

## The effect eight weeks of high intensity interval training and moderate intensity continuous training on the gene expression of SIRT3 and HSP70 in heart tissue of diabetic male Sprague Dawley rats obsessed by high-fat diet

Meysam Rozestan <sup>1</sup>, Khalid Mohamadzadeh Salamat <sup>1\*</sup>, Seyed Ali Hosseini <sup>2</sup>, Kamal Azizbeigi <sup>1</sup>

Receive 2023 February 24; Accepted 2023 April 30

### Abstract

**Aim:** The effect of exercise training in control of diabetes has been proved, but comparison of the effect of high intensity interval training (HIIT) and moderate intensity continuous training (MICT) on the protective mechanisms of heart tissue is still not well known. So, the aim of this study was to compare the effect of HIIT and MICT on the Sirtuin-3 (SIRT3) and Heat shock protein-70 (HSP70) gene expression in heart tissue of high-fat diet and diabetic rats. **Methods:** eighteen male Sprague Dawley rats were fed with high-fat diet for three months. After that, diabetes was induced by injecting 30 mg/kg streptozotocin intra peritoneally. Then the rats were divided into 3 groups of 6 rats including, HIIT, MICT, and control. Also, 6 rats were considered to investigate the effect of high-fat diet and diabetes on research variables in the healthy control group. During 8 weeks training protocol, the HIIT group performed 6 training sessions in the first week to 12 training sessions in the last week training sessions with intensity of 80-85% of the maximum speed. MICT group was run 50 to 55% of the maximum running speed which lasted from 25 minutes in the first week to 50 minutes in the final week. Finally, SIRT3 and HSP70 gene expression values were measured in heart tissue by qRT-PCR method. One-way analysis of variance (ANOVA) test was used to analyze the data ( $P < 0.05$ ). **Findings:** SIRT3 gene expression levels in the HIIT and MICT groups were significantly higher than the control group ( $P = 0.001$ ) and HSP70 gene expression levels in the HIIT group were lower than the control group ( $P = 0.01$ ). In addition, no significant difference was observed in SIRT3 and HSP70 values in HIIT and MICT training ( $P \leq 0.05$ ). **Conclusion:** It seems that HIIT and MICT play a role in improving mitochondrial function by increasing SIRT3 expression; However, considering the decrease in HSP70 levels following HIIT, it seems that more studies with the approach of cell damage following high-intensity training are needed.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit [jahssp.azaruniv.ac.ir](http://jahssp.azaruniv.ac.ir)

1. Department of Physical Education and Sports Sciences, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
2. Department of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Marovdasht Branch, Marovdasht, Iran

\*(corresponding author:

**Khalid Mohamadzadeh Salamat)**

([kh.mohamadzadeh@gmail.com](mailto:kh.mohamadzadeh@gmail.com))

**Keywords:** Exercise, SIRT, HSP70, Heart, Diabetes Mellitus

*Cite as:* Rozestan Meysam, Mohamadzadeh Salamat Khalid, Hosseini Seyed Ali, Azizbeigi Kamal. The effect of high intensity interval training and moderate intensity continuous training on the expression of SIRT3 and HSP70 in heart tissue of diabetic rats made obese by high-fat diet. *Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2023; 10(2):110-123.

**Owner and Publisher:** Azarbaijan Shahid Madani University

**Journal ISSN** (online): 2676-6507

**Access Type:** Open Access

**DOI:** 10.22049/JAHSSP.2023.28232.1536

**DOR:** 20.1001.1.26766507.1402.10.2.9.1



## Extended abstract

### Background

Obesity and type 2 diabetes which generally associated with increased body mass index, have been documented as a public health problem and its prevalence is increasing worldwide (1, 2). Studies show that SIRT3 and the expression of this gene play a role in obesity (4). In addition, 70 kilodalton heat shock protein (HSP70) has two inflammatory and anti-inflammatory roles. Studies related to diabetes and cell levels of HSP70 show that this peptide is able to protect against obesity-related insulin resistance in rodent cells via restricting the cellular pathway (5). Currently various studies have been done on the role of exercise on improve and prevention of diabetes- induced heart diseases, but the results of studies which review the effect of different exercises on the levels of SIRT3 and HSP70 are contradictory. Considering the limitation of decisive information regarding the effect of exercises with different intensities and volumes on SIRT3 and HSP70 in obesity situation, it seems that by conducting such studies, more fundamental information can be obtained in relation to type 2 diabetes and obesity- related cardiovascular diseases. Therefore, the present study aimed to investigate and compare the effect of interval and continuous training methods on the expression of SIRT3 and HSP70 in the heart tissue of rats with high- fat diet- induced obesity.

### Materials and Methods

In this experimental and fundamental study, 18 male Sprague- Dawley rats were fed a high-fat diet for three months, which included 45% of total energy from fat (derived from animal oil) containing 24 grams of fat, 24 grams of protein and 41 grams of carbohydrates per 100 grams (11). After three months, diabetes was induced by injecting a single dose of 30 mg/kg streptozotocin dissolved in sodium citrate buffer with a pH of 4.5 intra- peritoneally. Next, to confirm diabetes, 96 hours after the injection of streptozotocin poison, a drop of blood was placed on the glucometer strip by making a small wound in the tail of the animals, and rats with blood glucose above 300 mg/dl were selected as statistical samples.

### Experimental design

Diabetic rats were divided (based on fasting glucose) into 3 groups of 6 rats including 1) intense interval training, 2) low intensity continuous training, and 3) control. The ethical principles of working with laboratory animals were applied according to guidelines of ethics committee of Islamic Azad University, Marvdasht Branch (IR.IAU.M.1400.037).

### Training protocol

During 8 weeks, the intense interval training protocol consisted of performing training sessions with an intensity of 80-85% of the maximum speed for 2 minutes and active rest periods of 1 minute, which increased from 6 training intervals in the first week to 12 training intervals in the last week. The total volume of trainings (intensity, duration and repetition) between the training groups (intense interval training and low-intensity continuous training groups) matched. As intensity training in low-intensity continuous training group was 50 to 55% of the maximum running speed, the running duration in the first week increased from 25 minutes to 50 minutes in the final week.

### Extraction of laboratory animal tissue:

At the end, 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized by ketamine and xylosin, and their heart tissue was extracted by the laboratory technician and transferred to the laboratory to measure the gene expression levels of SIRT3 and HSP70.

**Assessment of studied factors:** Gene expression was performed using Real Time-PCR. Then, Total RNA extraction, extraction of extracted RNA (OD) concentration from tissue by bio photometer (NanoDrop1000), cDNA synthesis was performed. Finally, real-time data were analyzed.

### Statistical analysis

After collecting data and calculating the mean and standard deviation of data using descriptive statistics, Shapiro Wilk test was used to determine the normal distribution of data. In the related variables, one-way ANOVA test was used for comparison between groups and control group and then Tukey's post hoc test was used to compare the differences between groups.

### Results

Gene expression levels of SIRT3 and HSP70 in the heart tissue of rats in three groups are presented in Figures 1 and 2, respectively. The results of the one-way analysis of variance test showed that there are significant differences in the gene



expression levels of SIRT3 ( $P=0.001$ ) and HSP70 ( $P=0.02$ ) in the heart tissue of rats in the research groups. The results of Tukey's *post-hoc* test showed that SIRT3 gene expression levels in continuous training and interval training groups were significantly higher than the control group ( $P=0.001$ ), however, there was no significant difference in SIRT3 gene expression levels between continuous training and interval training groups ( $P=0.35$ ); Also, HSP70 gene expression levels in the interval training group were lower than the control group ( $P=0.01$ ).

### Discussion

It seems that the increase of deacetylases following exercise increases the expression of SIRT3 gene, which indicates the improvement of mitochondrial function in diabetic rats with high- fat diet- induced obesity. In addition, exercises reduce the need for insulin by increasing muscle mass and glucose transporters into the muscles, and finally moderate intensity exercises can lead to an increase in HSP70 expression. But it seems that performing high-intensity exercises is also a factor in increasing oxidative stress and injuries. Therefore, the reduction of HSP70 in this research can be caused by the induction of oxidative stress caused by exercise.

### Article message

Proving the role of mitochondrial biogenesis following intense interval and continuous moderate intensity trainings in the heart tissue of rats was one of the strengths of the present research, which has been less discussed in previous studies in the conditions of type 2 diabetes. Therefore, continuous and interval trainings seem to play a role in improving mitochondrial function by increasing SIRT3 expression; However, due to the decrease in HSP70 levels following intense interval trainings, it seems that more studies with the approach of cell damage following high intensity interval trainings are needed.



## مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال دهم، شماره دوم؛

بایز و زمستان ۱۴۰۲؛ صفحات ۱۱۰-۱۲۳

Open Access

مقاله پژوهشی

## اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن SIRT3 و HSP70 بافت

## قلب رتهای نر نژاد اسپراگ-داولی چاق شده با غذای پر چرب و مبتلا به دیابت

میثم روزستان<sup>۱</sup>، خالد محمدزاده سلامت<sup>۱\*</sup>، سیدعلی حسینی<sup>۲</sup>، کمال عزیزبگی<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

## چکیده

**هدف:** تاثیر تمرین ورزشی در کنترل بیماری دیابت اثبات شده است، اما تفاوت بین نوع تمرین به ویژه تداومی با شدت متوسط و تناوبی شدید بر مکانیسم های محافظتی بافت قلب هنوز به خوبی شناخته نشده است. لذا هدف از مطالعه حاضر مقایسه اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر بیان ژن SIRT3 و HSP70 بافت قلب رت های چاق شده با غذای پر چرب و مبتلا به دیابت بود. **روش شناسی:** ۱۸ سر رت نر نژاد اسپراگ-داولی به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی پرچرب و سپس تزریق صفاقی mg/kg ۳۰ استروپتوزوتوسین قرار گرفتند. رت ها بر اساس گلوکز خون در ۳ گروه ۶ تایی، تمرین تناوبی شدید، تمرین تداومی با شدت پایین، و کنترل تقسیم شدند. همچنین ۶ سر رت برای بررسی اثر رژیم غذایی پرچرب و دیابت بر متغیر های تحقیق در گروه کنترل سالم بررسی شدند. طول پروتکل تمرینات ۸ هفته بود که طی آن گروه تمرین تناوبی در هفته اول ۶ و در هفته آخر ۱۲ وهله تمرینی را با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن انجام دادند. تمرین گروه تمرین تداومی با شدت متوسط شامل دویدن ۵۰ تا ۵۵ درصد حداکثر سرعت بود، که از ۲۵ دقیقه هفته اول به ۵۰ دقیقه در هفته پایانی رسید. در انتها مقادیر بیان ژن SIRT3 و HSP70 در بافت قلب به روش qReal Time PCR اندازه گیری شد. همچنین جهت تحلیل یافتهها از آزمون آنالیزواریانس (ANOVA) یکراهه استفاده شد ( $P < 0.05$ ). **یافته ها:** مقادیر بیان ژن SIRT3 در گروههای تدامی با شدت متوسط و تناوبی شدید به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود ( $P = 0.001$ ). همچنین مقادیر بیان ژن HSP70 در گروه تناوبی شدید به طور معنی داری پایینتر از گروه کنترل بود ( $P = 0.01$ ). تفاوت معنی داری در مقادیر SIRT3 و HSP70 در تمرین تناوبی شدید و تداومی مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ). **نتیجه گیری:** به نظر میرسد فعالیتهای ورزشی تداومی و تناوبی با افزایش بیان SIRT3 در بهبود عملکرد میتوکندریایی نقش دارند؛ اما با توجه کاهش مقادیر HSP70 در گروه تمرینات تناوبی شدید انجام مطالعات بیشتر در ارتباط با تاثیر تمرینات شدید بر دیگر مکانیسمهای مرتبط با نشانگرهای حفاظتی سلول لازم است.

## واژه های کلیدی: ورزش، SIRT3، HSP70، قلب، دیابت

**نحوه ارجاع:** روزستان میثم، محمدزاده سلامت خالد، حسینی سیدعلی، عزیزبگی کمال. "اثر تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر بیان SIRT3 و HSP70 بافت قلب رت ها دیابتی چاق شده با غذای پر چرب". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۲: ۱۰ (۲)، ۱۱۰-۱۲۳.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28232.1536

DOR: 20.1001.1.26766507.1402.10.2.9.1



با اسکن QR فوق می توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت  
www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، مرودشت، ایران

(نویسنده مسئول): خالد محمد زاده سلامت

[kh.mohamadzadeh@gmail.com](mailto:kh.mohamadzadeh@gmail.com)

## مقدمه

محافظت در برابر بروز مقاومت به انسولین مرتبط با چاقی می باشد (۵). علاوه بر این به نظر میرسد HSP ها در میزان بیان ژنهای مرتبط با بیوژنز میتوکندریایی در ارتباط هستند؛ به طوری که HSP72 و HSP72 با افزایش بیان عامل ترجمه‌های DNA میتوکندریایی<sup>۶</sup> (Tfam)، پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP<sup>۸</sup> (AMPK) و SIRT1 مرتبط هستند و اختلالات متابولیکی منجر به اختلال در روند بیوژنز میتوکندریایی از این مسیرها میشود (۶).

پژوهشگران بر این عقیده‌اند که فعالیت ورزشی به عنوان یک روش درمانی بدون عارضه جانبی و غیر تهجمی در درمان بیماری دیابت نوع ۲ و کاهش وزن شناخته میشود (۷)؛ تمرینات ورزشی میتوانند با بهبود لیپولیز، بهبود نیمرخ چربی، کاهش استرس اکسیداتیو منجر به بهبود شاخصهای متابولیکی در شرایط ابتلا به دیابت شوند (۴). مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی با فعال کردن مسیر پیام رسان کالمدولین کیناز<sup>۹</sup> موجب افزایش داستیلاسیونها میگردد و در این مسیر به فعال سازی SIRT3 منجر خواهد شد (۸). همچنین تمرینات ورزشی با تغییراتی در دمای مرکزی بدن تأثیرات متفاوتی بر HSPها دارند و از این مسیر میتوانند موجب تغییراتی در عملکرد سلول و بیوژنز میتوکندریایی شوند؛ به عبارتی سازگاری با تمرینات ورزشی در بلند مدت میتواند منجر به افزایش برخی از HSPها مانند HSP70 و HSP72 شوند و این امر با بهبود بیوژنز میتوکندریایی و پروتئینهای SIRT1، SIRT3 و نیتریک اکسید سنتتاز اندوتلیالی<sup>۱۰</sup> (eNOS) گردند (۹). با این حال نوع تأثیر تمرینات ورزش بر مکانیسمهای محافظتی و بیوژنز میتوکندریایی سلول وابسته به نوع و شدت تمرین است؛ به گونهای که در مطالعه داوری<sup>۱۱</sup> و همکاران، تفاوتی بین دو نوع تمرین تناوبی و تداومی بر برخی نشانگرهای ردوکس سلولی و التهابی گزارش دادند (۴). با توجه به اینکه مطالعات مختلفی در حال حاضر به نقش فعالیتهای ورزشی بر بهبود و پیشگیری بیماریهای قلبی عروقی ناشی از دیابت انجام شده است، اما نتایج متناقضی در ارتباط با تأثیر

چاقی و دیابت نوع ۲ که عموماً با افزایش درصد چربی بدن مرتبط است، به عنوان یک مشکل مهم سلامت عمومی تبدیل شده است که شیوع آن در سراسر جهان در حال افزایش است. با افزایش شیوع چاقی و دیابت نوع ۲ خطر ابتلا به بیماریهای قلبی نیز افزایش مییابد؛ این مشکل نه تنها در کشورهای توسعه یافته بلکه در کشورهای در حال توسعه نیز گریبانگیر افراد شده است (۱-۳). اخیراً انجمن جهانی دیابت پیش بینی نموده است که تا سال ۲۰۳۰ نزدیک به ۹/۳ درصد از افراد با سن ۲۰-۷۹ سال (حدوداً ۴۶۳ میلیون نفر) در سراسر جهان به این بیماری مبتلا خواهند شد (۳)؛ دیابت، مقاومت به انسولین، بیماریهای قلبی-عروقی و برخی از انواع سرطانها بیماریهایی هستند که افراد چاق بیشتر مستعد ابتلا به آنها هستند (۱).

پژوهشگران چاقی را عاملی جهت ایجاد اختلال در متابولیسم چربی میدانند که منجر به افزایش سطوح لیپوپروتئین با چگالی پایین<sup>۱</sup> (LDL)، و تری گلیسرید<sup>۲</sup> (TG) گردش خون و نیز کاهش لیپوپروتئین با چگالی بالا<sup>۳</sup> (HDL)، اختلالات گلوکز و انسولین میشود (۳). مطالعات نشان داده است بیماری دیابت همراه با اختلال در اکسیداسیون اسیدهای چرب می باشد. سیرت<sup>۴</sup> (SIRT3) یک سیرتوئین میتوکندریایی است که اعمال مختلفی از جمله اکسیداسیون اسید چرب طی گرسنگی و تولید آدنوزین-۳ فسفات<sup>۵</sup> (ATP) را تنظیم میکند. بهطوری که حذف ژن SIRT3 در نمونههای حیوانی منجر به کاهش بیوژنز میتوکندریایی شد (۴). از طرفی پروتئین شوک گرمایی بخشی از یک خانواده پروتئینی هستند که به عنوان پروتئینهای استرسی شناخته شده و بیان ژنی آنها ناشی از طیف گستردهای از عوامل استرسزا مانند استرس اکسیداتیو، تنشهای حرارتی، سکنه قلبی، ورزش، استرس متابولیکی و بسیاری از موارد دیگر میباشد. پروتئین شوک گرمایی-۷۰<sup>۶</sup> (HSP70) دارای دو نقش التهابی و ضد التهابی است. مطالعات نشان داده‌اند که در بیماری دیابت پروتئین HSP70 قادر به

## 6. Heat shock protein-70

## 7. Mitochondrial transcription factor A

8. AMP-activated protein kinase<sup>۱</sup>9. Calmodulin-dependent protein kinase<sup>۱</sup>10. Endothelial nitric oxide synthase<sup>۱</sup>

## 1. Low Density Lipoprotein

## 2. Triglyceride

## 3. High Density Lipoprotein

## ۴. Sirtuin 3

## ۵. Adenosine 3'-phosphate



ساعته در نظر گرفته شد؛ رطوبت نسبی محیط ۵۵ تا ۶۰ درصد بود. همچنین جهت جذب رطوبت زیر پای رت ها بستری از خاک رنده چوب استریل استفاده میگردید.

### روش القا دیابت نوع ۲

پس از طی دوره سازگاری با محیط ۱۸ سر رت نژاد اسپرذاگ-داولی انتخاب و به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب قرار گرفتند که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتمل شده از روغن حیوانی) حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین (۱۵ درصد انرژی) و ۴۱ گرم کربوهیدرات (۴۰ درصد) در هر ۱۰۰ گرم بود (۱۱). بر اساس اطلاعات موجود تهیه شده از شرکت بهرپرور هر گرم از غذای رت ها دارای ۳/۶ کیلوکالری انرژی بود و پس از تهیه رژیم غذایی پرچرب مقدار کالری هر گرم از غذا به ۶/۷ کیلوکالری رسید. پس از گذشت سه ماه از مصرف این رژیم غذایی به منظور رسیدن رت ها به وزن بالای ۳۱۰ گرم که بر اساس شاخص لی به عنوان رت چاق شناخته میشوند، القای دیابت با تزریق تک دوز استروپتوزوتوسین حل شده در بافر سدیم سترات با  $\text{PH}=4/5$  به مقدار  $30 \text{ mg/kg}$  به صورت درون صفاقی انجام شد. در ادامه جهت تایید دیابت، ۹۶ ساعت پس از تزریق سم استروپتوزوتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و رت های دارای گلوکز خون بالاتر از  $300 \text{ mg/dl}$  به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند (۴).

### گروه بندی و روش تمرینات ورزشی

واکنش قند خون به سم استروپتوزوتوسین متفاوت بوده و رت های دارای قند خون متفاوتی بوده اند. با توجه به تاثیر قند خون بر آسیب های قلبی و متغیرهای تحقیق، ابتدا رت ها بر اساس قند خون تفکیک شدند و سپس سعی بر آن بود که همه گروهها گلوکز خون همگن داشته باشند. بنابراین رت های دیابتی بر اساس گلوکز در ۳ گروه ۶ سری (۱) تمرین تناوبی شدید، (۲) تمرین تداومی با شدت متوسط، و (۳) کنترل بیمار تقسیم شدند. علاوه بر این برای بررسی اثرات القا دیابت نوع ۲ بر متغیرهای تحقیق تعداد ۶ سر رت در گروه کنترل سالم قرار گرفتند. این نکته قابل ذکر است که پس از اطمینان از ابتلا به دیابت و ۴ روز پس از گروه بندی و القا دیابت تمرینات ورزشی شروع شد. در طول ۸ هفته پروتکل تمرینات تناوبی شدید شامل اجرای وهله های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن به مدت ۲ دقیقه و با دوره های استراحتی فعال ۱ دقیقه ای (۵۰ درصد سرعت دویدن) بود که از ۶ وهله تمرینی در هفته اول به ۱۲ وهله تمرینی در هفته آخر رسید. به عبارتی در هفته اول تمرینات ورزشی در

شدتهای مختلف تمرین ورزشی بر سطوح SIRT3 و HSP70 گزارش شده است. برای مثال ۱۱ هفته تمرینات قدرتی با شدت بالا (۱۰) و ۲۷ جلسه تمرین هوازی با شدت ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۱۱) موجب افزایش سطوح HSP70 گردید؛ ولی ۱۲ هفته تمرین مقاومتی کم شدت (۱۲) و یک جلسه تمرین با دوچرخه کارسنج (۱۳) موجب کاهش سطوح HSP70 گردید. از سوی پژوهشگران نشان دادند بیان پروتئین SIRT3 بوسیله تمرین ورزشی در عضله اسکلتی افزایش مییابد که در نتیجه باعث بهبود بیونژن میتوکندریایی سلول میشود (۱۴) همچنین پالاسیوس<sup>۱</sup> و همکاران، (۲۰۰۹) نشان دادند تمرینات ورزشی استقامتی و رژیم غذایی کم چرب موجب افزایش بیان AMPK و PGC1 $\alpha$ ، SIRT3 در عضله اسکلتی گردد (۱۲).

با توجه به شیوع چاقی و ابتلا به دیابت نوع ۲ و افزایش مرگ و میر ناشی از آن، انجام مطالعات بنیادی برای درک بیشتر مکانیسم نوع تمرین بر نشانگرهای محافظتی و بیونژن میتوکندریایی در بافت قلب برای پیشگیری از اختلالات قلبی-عروقی در این افراد ضروری است. از اینرو با توجه به محدودیت اطلاعات در رابطه با تاثیر فعالیتهای ورزشی با شدت و حجمهای مختلف بر SIRT3 و HSP70 در شرایط چاقی و دیابت نوع ۲ به نظر میرسد با انجام چنین مطالعاتی بتوان اطلاعات بنیادی بیشتری در ارتباط با پیشگیری از بیماریهای قلبی-عروقی با محوریت دو پروتئین محافظتی SIRT3 و HSP70 در بیماری چاقی و دیابت نوع ۲ بدست آورد. از اینرو مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر دو شیوه تمرین تداومی با شدت متوسط و تناوبی شدید بر بیان ژن SIRT3 و HSP70 در بافت قلب رت های چاق شده با غذای پر چرب و مبتلا به دیابت انجام شد.

### روش پژوهش

#### نگهداری حیوانات

در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت نژاد اسپرذاگ-داولی تهیه به و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه به مدت هفت روز در آزمایشگاه جهت سازگاری با محیط در قفس نگهداری شدند و فقط هنگام شستشو قفسها از آن خارج میشدند. در کل دوره تحقیق غذا و آب آشامیدنی به صورت آزادانه و در دسترس در اختیار حیوانات قرار میگرفت. این نکته قابل ذکر است که در تحقیق حاضر اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد که توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تایید گردید (IR.IAU.M.1400.037). رت ها در دمای استاندارد ۲۲-۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند؛ چرخه روشنایی-تاریکی برای آنها ۱۲

رت های دارای گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ mg/dl به عنوان نمونه آماری انتخاب شدند (۴).

**گروه‌بندی و روش تمرینات ورزشی**

واکنش قند خون به سم استروپتوزتوسین متفاوت بوده و رت های دارای قند خون متفاوتی بوده‌اند. با توجه به تاثیر قند خون بر آسیب‌های قلبی و متغیرهای تحقیق، ابتدا رت ها بر اساس قند خون تفکیک شدند و سپس سعی بر آن بود که همه گروهها دارای گلوکز خون همگن داشته باشند. بنابراین رت های دیابتی بر اساس گلوکز در ۳ گروه ۶ سری (۱) تمرین تناوبی شدید، (۲) تمرین تداومی با شدت متوسط، و (۳) کنترل بیمار تقسیم شدند. علاوه بر این برای بررسی اثرات القا دیابت نوع ۲ بر متغیر های تحقیق تعداد ۶ سر رت در گروه کنترل سالم قرار گرفتند. این نکته قابل ذکر است که پس از اطمینان از ابتلا به دیابت و ۴ روز پس از گروه‌بندی و القا دیابت تمرینات ورزشی شروع شد. در طول ۸ هفته پروتکل تمرینات تناوبی شدید شامل اجرای وهله‌های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن به مدت ۲ دقیقه و با دوره های استراحتی فعال ۱ دقیقه‌های (۵۰ درصد سرعت دویدن) بود که از ۶ وهله تمرینی در هفته اول به ۱۲ وهله تمرینی در هفته آخر رسید. به عبارتی در هفته اول تمرینات ورزشی در هفته اول و دوم با ۶ وهله با شدت ۸۰ درصد حداکثر سرعت دویدن شروع شد. در ادامه هر هفته ۲ وهله تمرینی به وهله ها اضافه گردید تا در هفته هشتم به ۱۲ وهله با شدت ۸۵ حداکثر درصد سرعت دویدن برسد. در این صورت هفته اول تمرینات اصلی در هفته اول ۱۷ دقیقه بود و در هفته آخر به ۳۵ دقیقه رسید. بر اساس مطالعات پیشین حجم کل فعالیت ورزشی در هر دو نوع تمرین همسان بود. به گونه ای که زمان کم انجام تمرینات تناوبی شدید و زمان بیشتر انجام تمرینات تداومی با شدت متوسط در هر جلسه از نظر میزان صرف انرژی و بر اساس مطالعات پیشین همسان بود. بر این اساس، مدت فعالیت گروه تمرین تداومی با شدت متوسط در هفته اول از ۲۵ دقیقه به ۵۰ دقیقه در هفته پایانی رسید(۴،۱۵).

هفته اول و دوم با ۶ وهله با شدت ۸۰ درصد حداکثر سرعت دویدن شروع شد. در ادامه هر هفته ۲ وهله تمرینی به وهله ها اضافه گردید تا در هفته هشتم به ۱۲ وهله با شدت ۸۵ حداکثر درصد سرعت دویدن برسد. در این صورت هفته اول تمرینات اصلی در هفته اول ۱۷ دقیقه بود و در هفته آخر به ۳۵ دقیقه رسید. بر اساس مطالعات پیشین حجم کل فعالیت ورزشی در هر دو نوع تمرین همسان بود. به گونه‌ای که زمان کم انجام تمرینات تناوبی شدید و زمان بیشتر انجام تمرینات تداومی با شدت متوسط در هر جلسه از نظر میزان صرف انرژی و بر اساس مطالعات پیشین همسان بود. بر این اساس، مدت فعالیت گروه تمرین تداومی با شدت متوسط در هفته اول از ۲۵ دقیقه به ۵۰ دقیقه در هفته پایانی رسید(۴،۱۵).

**نگهداری حیوانات**

در این مطالعه تجربی ۲۴ سر رت نر نژاد اسپراگ-داولی تهیه به و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه به مدت هفت روز در آزمایشگاه جهت سازگاری با محیط در قفس نگهداری شدند و فقط هنگام شستشو قفسها از آن خارج میشدند. در کل دوره تحقیق غذا و آب آشامیدنی به صورت آزادانه و در دسترس در اختیار حیوانات قرار میگرفت. این نکته قابل ذکر است که در تحقیق حاضر اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد که توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تایید گردید(IR.IAU.M.1400.037). رت ها در دمای استاندارد ۲۲-۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند؛ چرخه روشنایی-تاریکی برای آنها ۱۲ ساعته در نظر گرفته شد؛ رطوبت نسبی محیط ۵۵ تا ۶۰ درصد بود. همچنین جهت جذب رطوبت زیر پای رت ها بستری از خاک رنده چوب استریل استفاده میگردد.

**روش القا دیابت نوع ۲**

پس از طی دوره سازگاری با محیط ۱۸ سر رت نژاد اسپرژادگ-داولی انتخاب و به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی در دسترس پرچرب قرار گرفتند که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی (مشتق شده از روغن حیوانی) حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین (۱۵ درصد انرژی) و ۴۱ گرم کربوهیدرات (۴۰ درصد) در هر ۱۰۰ گرم بود (۱۱). بر اساس اطلاعات موجود تهیه شده از شرکت بهرپرور هر گرم از غذای رت ها دارای ۳/۶ کیلوکالری انرژی بود و پس از تهیه رژیم غذایی پرچرب مقدار کالری هر گرم از غذا به ۶/۷ کیلوکالری رسید. پس از گذشت سه ماه از مصرف این رژیم غذایی به منظور رسیدن رت ها به وزن بالای ۳۱۰ گرم که بر اساس شاخص لی به عنوان رت چاق شناخته می شدند، القای دیابت با تزریق تک دوز استروپتوزتوسین حل شده در بافر سدیم سیترات با PH=۴/۵ به مقدار ۳۰ mg/kg به صورت درون صفاقی انجام شد. در ادامه جهت تایید دیابت، ۹۶ ساعت پس از تزریق سم استروپتوزتوسین با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و

**جدول ۱. طرح تمرینات تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط در تحقیق**

هفته اول	تعداد تناوب	شدت (سرع ت بیشینه)	تمرین تناوبی شدید		تمرین تداومی با شدت متوسط	
			زمان (دقیق)	سرع ت (متر بر دقیقه)	زمان (دقیق)	سرع ت (متر بر دقیقه)
	۵	۵	۵	۵	۵	۵



جدول ۱. توالی پرایمر های تحقیق

Genes	Primer Sequences	Sizes (bp)
Actin, Beta	Forward: 5'-TCTATCCTGGCCTCACTGTC-3' Reverse: 5'-AACGCAGCTCAGTAACAGTCC-3'	122
HSP 70	Forward: 5'-GAGAACCGGTCGTTCTACCC-3' Reverse: 5'-GAGTCGTTGAAGTAGGCCGGG-3'	131
Sirt3	Forward: 5'-CCCAATGTCGCTCACTACTCC-3' Reverse: 5'-CGTCAGCCCGTATGTCTTCC-3'	199

### روش تجزیه و تحلیل داده ها

جهت بررسی نرمال بودن توزیع دادهها از آزمونهای آماری شاپیرو-ویلک، و همچنین برای مقایسه میانگین متغیرهای تحقیق از آزمون آنالیز واریانس یک راهه به همراه آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تحلیل آماری توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد مقدار  $\alpha$  در همه اندازهگیری ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافتهها

سطوح بیان ژنی SIRT3 و HSP70 در بافت قلب رت ها در گروههای کنترل، تمرین تناوبی شدید و تمرین تداومی با شدت متوسط به ترتیب در نمودار های ۱ و ۲ و شکل های ۱ و ۲ ارائه شده است. همچنین مقادیر بیان ژن کنترل داخلی (بتا اکتین) نیز در نمودار ۳ نشان داده شده است. در نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد تفاوت معنی داری در سطوح بیان ژنی SIRT3 ( $P=0/001$ ) و HSP70 ( $F=19/81$ ) و ( $P=0/02$ ) و ( $F=6/87$ ) در بافت قلب رت ها در گروههای تحقیق وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح بیان ژنی SIRT3 در گروههای تدامی با شدت متوسط و تناوبی شدید به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود ( $P=0/001$ ) با این وجود تفاوت معنی داری در سطوح بیان ژنی SIRT3 بین گروههای تدامی با شدت متوسط و تناوبی شدید وجود نداشت ( $P=0/35$ )؛ همچنین سطوح بیان ژنی HSP70 در گروه تناوبی شدید پایینتر از گروه کنترل بود ( $P=0/01$ ).

هفته دوم	۶	۸۰	۱۷	۲۹	۵۰	۲۵	۱۸
هفته دوم	۶	۸۰	۱۷	۲۹	۵۰	۲۸	۱۸
هفته سوم	۸	۸۰	۲۲	۲۹	۵۰	۳۲	۱۸
هفته چهارم	۸	۸۰	۲۲	۲۹	۵۰	۳۵	۱۸
هفته پنجم	۱۰	۸۵	۲۹	۳۲	۵۵	۳۹	۲۰
هفته ششم	۱۰	۸۵	۲۹	۳۲	۵۵	۴۰	۲۰
هفته هفتم	۱۲	۸۵	۳۵	۳۲	۵۵	۴۶	۲۰
هفته هشتم	۱۲	۸۵	۳۵	۳۲	۵۵	۵۰	۲۰
تم							

✓ در تمرینات تناوبی شدید زمان تمرین با شدت بالا دو دقیقه و زمان ریکاوری ۱ دقیقه بود.

✓ شدت ریکاوری ۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن در نظر گرفته شد.

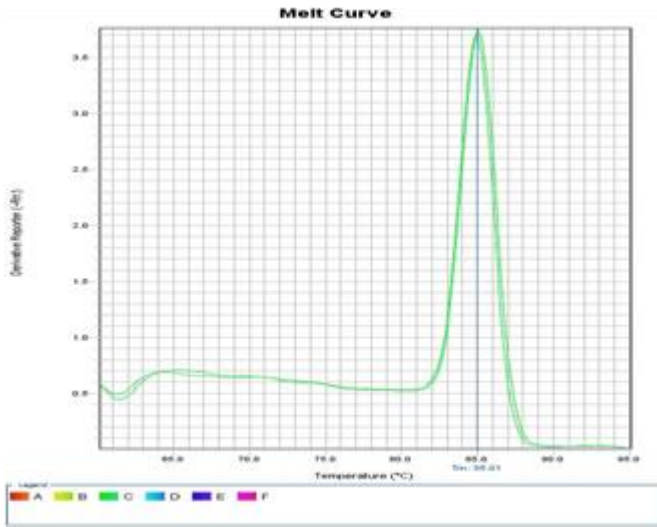
✓ سرد کردن و گرم کردن در ابتدا و انتهای تمرین به مدت ۵ دقیقه با ۵۰ درصد سرعت پیشینه در نظر گرفته شد.

### تشریح حیوانات و روش اندازهگیری متغیرها

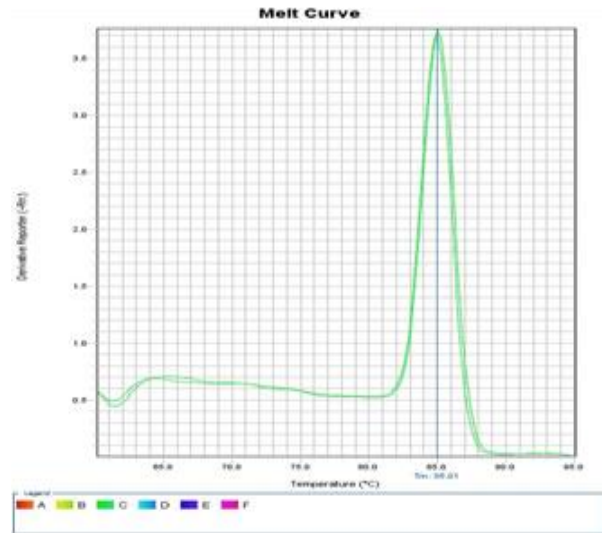
در پایان ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت های نژاد اسپراگ-داولی به وسیله کتامین و زایلوزین<sup>۱</sup> بیهوش شدند و بافت قلب آنها توسط کارشناس آزمایشگاه استخراج و جهت اندازهگیری سطوح بیان ژنی SIRT3 و HSP70 به آزمایشگاه انتقال یافت. اندازهگیری سطوح بیان ژنی SIRT3 و HSP70 به روش qReal Time PCR با استفاده از بروشور کیت ویژه استخراج RNA (K-180A) و سنتز cDNA (Rosh) و مستر میکس، RealQ 2x Master mix Green (Dye ساخت AMPLQON دانمارک) اندازهگیری شد. همچنین برای ارزیابی و کمی سازی متغیرها از ژن کنترل داخلی Beta Actin استفاده شد و در ادامه برای کمی سازی دادهها از فرمول  $2^{-\Delta\Delta CT}$  استفاده شد (۱۶). توالی پرایمرهای تحقیق حاضر در جدول ۱ ارائه شده است.

<sup>۱</sup> Ketamine and Xylozin

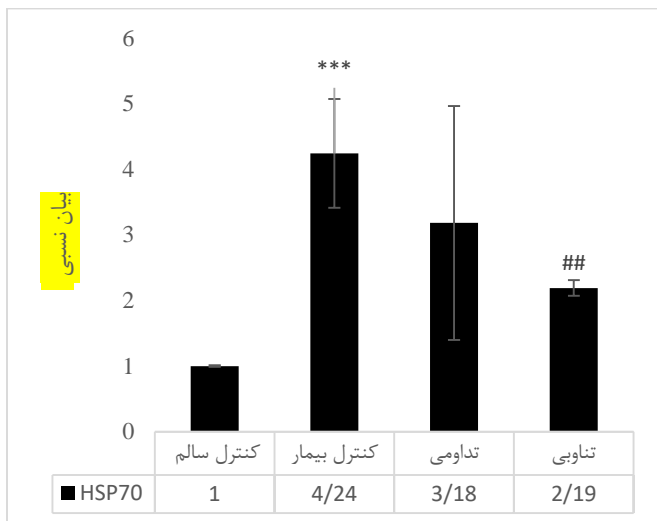




نمودار ۳. Melt curve ژن HSP70 در تحقیق حاضر



نمودار ۱. Melt curve ژن SIRT3 در تحقیق حاضر

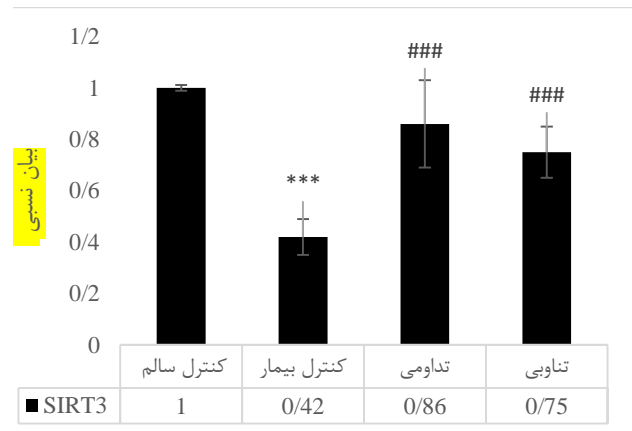


شکل ۴. سطوح بیان ژنی HSP70 در بافت قلب رت ها در

گروههای سه گانه تحقیق

\*\*\*  $P < 0.001$  افزایش معنیدار نسبت به گروه کنترل سالم

##  $P < 0.01$  کاهش معنیداری در گروه تناوبی شدید نسبت به گروه کنترل

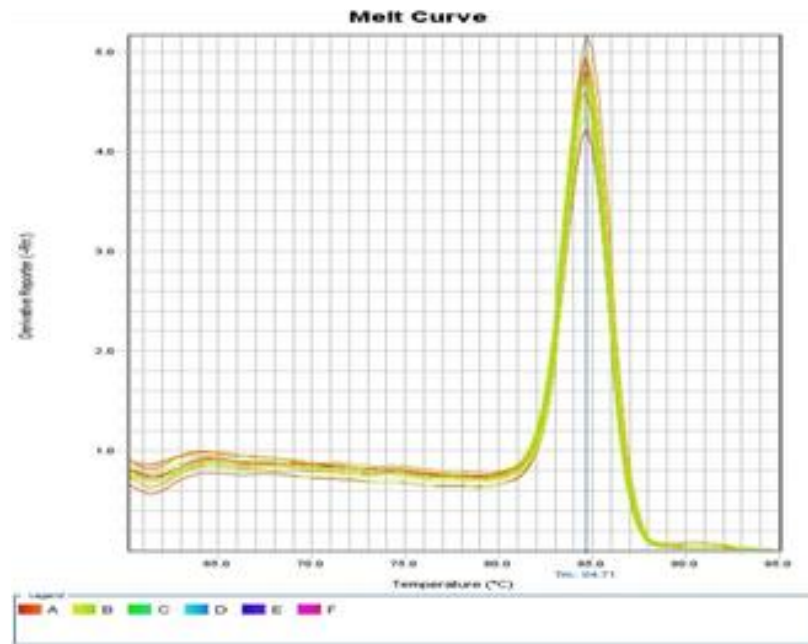


شکل ۲. سطوح بیان ژنی SIRT3 در بافت قلب رت ها در

گروه های سه گانه تحقیق

\*\*\*  $P < 0.001$  کاهش معنیداری در نسبت به گروه کنترل سالم

###  $P < 0.001$  افزایش معنی دار در گروه تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط نسبت به گروه کنترل بیمار



نمودار ۵. Melt curve ژن کنترل داخلی Beta Actin در تحقیق حاضر

نقش دارند(۸). مطالعات نشان داده‌اند که سطوح SIRT3 در افراد تمرین کرده استقامتی در مقایسه با افراد بدون تمرین همسن بالاتر است (۱۸). در مطالعات مختلف گزارش شده است که تحریکات الکتریکی مزمن (۱۲) و همچنین فعالیتهای ورزشی (۱۹،۲۰) سطوح پروتئینی SIRT3 را در بافت عضله اسکلتی افزایش میدهد با این وجود فعالیت ورزشی حاد این اثر را ندارد (۲۱). در رت‌ها SIRT3 در بافتهای مختلف با نیازهای انرژی بالا از جمله مغز، کلیه، قلب و کبد بیان به طور زیادی بیان میشود، بیان SIRT3 موش‌های با محدودیت کالری و قرار گرفتن در معرض سرما تنظیم مثبت میشود و بیان بیش از حد mSIRT3 در آدیپوسیتها منجر به القاء ژنهای دخیل در عملکرد میتوکندری و ترموژن میشود (۲۲). به نظر میرسد SIRT3 در کنترل عملکرد متابولیکی میتوکندری از جمله متابولیسم اسیدهای چرب و همچنین تنظیم بیوژنز میتوکندریایی مشارکت دارد (۲۳). لذا افزایش سطوح بیان ژنی SIRT3 به دنبال تمرینات تناوبی و تدامی در مطالعه حاضر میتواند نشان دهنده بهبود عملکرد میتوکندریایی در رتهای چاق شده با غذای پر چرب و مبتلا به دیابت باشد. با این حال با توجه به پیچیدگی این مسیرهای سلولی مولکولی نیاز به بررسیهای جامعتری میباشد. گزارش شده است که اختلالات میتوکندریایی دارای یک رابطه معنیداری با فرایند آپوپتوز و در نهایت کاهش طول عمر میباشد

بحث

هدف مطالعه حاضر بررسی و مقایسه تاثیر دو شیوه تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط بر مقادیر بیان ژنی Sirt3 و HSP70 در بافت قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ بود؛ نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر SIRT3 در گروه‌های تمرین تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط به طور معنیداری بالاتر از گروه کنترل مبتلا به دیابت نوع ۲ گردید. همسو با یافتههای تحقیق حاضر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و تداومی هوازی منجر به افزایش سطوح SIRT3 در بافت عضله اسکلتی رت‌های چاق ویستار شد (۸) همچنین تمرین تداومی منجر به افزایش SIRT3 بافت کبد رت‌ها گردید(۱۷). تحقیقات نشان داده‌اند SIRT3 در انسان با طول عمر مرتبط است و بیان غیرعادی این سیرتوئین با اختلالات متابولیکی ارتباط مثبت و معنیداری دارد و این نشان دهندهی این است که SIRT3 میتواند به عنوان یک هدف درمانی و تشخیصی مهم در بیماری و سالمندی بکار رود. به علاوه مشخص شده است که یکی از دلایل اصلی مرگ سلولی بوسیله استرس ژنوتاکسیک ناشی از تخلیه +NAD۲ هسته و سیتوپلاسم است. بنابراین سطوح +NAD سلول که از عوامل اصلی فعال کنندههای سیرتوئینها میباشد در مرگ سلولی و طول عمر

<sup>2</sup> Nicotinamide adenine dinucleotide

<sup>1</sup> Genotoxic



و تداومی همراه با کنترل کالری مصرفی و همچنین فعالیت بدنی رت‌ها در کل دوره تحقیق با استفاده از نرم افزار آتو ویزن بررسی شود. با توجه به تاثیر Sirt3 در بیوزنز میتوکندریایی و HSP70 در محافظت سلولی به نظر می‌رسد عدم ارزیابی مسیرهای پایین دست آنها از محدودیت‌های مطالعه حاضر است. لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی بررسی‌های سلولی مولکولی بیشتری برای اطمینان از بیوزنز میتوکندریایی مانند PGC-1 $\alpha$  و عامل رونویسی اختصاصی میتوکندریایی و همچنین محافظت سلولی مانند آنتیاکسیدان‌های ویژه سلول و میتوکندری اندازه‌گیری شود. همچنین با توجه به اهمیت تغییرات ساختاری و پاتولوژی عدم بررسی بافت قلب با روش‌های میکروسکوپی از محدودیت‌های دیگر این مطالعه بود؛ لذا پیشنهاد می‌گردد در مطالعات آتی تغییرات میکروسکوپی و ماکروسکوپی بیشتری صورت گیرد.

### نتیجه‌گیری

اثبات نقش بیوزنز میتوکندریایی متعاقب تمرینات تناوبی شدید و تداومی با شدت متوسط در بافت قلب رت‌ها یکی از نقاط قوت تحقیق حاضر بود که کمتر به این موضوع در مطالعات قبلی در شرایط القا دیابت نوع ۲ پرداخته شده است. لذا به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی تداومی و تناوبی از مسیر افزایش بیان SIRT3 در بهبود عملکرد میتوکندریایی نقش داشته باشد؛ با این وجود با توجه کاهش مقادیر HSP70 متعاقب تمرینات تناوبی شدید، به نظر می‌رسد مطالعات بیشتری با رویکرد آسیب سلولی متعاقب تمرینات با شدت بالا نیاز است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری آقای ..... است. لذا بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ..... و کارشناسان آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ..... تشکر به عمل می‌آید.

### تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

short review of the literature. *Malawi Med J.* 2014;26(1):20-4.

- Oraii A, Shafee A, Jalali A, Alaeddini F, Saadat S, Masoudkabar F, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of type 2 diabetes mellitus among the adult residents of tehran: Tehran Cohort Study. *BMC Endocr Disord.* 2022;22(1):1-15.

(۲۴). از اینرو با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر میتوان بیان نمود که یکی از راه‌های بهبود کیفیت زندگی و طول عمر در وضعیت ابتلا به دیابت چاقی استفاده از فعالیت‌های ورزشی تداومی و تناوبی میباشد.

در مطالعه حاضر نتایج نشان داد سطوح بیان ژنی HSP70 در گروه تمرینات تناوبی شدید به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تمرین تداومی با شدت متوسط و کنترل مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. همسو با یافته‌های تحقیق حاضر ۱۰ هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنی‌دار HSP70 در زنان مبتلا به دیابت شد (۱۰)، ۱۲ هفته تمرینات ترکیبی منجر به بهبود سطوح HSP70 در زنان مبتلا به دیابت نوع ۲ شد (۲۳). همچنین هشت هفته تمرین تناوبی شدید منجر به کاهش HSP70 رت‌ها در مدل سگته قلبی شد (۲۵). با این وجود در تضاد با یافته‌های مطالعه حاضر چهار هفته تمرین هوازی منجر به کاهش HSP70 در رت‌های تغذیه شده با روغن‌های حرارت دیده عمیق گردید (۲۶). گزارش شده است که در افراد مبتلا به دیابت سطوح HSP70 افزایش می‌یابد. در حقیقت افراد مبتلا به دیابت اغلب دارای فعالیت بدنی پایین می‌باشند که میتواند منجر به بروز اختلالات متابولیکی متعدد گردد که خود میتواند اختلالات ناشی از دیابت را افزایش دهد؛ از اینرو فعالیت‌های ورزشی میتوانند بروز و شیوع سندرم متابولیک را در بیماران مبتلا به دیابت کنترل کنند. در حقیقت فعالیت‌های ورزشی از طریق افزایش توده عضلانی و افزایش انتقال دهنده‌های گلوکز به داخل عضلات، میزان نیاز به انسولین را کاهش دهند (۲۳). علاوه بر این به نظر می‌رسد انجام تمرینات با شدت بالا نیز عاملی برای افزایش استرس اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن باشد. لذا کاهش HSP70 در این تحقیق میتواند ناشی از القا استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش نیز باشد (۲۷). در این زمینه پژوهشگران نشان دادند که افزایش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش مقادیر HSP70 بافتی میشود (۲۷). از طرفی پژوهشگران بیان نمودند که تغییرات HSP70 در سلول به شدت تمرین وابسته است و تمرینات منظم و طولانی مدت با تنظیم ردوکس در تعدیل نیتریک اکسید، تنش سلولی و تنظیم پروتئین‌های شوک حرارتی اثر گذار است؛ از اینرو به نظر می‌رسد تمرینات با شدت بالاتر به دلیل ایجاد تنش اکسایشی در سلول اثرات متفاوتی بر التهاب و مکانیسم‌های محافظتی سلول دارند (۲۸). از محدودیت‌های مطالعه حاضر میتوان به عدم کنترل میزان دقیق کالری مصرفی همچنین فعالیت‌های بدنی رت‌ها در خارج زمان‌های تمرین اشاره نمود از اینرو پیشنهاد میشود در مطالعات آتی به بررسی و مقایسه اثرات فعالیت‌های ورزشی تناوبی

### Reference

- Farhangi MA, Nameni G, Hajiluan G, Mesgari-Abbasi M. Cardiac tissue oxidative stress and inflammation after vitamin D administrations in high fat-diet induced obese rats. *BMC Cardiovasc Disord.* 2017;17(1):1-7.
- Segula D. Complications of obesity in adults: a



16. Davari F, Alimanesh Z, Alimanesh Z, Salehi O, Hosseini SA. Effect of training and crocin supplementation on mitochondrial biogenesis and redox-sensitive transcription factors in liver tissue of type 2 diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2022;128(5):1215–20.
17. Zanjirian Z, Sarir H, Mohammadnia Ahmadi M. Effect of Continuous Exercise Training on Protein Levels of SIRT3 and OGG1 in the Liver Tissue of Male Wistar Rats. *J Ilam Univ Med Sci*. 2019;27(5):97–107. [In Persian]
18. Lanza IR, Short DK, Short KR, Raghavakaimal S, Basu R, Joyner MJ, et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes* 2008; 57: 2933–2942. *Diabetes*. 2012;61(10):2653.
19. Gurd BJ, Holloway GP, Yoshida Y, Bonen A. In mammalian muscle, SIRT3 is present in mitochondria and not in the nucleus; and SIRT3 is upregulated by chronic muscle contraction in an adenosine monophosphate-activated protein kinase-independent manner. *Metabolism*. 2012;61(5):733–41.
20. Asadi RHK, Arshadi S, Far AAB, Rasouli MH. The effect of 12-week aerobic trainings on mitochondrial biogenesis indicators in skeletal muscle among male rats. *Majallah-i pizishki-i Danishgah-i Ulum-i Pizishki va Khadamat-i Bihdashi-i Darmani-i Tabriz*. 2020;42(3):348–55. [In Persian]
21. Hokari F, Kawasaki E, Sakai A, Koshinaka K, Sakuma K, Kawanaka K. Muscle contractile activity regulates Sirt3 protein expression in rat skeletal muscles. *J Appl Physiol*. 2010;109(2):332–40.
22. Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem*. 2005;280(14):13560–7.
23. Sharifi E, Askari R, Haghighi AH. Comparison the effects of high and average intensity combined training on levels of serum heat shock proteins 70 and glycemic control in obese women with type 2 diabetes. *Jundishapur Sci Med J*. 2017;16(2):255–65. [In Persian]
24. Kandi Asadi RH, Arshadi S, Banaei Far AA, Rasouli MH. The effect of 12-week aerobic trainings on mitochondrial biogenesis indicators in skeletal muscle among male rats. *Med J Tabriz Univ Med Sci Heal Serv*. 2020;42(3): 348-355. [In Persian]
25. Pouzesh Jadidi G, Seify F, Bolboli L, Pourrahim A. Effect of high intensity interval training on cardiomyocytes HSP70 and Caspase-3 gene expression levels in myocardial infarction male rat model. *J Appl Heal Stud Sport Physiol*. 2022;9(2):1–11. [In Persian]
26. Abdollahi S, Mohamadzadeh SK, Azizbeigi K, Davari F, Alimanesh Z, Alimanesh Z, Salehi O, Hosseini SA. Effect of training and crocin supplementation on mitochondrial biogenesis and redox-sensitive transcription factors in liver tissue of type 2 diabetic rats. *Arch Physiol Biochem*. 2020;1–6.
5. Sharafi Dehrhm F, Soori R, Rastegar MM M, Sadegh A. The effect of high intensity interval training on muscular biomarkers of mitochondrial biogenesis in male rats. *J Babol Univ Med Sci*. 2017;19(6):57–63. [In Persian]
6. Mulyani WRW, Sanjiwani MID, Prabawa IPY, Lestari AAW, Wihandani DM, Suastika K, et al. Chaperone-based therapeutic target innovation: Heat shock protein 70 (HSP70) for Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2020;13:559.
7. Dadrass A, Mohamadzadeh Salamat K, Hamidi K, Azizbeigi K. Anti-inflammatory effects of vitamin D and resistance training in men with type 2 diabetes mellitus and vitamin D deficiency: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2019;18:323-31. [In Persian]
8. Fathi I, Nourshahi M, Haghparast A, Fallahi HH. Effect of eight-week aerobic continuous and high intensity interval training on levels of SIRT3 in skeletal muscle tissue of Wistar rats. *JSEP*. 2015; 1277-1289. [In Persian]
9. Hodge T, Starnes J, Feger B, Hixson L, Harris MB. Effects of exercise and body temperature on eNOS, SIRT1, SIRT3 and Hsp70 expression in rat plantaris muscles (1164.6). *FASEB J*. 2014;28:1164–6.
10. Tashakori Zade M, Mogharnasi M. A study of the effect of 10 weeks of resistance training on HSP70 and insulin resistance in type 2 diabetic women. *J Sport Biosci*. 2016;8(3):341–51. [In Persian]
11. Nameni F. The Effect of a Single Bout Endurance Training on HSP70. *World Appl Sci J*. 2012;19(2):211–4.
12. Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward III JL, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1 $\alpha$  in skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(9):771.
13. Saremi A. Sporting exercises and diabetes mellitus type 2: a review on evidences. *Cell and Tissue*. 2011; 2(3): 171-181. [In Persian]
14. Huynh FK, Muoio DM, Hirschey MD. SIRT3 directs carbon traffic in muscle to promote glucose control. *Diabetes*. 2015;64(9):3058–60.
15. Tabari E, Mohebbi H, Karimi P, Moghaddami K, Khalafi M. The effects of interval training intensity on skeletal muscle pgc-1 $\alpha$  in type2 diabetic male rats. *Iran J Diabetes Metab*. 2019;18(4):179–88. [In Persian]



- Etemad Z. The Effect of aerobic training and octopamine on HSP70 and Caspase-3 protein expression in brown adipose tissue in rats received deeply heated oil treatment. 2020; 8(1): 48-59. [In Persian]
27. Sulzbacher MM, Ludwig MS, Heck TG. Oxidative stress and decreased tissue HSP70 are involved in the genesis of sepsis: HSP70 as a therapeutic target. *Rev Bras Ter intensiva*. 2020;32:585–91.
28. Szyller J, Bil-Lula I. Heat shock proteins in oxidative stress and ischemia/reperfusion injury and benefits from physical exercises: A review to the current knowledge. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021.