

## Original Article

### The effect of high intensity interval training on SIRT1 and PGC1- $\alpha$ gene expression in soleus muscle of type 2 diabetes in male rats

Mahsa Mohsenzadeh<sup>1\*</sup>, Fariba Aghaei<sup>1</sup>, Farah Nameni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Exercises Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University Karaj Branch, Alborz, Iran

<sup>2</sup>Department of Exercises Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University Varamin Branch, Tehran, Iran

\*Corresponding author: E-mail: m.mohsenzadeh@kiau.ac.ir

Received: 29 October 2018      Accepted: 20 February 2019      First Published online: 28 Oct 2020  
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(4):447-455

#### Abstract

**Background:** High expression of SIRT1 genes increases the expression of PGC1- $\alpha$ , which stimulates expression of GLUT4 glucose carrier in skeletal muscle. The aim of the present study was to investigate the effect of 8-week of HIIT training on the expression of SIRT1 and PGC1- $\alpha$  in male rats with type 2 diabetes.

**Methods:** The research method was experimental. sixty male Wistar rats, with average weight of  $250 \pm 20$  g, after induction of diabetes by injection of Nicotinic Amide- Streptozotocin, were randomly divided into 5 groups: Base-line control (n=12), HIIT Control (n=12), HIIT (n=12), Diabetic Control (n=12), HIIT Diabetic (n=12). The training groups performed the HIIT on a treadmill for 8-week and 5 days a week, which speeded from 16 meters per minute to the end of the eighth week to 38 meters per minute. Twenty four hours after the last training session, the rats were anesthetized. Then, soleus muscle tissue was immediately extracted, and the level of SIRT1 and PGC1- $\alpha$  gene expression was measured by Real Time-PCR and scale ( $2^{-\Delta\Delta Ct} \times 10^3$ ).

**Results:** Statistical analysis of two-way ANOVA showed that the mean PGC1- $\alpha$  and SIRT1 indices were significantly different between the two control groups and the untrained diabetic group. Also, HIIT exercise had a significant effect on PGC1- $\alpha$  and SIRT1 genes ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** HIIT exercises lead to increased expression of GLUT4 and, consequently, insulin sensitivity. So, diabetic patients seem to have improved their health and muscle levels by employing HIIT training for at least 8-week in order to increase SIRT1 and PGC1- $\alpha$ .

**Keywords:** High intensity interval training, Gene expression, Sirtuin 1, PGC 1-alpha, Diabetes mellitus type 2

**How to cite this article:** Mohsenzadeh M, Aghaei F, Nameni F. [The effect of high intensity interval training on SIRT1 and PGC1- $\alpha$  gene expression in soleus muscle of type 2 diabetes in male rats]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020; 42(4):447-455. Persian.

## مقاله پژوهشی

# تاثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$ و SIRT1 عضله نعلی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو

مهسا محسن زاده<sup>۱\*</sup>، فریبا آقایی<sup>۱</sup>، فرح نامنی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، البرز، ایران  
<sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا، تهران، ایران  
\* نویسنده مسوول: ایمیل: m.mohsenzadeh@kiaou.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۶/۶ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۸/۷  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۴۵۵-۴۴۷:(۴)۴۲:۱۳۹۹

## چکیده

**زمینه:** افزایش بیان ژن SIRT1، سبب افزایش بیان PGC1- $\alpha$  می‌شود که بیان ناقل گلوکز GLUT4 در عضله اسکلتی را تحریک می‌کند. هدف، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین HIIT بر بیان ژن‌های PGC1- $\alpha$  و SIRT1 عضله نعلی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.  
**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن  $250 \pm 20$  گرم، پس از القا دیابت به وسیله تزریق نیکوتین آمید استریپتوزوسین، به شکل تصادفی به ۵ گروه و در هر گروه ۱۲ سر شامل گروه‌های کنترل پایه، سالم بدون تمرین، سالم با تمرین، دیابت بدون تمرین، دیابت با تمرین، تقسیم شدند. گروه تجربی، تمرینات HIIT را به مدت ۸ هفته و ۵ روز در هفته با دوییدن بر روی تردمیل اجرا کردند که از سرعت ۱۶ به ۳۸ متر بر دقیقه در هفته هشتم رسید. ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های صحرایی به وسیله تزریق درون صفاقی کانامین و زایلازین بیهوش شدند و بافت عضله نعلی بلافاصله استخراج و میزان بیان ژن PGC1- $\alpha$  و SIRT1 با تکنیک Real time-PCR و با مقیاس  $(2^{-\Delta\Delta Ct} \times 10^3)$  سنجیده شد.  
**یافته‌ها:** نشان داد میانگین شاخص PGC1- $\alpha$  و SIRT1 در بین دو گروه کنترل پایه و گروه دیابتی بدون تمرین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند. همچنین تمرین HIIT اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های PGC1- $\alpha$  و SIRT1 دارد.  
**نتیجه‌گیری:** تمرین HIIT منجر به افزایش بیان PGC1- $\alpha$  و SIRT1 می‌گردد در نتیجه سبب افزایش بیان GLUT4 و حساسیت انسولینی می‌شود که در بهبود افراد مبتلا به دیابت نوع دو موثر است.

**کلید واژه‌ها:** تمرین تناوبی شدید، بیان ژن، Sirtuin 1 و Pgc 1-alpha، دیابت نوع دو

نحوه استناد به این مقاله: محسن زاده م، آقایی ف، نامنی ف. تاثیر یک دوره تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و SIRT1 عضله نعلی در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۴۵۵-۴۴۷:(۴)۴۲:۱۳۹۹

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

دیابت تغییرات عمده‌ای در اغلب سیستم‌های بدن ایجاد می‌کند و سبب بروز عوارض فوری یا دیررس بیماری می‌شود. این بیماری به عوارضی مثل عوارض قلبی عروقی، نفروپاتی، پرفشاری خون، رتینوپاتی، نوروپاتی و دیگر عوارض مثل عفونت‌هایی که در حین بیماری ایجاد می‌شوند، منجر می‌گردد (۱). دو ژن سیرتوئین ۱ (Sirtuin, SIRT1) و پروتئین سرچنگالی (Fork head box protein, FOXO1) نقش عمده‌ای در متابولیسم بدن، مصرف گلوکز، متابولیسم لیپیدها، مقاومت به انسولین، پاسخ به کالری محدود و مصرف مواد غذایی دارند (۲). سیرتوئین ۱ یک پروتئین داستیله کننده وابسته به نیکوتین آمید آدنوزین دی نوکلئوتید (NAD/NADH) می‌باشد که متابولیسم گلوکز/چربی را از طریق فعالیت دی استیلازی خود بر بسیاری از سوبستراها تنظیم می‌کند و در سلول‌های بتا پانکراس با تاثیر مثبت بر ترشح انسولین، سلول‌ها را از استرس اکسیداتیو و التهاب محافظت می‌نماید و در سیگنالینگ انسولین در سلول‌های چربی و عضله نقش مهمی را بر عهده دارد (۳). همچنین در کارکرد و سنتز زیستی میتوکندری و بهبود متابولیسم هوازی درگیر است. بنابراین سرکوب سیرتوئین-۱ موجب ایجاد التهاب سیستمیک، افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش سوخت و ساز هوازی می‌شود (۴). سیرتوئین-۱ از طریق سرکوب کردن گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسی زوم گاما (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- $\gamma$ ) و داستیله کردن و فعال کردن گیرنده فعال شده تکثیری پروکسی زومی (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator1, PGC1- $\alpha$ ) باعث افزایش تولید میتوکندری‌ها و در نهایت افزایش سرعت متابولیسم بدن می‌شود (۵). از طرفی عملکرد میتوکندری فراتر از مرزهای سلول است و با تنظیم ارتباط بین سلول‌ها و بافت‌ها، بر فیزیولوژی موجود زنده اثر می‌گذارد. بنابراین اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها، عامل اساسی در بروز بسیاری از بیماری‌ها مثل دیابت و بیماری‌های نورودژنراتیو است. تعادل بیوزن و میتوفاژی میتوکندری‌ها برای تنظیم و تعدیل فرآیندهایی همچون متابولیسم سلول و تولید انرژی، سیگنالینگ کلسیم، تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (Reactive oxygen species, ROS)، آپوپتوز و روند پیری امری حیاتی است. سلول‌ها به واسطه تغییر در این اندامک که سازش‌پذیری مورفولوژیک و عملکردی بسیار بالایی دارد، به تغییرات فیزیولوژیک، متابولیک و پاتولوژیک پاسخ می‌دهد. بدن در شرایط فیزیولوژیک گوناگونی دستخوش بیوزن میتوکندری می‌شود از جمله این شرایط می‌توان به افزایش توانمندی عضلات اسکلتی در پی انجام تمرینات ورزشی و پاسخ‌دهی نرمال بافت به هورمون‌های تیروئیدی اشاره کرد (۶). PGC-1 $\alpha$  نقش محوری در بیوزن میتوکندری دارد و تنظیم‌کننده اصلی محسوب می‌شود.

PGC-1 $\alpha$  از طریق فعال کردن فاکتورهای رونویسی ویژه‌ای به نام‌های فاکتورهای تنفسی هسته‌ای ۱ و ۲ (Nuclear NRF1&2) Respiratory Factor 1&2، نقش خود را ایفا می‌کند. این عوامل رونویسی سبب افزایش بیان ژن‌های میتوکندریایی کد شونده توسط هسته و نیز افزایش بیان فاکتور رونویسی میتوکندری A (Mitochondrial transcription factor, A mtTFA) می‌گردند (۷). SIRT1 طیف وسیعی از تنظیم کننده‌های متابولیسمی از جمله PGC-1 $\alpha$  را داستیله و فعال نموده و در پی آن سبب القای بیوزن میتوکندری می‌شود. در افرادی که از کاهش حساسیت به انسولین رنج می‌برند، بیان SIRT1 کاهش می‌یابد. بیش بیانی سیرتوئین ۱ با بهبود حساسیت انسولینی همراه است (۸). بنابراین پیشنهاد گردیده است که فعال کردن سیرتوئین ۱ احتمالاً یک روش جدید برای پیشگیری و درمان دیابت نوع دو است که با بهبود هموستاز گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین مرتبط می‌باشد (۹). به هر حال، علی‌رغم اهمیت نقش فیزیولوژیک سیرتوئین ۱ در افراد دیابتی، پاسخ این پروتئین به فعالیت بدنی در این بیماران روشن نیست. داشتن اثرات مختلف فعالیت‌های ورزشی بر پروتئین‌های تنظیمی در کتول گلوکز و بیوزن میتوکندریایی ممکن است به بهبود راهکارهای پیشگیرانه و درمانی افراد دیابتی کمک نماید. با توجه به گوناگونی تمرینات ورزشی از نظر ساختار و روش اجرا، تمرینات تناوبی با شدت بالا (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 (۶). بر اساس نتایج مطالعات Tang و همکاران یک جلسه اجرای HIIT موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن PGC1- $\alpha$  در مردان جوان شد (۱۰). Ikeda و همکاران گزارش کردند در اثر هشت هفته تمرین اختیاری موش‌های صحرایی روی نوار گردان، تغییری در میزان بیان ژن PGC1- $\alpha$  مشاهده نشد (۱۱). Burgomaster و همکاران بیان داشتند اجرای ۶ هفته تمرینات HIIT و استقامتی سنتی موجب سازگاری‌های متابولیک و افزایش PGC1- $\alpha$  می‌شود (۱۲). تمرینات HIIT به دلیل تنوع در فازهای تمرینی بیشینه و زیربیشینه احتمالاً می‌تواند فشار وارد به تارهای تند و کند را با هم و به یک اندازه و در زمان تمرینی کوتاه‌تر اعمال کند، اما این موضوع در مورد بیوزن میتوکندریایی در بیماران مبتلا به دیابت تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین پژوهش حاضر در نظر دارد اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید را بر بیان ژن SIRT-1 و PGC1- $\alpha$  در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو بررسی کند.

## روش کار

روش تحقیق حاضر تجربی و طرح تحقیق پیش آزمون پس آزمون با گروه کنترل بود. تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد

هشتم (آخر) به ۱۲ تناوب با سرعت ۳۸ متر بر دقیقه و استراحت فعال ۱۴ متر بر دقیقه رسید (۱۵). ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی به وسیله ترکیبی از داروی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، بلافاصله عضله نعلی از اندام تحتانی استخراج و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد. سپس بافت استخراج شده در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان آزمایش در فریزر ۸۰ درجه سانتیگراد نگه‌داری شد. در مرحله آماده‌سازی نمونه‌های بافتی، ابتدا نمونه‌ها از حالت فریزر خارج شدند و مدتی در دمای اتاق قرار گرفتند، سپس نمونه‌ها وزن شده و مقدار ۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه در میکروتیوپ قرار داده شدند (۱۶). استخراج اسید ریبونوکلئیک (RNA) با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم عضله نعلی انجام گرفت. بافت مورد نظر با استفاده از یک میلی‌لیتر محلول تریزول لیز شده و با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد. سپس جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفرم صورت گرفت. فرآیند ترسیب RNA با استفاده از ۱ حجم ایزوپروپانل سرد انجام پذیرفت و به دنبال آن فرآیند شستشو با افزودن ۱ میلی‌لیتر اتانل ۷۵ درصد انجام گردید و در نهایت رسوب حاصل در دمای اتاق خشک شد و به آن ۵۰ میکرولیتر آب استریل RNAS-FREE اضافه گردید. برای سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ استفاده شد. بهترین میزان جذب در OD 260/280 بین ۱/۸ تا ۲ در نظر گرفته شد. در مرحله بعد از RNA استخراجی محصول DNA مکمل (DNA) ساخته شد (۱۷). ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده با ۱ میکرولیتر رندوم هگزامر به هر نمونه اضافه و ۱ میکرولیتر dNTPs به هر میکروتیوپ اضافه شد. به هر میکروتیوپ به مقدار ۲ میکرولیتر آب Nuclease free اضافه تا حجم نهایی به ۱۴ میکرولیتر رسانده شد. میکروتیوپ حاوی محلول بالا به مدت ۵ دقیقه در دمای 65°C قرار داده شد تا ساختارهای ثانویه از بین برود. به ازای هر نمونه، میکرولیتر ۲ از بافر 10x، میکرولیتر ۲ از (MDTT، ۱)، میکرولیتر ۱ آنزیم نسخه بردار معکوس و میکرولیتر ۱ از (RNase inhibitor) اضافه و بلافاصله میکروتیوپ‌ها را به مدت ۱ دقیقه روی یخ قرار می‌دهیم. به هر میکروتیوپ به میزان میکرولیتر ۶ از مخلوط تهیه گردیده اضافه و با انجام یک میکروسانتز فیوژ کوتاه آن‌ها با یکدیگر مخلوط شدند. نمونه‌ها داخل دستگاه ترموسایکلر قرار داده و زمان‌بندی شامل: ۲۵ درجه سانتیگراد در ۵ دقیقه، ۵۵ درجه سانتیگراد ۶۰ دقیقه و ۸۵ درجه سانتیگراد در ۵ دقیقه اجرا شد. پس از اتمام کار نمونه‌ها به دمای 20°C منتقل شدند. پروتکل cDNA سازی مربوط به شرکت Gene All کره می‌باشد (۱۳). فرآیند Real Time به صورت دو مرحله‌ای انجام شد. مرحله سنتز cDNA با استفاده از کیت HyperScript شرکت GeneAll کره بر طبق پروتکل ذکر

ویستار با ۸ هفته سن و با محدوده وزنی  $20 \pm 25$  از انستیتو تحقیقاتی دانشگاه بقیه‌الله از میان تعداد زیادی از موش‌های صحرایی نر به طور تصادفی انتخاب و سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی منتقل شدند. موش‌های صحرایی مذکور در آزمایشگاه پژوهش با درجه حرارت ۲۰-۲۳ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت و در رطوبت نسبی ۵۰ درصد و هر سه سر موش صحرایی در یک قفس پرورشی نگهداری شدند و همگی به شکل آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. القای دیابت نوع دو توسط تزریق درون صفاقی نیکوتین آمیداستریتوزوسین محلول در بافر سترات با  $PH=4/5$  انجام گرفت. به طوری که ابتدا نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن و پس از ۱۵ دقیقه استریتوزوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد (۱۳). ۹۶ ساعت پس از تزریق، جهت اطمینان از ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، پس از ۱۲ ساعت ناشتایی بطوری که فقط آب در دسترس آن‌ها بود، قطره‌ای خون از ورید دم با ایجاد برشی کوچک اخذ و با قرار دادن قطره خون روی نوار گلوکومتر صفر-یک (با دقت ۰/۹۹٪) میزان قندخون اندازه‌گیری شد و سطوح گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۴). موش‌های صحرایی دیابتی هیچ‌گونه درمان با انسولین در طول دوره پژوهش نداشتند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه یک هفته زمان جهت آماده‌سازی و سازگاری آن‌ها به تمرین تنظیم شد، در طول این ۲ هفته حیوانات ۲ روز در هفته با سرعت ۱۵ و ۲۵ متر بر دقیقه با دویدن روی تردمیل آشنا شدند. پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، روند دیابتی شدن صورت گرفت. ۹۶ ساعت پس از القاء دیابت موش‌های صحرایی به طور تصادفی به ۵ گروه و در هر گروه ۱۲ سر: (گروه کنترل پایه، سالم بدون تمرین) سالم با تمرین، دیابتی بدون تمرین، و دیابتی با تمرین تقسیم شدند. همچنین ۵ سر از آن‌ها به عنوان گروه آزمایشی برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن روی نوارگردان (که معادل با حداکثر اکسیژن مصرفی ( $VO_{2max}$ ) حیوان در نظر گرفته شد انتخاب شدند. برای برآورد حداکثر سرعت دویدن آزمون عملکرد ورزشی مدرج با شیب صفر درجه اجرا شد، که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و به ازای هر ۱ دقیقه ۱ متر بر سرعت تردمیل افزوده می‌شد تا زمانی که موش صحرایی‌ها دیگر قادر به دویدن نباشند (واماندگی) که این سرعت معادل با سرعت رسیدن به  $VO_{2max}$  در نظر گرفته شده و شدت تمرین بر اساس آن کنترل می‌شد. پس از برآورد حداکثر سرعت، گروه تمرینی HIIT ۵ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته به فعالیت بروی نوارگردان پرداختند. پروتکل HIIT شامل ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۸ متر بر دقیقه، سپس تمرین هفته اول با ۶ تناوب ۲ دقیقه‌ای با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه و دوره‌های استراحتی فعال ۱ دقیقه‌ای ۱۰ متر بر دقیقه، که در هفته

توصیفی استفاده شد. بررسی فرض نرمالیتی داده‌های بیان ژن‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک، انجام شد. همچنین به منظور بررسی میزان اثر تمرین HIIT بر بیان ژن SIRT1 و PGC1- $\alpha$  از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده گردید و از آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه گروه کنترل پایه و دیگر گروه‌ها استفاده شد. برای مقایسه بین گروه دیابتی HIIT با دیگر گروه‌ها به تفکیک از آزمون تی مستقل در حالت پارامتریک و از آزمون من ویتنی در حالت ناپارامتریک استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ در سطح معنی‌داری آلفای ۰/۰۵ انجام گرفت.

### یافته‌ها

آمار توصیفی مربوط به شاخص PGC1- $\alpha$  در جدول ۱ و شاخص SIRT1 را در جدول ۲ در موش‌های صحرایی مورد آزمایش نشان می‌دهد. یافته‌های پژوهش حاضر با تحلیل ANOVA در جدول ۳ نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT موجب افزایش معنادار میانگین بیان ژن PGC1- $\alpha$  و SIRT1 در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل شد ( $p=0/000$ ).

شده انجام گردید. مرحله تکثیر نیز با استفاده از مستر آماده سایبرگرین متعلق به شرکت AMPLIQON با نام تجاری RealQ Plus 2x Master Mix Green انجام گردیده است. این مستر Hot Start بوده و برای انجام مرحله تکثیر، تنها به مستر پرایمر، آب و DNA الگو (cdNA) اضافه شد. پروتکل دمایی نیز شامل یک چرخه ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد (فعال‌سازی آنزیم TEMPase hot start) و به دنبال آن ۲۵-۳۵ چرخه ۱۵-۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد (واسرشت اولیه) و ۶۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد (ثبت انعکاس نور فلوروسنت در طول مراحل اتصال پرایمر و گسترش) و انتخاب دمای مناسب بر اساس دمای اتصال پرایمرها انجام شد (۱۸). برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر، از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  استفاده شد. برای تحلیل داده‌های بیان ژن SIRT1 و PGC1- $\alpha$  از پروتکل استاندارد لیواک و با مقیاس  $(10^3 \times 2^{-\Delta\Delta Ct})$  استفاده شد. داده‌های بیان ژن بر اساس ژن خانه‌دار (کنترل داخلی) نرمالایز شدند و سپس با استفاده از آزمون‌های پارامتریک داده‌های بیان ژن پرت (دور افتاده) تعدیل و نرمال‌سازی صورت گرفت (۲۸). جهت نشان دادن شاخص‌های گرایش مرکزی و شاخص‌های پراکندگی از آمار

جدول ۱: آمار توصیفی مربوط به شاخص PGC1- $\alpha$  موش‌های صحرایی مورد آزمایش

۹۵٪ سطح اطمینان		خطای استاندارد	انحراف معیار	میانگین	تعداد	PGC1- $\alpha$
پایین‌ترین	بالا‌ترین					
۰/۷۶۷۱	۱/۴۶۸۴	۰/۱۵۹۳۲	۰/۵۵۱۹۰	۱/۱۱۷۸	۱۲	کنترل پایه
۰/۹۱۹۰	۱/۴۲۰۰	۰/۱۱۳۸۱	۰/۳۹۴۲۶	۱/۱۶۹۵	۱۲	کنترل ۸ هفته
۰/۰۴۹۹	۰/۱۴۷۱	۰/۰۲۳۲۲	۰/۰۸۰۴۵	۰/۰۹۶۰	۱۲	دیابت
۲/۲۱۶۹	۴/۵۱۵۱	۰/۵۲۲۰۹	۱/۸۰۸۵۸	۳/۳۶۶۰	۱۲	تمرین
۱/۵۶۷۳	۲/۱۶۸۴	۰/۱۳۶۵۶	۰/۴۷۳۰۶	۱/۸۶۷۸	۱۲	تمرین و دیابت
۱/۱۶۴۹	۱/۸۸۲۰	۰/۱۷۹۱۹	۱/۳۸۸۰۰	۱/۵۲۳۴	۶۰	مجموع

جدول ۲: آمار توصیفی مربوط به شاخص SIRT1 موش‌های صحرایی مورد آزمایش

۹۵٪ سطح اطمینان		خطای استاندارد	انحراف معیار	میانگین	تعداد	SIRT1
پایین‌ترین	بالا‌ترین					
۰/۷۴۶۹	۱/۸۲۴۳	۰/۲۴۴۷۶	۰/۸۴۷۸۸	۱/۲۸۵۶	۱۲	کنترل پایه
۰/۱۷۱۵	۱/۶۶۸۴	۰/۱۱۲۸۸	۰/۳۹۱۰۴	۱/۴۱۹۹	۱۲	کنترل ۸ هفته
۰/۲۶۱۲	۱/۰۴۰۶	۰/۱۷۷۰۵	۰/۶۱۳۳۳	۰/۶۵۰۹	۱۲	دیابت
۲/۶۹۶۷	۴/۱۵۴۴	۰/۳۳۱۱۵	۱/۱۴۷۱۳	۳/۴۲۵۵	۱۲	تمرین
۰/۴۱۷۶	۰/۹۷۲۹	۰/۱۲۶۱۴	۰/۴۳۶۹۶	۰/۶۹۵۳	۱۲	تمرین و دیابت
۱/۱۷۳۱	۱/۸۱۷۷	۰/۱۶۱۰۷	۱/۲۴۷۶۸	۱/۴۹۵۴	۶۰	مجموع

جدول ۳: تحلیل آماری ANOVA برای اثر تمرین بر بیان ژن SIRT1 و PGC1- $\alpha$

معنی‌داری	آماره F	متوسط مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	مقادیر	
۰/۰۰۰	۲۲/۱۱۸	۱۷/۵۲۳	۴	۷۰/۰۹۳	بین گروهی	PGC1
		۰/۷۹۲	۵۵	۴۳/۵۷۴	درون گروهی	
			۵۹	۱۱۳/۶۶۶	مجموع	
۰/۰۰۰	۲۷/۹۲۵	۱۵/۳۸۶	۴	۶۱/۵۴۳	بین گروهی	SIRT1
		۰/۵۵۱	۵۵	۳۰/۳۰۳	درون گروهی	
			۵۹	۹۱/۸۴۶	مجموع	

معنی‌داری در سطح  $P < 0/05$

## بحث

هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین HIIT بر بیان ژن  $PGC1-\alpha$  و  $SIRT1$  در موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. یافته‌های پژوهش نشان داد بیان ژن  $PGC1-\alpha$  در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های Shabani و همکاران که تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شدید بر بیان ژن‌های  $PGC1-\alpha$  و  $vegf$  در عضله قلبی موش‌های نر سالم را سنجید، ناهمخوان بود (۱۹). از طرفی فتحي به بررسی تاثیر ۱۴ هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن  $PGC1-\alpha$  در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر پرداخت و نتیجه گرفت بیان ژن  $PGC1-\alpha$  در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۰). تمرینات ورزشی از مسیرهای سیگنالینگ مختلفی همچون آدنوزین مونوفوسفات کیناز، پیام‌رسان پروتئین کیناز فعال شده با میتوز و افزایش کلسیم منجر به افزایش بیان و نیز افزایش فعالیت  $PGC1-\alpha$  و در پی آن تغییر عملکرد عضله از نوع گلیکولیتیک به اکسیداتیو و در نتیجه افزایش استقامت عضلانی می‌گردد. در بیماران دیابتی نوع ۲ یا در افرادی که از نظر فیزیکی کم تحرک هستند، بیان  $PGC1-\alpha$  پایین‌تر از حد نرمال است. در عین حال در صورت پرخوری شاهد هایپرپلاریزاسیون غشای میتوکندری و سرریز الکترون و در نتیجه افزایش تولید ROS و افزایش آسیب میتوکندریایی خواهیم بود که این امر در سلول‌های  $\beta$  پانکراس موجب کاهش ترشح انسولین (دیابت ۱) و در عضله سبب کاهش  $\beta$  اکسیداسیون اسیدهای چرب خواهد شد. بنابراین با افزایش دی آسیل گلیسرول (DAG) و در پی آن فسفریلاسیون سوسترای گیرنده انسولین (IRS1)، مسیرهای پایین دست سیگنالینگ انسولین مهار می‌شود که سبب شکل‌گیری مقاومت به انسولین و دیابت ملیتوس نوع دو می‌گردد. پس یک استراتژی درمانی در بیماری دیابت نوع دو می‌تواند تحریک بیورژن میتوکندری باشد. در عضله اسکلتی، فرآیند بیورژن میتوکندریایی به  $PGC1-\alpha$  نیاز دارد و بدون وجود عامل یا غیرفعال کردن آن محتوای میتوکندریایی کاهش می‌یابد (۲۱). فعالیت بدنی،  $PGC1-\alpha$  را در عضله اسکلتی از طریق عواملی مثل نیتریک اکسید (NO)، ژن  $P38$  AMPK، کلسیم کالمودولین وابسته به کیناز (CaMK) و AMPK فعال می‌کند و در ادامه  $PGC1-\alpha$  از طریق افزایش مقادیر بیان عامل تنفس هسته‌ای (۲) (NRFs) و گیرنده استروژن آلفا ( $ERR-\alpha$ )، موجب افزایش بیان آنزیم‌های میتوکندریایی مثل سیکلواکسیژناز ۳ (COX3) و افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسایش کربوهیدرات و چربی می‌شود. همچنین در شرایط آزمایشگاهی افزایش بیان آن، موجب افزایش بیان ایزوفرم‌های اکسایشی و کاهش بیان ایزوفرم‌های زنجیره سنگین میوزین (MHC) و در نهایت تبدیل تار می‌شود (۲۲). Taylor و همکاران بیان کردند که

در عضله اسکلتی، بیان ژن  $PGC1-\alpha$  دو ساعت پس از فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد و تا ۶ ساعت در اوج می‌ماند و از طریق تمرینات استقامتی تداومی نیز، بیان آن پس از ۵۴ روز به سازگاری می‌رسد (۲۳). همچنین موتسنس و همکاران بیان داشتند یکی دیگر از تغییراتی که  $PGC1-\alpha$  انجام می‌دهد، افزایش بیان ناقل‌های گلوکز type 4, GLUT4 است که میزان مصرف گلوکز و تولید انرژی بیشتر در عضله را در پی دارد (۲۲). همچنین،  $PGC1-\alpha$  با افزایش بیان پیام پروتئین وابسته به سرکوب (TRB 3) موجب سرکوب پیام رسانی انسولین می‌گردد. Bruce و همکاران کاهش ظرفیت میتوکندریایی عضلات اسکلتی در مقاومت به انسولین بیماران دیابتی نوع دو را گزارش کردند و بیان داشتند با توجه به اینکه ظرفیت اکسایشی عضله یک فاکتور پیش‌بینی کننده حساسیت به انسولین محسوب می‌شود (۲۴)، احتمالاً افزایش سریع محتوی میتوکندری به دنبال تمرینات کوتاه مدت HIIT می‌تواند عامل مهمی در کاهش مقاومت به انسولین و بهبود کنترل قند خون باشد. همچنین یافته‌های پژوهش نشان داد بیان ژن  $SIRT1$  در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت. Nara و همکاران گزارش کردند در موش‌های مسن پس از ۸ هفته دویدن روی تردمیل میزان بیان سیرتوئین ۱ به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۴). به علاوه Casuso و همکاران نشان دادند که بعد از ۶ هفته تمرین ورزشی سطح سیرتوئین ۱ و بیورژن میتوکندری در موش‌های سالم افزایش می‌یابد (۲۵). شواهد بر این باورند که حین انقباضات عضلانی (ورزش) پروتئین کیناز وابسته به AMP ( $AMPK$ ) و نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز ( $NAMPT$ ) موجب افزایش سطح  $NAD^+$  درون سلولی می‌شود و افزایش  $NAD^+$  با تحریک و افزایش از طریق دی استیلاسیون گیرنده آلفا و گامای فعال شده توسط تکثیر کننده پروکسی زوم  $PGC1-\alpha$  موجب اکسیداسیون چربی، جذب گلوکز و بیورژن میتوکندریایی می‌شود (۱۴). Gurd و همکاران در مطالعه‌ای به چگونگی تنظیم-کنندگی سیرتوئین و مسیرهای متابولیکی طی یک تمرین تناوبی شدید در عضله اسکلتی انسان پرداخت (۲۶). تمرین HIIT شامل ۱۰ تکرار در شدتی معادل ۹۰ درصد اکسیژن مصرفی اوج با دوره‌های استراحتی دو دقیقه‌ای بین و هله‌ها همراه بود که برای سه روز در هفته به مدت شش هفته اجرا شد. نتایج حاکی از افزایش آنزیم‌های میتوکندریایی (سیترات سنتاز، زیر واحد IV سیتوکروم C اکسیداز و بتا هیدروکسی آسیل کوآ دهیدروژناز) و پروتئین  $PGC1-\alpha$  عضله اسکلتی بود. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که افزایش بیورژن میتوکندریایی ناشی از ورزش در عضله اسکلتی انسان با افزایش فعالیت  $SIRT1$  همراه است. از طرفی Marton و همکاران نشان دادند در موش‌های سالم ۳ ماهه تمرین ورزشی شنا

افزایشی آنزیم‌های ذکر شده و PGC1- $\alpha$  مکانیسم احتمالی بالا دستی است که می‌تواند سرکوبی بیشتر بیان ژن‌های FOXO3 و FOXO1 را توجیه کند (۲۹). لذا از محدودیت‌های پژوهش اخیر می‌توان به این نکات اشاره کرد که با توجه به نقش FOXO1,3 با اندازه‌گیری تغییرات این پروتئین‌ها تاثیرات آن بر عملکرد متابولیسم سلول را مورد بررسی قرار داد. از طرف دیگر به دلیل اینکه این پژوهش به منظور بررسی تاثیر فعالیت ورزشی جهت پیشگیری و کاهش اثرات مخرب ناشی از بروز بیماری دیابت بر موش‌های صحرایی انجام شد، پیشنهاد می‌شود تغییرات این فاکتورهای رونویسی همراه با مصرف برخی مکمل‌های موثر و ارزیابی چگونگی و میزان تاثیرات تعاملی فعالیت بدنی و مکمل تحت شرایط آزمایشگاهی بر بافت اندام‌های مختلف از جمله کبد، پانکراس و عضله اسکلتی موش‌های دیابتی مورد مطالعه قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد بیماران دیابتی با به کارگیری تمرین HIIT در مدت زمان حداقل ۸ هفته می‌توانند با افزایش بیان PGC1- $\alpha$  و SIRT1 سبب افزایش بیان GLUT4 و حساسیت انسولینی گردیده و میزان سطح سلامتی و عضلانی خود را ارتقا دهند.

### قدردانی

از کلیه افرادی که در طی انجام این تحقیق در آزمایشگاه بقیه ا. اعظم با اینجانب همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه شامل ملاحظات اخلاقی نمی‌باشد.

### منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارد.

### مشارکت مؤلفان

ف. آ. ف. ن. طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را بر عهده داشتند. م. م. همچنین مقاله را تألیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده است.

با ۷۰ درصد VO2max علی‌رغم بهبود وضعیت متابولیسمی آزمودنی‌ها تأثیری بر سطح سرمی سیرتوئین ۱ ندارد (۲۷). این تناقض میان نتایج مطالعات ممکن است به دلیل تفاوت در روش اجرا، نوع فعالیت ورزشی و طول دوره تمرین و وضعیت جسمانی آزمودنی‌ها باشد. در مجموع، شواهد همسو با تحقیق حاضر، بر این باورند که تمرینات منظم ورزشی منجر به افزایش سیرتوئین ۱ می‌گردد و احتمالاً بخشی از اثرات مثبت فعالیت بدنی بر شرایط متابولیسمی بدن از طریق این پروتئین اعمال می‌گردد. رویهم رفته مکانیزم‌های احتمالی برای اثرگذاری سودمند تمرینات ورزشی بر شاخص مقاومت به انسولین می‌تواند بدین قرار باشد: ۱- افزایش بیان انتقال‌دهنده نوع چهارم گلوکز (GLUT4) در غشای سلولی از طریق فعال کردن مسیر انتقال پیام‌های درون سلولی بعد از انقباضات ۲- افزایش فعالیت گیرنده‌های انسولین، گلیکوژن سنتتاز و پروتئین کیناز B ۳- فرا تنظیمی اجزای درگیر در آبشار سیگنالینگ انسولین (۲۸). SIRT1 به عنوان یک پروتئین تنظیم‌گر متابولیسم لیپیدها و قندها را تنظیم می‌کند که به صورت گسترده بیان می‌شود. ایفای نقش‌های متفاوت به وسیله SIRT1 از طریق داستیل‌کردن فاکتورهای FOXO, PPAR, PGC-1 $\alpha$  می‌گردد. این فاکتورها در بافت‌های مختلف دارای عملکردهای متفاوتی شامل: افزایش گلوکونئوز، آزاد سازی گلوکز از کبد، ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس، افزایش فعالیت میتوکندری‌ها، اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش فعالیت انسولین در سلول‌های عضله می‌باشد (۱۵،۲۳). از طرفی سیرتوئین‌ها حسگر شرایط کاهش و محدودیت مواد مغذی است و مسیرهای متابولیسمی را برای پاسخ به وضعیت انرژی کم تنظیم می‌کنند. مداخله درمانی (مانند فعال کننده‌های سیرتوئین) و فعالیت‌های ورزشی که باعث فعال‌سازی سیرتوئین می‌شوند، باید به عنوان یک درمان برای چاقی و بسیاری از بیماری‌های متابولیسمی مورد بررسی قرار گیرد (۲۰). در ارتباط با محدودیت پژوهش حاضر می‌توان به این موارد توجه داشت که نتایج اخیر، اثرات تمرینات ورزشی تناوبی شدید را بر برخی عوامل تأثیرگذار بر فرآیند بیوزن میتوکندری و افزایش متابولیسم سلولی نشان می‌دهند، اما جهت روشن‌تر شدن موضوع، لازم است مطالعات وسیع‌تری انجام شود. آشکار است که تمرینات ورزشی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و در نتیجه کاهش ROS می‌شود، از طرفی SIRT1 آنزیمی است که FOXO3 را استیل‌زدا می‌کند. استیل‌زدایی FOXO3 منجر به ایجاد اختلال در رونویسی و تنظیم پایین دست مرگ سلولی توسط فعالیت پروتئین‌های انتهایی می‌شود. بنابراین SIRT1 بقاء سلول را ارتقاء می‌دهد. تمرین تناوبی شدید با فعال‌سازی SIRT1 و کاهش ROS سبب افزایش بیان PGC1- $\alpha$  در عضله قلبی و اسکلتی و در نهایت بیوزن میتوکندری در عضلات قلبی و اسکلتی را تنظیم می‌کند. تنظیم

## References

- Kiadaliri AA, Najafi B, Mirmalek-Sani M. Quality of life in people with diabetes :a systematic review of studies in Iran. *J Diabetes Metab Disord* 2013;12(1):54. doi: 10.1186/2251-6581-12-54
- Sasaki T, Kitamura T. Roles of FoxO1 and Sirt1 in the central regulation of food intake. *Endocrine J* 2010;57(11):939-46. doi: 10.1507/endocrj.K10E-320
- Yu J, Auwerx J. The role of sirtuins in the control of metabolic homeostasis. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173(1):E10-E19. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04952.x
- Muller G. Microvesicles/exosomes as potential novel biomarkers of metabolic diseases. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2012;5:247-82. doi: 10.2147/DMSO.S32923
- Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 $\alpha$ . *J Cell Metab* 2006;127(6):1109-22. doi: 10.1016/j.cell.2006.11.013
- Gibala JM. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol* 2012;590(5):1077-84. doi: 10.1113/jphysiol.2011.224725
- Liang H, Ward WF. PGC-1 $\alpha$ : a key regulator of energy metabolism. *Adv Physiol Educ* 2006;30:145-51. doi: 10.1152/advan.00052.2006
- Moynihhan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Méneur C, et al. Increased dosage of mammalian Sir in pancreatic  $\beta$  cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *J Cell Metab* 2005;2(2):105-17. doi: 10.1016/j.cmet.2005.07.001
- Munehiro K, Daisuke K. SIRT1 in Type 2 Diabetes: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Diabetes Metab J* 2013;37(5):315-25. doi: 10.4093/dmj.2013.37.5.315
- Tang JE, Hartman JW, Phillips SM. Increased muscle oxidative potential following resistance training induced fiber hypertrophy in young men. *Appl Physiol Nutr Metab* 2006;31(5):495-501. doi: 10.1139/h06-026
- Ikeda S, Kawamoto H, Kasaoka K, Hitomi Y, Kizaki T, Sankai Y, et al. Muscle type-specific response of PGC-1  $\alpha$  and oxidative enzymes during voluntary wheel running in mouse skeletal muscle. *J Acta Physiol (Oxf)* 2006;188: 217-23. doi: 10.1111/j.1748 - 1716.2006.01623.x
- Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations durin exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol* 2008;586(1):151-6. doi: 10.1113/jphysiol.2007.142109
- Wallace JL, Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: Exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14(5): 329-45. doi: 10.1038/nrd4433
- Nara R, Scherolin O. Treadmill training increases SIRT-1 and PGC-1  $\alpha$  protein levels and AMPK phosphorylation in quadriceps of middle-aged rats in an intensity-dependent manner. *Mediators Inflamm* 2017;828:1-11. doi: 10.1155/2017/8287646
- Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressionsin rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293:916-22. doi: 10.1152/ajpendo.00164.2007
- Rezai M, Mahmoodi M, Kaeidi A, Noroozi Karimabad M, Khoshdel A, Hajizadeh MR. Effect of crocin carotenoid on BDNF and CREB gene expression in brain ventral tegmental area of morphine treated rats. *Asian Pac J Trop Biomed* 2018;8(8):387-93. doi: 10.4103/22211691.239426.
- Hadrup N, Hass U, Letting H, Vinggaard AM, Svingen T. Selection of reference genes for quantitative RT-PCR (RT-qPCR) analysis of rat tissues under physiological and toxicological conditions. *Peer J* 2015;3:e855. doi: 10.7717/peerj.855
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *J Neurosci Methods* 2008;293(3):103-7. doi: 10.1038/nprot.2008.73
- Shabani M, Choobineh S, Kordi MR, Afghan M. The effect of 8- week of high intensity interval training on the expression of PGC-1 $\alpha$  and VEGF genes in myocardial muscle of male healthy rats. *J Sport Bio-Sciences* 2016;8(2):169-76. doi: 10.22059/JSB.2016.59092.
- Fathi M. The Effect of Endurance Activity on Pgc-1 Alpha Gene Expression in Soleus and Extensor Digitorum Longus Muscles of Adult Male Wistar Rats. *Zumsj* 2016;24(106):51-62. doi: 10.1016/0012-1606(80)90423-6
- Adhietty PJ, Ugucconi G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1 $\alpha$  on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. *Am J Physiol-Cell Physiol* 2009;297(1):217-25. doi: 10.1152/ajpcell.00070.2009
- Mortensen OH, Frandsen L, Schjerling P, Nishimura E, Grunnet N. PGC-1 $\alpha$  and PGC-1 $\beta$  have both similar and distinct effects on myofiber switching toward an oxidative phenotype. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*



- 2006;291(4):807-16. doi: 10.1152/ajpendo.00591.2005
23. Taylor EB, Lamb JD, Hurst RW, Chesser DG, Ellingson WJ, Greenwood LJ, et al. Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC- $\alpha$  protein abundance: effects of time and intensity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;289(6):960-68. doi: 10.1152/ajpendo.00237.2005
24. Bruce CR, Anderson MJ, Carey AL, Newman DG, Bonen A, Kriketos AD, et al. Muscle oxidative capacity is a better predictor of insulin sensitivity than lipid status. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(11):5444-51. doi: 10.1210/jc.2003-030791
25. Casuso RA, Martínez-Amat A, Hita-Contreras F, Camiletti-Moirón D, Aranda P, Martínez-López E. Quercetin supplementation does not enhance cerebellar mitochondrial biogenesis and oxidative status in exercised rats. *Nutr Res* 2015;35(7):585-91. doi: 10.1016/j.nutres.2015.05.007
26. Gurd BJ, Perry CG, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Bonen A. High-intensity interval training increases SIRT1 activity in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 2010;35(3):350-57. doi: 10.1139/H10-030
27. Marton O, Koltai E, Takeda M, Koch LG, Britton SL, Davies KJA, et al. Mitochondrial biogenesis-associated factors underlie the magnitude of response to aerobic endurance training in rats. *Pflugers Arch* 2015;467(4):779-88. doi: 10.1007/s00424-014-1554-7
28. Stanford K, Goodyear L. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Adv Physiol Educ* 2014;38(4):308-14. doi: 10.1152/advan.00080.2014
29. Kara S, Ravasi AA, Gholipour M. The Effect of 8-week Continuous Endurance and High Intensity Interval Training on Cardiac Tissue foxO1 and foxO3a Expression Levels in Male Rats. *J Knowledge & Health* 2018;13(1):62-70. doi: 10.22100/jkh.v13i2.1892.