

# Interaction Effect of High Interval and Low Intensity Continuous Trainings with Crocin on the Expressions of PGC-1 $\alpha$ and UCP1 in Heart Tissue of Male Diabetic Rats

Maryam Alaie<sup>1</sup>, Abbas Ali Gaeini<sup>2</sup>, Reza Nouri<sup>1\*</sup>, Siroos Chobineh<sup>2</sup>

1. Department of Exercise Physiology, Kish International Campus

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences

(Received: 2019/07/16      Accept: 2019/10/5)

## Abstract

**Background:** Diabetes is a form of metabolic disease whose sufferers are constantly exposed to cardiovascular diseases. Exercise training and diet are two important factors in managing this disease. Thus, the aim of the present study was to investigate the interactive effect of high intensity interval and low intensity continuous trainings and Crocin on the expressions of PGC1- $\alpha$  and UCP1 genes in heart tissue of diabetic rats.

**Materials and Methods:** In the present experimental study, 56 diabetic male rats (induced by high-fat diet and injections Stz) were divided into seven groups: 1) High Intensity Interval training, 2) High Intensity Interval training and Crocin consumption, 3) Low Intensity Continuous Trainings, 4) Low Intensity Continuous Trainings and Crocin consumption, 5) Sham, 6) Crocin consumption, and 7) Control. Both High Intensity Interval and Low Intensity Continuous training groups were trained on the treadmill 3 sessions per week for 8 weeks, respectively, with the intensities of 80 to 85 and 50 to 55 percent of maximum running speed on rodent treadmill; Crocin consumption group received 25 mg/kg Crocin per day for 8 weeks. The data were analyzed running Paired sample t-test, two-way ANOVA, and Bonferroni's post hoc tests ( $p \leq 0.05$ ).

**Results:** Training ( $p = 0.001$ ) and crocin consumption ( $p = 0.001$ ) significantly increased the expressions of PGC1- $\alpha$  and UCP1. Also, training with crocin consumption was found to have interactive effects on increasing the expressions of PGC1- $\alpha$  ( $p = 0.001$ ) and UCP1 ( $p = 0.001$ ) and high intensity interval and low intensity continuous trainings have the same effects on the increase of UCP1 expression ( $p = 0.02$ ).

**Conclusion:** It seems that high intensity interval and low intensity continuous training with Crocin consumption had interactive effects on the improvement of PGC1- $\alpha$  and UCP1 gene expression levels in heart tissue of diabetic rats.

**Keywords:** Training, Crocin; Diabetes; Heart Tissue; Mitochondrial Biogenesis

\*Corresponding author: Reza Nouri

Email:nuri\_r7@ut.ac.ir

## اثر تعاملی تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت و مصرف کروسین بر بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$ و UCP1 بافت قلب رت‌های نر دیابتی

مریم علایی<sup>۱</sup>، عباسعلی گائینی<sup>۲</sup>، رضا نوری<sup>۳\*</sup>، سیروس چوپینه<sup>۲</sup>

۱- گروه فیزیولوژی ورزش، پردیس بین‌المللی کیش، دانشگاه تهران  
۲- گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۷/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۴/۲۵

### چکیده:

**سابقه و هدف:** دیابت نوعی بیماری سوخت‌وسازی است که مبتلایان به آن همواره در معرض ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی هستند. با توجه به اینکه فعالیت ورزشی و رژیم غذایی دو عامل مهم در مدیریت این بیماری است، هدف پژوهش حاضر، تعیین اثر تعاملی تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت و مصرف کروسین بر بیان ژن‌های PGC-1 $\alpha$  و UCP1 بافت قلب رت‌های دیابتی است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۵۶ سر رت نر دیابتی (القا شده با رژیم غذایی پرچرب و تزریق استروپتوزوسین) انتخاب و در هفت گروه هشت سری (۱) تمرین تناوبی خیلی شدید، (۲) تمرین تناوبی خیلی شدید و مصرف کروسین، (۳) تمرین تداومی کم شدت، (۴) تمرین تداومی کم شدت و مصرف کروسین، (۵) شام، (۶) مصرف کروسین و (۷) کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته به ترتیب با شدت ۸۰ تا ۸۵ و ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر سرعت دویدن به تمرین روی نوارگردان ویژه جوندگان پرداختند و گروه‌های مصرف کروسین به مدت هشت هفته روزانه ۲۵ mg/kg کروسین را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون‌های *t* همبسته، تحلیل واریانس دوره‌ای و آزمون تعقیبی بونفرونی انجام شد ( $p < 0.05$ ).

**یافته‌ها:** تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت ( $p = 0.001$ ) و مصرف کروسین ( $p = 0.001$ ) اثر معناداری بر افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و UCP1 داشت. همچنین تمرین همراه با مصرف کروسین دارای آثار تعاملی در افزایش بیان ژن PGC-1 $\alpha$  ( $p = 0.001$ ) و UCP1 ( $p = 0.001$ ) بود و تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت آثار یکسانی بر افزایش بیان ژن UCP1 دارند ( $p = 0.002$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین‌های خیلی شدید و تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین دارای آثار تعاملی در بهبود مقادیر بیان ژن PGC-1 $\alpha$  و UCP1 در بافت قلب رت‌های دیابتی هستند.

**واژگان کلیدی:** تمرین، کروسین، دیابت، بافت قلب، بیوزنر میتوکندریایی

### مقدمه:

UCPs) تنظیم می‌شود که در غشای داخلی میتوکندری قرار گرفته‌اند که به جداسازی زنجیره انتقال الکترون از تولید انرژی و در نتیجه آزاد شدن انرژی پتانسیل به صورت گرما منجر می‌شود (۷). UCP1 در غشای داخلی میتوکندری سلول‌های چربی قهوه‌ای، شبه قهوه‌ای و زیر پوستی دیده شده است. این پروتئین، کانالی را تشکیل می‌دهد که سبب نشت پروتون از غشای داخلی میتوکندری در چرخه انتقال اکسیژن می‌شود، در نتیجه به دفع انرژی به صورت گرما می‌انجامد. از این رو پژوهشگران افزایش فعالیت این پروتئین را برای کاهش عوارض چاقی مفید می‌دانند (۸). از طرفی، کاهش بیان PGC-1 $\alpha$  در اختلال‌های مختلف قلبی گزارش شده است که به تغییر متابولیسم از اکسایشی به گلیکولیز مرتبط است. برعکس، بیان بیش از حد آن در قلب نیز به اختلال در عملکرد قلب منجر می‌شود که این با بیوزنر میتوکندریایی کنترل نشده، از دست دادن ساختار سارکومر و کاردیومیوپاتی انسداد یافته همراه است (۹). بنابراین، کاهش PGC-1 $\alpha$  به

دیابت، به دلیل کمبود یا کاهش عملکرد انسولین، سبب افزایش میزان گلوکز خون و اختلال‌های متابولیک می‌شود (۱). شیوع دیابت در ۵۰ سال گذشته در دنیا پنج برابر شده و امروز حدود ۲۸۵ میلیون نفر به این بیماری مبتلا هستند (۲). این آمار در سال ۲۰۲۵ به حدود ۳۲۰ میلیون نفر در جهان خواهد رسید (۱). به نظر می‌رسد حساسیت ژنتیکی نقش حیاتی در سبب‌شناسی و ظهور دیابت داشته باشد (۳). از جمله آثار مهم چاقی، انباشت چربی در عضله قلب است که پیامد آن بزرگی عضله قلب و کاردیومیوپاتی است (۴). عضله اسکلتی اغلب آثار خود را با تغییرهای ایجاد شده در مقادیر PGC-1 $\alpha$  و عوامل ترشحی خود یعنی مایوکاین‌ها ایجاد می‌کند (۵). PGC-1 $\alpha$  علاوه بر کنترل محتوای میتوکندری، در روند تشکیل بافت چربی قهوه‌ای (BAT) دخالت دارد (۶). گرم‌زایی غیر لرزشی مهم‌ترین عملکرد چربی قهوه‌ای است. این عملکرد به واسطه پروتئین‌های جداکننده

نویسنده مسئول: پونه دهقان

پست الکترونیک: p.dehghan@sbmu.ac.ir

تناوبی خیلی شدید، ۲) تمرین تناوبی خیلی شدید و مصرف کروسین، ۳) تمرین تناوبی کم شدت، ۴) تمرین تناوبی کم شدت و مصرف کروسین، ۵) شم (تزریق نرمال سالیین)، ۶) مصرف کروسین و ۷) کنترل قرار گرفتند. مداخله فعالیت ورزشی و مکمل: در ادامه، گروه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته روی نوارگردان دویدند. همچنین، گروه‌های ۲، ۴ و ۶ به مدت هشت هفته روزانه  $25 \text{ mg/kg}$  کروسین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (۲۲). برنامه تمرین‌های تناوبی خیلی شدید اجرای وهله‌های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد سرعت بیشینه به مدت دو دقیقه و با دوره‌های استراحتی فعال یک دقیقه‌ای بود که از شش وهله تمرینی در هفته اول، به ۱۲ وهله تمرینی در هفته آخر رسید. برای برآورد سرعت بیشینه دویدن، آزمون عملکرد ورزشی فرایند با شیب صفر درجه اجرا شد که با سرعت ۸ متر بر دقیقه آغاز و سرعت نوارگردان به ازای هر یک دقیقه، یک متر بر دقیقه افزوده شد. این افزایش تا رسیدن رت‌ها به واماندگی ادامه یافت. حجم کل فعالیت ورزشی (شدت، مدت و تکرار) بین گروه‌های تمرینی (گروه‌های تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تناوبی با شدت کم) به طوری که شدت فعالیت گروه‌های تمرین تناوبی با شدت کم ۵۰ تا ۵۵ درصد سرعت بیشینه دویدن بود؛ همسان شد. بر این اساس، مدت فعالیت گروه تمرین تناوبی با شدت کم در هفته اول از ۲۵ دقیقه به ۵۰ دقیقه در هفته پایانی رسید (۱۴، ۱۵).

جدول ۱. پروتکل تمرین‌های ورزشی تناوبی

مدت زمان مرحله اصلی تمرین (دقیقه)	تعداد تناوب (عدد)	سرعت دویدن	هفته
۱۷	۶	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	اول
۱۷	۶	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	دوم
۲۰	۷	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	سوم
۲۳	۸	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	چهارم
۲۶	۹	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	پنجم
۲۹	۱۰	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	ششم
۳۱	۱۱	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	هفتم
۳۵	۱۲	۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت	هشتم

تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی: در پایان دوره پژوهش، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و مصرف کروسین، رت‌ها به روش آسان‌کشی کشته شدند. بیهوشی با کتامین، زایلازین و خونگیری انجام شد. عملیات بافت‌برداری به این شکل بود که ابتدا حیوان‌ها با کتامین و زایلازین پس از حدود پنج دقیقه بیهوش شدند. آن‌گاه با استفاده از باز کردن قفسه سینه، بافت قلب رت‌ها برداشته و در داخل تانک ازت قرار داده شد و در ادامه برای نگهداری به فریزر ۸۰- انتقال داده شد. سپس برای اندازه‌گیری متغیرهای پژوهش، بافت قلب به آزمایشگاه منتقل شد. اندازه‌گیری مقادیر بیان ژنی  $\alpha$ -PGC و  $\text{UCP}1$  به روش Real-time PCR انجام شد. برای بررسی‌های مولکولی مقدار بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت قلب طبق پروتکل شرکت سازنده (سینازن، ایران)، انجام شد، سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر و با کمک رابطه زیر غلظت و درجه خلوص نمونه RNA به صورت کمی به دست آمد.

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = A_{260} \times \epsilon \times d / 1000$$

عنوان یک عامل درون سلولی می‌تواند به عنوان یک عامل خطر مشکلات قلبی مطرح باشد. در دهه گذشته، پژوهشگران در کنار مداخله‌های دارویی، به بررسی اثر سایر مداخله‌های سبک زندگی مانند تغییر تغذیه و فعالیت ورزشی بر بهبود و درمان برخی بیماری‌های مزمن پرداخته‌اند. افزایش تولید ROS توسط فعالیت‌های ورزشی می‌تواند سبب القای  $\alpha$ -PGC شود. فعالیت ورزشی سبب افزایش ROS و در نتیجه فعال‌سازی  $\text{P}38\text{MAPK}$  می‌شود، در حالی که  $\alpha$ -PGC بر اثر فعالیت  $\text{P}38\text{MAPK}$  تنظیم می‌شود. از اینرو فعالیت ورزشی، ابزار مهم فعال شدن این مسیر و در نتیجه کاهش مقاومت به انسولین و بهتر شدن تنظیم گلوکز در بیماران دیابت نوع ۲ می‌شود (۱۰). همان‌طور که در برخی مطالعه‌ها، فعالیت ورزشی استقامتی نشان داده شده است، بیان  $\alpha$ -PGC و حتی پیشگیری از زوال آن، می‌تواند آثار مفیدی در قلب ایجاد کند (۹).

از طرفی، پژوهش‌ها نشان می‌دهند، قدیمی‌ترین راه درمان دیابت، استفاده از گیاهان بوده است (۱۱). یکی از اثرگذارترین گیاهان دارویی که برای کنترل قند خون استفاده می‌شود، زعفران است (۱۲). کروسیتین و کروسین موجود در زعفران می‌توانند آترواسکلروز و بیماری‌های وابسته مثل هایپرکلسترولمی، فشارخون بالا، مقاومت به انسولین، هایپرلیپیدمی، هایپرانسولینمی و هایپرگلیسمی را کاهش دهند. کروسین، مقادیر لیپاز پانکراس و معده‌های را مهار می‌کند. در مجموع، به نظر می‌رسد زعفران و اجزای آن (به ویژه کروسین و کروسیتین) از عملکرد دستگاه قلبی محافظت می‌کنند، که عمده این عملکرد را می‌توان به خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نسبت داد (۲). با توجه به اینکه راه حل‌های فعلی برای درمان دیابت کمتر از حد مطلوب است، کشف برخی اهداف نوین درمانی و نیز ترویج اقدام‌های پیشگیرانه مانند رویکردهای وابسته به رژیم غذایی و فعالیت بدنی، اولویت و اهمیت زیادی دارد (۱۳). براساس بررسی‌های انجام شده و جست‌وجو در پایگاه‌های معتبر علمی، مطالعه‌ای مشاهده نشد که به بررسی آثار تعاملی تمرین‌های ورزشی خیلی شدید و متوسط همراه با مصرف کروسین بر فرآیند بیوزن میتوکندریایی در بیماری دیابت پرداخته باشد. به نظر می‌رسد، انجام پژوهشی در زمینه تغییرهای ژنی  $\alpha$ -PGC و  $\text{UCP}1$  در بافت قلب رت‌های دیابتی در اثر تعامل ورزش شدید تناوبی و کم شدت با کروسین ضرورت دارد. از این رو، مطالعه حاضر با هدف تعیین آثار تعاملی تمرین‌های تناوبی خیلی شدید و تناوبی کم شدت و مصرف کروسین بر بیان ژن‌های  $\alpha$ -PGC و  $\text{UCP}1$  بافت قلب رت‌های دیابتی انجام شد.

## مواد و روش‌ها:

در این پژوهش تجربی، ۵۶ سر رت نر نژاد اسپراگودالی از مرکز تکثیر و پرورش حیوان‌های آزمایشگاهی موسسه رازی خریداری و به آزمایشگاه حیوان‌های آزمایشگاهی شرکت روزان آزما منتقل شد. نمونه‌ها در قفس‌های جداگانه ساخته شده از جنس پلی‌اتیلن شفاف، در دمای  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۶۰ درصد، چرخه روشنایی-تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و با امکان دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. در طول تمامی مراحل انجام پژوهش، اصول اخلاقی کار با حیوان‌های آزمایشگاهی با توجه به گرفتن کد اخلاق (IR.SSRI.REC.۱۳۹۸.۵۳۶) از پژوهشگاه علوم ورزشی رعایت شد. یک هفته در محیط آزمایشگاه، برای سازگاری با محیط نگهداری شدند. در ادامه، رت‌ها به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتق شده از روغن حیوانی) حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود (۷). پس از گذشت سه ماه، القای دیابت با تزریق تک دوز استروپتوزوتوسین حل شده در بافر سدیم سترات  $\text{PH}=4/5$  به مقدار  $30 \text{ mg/kg}$  به صورت درون صفاقی انجام شد (۷). سپس برای تایید دیابت، ۹۶ ساعت پس از تزریق سم استروپتوزوتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوان‌ها، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده و توسط دستگاه گلوکومتر خوانده شد. سپس رت‌های دارای گلوکز خون فراتر از  $\text{mg/dl}$  ۳۰۰ به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند (۷).

رت‌ها با توجه به گلوکز ناشتا، تصادفی در هفت گروه هشت سری (۱) تمرین

ورزشی همراه با مصرف کروسین، آثار تعاملی در افزایش بیان ژنی  $1-\alpha$  PGC رت‌های مبتلا به دیابت دارد ( $p=0/001$ ،  $F=93/91$  و اندازه اثر  $0/81$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد، هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید سبب افزایش  $1-\alpha$  PGC در بافت قلب رت‌های دیابتی شد ( $p=0/001$ ) ولی هشت هفته تمرین تداومی کم شدت اثر معناداری بر افزایش بیان ژنی  $1-\alpha$  PGC در بافت قلب رت‌های دیابتی ندارد ( $p=0/19$ )؛ هشت هفته تمرین‌های ورزشی ( $F=16/14$ ،  $p=0/001$ ، اندازه اثر  $0/43$ )، مصرف کروسین ( $F=5/81$ ،  $p=0/02$ ) و اندازه اثر  $0/12$  اثر معناداری بر افزایش بیان ژنی UCP1 در بافت قلب رت‌های مبتلا به دیابت دارد، همچنین تمرین‌های ورزشی همراه با مصرف کروسین، دارای آثار تعاملی در افزایش بیان ژنی UCP1 رت‌های مبتلا به دیابت هستند ( $p=0/009$ ،  $F=5/26$  و اندازه اثر  $0/20$ ). همچنین نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید ( $p=0/001$ ) و هشت هفته تمرین تداومی کم شدت ( $p=0/001$ ) اثر معناداری بر افزایش UCP1 در بافت قلب رت‌های دیابتی دارد، با وجود این، تمرین تناوبی خیلی شدید و تمرین تداومی کم شدت، دارای آثار یکسانی بر افزایش بیان ژنی UCP1 در بافت قلب رت‌های دیابتی دارد ( $p=0/99$ ).

جدول ۳. وزن پیش آزمون و پس آزمون رت‌های گروه‌های هفت‌گانه پژوهش

گروه	پیش آزمون (وزن به گرم) انحراف استاندارد ± میانگین	پس آزمون (وزن به گرم) انحراف استاندارد ± میانگین	سطح معناداری
تمرین‌های تناوبی خیلی شدید	۳۶۰/۶۴ ± ۱۳/۱۲	۳۴۲/۱۲ ± ۴۴/۱۱	۰/۱۰
تمرین‌های تداومی کم شدت	۳۷۵/۱۲ ± ۳۳/۱۸	۳۵۲/۱۱ ± ۱۷/۱۸	۰/۰۰۱
مصرف کروسین	۳۴۵/۲۵ ± ۴۴/۰۸	۳۶۴/۱۲ ± ۱۳/۱۰	۰/۰۹
تمرین‌های تناوبی خیلی شدید همراه با مصرف کروسین	۴۱۰/۴۷ ± ۳۰/۸۷	۳۹۵/۴۱ ± ۴۶/۵۲	۰/۰۰۵
تمرین‌های تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین	۳۹۴/۸۸ ± ۲۵/۶۶	۳۵۴/۲۲ ± ۱۸/۱۲	۰/۰۰۱
شم	۳۹۰/۵۹ ± ۴۲/۳۳	۴۰۹/۶۲ ± ۴۵/۱۷	۰/۰۰۱
کنترل	۳۸۴/۶۴ ± ۵۰/۴۱	۴۲۰/۸۸ ± ۶۲/۱۴	۰/۰۰۱

\*تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل

پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مطالعه شده مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام و سپس cDNA سنتز شده برای انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن‌ها بررسی و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی q-RT PCR انجام شد. توالی پرایمرهای استفاده شده در مطالعه شامل بودند. اصول انجام RT-PCR مشابه PCR معمولی بود با این تفاوت که به جای MasterMix معمولی از MasterMix حاوی سایبرگرین (تاکارا) استفاده شد.

جدول ۲. فهرست پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
B2m	Forward: 5'-CGTGCTTGCCATTCAGAAA-3' Reverse: 5'-ATATACATCGGTCTCGGTGG-3'	244
UCP1	Forward: 5'-CAATGACCATGTACACCAAGGAA-3' Reverse: 5'-GATCCGAGTCGCAGAAAAGAA-3'	76
PGC1 $\alpha$	Forward: 5'-CAGAAGCAGAAAGCAATTGAAGA-3' Reverse: 5'-GTTTCATTCGACTGCGTAAAG-3'	230

پس از پایان فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشر فلورسانس با محاسبه  $\Delta\Delta Ct$ ، میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به B2m و حالت کنترل که فاقد محیط‌های تمایزی است، سنجیده شد.

$$C_t = C_t \text{ interets} - C_t \text{ GAPDH}^{\Delta}$$

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_t \text{ Treat} - \Delta C_t \text{ Un Treat}$$

و سپس با استفاد از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  میزان بیان آن محاسبه شد.

**روش تجزیه و تحلیل آماری:** همه‌ی اطلاعات به صورت میانگین و انحراف استاندارد گزارش شدند. به این دلیل که نمونه‌های این پژوهش بیشتر از ۳۰ نمونه بودند، برای ارزیابی طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و شاپیروویلیک استفاده شده است. تجزیه و تحلیل یافته‌های پژوهش با استفاده از آزمون‌های t همبسته، تحلیل واریانس دوره‌ای و آزمون تعقیبی بونفرونی انجام شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویراست ۲۴ در سطح معناداری آماری کمتر از ۵ درصد انجام شد.

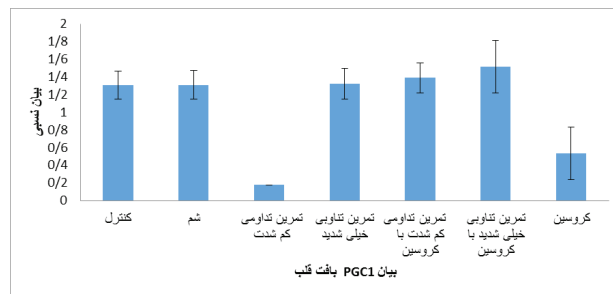
### یافته‌ها:

وزن رت‌ها در گروه‌های هفت‌گانه پژوهش در جدول ۳ و همچنین مقادیر بیان ژنی  $1-\alpha$  PGC و UCP1 در بافت قلب رت‌ها به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. نتایج آزمون t همبسته در جدول ۳ نشان داد وزن رت‌های گروه‌های کنترل ( $p=0/001$ ) و شم ( $p=0/001$ ) پس آزمون در حد معناداری نسبت به پیش آزمون افزایش یافته است؛ وزن رت‌های گروه تمرین تداومی کم شدت ( $p=0/001$ )، گروه تمرین تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین ( $p=0/001$ ) و گروه تمرین تناوبی خیلی شدید همراه با مصرف کروسین ( $p=0/001$ ) پس آزمون در حد معنادار نسبت به پیش آزمون کاهش یافته است. با وجود این، تفاوت معناداری در مقادیر پیش آزمون و پس آزمون وزن رت‌های گروه‌های تمرین تناوبی خیلی شدید ( $p=0/10$ ) و مصرف کروسین ( $p=0/09$ ) وجود ندارد. همان‌گونه که شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد، نرمال سالین (حلال کروسین) اثر معناداری بر مقادیر بیان ژنی  $1-\alpha$  PGC ( $p=0/98$ ) و UCP1 ( $p=0/08$ ) در بافت قلب رت‌ها ندارد. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو راهه نشان داد هشت هفته تمرین‌های ورزشی ( $F=41/87$ ،  $p=0/001$ )، اندازه اثر  $0/66$ )، مصرف کروسین ( $F=12/91$ ،  $p=0/001$ ) و اندازه اثر  $0/22$ ) اثر معناداری بر افزایش بیان ژنی  $1-\alpha$  PGC بافت عضله رت‌های مبتلا به دیابت دارد. همچنین تمرین‌های

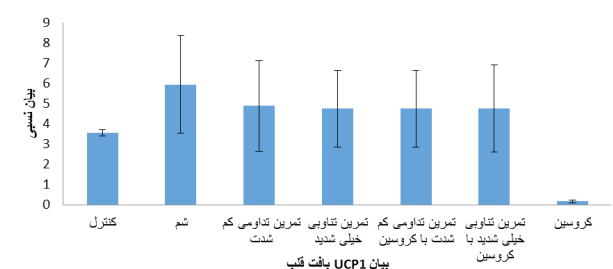
فعال شدن همزمان پروتئین کیناز فعال شده با AMP است (۲۱). از سوی دیگر، فعالیت ورزشی می‌تواند سبب تحریک بیان  $\alpha$ -PGC ۱ از طریق سازوکارهای بالادست شود. از جمله این سازوکارهای بالادست، فعال سازی AMPK است که به احتمال وابسته به شدت فعالیت ورزشی است (۲۴). فعال سازی AMPK به فسفریله شدن و فعال سازی  $\alpha$ -PGC ۱ منجر می‌شود (۱۹). پژوهش‌ها نشان می‌دهد، تمرین‌های استقامتی با استفاده از مسیرهای وابسته به کلسیم و فسفات، آنزیم‌های کیناز وابسته به آدنوزین منوفسفات و کالمودولین را فعال و در نتیجه به فعال سازی  $\alpha$ -PGC ۱ منجر می‌شود. فعالیت ورزشی به ویژه تمرین‌های هوازی سبب کاهش شارژ انرژی درون سلولی و به دنبال آن فعال سازی AMPK و وارد شدن  $\alpha$ -PGC ۱ درون هسته برای تاثیر بر افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی و حتی بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ می‌شود (۲۰). همسو با پژوهش حاضر، هشت هفته تمرین استقامتی اثر معنادار بر افزایش سه برابری بیان ژن UCP۱ در بافت چربی سفید داشت (۲۵). UCP۱ در غشای داخلی میتوکندریایی سلول‌های چربی قهوه‌ای در بافت چربی قهوه‌ای و همچنین سلول‌های شبه قهوه‌ای قرار دارد. این پروتئین، کانالی را تشکیل می‌دهد که سبب نشت پروتون می‌شود، در نتیجه، انرژی که باید صرف سنتز ATP شود، به صورت حرارت دفع می‌شود. از این رو، این پروتئین با تولید گرما به صورت غیر لرزشی در بافت چربی قهوه‌ای و همچنین بافت چربی سفید سبب افزایش مصرف انرژی، ناکارایی متابولیکی و دفع انرژی می‌شود. بر همین اساس، سنتز پروتئین UCP۱ در بافت چربی، نقش مهمی در ایجاد مقاومت و پیشگیری در برابر انباشت چربی، افزایش وزن و چاقی دارد (۲۵).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد، هشت هفته مصرف کروسین اثر معناداری بر افزایش بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ و UCP۱ رت‌های دیابتی دارد. کروسین آنتی‌اکسیدان قوی و همچنین یکی از بهترین مکملها برای سلامت قلب است (۲۶). همچنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند کروسین به عنوان یکی از مشتقات طبیعی زعفران، دارای آثار کاهنده مقاومت به انسولین است و سبب تحریک برداشت گلوکز خون در عضلات می‌شود. همچنین پژوهشگران بر این باورند، زعفران و مواد تشکیل دهنده آن می‌تواند از مسیر فسفریله کردن AMPK/  $\alpha$ -PGC ۱، جذب گلوکز، افزایش حساسیت به انسولین و افزایش بیان  $\alpha$ -PGC ۱ شود و سپس NRF۱ها فعال می‌شوند که در نتیجه DND mt افزایش می‌یابد و این مسیر سبب بیوژنز میتوکندریایی می‌شود (۲۷-۱۵). در مطالعه‌های دیگر، پژوهشگران بیان کردند مصرف کروسین از مسیر فعال سازی Akt می‌تواند سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش مقادیر بیان ژن‌های مسرر پیام رسان کیناز-۱ تنظیم کننده برون سلولی (ERK-۱)، تعدیل گونه‌های فعال اکسیژن میتوکندریایی و افزایش بیوژنز میتوکندریایی شود (۲۸). همچنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند تنظیم بیان ژن‌های عاملی مانند گیرنده پروتئین فعال درونی (۴۰ RIP) به عنوان کو-رستورهای ترجمه‌ای برای بیان پروتئین‌های بیان کننده بیوژنز میتوکندریایی مانند UCP۱ می‌شود (۲۹). تاکنون مطالعه‌های زیادی درباره آثار مصرف کروسین در شاخص‌های قندی و آنتی‌اکسیدانی بیماران دیابتی انجام شده است. با وجود این، مطالعه‌ای یافت نشد که مستقیماً به بررسی بیوژنز میتوکندریایی به ویژه در بافت قلب پرداخته باشد. همسو با مطالعه حاضر، استفاده از کروسین سبب کاهش عوامل التهابی و فشار اکسایشی و افزایش پروتئین‌های میتوکندریایی و در کل سبب بهبود عملکرد میتوکندری در سلول‌های استخوانی شد (۳۴). همچنین مصرف ۴۰ و ۶۰ mg/kg کروسین سبب افزایش متابولیسم چربی‌ها و کاهش فشار اکسایشی و در نهایت بهبود عملکرد میتوکندریایی در بافت بیضه رت‌های دیابتی شد (۳۷). همچنین استفاده از کروسین در سلول‌های کلیوی، سبب جلوگیری از افزایش NF- $\kappa$ B و مهار پیشرفت مسیر میتوکندریایی مرگ سلولی در سلول‌های در معرض پراکسید هیدروژن شد (۳۰).

درباره آثار تعاملی، مطالعه حاضر نشان داد، هشت هفته تمرین‌های ورزشی همراه با مصرف کروسین سبب افزایش بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ و UCP۱ رت‌های



شکل ۱. مقادیر بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ بافت قلب رت‌ها در هفت گروه پژوهش براساس تحلیل واریانس دو راهه



شکل ۲. مقادیر بیان ژن UCP۱ بافت قلب رت‌ها در هفت گروه پژوهش براساس تجزیه و تحلیل آنوا دو راهه

## بحث:

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی خیلی شدید، تاثیر معناداری بر افزایش بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ و UCP۱ رت‌های دیابتی دارد، با وجود این، هشت هفته تمرین تناوبی کم شدت فقط بر افزایش بیان ژن UCP۱ اثر گذار است.  $\alpha$ -PGC ۱ به عنوان یکی از مهمترین تنظیم کننده‌های متابولیسم انرژی است که نقش آن در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۲ نشان داده شده است، به گونه‌ای که بیان  $\alpha$ -PGC ۱ در عضله اسکلتی با تنظیم کاهشی همراه و به شدت تمرین وابسته است (۱۶). همسو با مطالعه حاضر نشان داده شد، فعالیت‌های ورزشی به افزایش بیان ژن  $\alpha$ -PGC ۱ منجر می‌شود (۱۷). همچنین ۴، ۱۲ و ۲۶ هفته تمرین‌های ورزشی استقامتی اثر معنادار بر افزایش بیان  $\alpha$ -PGC ۱ داشت (۱۸، ۱۹ و ۲۰). گزارش شده است، با انجام فعالیت‌های استقامتی، میزان ATP کاهش و کلسیم درون سلولی افزایش می‌یابد و در نتیجه دو مسیر AMPK و CAMK فعال می‌شوند. فعال سازی این دو مسیر به فعال سازی رونویسی MEF۲ و افزایش سنتز  $\alpha$ -PGC ۱ منجر می‌شود (۲۱). ورزش استقامتی با فعال کردن  $\alpha$ -PGC ۱ از راه AMPK یا p38MAPK یا ROS به افزایش رونویسی VEGF و در نتیجه آنژیوژنز منجر می‌شود (۲۱). در مطالعه‌های متعدد نشان داده شده است، VEGF یک عامل موثر در رشد، تکثیر و مهاجرت سلول‌های آندوتلیال است (۲۲). به نظر می‌رسد سازوکاری که  $\alpha$ -PGC ۱ سبب ایجاد رونویسی VEGF می‌شود، هم فعال سازی گیرنده هسته‌ای تنها  $\alpha$ ERR است. ERR گیرنده‌های هسته‌ای وابسته استروژنی هستند که در میان آن‌ها،  $\alpha$ ERR گیرنده‌ای است که با هم فعالگر رونویسی  $\alpha$ -PGC ۱ فعال می‌شود و بسیاری از ژن‌های هدف درگبر در بتا اکسایش اسیدهای چرب، چرخه کربس، فسفریله شدن اکسایشی و در نهایت بیوژنز میتوکندری را تنظیم می‌کند (۲۳). یک مسیر، مدولاسیون وابسته به تمرین فسفات‌های پر انرژی و

محدودیت اطلاعات درباره آثار بیوژنز میتوکندریایی مکمل‌دهی کروسین در بافت قلب به نظر می‌رسد، اندازه‌گیری نگرگفتن مقادیر AMPK، PI3K و MAPK از محدودیت‌های مطالعه حاضر باشد. از این رو پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های آتی، نشانگرهای بیشتری در این مسیر برای حصول اطلاعات بیشتر اندازه‌گیری شود. همچنین با توجه به روش اندازه‌گیری متغیرهای پژوهش حاضر به نظر می‌رسد علاوه بر اندازه‌گیری مقادیر بیان ژنی، اندازه‌گیری مقادیر پروتئینی این متغیرها در بافت قلب نیز بتواند اطلاعات جامع‌تری درباره بیوژنز میتوکندریایی در بافت قلب ارائه کند.

اگرچه در مطالعه حاضر مصرف کروسین و همچنین تمرین‌های خیلی شدید و تداومی کم شدت به تنهایی به بهبود مقادیر بیان ژنی PGC-1 $\alpha$  و UCP1 در بافت قلب رت‌های دیابتی منجر شدند؛ با وجود این به نظر می‌رسد تمرین‌های خیلی شدید و تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین آثار تعاملی بیشتری در بهبود مقادیر بیان ژنی PGC-1 $\alpha$  و UCP1 در بافت قلب رت‌های دیابتی دارند.

### تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر برگرفته از رساله دکتری مصوب دانشگاه تهران واحد بین‌الملل کیش در گروه فیزیولوژی ورزش است. از این رو نویسندگان مقاله حاضر مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهش و فناوری این واحد دانشگاه و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد واحد مرودشت، برای فراهم کردن شرایط آزمایشگاهی اعلام می‌دارند.

دیابتی می‌شود. با توجه به بررسی مطالعات، به نظر می‌رسد انجام تمرین‌های ورزشی و مصرف کروسین از مسیر فسفریله کردن AMPK/ACC، MAPK، PI3K/AKT می‌تواند سبب افزایش بیان ژن پروتئین‌های شرکت‌کننده در بیوژنز میتوکندریایی شوند (۱۴، ۱۵، ۲۱، ۲۵ و ۲۷). به نظر می‌رسد، این دو متغیر تا بیان Akt مسیر مشترکی را طی می‌کنند ولی در ادامه مسیر، بیوژنز میتوکندریایی به نظر می‌رسد مصرف کروسین علاوه بر بیان پروتئین‌های بیان‌کننده بیوژنز میتوکندریایی با کاهش فشار اکسایشی و کاهش التهاب و جلوگیری از مسیر مرگ سلولی وابسته به میتوکندریایی نیز سبب بهبود عملکرد این اندامک شد (۳۰). این در حالی است که به نظر می‌رسد مطالعه‌های مختلف، آثار آنتی‌اکسیدانی و التهابی ورزش را متناقض گزارش و عنوان کرده‌اند، شدت و طول دوره تمرین‌ها عاملی اثرگذار بر این مسیر است (۲۱). مطالعه‌های پیشین نشان دادند، تمرین‌های اختیاری و مصرف کروسین آثار ضد آپوپتوز در بافت پانکراس رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ دارد (۳۱). همچنین تمرین تناوبی خیلی شدید و تداومی کم شدت همراه با مصرف کروسین دارای آثار آنتی‌آپوپتوزی در بافت قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ است (۳۲). این دو مطالعه نشان‌دهنده کاهش پروتئین‌های آپوپتوزی مسیر داخلی وابسته به میتوکندری بودند. از این رو، به طور غیر مستقیم می‌توان آثار تعاملی این دو متغیر را در بهبود عملکرد میتوکندریایی استنباط کرد. همچنین آثار تعاملی زعفران و تمرین‌های مقاومتی نیز در بهبود مسیر متابولیسم گلوکز و AMPK/GLUT4 در مطالعه دهقان و همکاران گزارش شد (۱۵). همچنین تمرین تداومی همراه با کروسین اثر معناداری بر افزایش نروتروفین‌ها در بافت قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ داشت (۳۳). با توجه به مسیر پیام رسان یکسان ذکر شده در مطالعه‌های پیشین و

### منابع:

- Zar A, Hoseini A, Ahmadi F, Rezaei M. Effects of Ginger together with Swimming Training on Blood Fat Profiles in Adult Diabetic Rats with Streptozotocin. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2016; 11 (2) :65-74
- Milajerdi A, Mahmoudi M. Review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to nervous system, cardiovascular and gastrointestinal diseases. *Clin Exc*. 2014; 3 (1) :108-127
- Shokouhi SH, Haghani P, Borji P, Bakhtiyari S: Association Between PGC-1 $\alpha$  Gene Polymorphisms and Type 2 Diabetes Risk: A Case-Control Study of an Iranian Population. *Can J Diabetes*. 2015; 65-72.
- Rogin F, Hosseini K, Vahedi S, Hamzeh N. Obesity and cardiovascular diseases. *Iranian journal of Diabetes and Metabolism*. 2013;12 (5): 451-460
- Shirvani H, Aslani J. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on serum irisin and expression of skeletal muscle PGC-1 $\alpha$  gene in male rats. *Tehran Univ Med J*. 2017; 75 (7) :513-520
- Dinas PC, Lahart IM, Timmons JA, Svensson PA, Koutedakis Y, Flouris AD, et al. Effects of physical activity on the link between PGC-1 $\alpha$  and FNDC5 in muscle, circulating Irisin and UCPI of white adipocytes in humans: A systematic review. *F1000Res*. 2017; 26;6:286. doi:10.12688/f1000research.11107.2.
- khalafi M, Ravasi A A, Shabkhez F, Moradi M, Zarei Y. The effect

- of high intensity interval exercise (HIIE) and moderate intensity continuous exercise (mice) on serum irisin and subcutaneous UCP-1 in diabetic male rats. *Ijdd*. 2016; 15 (4): 237-246
- zahedi, H., hedayati, M. The effect of 14 weeks aerobic exercise on resveratrol supplementation on protein UCP-1, SIRT1, PGC-1 $\alpha$  in liver tissue, subcutaneous and visceral fat tissue in male wistar rats. *Journal of Sport Biosciences*, 2018; 10(1): 39-58.
- Whitehead N, F.Gill J, Brink M, Handschin C. Moderate Modulation of Cardiac PGC-1 $\alpha$  Expression Partially Affects Age-Associated Transcriptional Remodeling of the Heart. *Front. Physiol*. 2018; 9: 242.
- Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C. The p38–PGC-1 $\alpha$ –irisin–betatrophin axis. Exploring new pathways in insulin resistance. *Adipocyte*. 2014; 67–68.
- Hosseini S E, Tavakoli F, Karami M. Medicinal Plants in the Treatment of Diabetes Mellitus. *Clin Exc*. 2014; 2 (2) :64-89
- Hosseini S, Nikbakht H, Azarbayjani M. The Effect of Aqua Extract of Saffron with Resistance Training on Glycemic Indexes of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Armaghane danesh*. 2013; 18 (4) :284-294
- Sing Leung P. The potential of irisin as a therapeutic for diabetes. *Future Med. Chem*. 2017; 529–532.
- Asri-Rezaei S, Tamaddonfard E, Ghasemsoltani-Mommtaz B, Erfanparast A, Gholamalipour S. Effects of crocin and zinc chloride on blood levels of zinc and metabolic and oxidative parameters

- in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* 2015; 403-412.
15. Asishirazi I, Hosseini S, Keikhosravi F. Hypoglycemic interactional effects of saffron (*Crocus Sativus*) aqueous extract and swimming training in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 2017; 24(4): 273-279.
16. Dehghan, F, Hajiaghaalipour F, Yusof A, Muniandy S, Hosseini SA, Heydari S, et al. Saffron with resistance exercise improves diabetic parameters through the GLUT4/AMPK pathway in-vitro and in-vivo. *Scientific reports.* 2016; 6: 25139.
17. Khalafi M, Shabkhiz F, Azali Alamdari K, Bakhtiyari A. Irisin Response to Two Types of Exercise Training in Type 2 Diabetic Male Rats. *J Arak Uni Med Sci.* 2016; 19 (6) :37-45
18. Modarai MH, Kordi MR, Gaeini AA, Hadidi V. Similar increases of PGC-1 $\alpha$  gene expression in the soleus muscle of healthy male rats following high intensity interval and aerobic training. *JME.* 2014; 4(1): 39-48
19. Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, Kraushaar J, Morsch A, Ruppenthal S, et al. Irisin and exercise training in humans – Results from a randomized controlled training trial. *BMC Medicine* 2013; 11:235.
20. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS Journal* 2014; 281: 739–749
21. Sadeghipour H R, Salehi M, Rabieezade A. Effects of 4 week endurance training on PGC-1 $\alpha$  expression in adipose tissue, ANGPTL8 serum concentrations and beta cells function of STZ diabetic rats. *J Fasa Univ Med Sci.* 2019; 8 (4) :1068-1078
22. Bashiri J, Gaeini A, Hadi H. Endurance training affects muscular angiogenesis and serum VEGF concentration in diabetic rats. *koomesh.* 2015; 17 (1) :123-132
23. Aminizadeh S, Habibi A, Marefati H, Shakerian S. Response of Estrogen-related Receptor Alpha (ERR $\alpha$ ) to Endurance Training and its Participation in Endurance Training-induced Adaptations in Lipid Metabolism in Skeletal Muscle of Male Wistar rats. *JSSU.* 2017; 25 (5) :414-425
24. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, et al. Exercise-Induced Irisin Secretion Is Independent of Age or Fitness Level and Increased Irisin May Directly Modulate Muscle Metabolism Through AMPK Activation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2014;99 (11): E2154–E2161
25. Daneshyar S, Kordi M.R, Gaeini A.A, Kadivar M. The effect of endurance training on gene expression of uncoupling protein 1(UCP-1) in white visceral adipose tissue of retroperitoneal depot of male Wistar rats *Razi Journal of Medical Sciences.* 2015; 22 (136): 35-45
26. Akbari M, Shahidi F, Rajabi H, Kashef M, Mazaheri Z. The simultaneous effect of six weeks forced swimming and crocin supplementation on the expression of 3-cardiomyocyte gene caspase 3 in male rats infected with hydrogen peroxide. *Razi J Med Sci.* 2018; 25(9): 26-37.
27. Sefidgar SM, Ahmadi-hamedani M, Jebelli Javan A, Narenji Sani R. Effect of crocin on biochemical parameters, oxidative/anti-oxidative profiles, sperm characteristics and testicular histopathology in streptozotocin-induced diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine.* 2019; 5: 403-412
28. Suh KS, Chon S, Jung WW, Choi EM. Crocin attenuates methylglyoxal-induced osteoclast dysfunction by regulating glyoxalase, oxidative stress, and mitochondrial function. *Food and Chemical Toxicology.* 2019; 124: 367-373.
29. Jornayvaz FR., Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays in biochemistry.* 2010;;47: 69–84.
30. Lv B, Chen T, Xu Z, Huo F, Wei Y, Yang X. Crocin protects retinal ganglion cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced damage through the mitochondrial pathway and activation of NF- $\kappa$ B. *International journal of molecular medicine.* 2016; 37(1): 225-232.
31. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Mohaddes G, Dariushnejad H, Chodari L. Effect of crocin and voluntary exercise on P53 protein in pancreas of type2 diabetic rats. *Pharmaceutical Sciences.* 2017; 23(3): 182-188.
32. Hassanpour G, Nikbakht H, Azarbayjani M, Shakeri N, Abednazari H. The Effect of Interval and Continued Trainings with Crocin on Apoptotic Markers in the Heart Tissue of High-Fat Diet and Streptozotocin Induced Type 2 Diabetic Rats. *Report of Health Care,* 2017; 3(3): 58-70.
33. Razavi SH, Hosseini SA, Nikbakht M. The effect of continued and interval training with crocin consumption on BDNF and NGF gene expression in heart tissue of diabetic rats. *Feyz* 2019; 23(1): 10-9.