش می یابد، اما هیچ مداخله ای را به منظور جبران این کاهش بررسی نکردند (۳۵). مطالعه حاضر با بهره گیری از HIIT و روتین، کاهش بیان SIRT1 را جبران نمود و در گروه D+HIIT، بیان این ژن را به بالاترین سطح در مقایسه با سایر گروه های مداخله ای رساند. در این راستا، ژوان و همکاران (۲۰۲۳) در یک مرور سیستماتیک و متاآنالیز گزارش کردند که تمرین با شدت بالا می تواند به طور حاد بیان ژن SIRT1 را در بافت عضلانی افزایش دهد، هرچند شدت پاسخ و زمان بازگشت آن به حالت پایه میان مطالعات متفاوت است (۴۴). یافته مطالعه حاضر که نشان داد بیان SIRT1 در گروه (D+HIIT) به تنهایی بیشتر از گروه ترکیبی (D+R+HIIT) بود، می تواند ناشی از همزمانی نمونه برداری با نقطه اوج پاسخ SIRT1 پس از HIIT باشد. به عبارت دیگر، HIIT احتمالاً موجب یک افزایش سریع و گذرا در سطح SIRT1 شده است، در حالی که مصرف مکمل روتین به دلیل خواص آنتی اکسیدانی و توانایی تعدیل سیگنال های وابسته به ROS یا تغییر در نسبت $NAD^+/NADH$ ، ممکن است شدت یا مدت این پاسخ را کاهش داده باشد.

از طرفی، مطالعاتی نیز وجود دارند که یافته هایی متضاد با نتایج این پژوهش ارائه کرده اند. به عنوان مثال، هولوزی (۲۰۰۵) نتوانست افزایش معنادار بیان PGC1- α یا TFAM را در قلب موش های دیابتی که تحت تمرین مداوم با شدت متوسط قرار گرفته بودند مشاهده کند (۴۵). در مطالعه دیگر، که توسط پوتا و همکاران (۲۰۱۳) که بر روی رت های (db/db) گروه سنی بالا انجام شد، مشاهده کردند که گرچه HIIT منجر به افزایش PGC1- α شد، اما بیان ژن های پایین دستی مانند TFAM تغییر معنی داری نداشت و فعالیت آنزیم های تنفسی بهبود نیافت (۴۶). به نظر می رسد تفاوت در نوع بافت مورد مطالعه (عضله اسکلتی در برابر قلبی)، شدت یا حجم تمرین، سطح استرس اکسیداتیو یا پیشرفت دیابت، دوز و مدت مصرف مکمل می تواند از جمله عوامل کلیدی موثر در بروز نتایج متفاوت باشند (۴۷، ۴۸). به عنوان مثال، در شرایط استرس اکسیداتیو بالا، سلول ها ممکن است حتی با وجود تحریک مسیرهای بیوژنز قادر به پاسخ مناسب نباشند. از طرفی، تفاوت در گونه های حیوانی، روش القای دیابت (استرپتوزوتوسین در برابر رژیم پر چرب) و تفاوت در حساسیت بافتی نیز می تواند باعث ایجاد تناقضات گردد (۴۶).

در مطالعه حاضر مشاهده شد که هر سه مداخله HIIT، روتین و ترکیب آن ها منجر به کاهش معنی دار سطوح قند خون شدند که با نتایج مطالعات پیشین همسو است (۳۰، ۴۰). این کاهش ممکن است ناشی از بهبود حساسیت انسولینی، کاهش استرس اکسیداتیو و فعال شدن مسیرهای تنظیم انرژی باشد. در گروه D+R+HIIT، بیشترین کاهش قند خون مشاهده شد که با افزایش سطح بیان ژن های SIRT1 و PGC1- α همراستا بود و نشانگر اثرات هم افزای مداخلات است. علاوه بر این، افزایش وزن معنی دار بدن در این گروه نسبت به گروه دیابتی ممکن است بازتابی از بهبود وضعیت تغذیه ای و تعادل انرژی باشد که در نتیجه ی ارتقای عملکرد میتوکندری حاصل شده است.

از جمله ساز و کارهای احتمالی اثر گذاری HIIT و مصرف پلی فنول ها از جمله روتین بر بهبود بیوژنز میتوکندری می توان به فعال سازی مسیرهای انرژی و تنظیم استرس اکسیداتیو اشاره کرد. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) با ایجاد یک افزایش سریع در مصرف ATP و کاهش نسبت ATP/AMP در سلول ها موجب فعال سازی (AMPK)^۱ به عنوان حسگر اصلی

¹ AMP-activated protein kinase

انرژی سلول می‌شود (۴۹). AMPK فعال شده، موجب افزایش سطح (NAD^+) سلولی می‌گردد که این تغییر متابولیکی منجر به فعال‌سازی SIRT1 (یک داستیلاز وابسته به NAD^+) می‌شود. SIRT1 پس از فعال شدن با داستیله کردن $PGC1-\alpha$ باعث افزایش پایداری، فعالیت و توانایی اتصال $PGC1-\alpha$ به ژن‌های هدف می‌شود. در نتیجه، بیان ژن‌های پایین دستی از جمله TFAM افزایش یافته و بیوژنز میتوکندری تحریک می‌شود. علاوه بر این، HIIT می‌تواند با افزایش بیان NRF1 و NRF2 و همچنین کاهش استرس اکسیداتیو، شرایط بهینه‌ای برای بیوژنز و بهبود عملکرد میتوکندری فراهم آورد (۵۰، ۵۱). پلی‌فنول‌ها از جمله روتین با کاهش تولید ROS و بهینه‌سازی محیط سلولی توانایی فعال‌سازی مستقیم AMPK و بهبود فعالیت $PGC1-\alpha$ و متعاقباً بیوژنز میتوکندری را دارا هستند. همچنین، روتین با کاهش سایتوکین‌های التهابی از قبیل $(TNF-\alpha)$ سطح استرس و التهاب سلولی را کاهش داده و زمینه را برای بهبود عملکرد میتوکندری‌ها فراهم می‌آورد (۴۰).

از محدودیت‌های اصلی تحقیق حاضر، استفاده از مدل حیوانی است که تعمیم مستقیم نتایج به انسان را با احتیاط همراه می‌سازد. علاوه بر این، در این پژوهش صرفاً تغییرات بیان ژن‌ها ارزیابی شد و سطوح پروتئینی و فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با بیوژنز میتوکندری مورد بررسی قرار نگرفت؛ در نتیجه، استنتاج در مورد پیامدهای عملکردی مسیرهای مولکولی با محدودیت مواجه است. شاخص‌های فیزیولوژیک عملکرد قلبی نظیر ظرفیت انقباضی، برون‌ده قلبی یا پارامترهای اکوکاردیوگرافیک نیز اندازه‌گیری نشدند؛ بنابراین ارتباط مستقیم میان تغییرات مولکولی و بهبود عملکرد قلبی به‌طور کامل روشن نیست. همچنین، دوز و مدت زمان مداخله با روتین و شدت تمرین HIIT تنها در یک سطح بررسی شد و امکان تعیین دوز-پاسخ یا شدت-پاسخ وجود ندارد. کوتاه بودن مدت زمان مداخله نیز از دیگر محدودیت‌ها محسوب می‌شود که می‌تواند بر پایداری و استمرار تغییرات مولکولی و عملکردی اثرگذار باشد.

بر همین اساس، پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده سطوح پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با بیوژنز میتوکندری و کمپلکس‌های زنجیره تنفسی را به‌طور مستقیم بررسی کنند تا ارتباط ژن-پروتئین-عملکرد به شکل دقیق‌تری تبیین گردد. ارزیابی عملکرد قلبی با استفاده از روش‌های پیشرفته تصویربرداری (مانند اکوکاردیوگرافی و MRI قلبی) نیز می‌تواند درک جامعی از پیامدهای عملکردی ایجاد نماید. از سوی دیگر، بررسی زمان‌پاسخ در چندین نقطه زمانی برای شاخص‌هایی مانند SIRT1 اهمیت بالایی دارد، چرا که شواهد نشان می‌دهند پاسخ این ژن به تمرین شدید ممکن است سریع و گذرا باشد و بسته به زمان نمونه‌برداری، الگوهای متفاوتی نشان دهد. علاوه بر این، مطالعات آینده باید بر تعیین دوز و مدت زمان بهینه مصرف پلی‌فنول‌ها و شدت‌های مختلف HIIT در مدل‌های حیوانی و انسانی تمرکز کنند. در نهایت، اجرای پژوهش‌های طولانی‌مدت با طراحی‌های مداخله‌ای گسترده‌تر می‌تواند دیدگاه روشن‌تری نسبت به پایداری اثرات مشاهده‌شده و قابلیت انتقال آن‌ها به کاربردهای بالینی فراهم آورد.

به‌طور کلی، یافته‌های این پژوهش نشان داد که تمرین HIIT و مکمل روتین، هر یک به تنهایی منجر به افزایش بیان ژن‌های کلیدی بیوژنز میتوکندری ($PGC1-\alpha$ ، SIRT1، TFAM) در بافت قلب رت‌های دیابتی شدند. ترکیب دو مداخله اثر هم‌افزای قابل توجهی به‌ویژه بر $PGC1-\alpha$ و TFAM داشت، در حالی که بیان SIRT1 در گروه تمرین تنها برجسته‌تر بود. این یافته‌ها حاکی از آن است که اثر ترکیبی تمرین و روتین انتخابی و مسیر-وابسته بوده و برخی اجزای محور بیوژنز از هم‌افزایی آن‌ها سود بیشتری می‌برند. نتایج بیانگر آن است که مداخلات غیر دارویی مانند HIIT و ترکیبات طبیعی

¹ Nicotinamide Adenine Dinucleotide

² Cytokines

³ Tumor necrosis factor

⁴ Multi time-points

آنتی‌اکسیدانی همچون روتین می‌توانند در بهبود وضعیت میتوکندریایی قلب و کاهش پیامدهای مخرب دیابت نوع ۲ موثر باشند. هرچند این نتایج در مدل‌های حیوانی به‌دست آمده‌اند، اما می‌توانند مبنایی برای طراحی مطالعات آینده در مدل‌های پیش بالینی و بالینی جهت ارزیابی کاربرد بالقوه این مداخلات در پیشگیری یا کاهش پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی باشند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل تلاش نویسندگان این تحقیق است که با همکاری یکدیگر انجام شده است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

حمایت مالی

پژوهش حاضر هیچ گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به‌طور یکسان در این تحقیق مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان پژوهش هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

منابع

1. Ogurtsova K, Guariguata L, Barengo NC, Ruiz PL-D, Sacre JW, Karuranga S, et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. 2022;183:109118. DOI: [10.1016/j.diabres.2021.109118](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109118)
2. Szendroedi J, Phielix E, Roden MINRE. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. 2012;8(2):92-103. DOI: [10.1038/nrendo.2011.138](https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.138)
3. Einarson TR, Acs A, Ludwig C, Panton UHJCd. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. 2018;17(1):83. DOI: [10.1186/s12933-018-0728-6](https://doi.org/10.1186/s12933-018-0728-6)
4. Hamby RI, Zoneraich S, Sherman LJJ. Diabetic cardiomyopathy. 1974;229(13):1749-54. DOI: [10.1001/jama.1974.03230510023016](https://doi.org/10.1001/jama.1974.03230510023016)
5. Borghetti G, Von Lewinski D, Eaton DM, Sourij H, Houser SR, Wallner MJFip. Diabetic cardiomyopathy: current and future therapies. Beyond glycemic control. 2018;9:1514. . DOI: [10.3389/fphys.2018.01514](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01514)
6. De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, Brunetti A, Indolfi C, Foti DPJFie. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: genetic and epigenetic links. 2018;9:2. DOI: [10.3389/fendo.2018.00002](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00002)
7. Lesnefsky EJ, Chen Q, Hoppel CLJCr. Mitochondrial metabolism in aging heart. 2016;118(10):1593-611. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.116.307505](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.307505)
8. Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, Landschütz W, Lipke C, Köstler H, et al. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with ³¹P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy. 2002;40(7):1267-74. DOI: [10.1016/S0735-1097\(02\)02160-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)02160-5)
9. Li X, Liu J, Lu Q, Ren D, Sun X, Rousselle T, et al. AMPK: a therapeutic target of heart failure—not only metabolism regulation. 2019;39(1):BSR20181767. DOI: [10.1042/BSR20181767](https://doi.org/10.1042/BSR20181767)

10. Scarpulla RCJPr. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. 2008;88(2):611-38. DOI: [10.1152/physrev.00025.2007](https://doi.org/10.1152/physrev.00025.2007)
11. Wan X, Garg NJFiC, Microbiology I. Sirtuin control of mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in chagas disease models. 2021;11:693051. DOI: [10.3389/fcimb.2021.693051](https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.693051)
12. Corbi G, Conti V, Scapagnini G, Filippelli A, Ferrara NJFiB-E. Role of sirtuins, calorie restriction and physical activity in aging. 2012;4(2):768-78. DOI: [10.2741/417](https://doi.org/10.2741/417)
13. González-Montero J, Brito R, Gajardo AI, Rodrigo RJWjoc. Myocardial reperfusion injury and oxidative stress: Therapeutic opportunities. 2018;10(9):74. DOI: [10.4330/wjc.v10.i9.74](https://doi.org/10.4330/wjc.v10.i9.74)
14. Guarente L, editor Sirtuins in aging and disease. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology; 2007: Cold Spring Harbor Laboratory Press. DOI: [10.1101/sqb.2007.72.024](https://doi.org/10.1101/sqb.2007.72.024)
15. Kemp K, Griffiths J, Campbell S, Lovell KJJoCs, Colitis. An exploration of the follow-up up needs of patients with inflammatory bowel disease. 2013;7(9):e386-e95. DOI: [10.1016/j.crohns.2013.03.001](https://doi.org/10.1016/j.crohns.2013.03.001)
16. Scarpulla RCJAotNYAoS. Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator. 2008;1147(1):321-34. DOI: [10.1196/annals.1427.006](https://doi.org/10.1196/annals.1427.006)
17. Zhao Q, Tian Z, Zhou G, Niu Q, Chen J, Li P, et al. SIRT1-dependent mitochondrial biogenesis supports therapeutic effects of resveratrol against neurodevelopment damage by fluoride. 2020;10(11):4822. DOI: [10.7150/thno.42387](https://doi.org/10.7150/thno.42387)
18. Lv J, Bhatia M, Wang XJMD, Diseases. Roles of mitochondrial DNA in energy metabolism. 2017;71-83. DOI: [10.1007/978-981-10-6674-0_6](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6674-0_6)
19. Larsson N-G, Wang J, Wilhelmsson H, Oldfors A, Rustin P, Lewandoski M, et al. Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. 1998;18(3):231-6. DOI: [10.1038/ng0398-231](https://doi.org/10.1038/ng0398-231)
20. Yang Q, Wang W-w, Ma P, Ma Z-x, Hao M, Adelusi TI, et al. Swimming training alleviated insulin resistance through Wnt3a/ β -catenin signaling in type 2 diabetic rats. 2017;20(11):1220. DOI: [10.22038/IJBMS.2017.9473](https://doi.org/10.22038/IJBMS.2017.9473)
21. Dotzert MS, Murray MR, McDonald MW, Olver TD, Velenosi TJ, Hennop A, et al. Metabolomic response of skeletal muscle to aerobic exercise training in insulin resistant type 1 diabetic rats. 2016;6(1):26379. DOI: [10.1038/srep26379](https://doi.org/10.1038/srep26379)
22. Hall KE, McDonald MW, Gris  KN, Campos OA, Noble EG, Melling CJJM. The role of resistance and aerobic exercise training on insulin sensitivity measures in STZ-induced Type 1 diabetic rodents. 2013;62(10):1485-94. DOI: [10.1016/j.metabol.2013.05.012](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.012)
23. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JAJTJop. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. 2012;590(5):1077-84. DOI: [10.1113/jphysiol.2011.224725](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224725)
24. Talanian JL, Galloway SD, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LLJJoap. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. 2007. DOI: [10.1152/japplphysiol.01098.2006](https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01098.2006)
25. Gibala MJ, Little JP, Van Essen M, Wilkin GP, Burgomaster KA, Safdar A, et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. 2006;575(3):901-11. DOI: [10.1113/jphysiol.2006.112094](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.112094)
26. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak ZJSM, et al. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. 2019;1(1):24-32. DOI: [10.1016/j.smhs.2019.08.003](https://doi.org/10.1016/j.smhs.2019.08.003)
27. Ganeshpurkar A, Saluja AKJSpj. The pharmacological potential of rutin. 2017;25(2):149-64. DOI: [10.1016/j.jsp.2016.04.025](https://doi.org/10.1016/j.jsp.2016.04.025)
28. Guimaraes JF, Muzio BP, Rosa CM, Nascimento AF, Sugizaki MM, Fernandes AA, et al. Rutin administration attenuates myocardial dysfunction in diabetic rats. 2015;14(1):90. DOI: [10.1186/s12933-015-0255-7](https://doi.org/10.1186/s12933-015-0255-7)

29. Rahimi G, Heydari S, Rahimi B, Abedpoor N, Niktab I, Safaeinejad Z, et al. A combination of herbal compound (SPTC) along with exercise or metformin more efficiently alleviated diabetic complications through down-regulation of stress oxidative pathway upon activating Nrf2-Keap1 axis in AGE rich diet-induced type 2 diabetic mice. 2021;18(1):14. DOI: [10.1186/s12986-021-00543-6](https://doi.org/10.1186/s12986-021-00543-6)
30. Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt activation. 2015;35(6):2159-68. DOI: [10.1159/000374021](https://doi.org/10.1159/000374021)
31. Salwe KJ, Sachdev DO, Bahurupi Y, Kumarappan MJ. Evaluation of antidiabetic, hypolipidemic and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of leaves and fruit peel of Punica granatum in male Wistar albino rats. 2015;6(1):56. DOI: [10.4103/0976-9668.149085](https://doi.org/10.4103/0976-9668.149085)
32. Kamalakkannan N, Prince PSMJM, biochemistry c. Rutin improves the antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rat tissues. 2006;293(1):211-9. DOI: [10.1007/s11010-006-9244-1](https://doi.org/10.1007/s11010-006-9244-1)
33. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, MANHAS-DE-CASTRO R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. 2007;21(3):751-6. DOI: [10.1519/R-20155.1](https://doi.org/10.1519/R-20155.1)
34. Delfan M, Vahed A, Bishop DJ, Amadeh Juybari R, Laher I, Saeidi A, et al. Effects of two workload-matched high intensity interval training protocols on regulatory factors associated with mitochondrial biogenesis in the soleus muscle of diabetic rats. 2022;13:927969. DOI: [10.3389/fphys.2022.927969](https://doi.org/10.3389/fphys.2022.927969)
35. Paramesha B, Anwar MS, Meghwani H, Maulik SK, Arava SK, Banerjee SKJA. Sirt1 and Sirt3 activation improved cardiac function of diabetic rats via modulation of mitochondrial function. 2021;10(3):338. DOI: [10.3390/antiox10030338](https://doi.org/10.3390/antiox10030338)
36. Wang SY, Zhu S, Wu J, Zhang M, Xu Y, Xu W, et al. Exercise enhances cardiac function by improving mitochondrial dysfunction and maintaining energy homeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy. 2020;98(2):245-61. DOI: [10.1007/s00109-019-01861-2](https://doi.org/10.1007/s00109-019-01861-2)
37. Ko TH, Marquez JC, Kim HK, Jeong SH, Lee S, Youm JB, et al. Resistance exercise improves cardiac function and mitochondrial efficiency in diabetic rat hearts. 2018;470(2):263-75. DOI: [10.1007/s00424-017-2076-x](https://doi.org/10.1007/s00424-017-2076-x)
38. در بطن چپ PGC-1 α و Sirt-1 دلفان. اثر یک دوره تمرین هوازی بر بیان ژن‌های and، سمای سی، رواسی، چوبینه. رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲. پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش. ۱۴۰۱؛ ۱۴(۳): ۵۱-۵۱.
39. Jokar M, Mohammad Sherafati Moghadam, and Farhad Daryanoosh. The effect of a period of high-intensity interval training on the content of AMPK and PGC-1 α proteins in the heart muscle tissue of rats with type 2 diabetes. Daneshvar Medicine. 2021; 29(1):23-34. DOI: [10.22070/daneshmed.2021.12950.0](https://doi.org/10.22070/daneshmed.2021.12950.0)
40. Seo S, Lee M-S, Chang E, Shin Y, Oh S, Kim I-H, et al. Rutin increases muscle mitochondrial biogenesis with AMPK activation in high-fat diet-induced obese rats. 2015;7(9):8152-69. DOI: [10.3390/nu7095385](https://doi.org/10.3390/nu7095385)
41. Haghpour Azad M, Niktab, I., Dastjerdi, S., Abedpoor, N., Rahimi, G., Safaeinejad, Z., Peymani, M., Forootan, F.S., Asadi-Shekaari, M., Nasr Esfahani, M.H. and Ghaedi, K. The combination of endurance exercise and SGTC (Salvia-Ginseng-Trigonella-Cinnamon) ameliorate mitochondrial markers' overexpression with sufficient ATP production in the skeletal muscle of mice fed AGEs-rich high-fat diet. Nutrition & metabolism. 2022;19(1):1. DOI: [10.1186/s12986-022-00652-w](https://doi.org/10.1186/s12986-022-00652-w)
42. Alaie M, Abbas Ali Gaeini, Reza Nouri, and Siroos Chobineh. Interaction effect of high interval and low intensity continuous trainings with crocin on the expressions of PGC-1 α and UCP1 in heart tissue of male diabetic rats. Res Med. 2020;44(3):423-9.
43. Rafati M, Jabbar Bashiri, Roghayeh Poozesh Jadidi, and Hassan Pourrazi. Effect of 12 weeks of HIIT and Q10 supplementation on soleus muscle mitochondrial biogenesis in high-fat diet-induced

obese rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022;15(2):29-40. DOI: [10.52547/joeppa.15.2.29](https://doi.org/10.52547/joeppa.15.2.29)

44. Juan CG, Kyle B. Matchett, and Gareth W. Davison. A systematic review and meta-analysis of the SIRT1 response to exercise. *Scientific Reports*. 2023;13(1):14752. DOI: [10.1038/s41598-023-38843-x](https://doi.org/10.1038/s41598-023-38843-x)

45. Holloszy JO. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. 2005;99(1):338-43. DOI: [10.1152/jappphysiol.00123.2005](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00123.2005)

46. Botta A, Laher I, Beam J, DeCoffe D, Brown K, Halder S, et al. Short term exercise induces PGC-1 α , ameliorates inflammation and increases mitochondrial membrane proteins but fails to increase respiratory enzymes in aging diabetic hearts. 2013;8(8):e70248. DOI: [10.1371/journal.pone.0070248](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070248)

47. Mathrani A, Yip W, Sequeira-Bisson IR, Barnett D, Stevenson O, Taylor MW, et al. Effect of a 12-week polyphenol rutin intervention on markers of pancreatic β -cell function and gut microbiota in adults with overweight without diabetes. 2023;15(15):3360. DOI: [10.3390/nu15153360](https://doi.org/10.3390/nu15153360)

48. Li L, Mühlfeld C, Niemann B, Pan R, Li R, Hilfiker-Kleiner D, et al. Mitochondrial biogenesis and PGC-1 α deacetylation by chronic treadmill exercise: differential response in cardiac and skeletal muscle. 2011;106(6):1221-34. DOI: [10.1007/s00395-011-0213-9](https://doi.org/10.1007/s00395-011-0213-9)

49. Hardie DG. AMP-activated protein kinase: maintaining energy homeostasis at the cellular and whole-body levels. 2014;34(1):31-55. DOI: [10.1146/annurev-nutr-071812-161148](https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161148)

50. Cantó C, Auwerx JJ. Targeting sirtuin 1 to improve metabolism: all you need is NAD⁺? 2012;64(1):166-87. DOI: [10.1124/pr.110.003905](https://doi.org/10.1124/pr.110.003905)

51. 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. 2010;58(6):1011-22. DOI: [10.1113/jphysiol.2009.181743](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.181743)