

## The effect of 8 weeks of High Intensity Interval Training on the Levels of Wnt and NF- $\kappa$ B proteins in the heart tissue of male Wistar rats with type 2 diabetes

Mohammad Rami<sup>1\*</sup>, Maryam Azimpour<sup>2</sup>, Kayvan Khoramipour<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

<sup>2</sup> Sport Physiology, Neuromuscular Orientation, Fasa, Iran

<sup>3</sup> Department of Physiology and Pharmacology, Afzalipour Medical Faculty, Physiology Research Center and Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

### Original Article

#### Abstract

**Background and Purpose:** Diabetic cardiomyopathy is one of the main risk factors for cardiovascular complications of diabetes and since physical activity in diabetic patients can affect the structure and function of the myocardium, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of HIIT training on the content of NF- $\kappa$ B and Wnt proteins in the heart muscle tissue of Wistar rats with type 2 diabetes.

**Materials and Methods:** In the present study, 20 male Wistar rats were randomly divided into four groups (each group including five rats) Control+Healthy, Exercise+Healthy, Control+Diabetes, and Exercise+Diabetes. After a period of high-fat diet and then after induction of diabetes, animals in Exercise+Diabetes and Exercise+Healthy groups performed the training protocol for eight weeks and five sessions per week. 48 hours after the last training session, cardiac tissue was extracted and the expression levels of NF- $\kappa$ B and Wnt proteins were assessed using Western blotting. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc test at a significance level of less than 0.05. Also, mixed ANOVA test was used to evaluate changes in weight and glucose levels of rats in different stages and weeks of training.

**Results:** The results showed that the relative Levels of NF- $\kappa$ B and Wnt proteins in Control+Diabetes and Exercise+Diabetes groups is significantly more than healthy groups ( $P = 0.001$ ). Also, the Levels of Wnt protein in the Exercise+Diabetes group was significantly less than the Control+Diabetes group ( $P = 0.001$ ), While the Levels of NF- $\kappa$ B protein in the Exercise+Diabetes group did not show a significant difference compared to the Control+Diabetes group. The results of mixed ANOVA test on mean weight changes show that the weight of rats in Control+Diabetes and Exercise+Diabetes groups was significantly higher ( $P = 0.001$ ) than the beginning of training and use of high-fat diet to the stage before STZ injection and in the last week. In addition, at the end of the training protocol was significantly became less ( $P = 0.001$ ). Also, blood glucose levels of Control+Diabetes and Exercise+Diabetes groups was significantly higher ( $P = 0.001$  and  $0.003$ , respectively) at one week after STZ injection and was significantly lower in the Exercise+Diabetes group at the end of the training protocol ( $P=0.001$ ).

**Conclusion:** Finally, it should be noted that high-intensity intermittent exercise could potentially affect myocardial structure and function and be promising as a non-pharmacological solution.

**Keywords:** HIIT Exercise, Diabetes, Cardiomyopathy, Diet.

How to cite this article: RamiM, Azimpour M, Khoramipour K. The effect of 8 weeks of High Intensity Interval Training on the Levels of Wnt and NF- $\kappa$ B proteins in the heart tissue of male Wistar rats with type 2 diabetes. Journal of Sport and Exercise Physiology. 2023;15(4):19-30.

\*Corresponding Author; E-mail: M.rami@scu.ac.ir

DOI: 10.52547/joeppa.15.4.19

Received:26/12/2022

Revised:01/05/2022

Accepted:22/05/2022

## اثر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان پروتئین های Wnt و NF-kB بافت قلب موش های صحرائی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع ۲

محمد رمی<sup>۱\*</sup>، مریم عظیم پور<sup>۲</sup>، کیوان خرمی پور<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<sup>۲</sup> فیزیولوژی ورزشی، گرایش عصبی عضلانی، فسا، ایران

<sup>۳</sup> دانشکده پزشکی افضلی پور، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و علوم اعصاب، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**زمینه و هدف:** کاردیومیوپاتی دیابتی یکی از عوامل خطرزای اصلی برای عوارض قلبی-عروقی دیابت است و از آنجایی که فعالیت بدنی در بیماران دیابتی می‌تواند ساختار و عملکرد میوکارد را تحت تأثیر قرار دهد، لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین های NF-kB و Wnt بافت عضله قلبی موش های صحرائی نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع دو است.

**مواد و روش ها:** در مطالعه حاضر ۲۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با سن ۸-۶ هفته و میانگین وزن ۱۶/۹±۱۹۱/۳ گرم، به طور تصادفی به چهار گروه (هر گروه شامل ۵ موش صحرائی) سالم+کنترل، سالم+تمرین، دیابت+کنترل و دیابت+تمرین تقسیم شدند. پس از یک دوره رژیم غذایی پر چرب و سپس القاء دیابت، حیوانات در گروه های سالم+تمرین و دیابت+تمرین قرارداد تمرینی را به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته را انجام دادند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بافت قلب استخراج شد و بررسی سطوح بیان پروتئین های NF-kB و Wnt با استفاده از روش وسترن بلات انجام گرفت. داده ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری کوچکتر از ۰/۰۵ بررسی شد. همچنین، برای بررسی تغییرات وزن و سطح گلوکز موش های صحرائی در مراحل و هفته های مختلف تمرینی از آزمون تحلیل واریانس مرکب استفاده گردید.

**نتایج:** نتایج نشان داد مقادیر نسبی پروتئین های NF-kB و Wnt در گروه های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین به صورت معناداری نسبت به گروه های سالم بیشتر بود ( $P=0/001$ ). همچنین، میزان پروتئین Wnt در گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت+کنترل به صورت معناداری کمتر بود ( $P=0/001$ ), در حالی که میزان پروتئین NF-kB در گروه دیابت+تمرین نسبت به گروه دیابت+کنترل تفاوت معناداری را نشان نداد. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب در خصوص تغییرات میانگین وزن نشان می‌دهد وزن موش های صحرائی در گروه های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین از زمان آغاز تمرین و استفاده از رژیم غذایی پرچرب تا مرحله قبل از تزریق STZ به صورت معناداری بیشتر ( $P=0/001$ ) و در هفته پایانی و انتهای قرارداد تمرینی به صورت معناداری کمتر بود ( $P=0/001$ ). همچنین، سطح قند خون گروه های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین یک هفته پس از تزریق STZ به صورت معناداری بیشتر (به ترتیب  $P=0/001$  و  $P=0/003$ )، و در پایان قرارداد تمرینی در گروه دیابت+تمرین به صورت معناداری کمتر بود ( $P=0/001$ ). **نتیجه گیری:** در نهایت باید اظهار داشت که تمرینات HIIT احتمالاً می‌تواند ساختار و عملکرد میوکارد را تحت تأثیر قرار داده و به عنوان راهکاری غیر دارویی امیدوارکننده باشد.

**واژه های کلیدی:** تمرین HIIT، دیابت، کاردیومیوپاتی، رژیم غذایی.

\* نویسنده مسئول: رایانامه: M.rami@scu.ac.ir

## مقدمه

دیابت نوع ۲ (T2DM) یک بیماری متابولیک پیچیده و مزمن با علل متعدد است که با هایپرگلیسمی مزمن و اختلال در سوخت و ساز کربوهیدرات، چربی و پروتئین مشخص می‌شود (۱، ۲). بیماری دیابت یک عامل خطرزای مستقل برای افزایش عوارض و مرگ و میر در بیماران مبتلا به نارسایی‌های قلبی-عروقی است (۳). کاردیومیوپاتی دیابتی (DCM) یکی از عوامل خطرزای اصلی برای عوارض قلبی-عروقی دیابت و علت اصلی نارسایی قلبی در بیماران دیابتی است (۵). از ویژگی‌های اصلی DCM ساختار و عملکرد غیر طبیعی میوکارد و آسیب قلبی است که با هایپرتروفی و فیبروز میوکارد مشخص می‌شود (۶). از عمده ویژگی‌های کاردیومیوپاتی در بیماری دیابت بروز ساختار و عملکرد غیرعادی میوکارد و آسیب قلبی است که با تغییرات ساختاری میوکارد، مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک مشخص می‌شود و ممکن است پیش از بروز تظاهرات بالینی اختلال عملکرد قلبی رخ دهد (۷). اگرچه التهاب میوکارد به طور فزاینده‌ای نقش مهمی در بیماری قلبی ایفا می‌کند، اما سازوکارهای سلولی و مولکولی بالقوه DCM در حال حاضر به طور کامل مشخص نیست (۸). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عامل هسته‌ای  $\text{Kappa B}$  (NF- $\text{kB}$ ) و مسیر پیام‌رسانی Wnt/B-catenin/GSK3B نقش مهمی را در پاتوژنز DCM دارند (۹). پروتئین NF- $\text{kB}$  اغلب توسط عوامل رشد پیش التهابی و سیتوکین‌ها، از جمله TNF- $\alpha$  فعال می‌شود (۱۰). التهاب یک محرک قوی فشار اکسایشی است و NF- $\text{kB}$  به التهاب پاسخ داده و فشار اکسایشی را القا می‌کند (۱۱). فشار اکسایشی باعث انتقال NF- $\text{kB}$  به هسته و رونویسی چندین ژن بیماری‌زا (۱۲) و واسطه بیان تعدادی از ژن‌ها از سیتوکین‌های پیش التهابی می‌شود (۱۳). شواهد نشان می‌دهد که NF- $\text{kB}$  بر اثر هایپرگلیسمی ناشی از بیماری دیابت در موش‌های صحرایی فعال شده و بیان سیتوکین‌هایی مانند TNF- $\alpha$  و اینترلوکین-۲، که نقش اصلی در توسعه دیابت دارند، را القاء می‌کند (۱۴).

مسیر پیام‌رسانی Wnt/B-catenin/GSK3B نقش مهمی در موش‌های صحرایی دیابتی مبتلا به آسیب میوکارد دارد (۱۵). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مسیر پیام‌رسانی Wnt نقش به اثبات رسیده‌ای را در سندرم متابولیک، به خصوص بیماری دیابت نوع دو ایفا می‌کند

و رشد پانکراس و همچنین عملکرد جزایر، تولید و ترشح انسولین را تنظیم می‌کند (۱۶). با وجود این، فعال شدن نامناسب مسیر Wnt/ $\beta$ -catenin ناشی از افزایش موضعی هسته‌ای  $\beta$ -catenin نیز به شدت با انواع مختلف بیماری‌های قلبی مانند کاردیومیوپاتی اتساعی، سکتة قلبی و بیماری‌های فشار خون بالا مرتبط است (۸، ۱۷). پژوهش‌ها نشان داده است که افزایش فعالیت Wnt در موش‌های صحرایی دیابتی مبتلا به آسیب میوکارد سبب فسفوریلاسیون و غیرفعال سازی GSK3 $\beta$  شده و از تخریب B-catenin جلوگیری می‌کنند و منجر به تجمع انتقال هسته‌ای B-catenin می‌شوند. اتصال B-catenin با عامل سلول T / عامل اتصال تقویت کننده لنفوسیت (TCF/LEF) می‌تواند رونویسی ژن هدف Wnt را القا کند (۱۸). علاوه بر این، انتقال پیام Wnt از طریق B-catenin نیاز به مهار GSK3 $\beta$  دارد (۸).

با وجود راهبردهای درمانی موفق در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و خطرات قابل توجه دستگاه قلبی و عروقی در دیابت نوع ۲ که در مطالعات بسیاری پرداخته شده است (۱۷، ۱۹). اخیراً پژوهشگران تمایل زیادی به رویکرد ورزشی و تأثیر فعالیت بدنی بر دیابت و عوارض ناشی از آن نشان داده‌اند (۲۰). مطالعات نشان داده‌اند که بین سطوح فعالیت بدنی با واسطه‌های التهابی رابطه معکوس وجود دارد. به بیان دیگر هر چه سطح آمادگی جسمانی بالاتر باشد سطوح واسطه‌های التهابی پایین‌تر خواهد بود (۲۱، ۲۲). تمرینات ورزشی یکی از مؤثرترین راهکارها برای افزایش آمادگی قلبی-عروقی است و افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ به طور قوی در پاسخ به تمرینات ورزشی سازگاری مورد انتظار و مطلوبی را نشان داده‌اند (۲۰). در پژوهشی توسط یانگ و همکاران گزارش شد که فعالیت بدنی از نوع شنا سبب مهار Wnt و کاهش بیان پروتئین B-catenin و افزایش سطوح GSK3B می‌شود (۱). همچنین، پژوهش‌ها نشان داده است که فعالیت بدنی HIIT سبب کاهش محتوا و فعالیت NF- $\text{kB}$  در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۲). البته شایان ذکر است که شدت، مدت زمان و نوع تمرین به احتمال زیاد نقش مهمی در میزان مزایای بدست آمده در این خصوص دارد چرا که مطالعات گوناگون نتایج متفاوتی را گزارش نموده‌اند (۲۰). با این حال، تمرینات HIIT که شامل چندین مرحله پی در پی ورزش با شدت بالا است، که با فواصل استراحت و بازیافت فعال همراه است،

دام پزشکی و در فضایی با دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۰ درصد و با رعایت چرخه خواب و بیداری ۱۲:۱۲ نگه داری شدند. موش های صحرایی در محل نگه داری به صورت آزادانه به آب و غذای مخصوص حیوانات دسترسی داشتند. پس از مرحله آشناسازی با شرایط آزمایشگاه حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه سالم+کنترل، سالم+تمرین، دیابت+کنترل و دیابت+تمرین تقسیم شدند. پس از فرآیند القاء دیابت، موش های صحرایی در گروه های سالم+تمرین و دیابت+تمرین به مدت هشت هفته قرارداد تمرینی را انجام دادند. قرارداد تمرینی در اتاق تمرین خانه حیوانات دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. پژوهش حاضر براساس مصوبه کمیته اخلاق پژوهش بر حیوانات دانشگاه شهید چمران اهواز با شماره EE/1400.2.24.32884/scu.ac.ir انجام گرفت.

**روش اجرای پژوهش:** در ابتدا موش های صحرایی در گروه های دیابتی به مدت دو ماه تحت رژیم غذایی پرچرب (HFD) قرار گرفتند. رژیم غذایی پرچرب شامل ترکیبات زیر است: ۶۰ درصد چربی (۲۴۵ گرم Lard و ۲۵ گرم روغن سویا)، ۲۰ درصد کربوهیدرات (۱۲۵ گرم Lodex و ۷۲/۸ گرم سوکروز)، ۲۰ درصد پروتئین (۲۰۰ گرم کازئین و ۳ گرم سیستئین)، فیبر ۵۰ گرم (Solca Floc)، ۵۰ گرم مواد معدنی، ۳ گرم ویتامین و ۵/۰ گرم رنگ (۲۶). ترکیب رژیم غذایی معمولی مشابه با ترکیب بیان شده برای رژیم پرچرب است، با این تفاوت که مقدار ترکیبات دو نوع رژیم غذایی با هم متفاوت است (جدول ۱) (۲۷).

ممکن است اثرات مفید برتری برای بهبود کنترل قند خون و سایر نشانگرهای مرتبط با سلامتی داشته باشد (۲۳)، همچنانکه تمرین HIIT با حجم کم بهبود کنترل قند خون در دیابت نوع ۲ را در مطالعه ای نشان داده است (۲۴). البته در پژوهشی عنوان شد که احتمالاً تمرینات با شدت کم و متوسط برای بیماران دیابتی نوع ۲ در مقایسه با تمرینات تناوبی شدید مفیدتر است (۲۵). از آنجایی که هر دو مسیر NF- $\kappa$ B و Wnt در DCM فعال می شوند و نقش مهمی در پاتوژنز DCM دارند (۸)، فرض ما بر این است که مهار مسیرهای پیام رسانی NF- $\kappa$ B یا Wnt ممکن است آسیب میوکارد را در بیماران دیابتی بهبود بخشد. علاوه بر این، با توجه به اینکه بیشتر بیماران دیابتی نوع ۲ کم تحرک یا کم فعالیت هستند، همچنین، با توجه به نتایج متناقض مطالعات پیشین، بر آن شدیم که در پژوهش پیش رو اثرات ضد التهابی و ضد اکسایشی تمرینات HIIT را به عنوان یک راهبرد غیر دارویی بر بیان پروتئین های Wnt و NF- $\kappa$ B در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار دهیم.

### روش پژوهش

**نمونه های پژوهش:** در پژوهش حاضر ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با ۸-۶ هفته سن و میانگین وزن ۱۶/۹±۱۹۱ گرم از دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز خریداری شده و در قفس های مخصوص جوندگان از جنس پلی کربنات در خانه حیوانات دانشکده

### جدول ۱. رژیم غذایی معمولی و پرچرب

نوع رژیم غذایی	چربی	کربوهیدرات	پروتئین	فیبر	مواد معدنی	ویتامین
رژیم غذایی معمولی (kcal % fat No Sucrose SD 10)	۱۰ درصد	۷۰ درصد	۲۰ درصد	۵۰ گرم	۵۰ گرم	۳ گرم
رژیم غذایی پرچرب (kcal % fat 60)	۶۰ درصد	۲۰ درصد	۲۰ درصد	۵۰ گرم	۵۰ گرم	۳ گرم

به عنوان موش صحرایی دیابتی در نظر گرفته شده و وارد فرآیند تحقیق شدند (۲۸). پس از القاء دیابت نوع ۲ قرارداد تمرینی HIIT به مدت ۸ هفته به اجرا در آمد. به این منظور نخست به منظور آشناسازی موش های صحرایی، حیوانات در گروه های سالم+تمرین و دیابت+تمرین به مدت ۵ روز و هر روز ۱۰ دقیقه با شیب صفر و سرعت ۸ متر بر دقیقه بر روی نوار گردان راه رفتند. پس از پایان مرحله آشناسازی، آزمون فزاینده پلکانی از

پس از دو ماه تغذیه موش های آزمایشگاهی در گروه های دیابتی با رژیم غذایی پرچرب، جهت القاء دیابت نوع ۲ یک دوز ۳۵ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت درون صفاقی و در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تزریق شد. سه روز بعد از تزریق، میزان قند خون از ورید دم موش های صحرایی و با استفاده دستگاه گلوکومتر (Roche Diagnostics K.K., Tokyo, Japan) اندازه گیری شد. میزان قند خون ناشتا (FBG) بالاتر از ۲۵۰ mg/dl

ابتدای هر هفته مجدداً ارزیابی می‌شد تا شدت تمرین در آن هفته بر اساس شدت دست یافته در هر هفته طراحی شود و اصل اضافه بار کنترل شود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین ۸۰ و زایلوزین ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. سپس بافت قلب استخراج شد و بلافاصله در دمای ۷۰- منتقل و فریز شد تا در مراحل بعد جهت اندازه‌گیری‌های پروتئین‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

موش‌های صحرایی به عمل آمد. این آزمون به منظور حصول بیشینه سرعت (Vmax) در نظر گرفته شد. بر اساس این آزمون، موش‌های صحرایی ابتدا به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۶ متر بر دقیقه می‌دویدند و هر ۲ دقیقه یکبار به میزان ۲ متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان اضافه گردید، تا زمانی که موش‌های صحرایی قادر به حفظ سرعت نباشند. آخرین تلاش حیوانات به عنوان بیشینه سرعت در نظر گرفته می‌شد. در نهایت قرارداد تمرینی اصلی به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته مطابق با جدول ۲ اجرا شد (۲۹). سرعت بیشینه موش‌های صحرایی در

#### جدول ۲. قرارداد تمرین تناوبی شدید (۲۹)

زمان کل تمرین (دقیقه)	سرعت در تناوب (درصد)	زمان هر تناوب (دقیقه)	سرعت در تناوب شدید (درصد سرعت بیشینه)	زمان هر تناوب شدید (دقیقه)	تعداد تناوب	تعداد جلسات در هفته	شیب هفته
۱۲	۵۰	۱	۸۰	۲	۴	۵	۰
۱۲	۵۰	۱	۸۰	۲	۴	۵	۰
۱۸	۵۰	۱	۸۵	۲	۶	۵	۰
۲۱	۵۰	۱	۸۵	۲	۶	۵	۰
۲۴	۵۰	۱	۹۰	۲	۸	۵	۰
۲۴	۵۰	۱	۹۰	۲	۸	۵	۰
۳۰	۵۰	۱	۹۵	۲	۱۰	۵	۰
۳۰	۵۰	۱	۹۵	۲	۱۰	۵	۰

بر اساس غلظت‌های به دست آمده در روش برادفورد با محلول لودینگ بافر 2X مخلوط و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا پروتئین‌ها حالت خطی پیدا کنند. در این مرحله بخاری ایجاد می‌شود که با ۵ ثانیه ورتکس و سپس قرار دادن نمونه درون یخ از بین می‌رود. در مرحله بعد پس از ساختن ژل‌های SDS-PAGE نمونه‌ها در درون چاهک‌های الکتروفورز ریخته شده و در ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با ولتاژ ۷۶۰ و سپس به مدت یک ساعت با ولتاژ ۱۰۰ تحت جریان الکتریسیته قرار گرفتند. یکی از چاهک‌های ژل SDS-PAGE در هر ران الکتروفورز به پروتئین نشانگر (Lader) اختصاص داشت. در مرحله بعد در فرآیند انتقال، پروتئین‌ها با ولتاژ ۶۰ و به مدت ۱۰۵ دقیقه از روی ژل SDS-PAGE بر روی کاغذ نیترو سلولز انتقال داده شدند و در مرحله بعد بعد با آنتی بادی‌های اولیه Wnt-2 (Anti-Wnt2 anti-) و Anti-NFκB p65 (body (ab203225), abcam) و NF-κB

**روش‌های آزمایشگاهی:** بررسی محتوای پروتئین‌های Wnt و NF-κB با استفاده از روش وسترن بلات انجام گرفت. نمونه‌های بافت قلب ابتدا به وسیله بافر لیز کننده همگن (هموژن) شدند. به این صورت که به ازای هر ۲۰۰ میلی گرم بافت، ۱۰۰ میکرو لیتر بافر لیز کننده به نمونه‌های بافتی قلب اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه هموژنایزر (Speed Mill plus, analytikjena, آلمان) و با ۲۵۰۰۰ دور در دقیقه همگن شدند. در مرحله بعد پس از اینکه نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، مایع رویی آنها به میکروتیوپ جدید منتقل شد. از یک قرص مهارکننده پروتئاز به ازای هر ۱۰ میلی لیتر (۱۰ X) استفاده شد. غلظت سوپرناتان به دست آمده از نمونه‌های قلبی با استفاده از کیت بردفورد سنجیده شد. پیش از انجام فرآیند الکتروفورز نمونه‌های پروتئینی با نسبت یک به یک



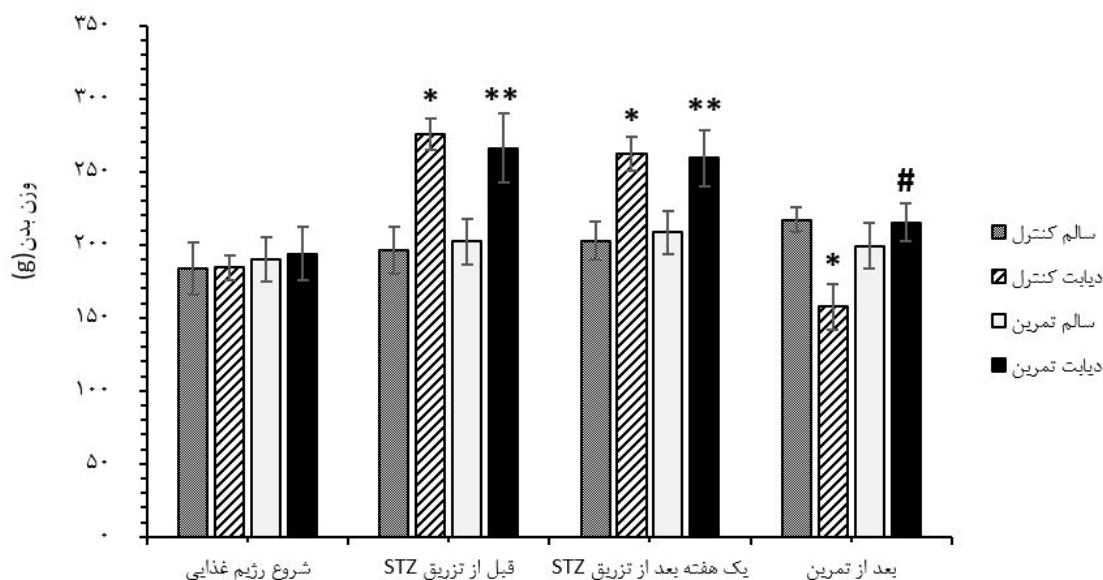
و از آزمون توکی به عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. تغییرات وزن بدن و سطح گلوکز خون در مراحل و هفته های مختلف قرارداد تمرینی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس مرکب مورد بررسی قرار گرفت. سطح معناداری  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

نمودار تغییرات میانگین متغیر وزن بدن حیوانات در مراحل مختلف طی هفته های تمرین در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است. نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس مرکب نشان داد که وزن بدن موش های صحرایی در گروه های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین از زمان شروع تمرین و استفاده از رژیم غذایی پر چرب تا زمان قبل از تزریق STZ افزایش معناداری را نشان می دهد ( $P < 0/05$ ) و در زمان پایان قرارداد تمرینی کاهش معناری یافت ( $P < 0/05$ ). همچنین، نمودار شکل ۱ نشان می دهد که بعد از پایان برنامه تمرینی وزن بدن موش های صحرایی در گروه دیابت+کنترل نسبت به سایر گروه ها مقادیر کمتری را نشان می دهد ( $P < 0/05$ ).

$\beta$ -Actin و (Antibody (F-6): sc-8008, SANTA CRUZ Anti- $\beta$ -Actin Antibody (C4): sc-47778, SAN-) TA CRUZ مورد آزمایش قرار گرفتند (رقت  $1/2000$  تا  $1/5000$  در بافر PBS). از آنتی بادی های ثانویه (m-Ig-) GkBP-HRP: sc-516102 نیز با رقت  $1/2000$  در بافر PBS به مدت ۱ ساعت برای اتصال به آنتی بادی اولیه استفاده شد. سپس کاغذها درون کاست محافظ پلاستیکی حاوی فیلم حساس قرار داده می شدند و در دستگاه پردازشگر X-RAY (LD-14, China) و با استفاده از کیت ECL ظهور باندها انجام می شد. سپس چگالی نوارهای (باندهای) پروتئینی با استفاده از نرم افزار JS2000 مورد بررسی قرار گرفت.

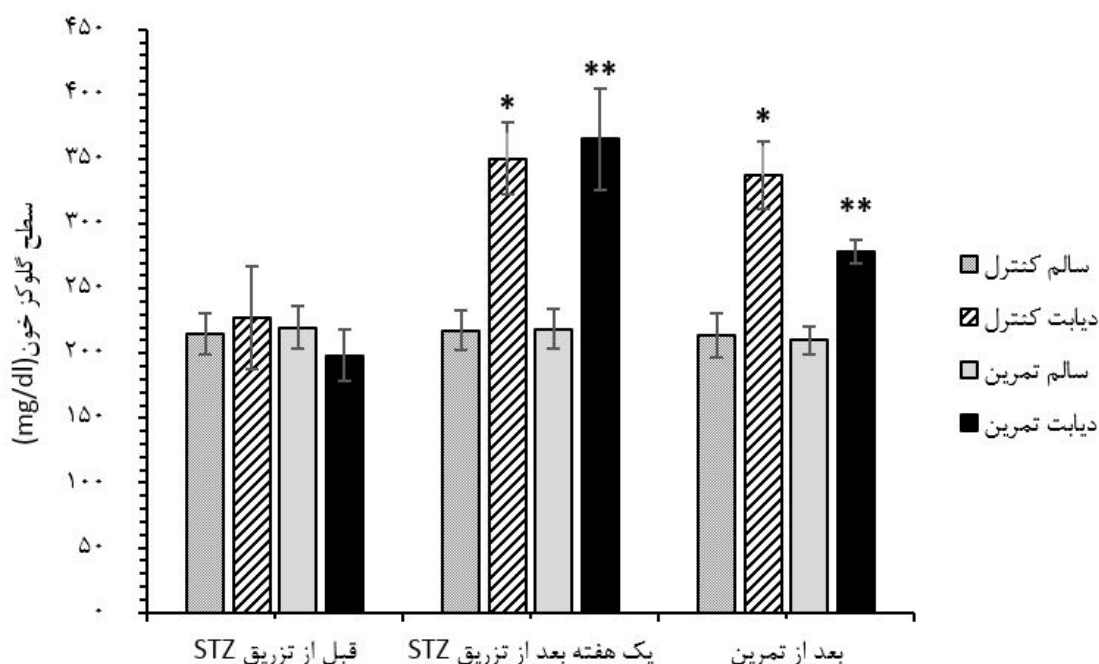
**تحلیل آماری:** با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ و نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ داده های این مطالعه مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. توزیع طبیعی داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک تأیید شد. بررسی همگن بودن واریانس ها با استفاده از آزمون لون (Levene's) انجام گرفت. از آزمون تحلیل واریانس یک راهه برای مقایسه گروه ها در متغیرهای مورد مطالعه



شکل ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب در متغیر وزن بدن موش های صحرایی در گروه های پژوهش در مراحل مختلف قرارداد تمرینی. \* تفاوت معناداری گروه دیابت+کنترل با گروه های سالم+کنترل و سالم+تمرین در مراحل پیش از تزریق STZ و یک هفته پس از تزریق STZ و تفاوت معناداری با سایر گروه ها در مرحله پس از پایان تمرین، همچنین، تفاوت معناداری گروه دیابت+کنترل در مراحل پیش از تزریق STZ و یک هفته پس از تزریق STZ با زمان شروع رژیم غذایی. \*\* تفاوت معناداری گروه دیابت+تمرین با گروه های سالم+کنترل و سالم+تمرین در مراحل پیش از تزریق STZ و یک هفته پس از تزریق STZ، همچنین، تفاوت معناداری گروه دیابت+تمرین در مراحل پیش از تزریق STZ و یک هفته پس از تزریق STZ با مراحل پس از تمرین و زمان شروع رژیم غذایی. # تفاوت معناداری گروه دیابت+تمرین با گروه دیابت+کنترل در مرحله پس از پایان تمرین و همچنین، تفاوت معناداری گروه دیابت+تمرین در مرحله پس از پایان تمرین با مرحله زمان شروع رژیم غذایی ( $P \leq 0/05$ ).

در مدت زمان یک هفته پس از تزریق STZ افزایش معناداری یافته است ( $P < 0/05$ ) و در پایان قرارداد تمرینی سطح گلوکز خون گروه دیابت+تمرین نسبت به مرحله قبل به صورت معناداری کاهش یافته است ( $P < 0/05$ ).

تغییرات میانگین سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی در مراحل مختلف برنامه تمرینی در شکل ۲ به تصویر کشیده شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب نشان داد که سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی در گروه‌های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین



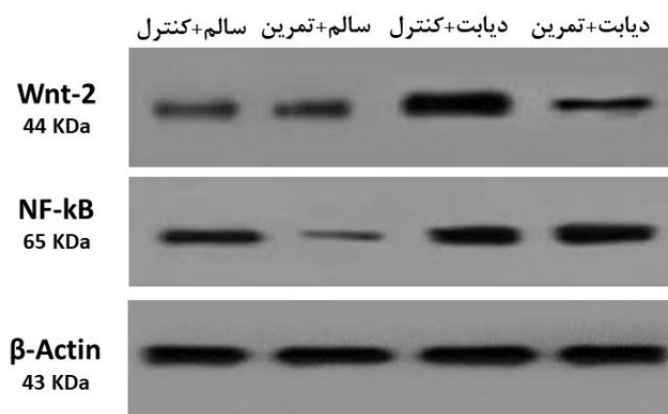
شکل ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس مرکب در متغیر سطح گلوکز خون موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف در مراحل مختلف قرارداد تمرینی.

\* تفاوت معناداری سطح گلوکز خون در گروه دیابت+کنترل با گروه‌های سالم+کنترل و سالم+تمرین در مرحله یک هفته بعد از تزریق STZ و تفاوت معناداری با سایر گروه‌ها در مرحله بعد از تمرین، همچنین، تفاوت معناداری سطح گلوکز خون در گروه دیابت+کنترل در مراحل یک هفته بعد از تزریق STZ و بعد از تمرین با مرحله قبل از تزریق STZ. \*\* تفاوت معناداری گروه دیابت+تمرین با گروه‌های سالم+کنترل و سالم+تمرین در مرحله یک هفته بعد از تزریق STZ و تفاوت معناداری با سایر گروه‌ها در مرحله بعد از تمرین، همچنین، تفاوت معناداری سطح گلوکز خون در گروه دیابت+تمرین در تمام مراحل برنامه تمرینی ( $P \leq 0/05$ ).

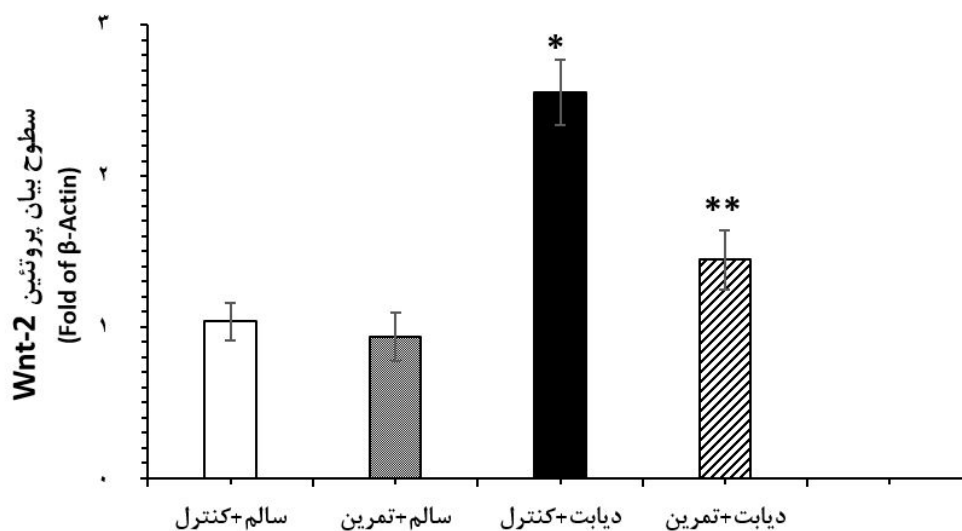
بر این، نتایج نشان می‌دهد میزان پروتئین Wnt در گروه دیابت+تمرین را نسبت به دیابت+کنترل به طور معناداری کمتر است ( $P > 0/05$ ), در صورتی که در مورد NF-kB این کاهش بیان پروتئین مشاهده نمی‌شود. همچنین، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان پروتئین NF-kB در گروه سالم+تمرین نسبت به گروه سالم+کنترل به طور معناداری کمتر است ( $P < 0/05$ ).

در شکل ۳ میانگین محتوای پروتئین‌های Wnt و NF-kB در بافت قلب موش‌های صحرایی نشان داده شده است (جدول ۳). نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (جدول ۴) و آزمون تعقیبی توکی نشان داد که سطوح نسبی پروتئین Wnt و NF-kB در گروه‌های دیابت+کنترل و دیابت+تمرین نسبت گروه‌های سالم به صورت معناداری بیشتر است ( $P > 0/05$ ). علاوه

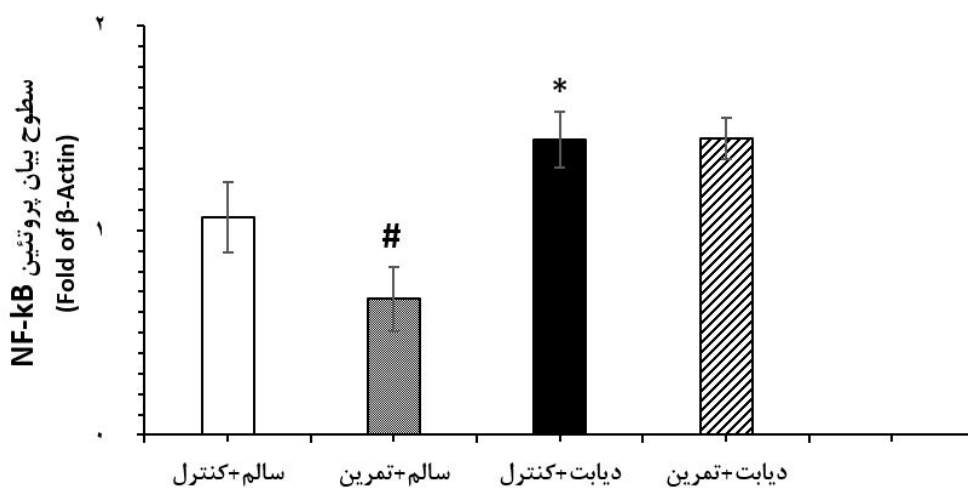
**A**



**B**



**C**



شکل ۳. A) مقادیر پروتئین های Wnt و NF-kB در گروه های مختلف با استفاده از روش وسترن بلات. B و C) تجزیه و تحلیل باندهای وسترن بلات پروتئین های Wnt و NF-kB در گروه های مختلف.

\* تفاوت معناداری بین گروه دیابت+کنترل با گروه های سالم+کنترل و سالم+تمرین ( $P \leq 0/05$ ). \*\* تفاوت معناداری بین گروه دیابت+تمرین با گروه دیابت+کنترل در پروتئین Wnt ( $P \leq 0/05$ ). # تفاوت معناداری بین گروه سالم+تمرین و سالم+کنترل در پروتئین NF-kB ( $P \leq 0/05$ ).



جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد پروتئین های Wnt و NF-kB

متغیر	میانگین و انحراف	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد
پروتئین Wnt	استاندارد گروه سالم + کنترل	گروه سالم + تمرین	گروه دیابت + کنترل	گروه دیابت + تمرین
	۱/۰۳۸ ± ۰/۱۲	۰/۹۳۶ ± ۰/۱۵	۲/۵۵۲ ± ۰/۲۱	۱/۴۴ ± ۰/۱۹
پروتئین NF-kB	۱/۰۶۴ ± ۰/۱۷	۰/۶۶۴ ± ۰/۱۳	۱/۴۴۴ ± ۰/۱۵	۱/۴۳۸ ± ۰/۱

جدول ۴. نتایج آزمون ANOVA برای بررسی تغییرات بین گروهی پروتئین های Wnt و NF-kB

متغیر	مقدار F	سطح معناداری
پروتئین Wnt	۲۶۲/۲۱۴	*۰/۰۰۱
پروتئین NF-kB	۲۹۱/۱	*۰/۰۰۱

### بحث و نتیجه‌گیری

متابولیک، مقاومت به انسولین، نارسایی قلبی و سکتة قلبی نقش داشته و از این رو یک عامل مهم و اصلی در پاتوژنز کاردیومیوپاتی دیابتی است. Wnt-2 در دیابت قندی نوع ۱ تنظیم مثبت شده و در شروع مراحل اولیه بیماری قلبی در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابتی نوع ۱ شرکت می‌کند (۳۲). پژوهش‌ها نشان داده است که استفاده از مهار کننده‌های Wnt می‌تواند تغییرات نامطلوب قلبی را کاهش دهد که توسط کاهش قطر داخلی بطن چپ در هنگام دیاستول نشان داده شده است (۳۳). همچنین، ژنی و همکارانش در سال ۲۰۱۵ در مطالعه خود عنوان کردند که مسیر پیام‌رسانی Wnt در موش‌های صحرایی عادی و بدون آسیب قلبی در حالت خاموش قرار دارد، در حالی که در موش‌های صحرایی دیابتی این مسیر پیام‌رسانی و ژن‌های پایین دست آن فعال شده و منجر به آسیب میوکارد می‌شود (۳۴). علاوه بر این، پژوهش‌ها نشان داده است که مهار دارویی NF-kB فرآیندهای مولکولی آنتی‌آپوپتوتیک را میانجی‌گری می‌کند (۳۵). نتایج مطالعه ما همچنین نشان داد که محتوای پروتئین Wnt-2 در موش‌های صحرایی دیابتی که یک دوره تمرین HIIT را انجام داده بودند به صورت معناداری کمتر است. این نتایج با مطالعه فیاض و همکارانش در سال ۲۰۱۹ همسو بود (۳۶). آن‌ها در مطالعه خود بیان کردند که یک دوره تمرین هوازی با شدت بالا می‌تواند یک راهبرد مفید برای کاهش پیام‌دهی غیر متعارف Wnt در موش‌های صحرایی و متعاقب آن جلوگیری از پیشرفت دیابت و عوارض قلبی-عروقی ناشی از آن باشد. همچنین، همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، یانگ و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در مطالعه خود

شرایط التهابی و مقاومت به انسولین نقش اصلی را در آسیب‌های بافتی ناشی از بیماری دیابت بازی می‌کنند، که ممکن است در نهایت منجر به آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها، هایپرتروفی پاتولوژیک، فیبروز و حتی عدم کارایی بطن‌ها شود (۸). بنابراین، استفاده از راهکارهای مؤثر دارویی و غیر دارویی در دستور کار پژوهشگران حیطه دیابت قرار گرفته است. از این رو، در این مطالعه به بررسی اثر یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های Wnt-2 و NF-kB در بافت قلبی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختیم. در مطالعه حاضر، نتایج ما نشان داد که محتوای پروتئین‌های Wnt-2 و NF-kB در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با موش‌های صحرایی در گروه‌های سالم به صورت معناداری بیشتر بود. مسیرهای پیام‌رسانی NF-kB و Wnt به عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم در پاتوفیزیولوژی قلب شناخته شده هستند. همسو با نتایج مطالعه حاضر، مطالعات پیشین نشان دادند که بیماری دیابت سبب فعال سازی NF-kB و رونویسی عوامل پایین دست آن مانند مسیرهای Wnt/ $\beta$ -catenin/ $GSK3\beta$  شده و در نتیجه سبب توسعه پاسخ التهابی میوکارد در موش‌های دیابتی می‌شود (۳۰، ۳۱). همچنین، لیو و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در مطالعه خود اشاره کردند که بیان Wnt-2، NF-kB و برخی دیگر از شاخص‌های التهابی در موش‌های صحرایی دیابتی به صورت قابل توجهی افزایش یافته است (۸). علاوه بر این، برخی مطالعات بیان کرده‌اند که مسیر پیام‌رسانی Wnt سندروم

نداد (۳۹). این احتمال وجود دارد که نتایج متناقض مطالعات می تواند ناشی از مدت زمان تمرین، شدت و نوع آن و نوع نمونه ها باشد (۴۰). این مطالب نشان دهنده آن است که هرگونه دستکاری در تمرینات ورزشی می تواند بر روی بیان پروتئین های مسیره های سلولی از جمله مسیر مرگ سلولی وابسته به پروتئین های NF-kB و Wnt تأثیرگذار باشد و نتایج متناقضی را نشان دهد. بنابراین، باید خاطر نشان کرد که در زمینه بیماری دیابت و مداخلات مختلف تمرینی، مسیره های سلولی و مولکولی که از طریق آن ها کاردیومیوپاتی دیابتی تحت تأثیر قرار می گیرند، بسیار حائز اهمیت هستند. بنابراین به مطالعه بیشتری در خصوص تأثیر مداخله تمرینات مختلف و بررسی دیگر عوامل مؤثر بر میزان پروتئین های NF-kB و Wnt مانند فشارهای اکسایشی و شاخص های التهابی نیازمندیم.

هر چند در این مطالعه تغییری مبنی بر کاهش میزان پروتئین NF-kB در اثر مداخله تمرین HIIT در موش های صحرایی مبتلا به دیابت ایجاد نشد اما این قرارداد تمرینی به طور قوی توانست وزن و سطح گلوکز خون را تعدیل نماید و میزان پروتئین Wnt را به صورت معناداری کاهش دهد که در نهایت می توان اظهار داشت که استفاده از این شیوه تمرینی به عنوان بخشی از برنامه کنترل پزشکی مبتلایان به دیابت نوع دو می تواند به عنوان راهکار غیر دارویی امیدوارکننده باشد. هر چند که برای اطمینان قطعا نیاز به ادامه پژوهش همه جانبه در این خصوص الزامی است.

#### حامی / حامیان مالی

این مطالعه با استفاده از اعتبار پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به شماره SCU.SS1400.266 انجام گرفته است.

#### مشارکت نویسندگان

در این پژوهش آقای محمد رمی در بخش های انتخاب موضوع، تنظیم روش کار و اجرای کار حیوانی، انجام روش وسترن بلات برای ارزیابی محتوای پروتئین و آنالیز آن و نگارش مقاله؛ خانم مریم عظیم پور در تحقیق و جمع آوری منابع نظری، اجرای کار حیوانی و نگارش مقاله؛ و آقای کیوان خرمی پور در اجرای کار حیوانی، آنالیز آماری نتایج تحقیق و نگارش مقاله مشارکت داشتند. تمامی

نشان دادند که فعالیت بدنی در شدت های مختلف سبب مهار و کاهش بیان پروتئین Wnt در موش های صحرایی دیابتی می شود (۱). آن ها در مطالعه خود بیان کردند که غیرفعال شدن مسیر پیام رسانی Wnt باعث کاهش سنتز چربی، بهبود سوخت و ساز لیپید، افزایش جذب و استفاده از گلوکز و جلوگیری از آتروفی عضلانی و در نهایت بهبود حساسیت به انسولین می شود (۱). در پژوهش حاضر بر خلاف کاهش Wnt ناشی از مداخله تمرین، پروتئین NF-kB نسبت به گروه دیابت + کنترل در اثر تمرین تغییر معناداری نیافت. هر چند نتایج مطالعات نشان داده است که پروتئین NF-kB و مسیر پیام رسانی Wnt نقش مهمی را در پاتوژنز کاردیومیوپاتی دیابتی ایفا می کنند و مهار NF-kB و Wnt می تواند هیپرتروفی پاتولوژیک و فیبروز میوکارد را کاهش دهد (۸)، از سویی دیگر، عواملی مانند شاخص های فشار اکسایشی تأثیر مستقیمی بر فعالیت NF-kB دارند و این احتمال وجود دارد که شدت بالای تمرینات HIIT خود عامل مهمی در جهت ایجاد عدم تعادل دستگاه دفاع ضد اکسایشی شده و موجب ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب های سلولی گردد (۳۷). در این راستا تحقیقات نشان داده اند تمرینات HIIT ممکن است به علت مصرف بیش از حد اکسیژن و همچنین متابولیسم بی هوازی زیاد، خود منجر به تولید RNS و NADPH اکسیداز که یک آنزیم مسئول تولید ROS در عروق است و سبب ری پرفیوژن ایسکیمیک و تغییرات هومئوستاز کلسیم (۳۷) گردد که احتمالاً این ویژگی تمرینی HIIT خود منجر به بالا نگه داشتن سطح پروتئین NF-kB گردیده است. بنابراین، ممکن است عوامل دیگری نیز بر بیان و رونویسی و جابه جایی NF-kB تأثیرگذار بوده که در این پژوهش فعال نشده و منجر به تغییر NF-kB در اثر تمرین در موش های صحرایی دیابتی نگردیده است. به عنوان نمونه، لیو و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در بررسی اثرات فعالیت ورزشی بر پیام رسانی پروتئین NF-kB بیان کردند که فعالیت بدنی با شدت متوسط بر فعالیت NF-kB و FOXO3a در موش های صحرایی دیابتی مؤثر است و سبب مهار آتروفی عضلانی و سرکوب NF-kB می شود (۳۸)، این در صورتی است که هالووی و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مطالعه خود بیان کردند که محتوای پروتئین FOXO3 پس از تمرینات HIIT تغییر معناداری را در عضله قلب موش های صحرایی نشان

8. Liu J-j, Shentu L-m, Ma N, Wang L-y, Zhang G-m, Sun Y, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B and Wnt/ $\beta$ -catenin/GSK3 $\beta$  signaling pathways ameliorates cardiomyocyte hypertrophy and fibrosis in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetic rats. *Current Medical Science*. 2020;40(1):35-47.
9. Zheng X, Zhu S, Chang S, Cao Y, Dong J, Li J, et al. Protective effects of chronic resveratrol treatment on vascular inflammatory injury in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats: Role of NF-kappa B signaling. *European Journal of Pharmacology*. 2013;720(1-3):147-57.
10. Mong M-c, Yin M-c. Nuclear factor  $\kappa$ B-dependent anti-inflammatory effects of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine in kidney of diabetic mice. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(12):3158-65.
11. Halder SK, Sharan C, Al-Hendy A. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 treatment shrinks uterine leiomyoma tumors in the Eker rat model. *Biology of reproduction*. 2012;86(4):116, 1-10.
12. Bagul PK, Deepthi N, Sultana R, Banerjee SK. Resveratrol ameliorates cardiac oxidative stress in diabetes through deacetylation of NF $\kappa$ B-p65 and histone 3. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2015;26(11):1298-307.
13. Yang Y, Lv J, Jiang S, Ma Z, Wang D, Hu W, et al. The emerging role of Toll-like receptor 4 in myocardial inflammation. *Cell death & disease*. 2016;7(5):e2234-e.
14. Elçioğlu HK, Kabasakal L, Özkan N, Çelikel Ç, Ayanoglu-Dülger G. A study comparing the effects of rosiglitazone and/or insulin treatments on streptozotocin induced diabetic (type I diabetes) rat aorta and cavernous tissues. *European journal of pharmacology*. 2011;660(2-3):476-84.
15. Dawson K, Aflaki M, Nattel S. Role of the Wnt-Frizzled system in cardiac pathophysiology: a rapidly developing, poorly understood area with enormous potential. *The Journal of physiology*. 2013;591(6):1409-32.
16. Liu X, Chen D, Wu Z, Li J, Li J, Zhao H, et al. Ghrelin inhibits high glucose-induced 16HBE cells apoptosis by regulating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2016;477(4):902-7.
17. Zhang M, Ye M. Hydrogen sulfide attenuates high glucose-induced myocardial injury in rat cardiomyocytes by suppressing wnt/beta-catenin pathway. *Current Medical Science*. 2019;39(6):938-46.
18. Chong Z, Maiese K. Targeting WNT, protein kinase B, and mitochondrial membrane integrity to foster cellular survival in the nervous system. *Histology and histopathology*. 2004;19(2):495.
19. Schmederer Z, Rolim N, Bowen TS, Linke A, Wisloff U, Adams V, et al. Endothelial function is disturbed in a hypertensive diabetic animal model. نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

### تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری و پشتیبانی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی و همچنین آزمایشگاه سلولی و مولکولی بخش علوم پایه دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدر دانی می‌شود.

### منابع

1. Yang Q, Wang W-w, Ma P, Ma Z-x, Hao M, Adelus TI. Swimming training alleviated insulin resistance through Wnt3a/ $\beta$ -catenin signaling in type 2 diabetic rats. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2017;20(11):1220.
2. Amrolahi Z, Avandi SM, Khaledi N. The effect of six weeks' progressive resistance training on hippocampus BDNF gene expression and serum changes of TNF- $\alpha$  in diabetic wistar rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022:1-10.
3. Zhang Z, Zhang D, Dou M, Li Z, Zhang J, Zhao X. Dendrobium officinale Kimura et Migo attenuates diabetic cardiomyopathy through inhibiting oxidative stress, inflammation and fibrosis in streptozotocin-induced mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:1350-8.
4. Shadmehri 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.
5. Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: role of oxidative stress and damage. *Journal of diabetes investigation*. 2014;5(6):623-34.
6. Wan A, Rodrigues B. Endothelial cell-cardiomyocyte crosstalk in diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular research*. 2016;111(3):172-83.
7. Rajesh M, Mukhopadhyay P, Batakai S, Patel V, Saito K, Matsumoto S, et al. Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, and inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010;56(25):2115-25.

- mice. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(1):514-21.
31. Martinez A, Cañero A, Dorronsoro I, Alonso M. Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors as new promising drugs for diabetes, neurodegeneration, cancer, and inflammation. *Medicinal research reviews*. 2002;22(4):373-84.
  32. Hie M, Iitsuka N, Otsuka T, Tsukamoto I. Insulin-dependent diabetes mellitus decreases osteoblastogenesis associated with the inhibition of Wnt signaling through increased expression of *Sost* and *Dkk1* and inhibition of Akt activation. *International journal of molecular medicine*. 2011;28(3):455-62.
  33. Saraswati S, Alfaro MP, Thorne CA, Atkinson J, Lee E, Young PP. Pyrvinium, a potent small molecule Wnt inhibitor, promotes wound repair and post-MI cardiac remodeling. *PloS one*. 2010;5(11):e15521.
  34. Xi X-H, Wang Y, Li J, Wang F-W, Tian G-H, Yin M-S, et al. Activation of Wnt/ $\beta$ -catenin/GSK3 $\beta$  signaling during the development of diabetic cardiomyopathy. *Cardiovascular Pathology*. 2015;24(3):179-86.
  35. Hu Y, Gu X, Li R, Luo Q, Xu Y. Glycogen synthase kinase-3 $\beta$  inhibition induces nuclear factor- $\kappa$ B-mediated apoptosis in pediatric acute lymphocyte leukemia cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2010;29(1):1-8.
  36. Fayaz E, Damirchi A, Zebardast N, Babaei P. Cinnamon extract combined with high-intensity endurance training alleviates metabolic syndrome via non-canonical WNT signaling. *Nutrition*. 2019;65:173-8.
  37. Wang L, Lavier J, Hua W, Wang Y, Gong L, Wei H, et al. High-intensity interval training and moderate-intensity continuous training attenuate oxidative damage and promote myokine response in the skeletal muscle of ApoE KO mice on high-fat diet. *Antioxidants*. 2021;10(7):992.
  38. Liu H-W, Chang S-J. Moderate exercise suppresses NF- $\kappa$ B signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1 $\alpha$  axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in physiology*. 2018;9:636.
  39. Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. *PloS one*. 2015;10(3):e0121138.
  40. Ma JK, Scribbans TD, Edgett BA, Boyd JC, Simpson CA, Little JP, et al. Extremely low-volume, high-intensity interval training improves exercise capacity and increases mitochondrial protein content in human skeletal muscle. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology*. 2013;2013.
  - of HFpEF: moderate continuous vs. high intensity interval training. *International journal of cardiology*. 2018;273:147-54.
  20. Khakdan S, Delfan M, Heydarpour Meymeh M, Kazerouni F, Ghaedi H, Shanaki M, et al. High-intensity interval training (HIIT) effectively enhances heart function via miR-195 dependent cardiomyopathy reduction in high-fat high-fructose diet-induced diabetic rats. *Archives of physiology and biochemistry*. 2020;126(3):250-7.
  21. Beavers KM, Brinkley TE, Nicklas BJ. Effect of exercise training on chronic inflammation. *Clinica chimica acta*. 2010;411(11-12):785-93.
  22. Khademi Y, Azarbayjani M, Hosseini H. Simultaneous effect of high-intensity interval training (HIIT) and consumption of flaxseed on serum levels of TNF- $\alpha$  and IL1 $\beta$  in rats. *The Horizon of Medical Sciences*. 2017;23(4):257-63.
  23. 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. *International journal of sports medicine*. 2016;37(09):723-9.
  24. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. *Journal of applied physiology*. 2011;111(6):1554-60.
  25. Hansen D, Dendale P, Jonkers R, Beelen M, Manders R, Corluy L, et al. Continuous low-to moderate-intensity exercise training is as effective as moderate-to high-intensity exercise training at lowering blood HbA1c in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia*. 2009;52(9):1789-97.
  26. Kukulski F, Lévesque SA, Sévigny J. Impact of ectoenzymes on p2 and p1 receptor signaling. *Advances in pharmacology*. 2011;61:263-99.
  27. Calegari L, Nunes RB, Mozzaquattro BB, Rosato DD, Dal Lago P. Exercise training improves the IL-10/TNF- $\alpha$  cytokine balance in the gastrocnemius of rats with heart failure. *Brazilian journal of physical therapy*. 2018;22(2):154-60.
  28. Sugimoto K, Rashid IB, Shoji M, Suda T, Yasujima M. Early changes in insulin receptor signaling and pain sensation in streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats. *The Journal of pain*. 2008;9(3):237-45.
  29. Ramezani N, Vanaky B, Shakeri N, Soltanian Z, Fakhari Rad F, Shams Z. Evaluation of Bcl-2 and Bax Expression in the Heart of Diabetic Rats after Four Weeks of High Intensity Interval Training. *Medical Laboratory Journal*. 2019;13(1):15-20.
  30. Tsai S-J, Huang C-S, Mong M-C, Kam W-Y, Huang H-Y, Yin M-C. Anti-inflammatory and antifibrotic effects of naringenin in diabetic