



## The effects of high and moderate intensity interval training on skeletal muscle of TFAM and NRF1 in type 2 diabetic male rats

Elma Tabari<sup>1</sup>, Hamid Mohebbi<sup>2\*</sup>

1. PhD Student of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran.
2. Full Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran.

### Abstract

**Background and Aim:** It is well recognized that mitochondrial transcription factor A (TFAM) and nuclear respiratory factor-1 (NRF-1) are the key regulators of mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation. This study investigated whether 12 weeks of interval training with high (HIIT) and moderate (MIIT) intensity influences the key regulatory molecules of mitochondrial biogenesis (TFAM and NRF-1) of skeletal muscle in type 2 diabetic male rats. **Materials and Methods:** Forty male rats (age: 8 weeks, weight: 180±20 g) were divided into two groups: high fat diet (HFD) including 32 rats, and standard diet (C) including 8 rats. After inducing type 2 diabetes via Streptozotocin, 8 diabetic rats (D) and 8 rats in group C were sacrificed and the remaining 24 rats were randomly assigned to three groups including diabetic control (DC), MIIT, and HIIT. The MIIT protocol includes 13 bouts of 4-minute activity with an equivalent intensity of 60-65%  $VO_{2max}$  and the HIIT protocol includes 10 bouts of 4-minute activity with the equivalent intensity of 85-90%  $VO_{2max}$  with 2 minute active rest periods that was performed for 12 weeks, and 5 sessions per week. Western blotting was used to measure the levels of TFAM and NRF1 proteins; and the parametric and non-parametric tests were used to analyze the data at the  $p \leq 0.05$  level. **Results:** The results showed that TFAM and RNF-1 protein levels were significantly decreased in the D group compared to the C group ( $p < 0.01$ ). Indeed, exercise training resulted in an insignificant increase in protein levels of NRF-1 compared to the DC group ( $p > 0.05$ ); while HIIT and MIIT had no significant effect on protein levels of TFAM ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** It seems that the HIIT and MIIT programs improve mitochondrial respiration but have no effect on mitochondrial biogenesis in type 2 diabetic rats. However, further research is needed for definite results.

**Keywords:** Type 2 diabetes, Intensity of exercise training, Mitochondrial biogenesis, Mitochondrial respiration.

### Cite this article:

Tabari, E., & Mohebbi, H. (2022). The effects of high and moderate intensity interval training on skeletal muscle of TFAM and NRF1 in type 2 diabetic male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 10(21), 8-18.

\*Corresponding Author, Address: Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran;  
Email: mohebbi@guilan.ac.ir





## اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا و متوسط بر TFAM و NRF-1 عضله اسکلتی در رت های نر دیابتی نوع دو

الما تبری<sup>۱</sup>، حمید محبی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گلستان، رشت، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گلستان، رشت، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** بخوبی مشخص شده است که عامل نسخه برداری A میتوکندری (TFAM) و عامل تنفسی هسته ای-۱ (NRF-1) تنظیم کننده های کلیدی بایوژنز میتوکندری و فسفوریلاسیون اکسیداتیو هستند. این مطالعه اثر ۱۲ هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و متوسط (MIIT) را بر مولکول های تنظیمی بایوژنز میتوکندری (TFAM و NRF-1) عضله اسکلتی رت های نر دیابتی نوع دو بررسی کرد. **روش تحقیق:** تعداد ۴۰ سر رت نر (سن: ۸ هفته، وزن:  $180 \pm 20$  گرم) به دو گروه رژیم غذای پر چرب (HFD) شامل ۳۲ سر و رژیم غذای استاندارد (C) شامل ۸ سر تقسیم شدند. پس از القاء دیابت نوع دو از طریق استروپتوزوتوسین در رت های چاق، ۸ سر رت دیابتی (D) و ۸ سر رت گروه C کشته شدند و ۲۴ سر رت باقیمانده به طور تصادفی به سه گروه کنترل دیابتی (DC)، گروه MIIT، و گروه HIIT تقسیم گردیدند. برنامه MIIT شامل ۱۳ و هله فعالیت ۴ دقیقه ای با شدت ۶۵-۷۰ درصد  $VO_{2max}$  و برنامه HIIT شامل اجرای ۱۰ و هله فعالیت ۴ دقیقه ای با شدت ۸۵-۹۰ درصد  $VO_{2max}$  با دوره های استراحتی فعال دو دقیقه ای بودند که به مدت ۱۲ هفته با تکرار ۵ جلسه در هفته، به اجرا درآمدند. از روش وسترن بلات برای اندازه گیری مقادیر پروتئین های TFAM و NRF1 و از آزمون های پارامتریک و ناپارامتریک برای تحلیل داده ها در سطح معنی داری  $p < 0.05$  استفاده شد. **یافته ها:** سطوح پروتئینی TFAM و NRF1 پس از القاء دیابت نسبت به گروه C به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.01$ ). هر دو برنامه HIIT و MIIT منجر به افزایش غیر معنی دار سطوح پروتئینی NRF-1 نسبت به گروه DC شدند ( $p > 0.05$ )؛ ضمن آن که HIIT بر TFAM اثر معنی داری نداشت ( $p > 0.05$ ). **نتیجه گیری:** به نظر می رسد برنامه های HIIT و MIIT منجر به بهبود تنفس میتوکندریایی می شوند، اما اثری بر بایوژنز میتوکندری ندارند؛ با این وجود بررسی های بیشتر در این زمینه ضروری است.

**واژه های کلیدی:** دیابت نوع دو، شدت تمرین ورزشی، بایوژنز میتوکندری، تنفس میتوکندری.

## مقدمه

دیابت نوع دو و چاقی با افزایش مقاومت به انسولین و بیماری های مرتبط با آن از جمله بیماری های قلبی-عروقی همراه است (فلگال<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۰؛ هوتومسیگل<sup>۲</sup>، ۲۰۰۶) و با طیف وسیعی از اختلالات متابولیکی مانند هیپرانسولینمی<sup>۳</sup>، اختلال در برداشت گلوکز و اختلال میتوکندریایی مشخص می شود (اچکاردت<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۱۴). در سطح مولکولی، کاهش ظرفیت اکسیداتیو چربی و نیز کاهش متابولیسم میتوکندری، زمینه ساز گسترش مقاومت به انسولین می باشد (لاول<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۵). در واقع، اختلال در عملکرد میتوکندری در سبب شناسی مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو درگیر می باشد (لاول و دیگران، ۲۰۰۵).

عامل فعال کننده مشترک گیرنده گاما یک آلفای فعال شده با تکثیر کننده پراکسی زوم<sup>۶</sup> (PGC-1 $\alpha$ ) یک عامل رونویسی است که نقش مهمی در تنظیم عملکرد میتوکندری و ظرفیت اکسیداتیو (ونتورا-کلایپر<sup>۷</sup>، ۲۰۰۸) از طریق تقویت بیان پروتئین های مسئول رونویسی ژن ها و DNA میتوکندری؛ ایفا می کند (لین<sup>۸</sup> و دیگران، ۲۰۰۵). اگرچه PGC-1 $\alpha$  با کنترل رونویسی ژن ها، تاثیر زیادی بر بایوژنز میتوکندریایی<sup>۹</sup> دارد، به تنهایی نمی تواند این نقش را ایفا نماید. بایوژنز میتوکندریایی با افزایش رونویسی DNA میتوکندری آغاز می شود (گلیزر<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۰۵). این فرآیند عمدتاً توسط بیان ژن عامل نسخه برداری میتوکندری (TFAM) تنظیم می شود که بیان ژن میتوکندری را از طریق تعامل مستقیم با ژنوم میتوکندری همراه با عوامل اختصاصی رونویسی میتوکندری TFB1M<sup>۱۱</sup> و TFB2M<sup>۱۲</sup> تنظیم می کند (گلیزر و دیگران، ۲۰۰۵). به طور خاص، TFAM بیان شده در هسته، مسئول سنتز پروتئین های زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری است که اهداف پایین دست عوامل تنفسی هسته ای-۱ و ۱<sup>۱۲</sup> (NRF-1,2) هستند (اسکارپولا<sup>۱۴</sup> و دیگران، ۲۰۰۲). NRFs باعث افزایش بایوژنز میتوکندری از طریق القاء TFAM می شوند که رونویسی mtDNA<sup>۱۵</sup> و بیان mtRNA<sup>۱۶</sup> و همچنین القاء TFBS<sup>۱۷</sup> را به دنبال دارد (گلیزر و دیگران، ۲۰۰۵). در حقیقت، TFAM و NRF1 نقش محوری در تنظیم بایوژنز میتوکندری

ایفا می کنند.

یکی از مهم ترین عوامل برای افزایش خطر ابتلا به بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین، عدم فعالیت بدنی منظم می باشد؛ در حالی که انجام فعالیت ورزشی می تواند از بروز این بیماری جلوگیری کرده و یا آن را به تاخیر اندازد (گودی<sup>۱۸</sup> و دیگران، ۱۹۹۸)؛ بهبودی که عمدتاً ناشی از سازگاری القا شده در عضلات اسکلتی نشات می گیرد (نواکس<sup>۱۹</sup> و دیگران، ۲۰۱۲). در عضله اسکلتی، سازگاری به فعالیت ورزشی منجر به افزایش محتوی پروتئین های درگیر در سیگنالینگ انسولین و متابولیسم گلوکز می شود (فروسینگ<sup>۲۰</sup> و دیگران، ۲۰۰۷). علاوه بر این، فعالیت ورزشی می تواند منجر به تحریک بایوژنز برای افزایش محتوی و کیفیت میتوکندری شود (هی-موگنسن<sup>۲۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). نتایج یک مطالعه حیوانی نشان داده است که تمرین ورزشی می تواند منجر به تغییرات قابل توجهی در بازتولید میتوکندریایی شود (دینگ<sup>۲۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). نشان داده شده که میزان پروتئین PGC-1 $\alpha$  و TFAM در نتیجه تمرین ورزشی (لیوبیسک<sup>۲۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۰) به طور پیوسته افزایش می یابد و باعث افزایش تعداد کپی های mtDNA می شود. با این حال، پاسخ مسیره های سیگنالینگ به تمرینات ورزشی، به مولفه های تمرینی از جمله شدت فعالیت ورزشی (که مهم ترین مولفه در تنظیم فعال سازی مسیره های سیگنالینگ عضله اسکلتی است) بستگی دارد. بر این اساس، در دهه اخیر اجرای تمرینات ورزشی تناوبی با شدت های بالا<sup>۲۴</sup> (HIIT) به منظور دست یابی به سازگاری های زیاد در مدت زمان کمتر، نسبت به اجرای تمرینات تداومی با شدت متوسط؛ مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (بورگامستور<sup>۲۵</sup> و دیگران، ۲۰۰۸). در این راستا، پروتکل HIT (به عنوان مثال، ۴ تا ۶ وهله فعالیت ۳۰ ثانیه ای با شدت فوق بیشینه) به عنوان جایگزینی برای تمرینات تداومی سنتی [۴۰ تا ۶۰ دقیقه فعالیت با حداکثر ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی<sup>۲۶</sup> ( $VO_{2max}$ )] معرفی گردیده است (بیشاپ<sup>۲۷</sup> و دیگران، ۲۰۱۹). شکل جایگزین و جدیدتری از HIT که بیشتر مورد توجه تحقیقات قرار گرفته است، شامل اجرای وهله های فعالیت ورزشی با شدت بالا و زیر حداکثر (به عنوان مثال، ۸۰

1. Flegal

2. Hotamisligil

3. Hyperinsulinemia

4. Eckardt

5. Lowell

6. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator -1alpha

7. Ventura-Clapier

8. Lin

9. Mitochondrial biogenesis

10. Gleyzer

11. Transcription factor B1, mitochondrial

12. Transcription factor B2, mitochondrial

13. Nuclear respiratory factor2, 1

14. Scarpulla

15. Mitochondrial DNA

16. Mitochondrial RNA

17. Transcription factor binding site

18. Goodyear

19. Noakes

20. Frøsig

21. Hey-Mogensen

22. Ding

23. Ljubic

24. High intensity interval training

25. Burgomaster

26. Maximal oxygen consumption

27. Bishop

پروتئین بود؛ در حالی که رژیم غذایی پرچرب ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین را شامل می‌شد. پس از اتمام ۱۰ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب، دیابت با تزریق تک‌دوز استرپتوزوتوسین<sup>۱</sup> (STZ) حل شده در بافر سدیم سیترات<sup>۲</sup> با  $PH=4/5$  به مقدار ۳۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن که به روش درون صفاقی (IP) تزریق شد؛ القاء گردید. برای تأیید دیابت، ۹۶ ساعت پس از تزریق، با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتر قرار گرفت و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد. سطوح گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر، به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (هولمس<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۵). پس از اطمینان از القاء دیابت نوع دو، تعداد ۸ سر رت گروه کنترل سالم (C) و ۸ سر رت از گروه دیابتی (D) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه کشته شدند (بافت برداری و نمونه گیری مرحله اول). در ادامه، ۳۲ سر رت دیابتی شده به صورت تصادفی به سه گروه برنامه HIIT، گروه برنامه MIIT و گروه کنترل دیابتی (DC) تقسیم شدند. گروه‌های HIIT و MIIT به مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هفته به فعالیت ورزشی مختص گروه خود پرداختند. در طی ۱۲ هفته، گروه کنترل هیچ نوع فعالیتی نداشتند. رت‌های گروه‌های C و D پس از القاء دیابت نوع دو و رت‌های گروه‌های HIIT، MIIT و DC پس از ۱۲ هفته پروتکل‌های تمرین؛ با استفاده از ترکیب داروی کتامین-زایلازین<sup>۴</sup> به نسبت ۷۵ میلی گرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم زایلازین بی‌هوش شدند، نمونه‌های خونی آن‌ها جمع‌آوری گردید و در لوله‌های فاقد محلول EDTA<sup>۵</sup> ریخته شد. سرم نمونه‌های خونی با سانتریفیوژ جدا گردید و سپس عضله نعلی با دقت برداشته شد، در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب منتقل گردید و برای استفاده در ادامه مراحل آزمایش‌های بیوشیمیایی؛ به فریزر دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. وزن بدن رت‌ها در طول مداخله هر هفته کنترل شد.

**نحوه اجرای برنامه HIIT:** برنامه HIIT مورد استفاده، برنامه تمرینی تعدیل‌شده مطالعه هافستاد و دیگران (۲۰۱۳) بود که به مدت ۱۲ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان (شیب صفر درجه) به اجرا درآمد. این برنامه شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد  $VO_{2max}$  و با دوره‌های استراحتی فعال دو دقیقه‌ای بود. به صورت

تا ۹۰ درصد  $VO_{2max}$  با تعداد ۴ تا ۵ تکرار و مدت زمان ۲ تا ۴ دقیقه می‌باشد (بیشاپ و دیگران، ۲۰۱۹). به خوبی مشخص شده است که صرف نظر از نوع HIIT، این نوع برنامه تمرین محرکی قوی و کارآمد برای افزایش ظرفیت اکسیداسیون عضله اسکلتی و بهبود حساسیت به انسولین است (بیشاپ و دیگران، ۲۰۱۹). از سوی دیگر، مطالعات انجام شده گزارش کرده‌اند که تمرینات ورزشی نقش موثری در فعال سازی عوامل بالا دست بایونز میتوکندریایی از جمله پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP<sup>۱</sup> (AMPK) و یا سیرتوئین-۱<sup>۲</sup> (SIRT1) دارند. در همین راستا، افزایش در مقادیر پروتئین PGC-1 $\alpha$  و AMPK/SIRT1 به دنبال HIIT در بافت‌های مختلفی شامل عضله اسکلتی، بافت چربی و مغز گزارش شده است (لیتل<sup>۳</sup> و دیگران، ۲۰۱۰؛ خلفی<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۲۰؛ استینر<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۱). همچنین، اجرای HIIT منجر به فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ AMPK و P38MAPK می‌شود، دو کینازی که نقش محوری در تنظیم PGC-1 $\alpha$  و بایونز میتوکندری ایفا می‌کنند (بارتلت<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۲). با این حال، اطلاعات بسیار محدودی در زمینه تاثیر شدت تمرین بر مولفه‌های دیگر بایونز میتوکندری از جمله TFAM و NRF1 در نمونه‌های دیابتی وجود دارد. بنابراین، هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر HIIT و تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر TFAM و NRF-1 عضله اسکلتی در رت‌های نر دیابتی نوع دو می‌باشد.

### روش تحقیق

روش تحقیق حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل بود. برای این منظور تعداد ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با محدوده وزنی  $180 \pm 20$  گرم از مؤسسه پاستور ایران خریداری شد. تمامی مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان با کد IR.GUMS.REC.1397.060 انجام شد. پس از دو هفته سازگاری با محیط جدید، رت‌ها به طور تصادفی به دو گروه کنترل سالم (C) شامل ۸ سر، و گروه رژیم غذای پرچرب (HFD) شامل ۳۲ سر تقسیم شدند. سپس گروه HFD به مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب (ساخت آنستیتو سرم سازی رازی) و گروه کنترل سالم غذای استاندارد (ساخت آنستیتو سرم سازی رازی) را مصرف کردند. رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد

1. AMP-activated protein kinase

2. Sirtuin 1

3. Little

4. Khalafi

5. Steiner

6. Bartlett

7. Streptozotocin

8. Sodium citrate buffer

9. Holmes

10. Ketamine-Xylazine

11. Ethylenediaminetetraacetic acid

SDS به اضافه ۰/۱ درصد آنتی پروتئاز کوکتایل<sup>۴</sup> استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی گرم بافت در ۵۰۰ میکرو لیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن گردید و نیم ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. سپس در یک سانتریفیوژ یخچال دار (bo, sw14ffroil) با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه، دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی جمع‌آوری شد و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین کننده پروتئین Bio-Rad (در طول موج ۵۹۵ نانومتر) اندازه‌گیری گردید. در نهایت، در ۲۰ درجه زیر صفر فریزر و نگهداری شد. سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر ۵۰ میلی مول تریس-کلرید هیدروژن<sup>۵</sup>، دو درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول<sup>۶</sup> و ۰/۰۵ درصد برموفنول آبی<sup>۷</sup> مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره<sup>۸</sup> شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-polyacryl-amide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشا به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در تری بافر سالین<sup>۹</sup> و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت یک ساعت در دمای اتاق در چهار درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس<sup>۱۰</sup> (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم افزار Image J اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی ای اولیه و ثانویه شامل TFAM (sc23588, SANTA CRUZ), NRF-1 (sc101102, SANTA CRUZ), beta actin (sc32233, SANTA CRUZ), goat anti-rabbit IgG-HPR (sc2004, SANTA CRUZ), Goat anti-mouse (sc2005, SANTA CRUZ) مورد استفاده قرار گرفتند.

**روش های آماری:** از میانگین و انحراف استاندارد برای گزارش توصیفی داده‌ها استفاده شد. پس از بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۱۱</sup>، برای بررسی متغیرهای با توزیع طبیعی از آزمون‌های مستقل و تحلیل واریانس یک سویه<sup>۱۲</sup>؛ و برای بررسی متغیرهای با توزیع غیر طبیعی، از آزمون‌های یومن-ویتنی<sup>۱۳</sup> و کروسکال-والیس<sup>۱۴</sup> استفاده گردید. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی داری  $p \leq 0/05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

پیش رونده تا هفته دهم سرعت نوارگردان افزایش یافت و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم) سرعت نوارگردان حفظ شد. بر این اساس، سرعت نوارگردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته اول به ۳۴ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ شد. همچنین، دوره‌های استراحت فعال از سرعت ۱۱ متر بر دقیقه در هفته اول، به سرعت ۱۶ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی این سرعت حفظ گردید. لازم به ذکر است که ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرینی در نظر گرفته شد (هافستاد<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۱)؛

**نحوه اجرای برنامه MIIT:** پروتکل MIIT مورد استفاده در مطالعه حاضر، نمونه تعدیل شده برنامه تمرینی مطالعه هافستاد و دیگران (۲۰۱۳) بود که به مدت ۱۲ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوارگردان (شیب صفر درجه) شامل اجرای ۱۳ وهله فعالیت ۴ دقیقه ای با شدت ۶۵-۷۰ درصد  $VO_{2max}$  و با دوره‌های استراحتی فعال دو دقیقه‌ای به اجرا درآمد. مسافت طی شده با برنامه HIIT همسان شد و به صورت پیش رونده تا هفته دهم هر هفته سرعت نوارگردان افزایش یافت. بر این اساس، سرعت نوارگردان در هفته اول از ۱۶ متر به ۲۵ متر بر دقیقه در هفته دهم رسید و دو هفته پایانی (یازدهم و دوازدهم)، سرعت نوارگردان حفظ گردید (هافستاد و دیگران، ۲۰۱۱؛ هافستاد و دیگران ۲۰۱۳). **اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی:** برای سنجش انسولین از روش الایزا<sup>۲</sup> ساندویچی و کیت الایزا انسولین ساخت شرکت MyBioSource با حساسیت ۰/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر با شماره کاتالوگ MBS724709 مطابق با روش درج شده در بروشور کیت؛ استفاده شد. گلوکز با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) به روش گلوکز اکسیداز<sup>۳</sup> با حساسیت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. به منظور تخمین مقاومت به انسولین، مدل هومئوستاز ارزیابی مقاومت به انسولین (HOMA-IR) به صورت نسبت انسولین ناشتا (میکرو واحد بر میلی‌لیتر) × گلوکز ناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) ÷ ۲۴۳۰ به کار گرفته شد.

در مطالعه حاضر روش وسترن بلات هم بکار گرفته شد. برای استخراج پروتئین‌های عضله نعلی از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس (PH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد

1. Hafstad

2. Enzyme-linked immuno\_sorbent assay

3. Glucose oxidase

4. Protease inhibitor cocktail

5. Tris hydrochloride

6. Beta-mercaptoethanol

7. Bromothymol blue

8. Denature

9. Tris-buffered saline

10. Luminescence

11. Shapiro - Wilk

12. One-way analysis of variance

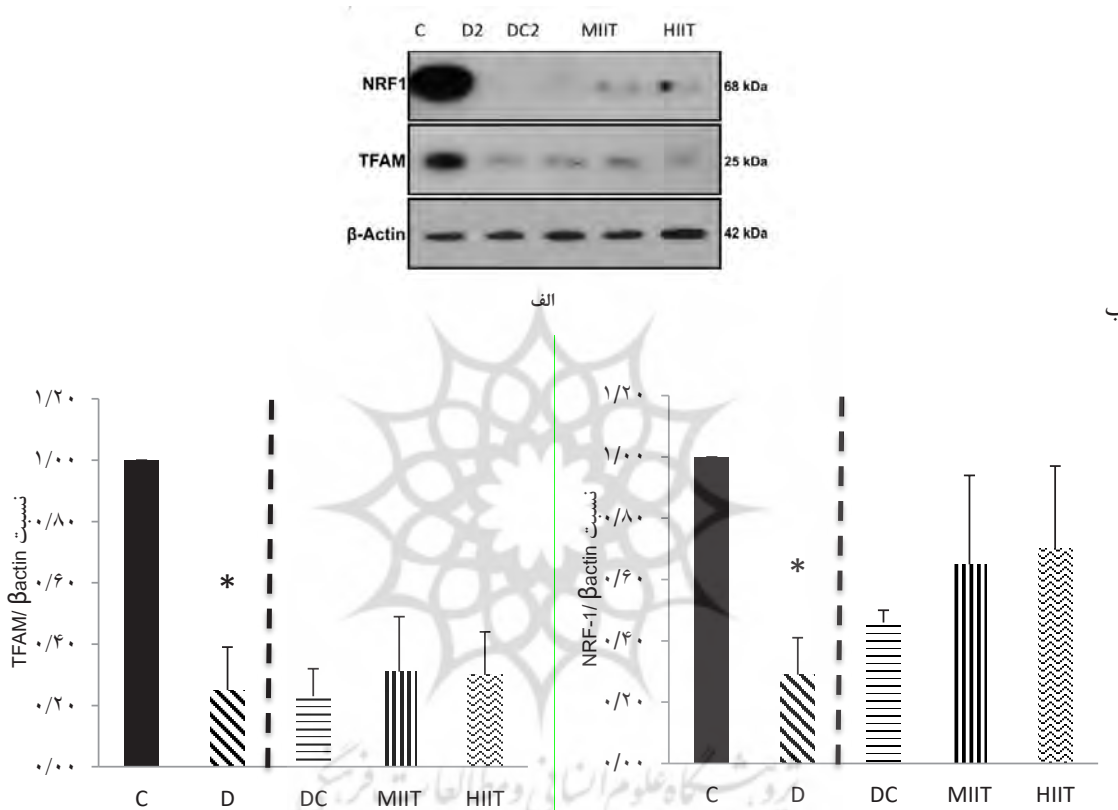
13. Mann-Whitney U test

14. Kruskal Wallis test

## یافته‌ها

**تأثیر دیابت نوع دو بر سطوح پروتئینی TFAM و NRF-1:** تحلیل داده‌ها نشان داد که القاء دیابت نوع دو منجر به کاهش معنی دار سطوح پروتئینی TFAM ( $p < 0.01$ )، NRF-1 ( $t = 11.12$ ) و عضله نعلی نسبت به گروه C می‌شود (شکل ۱).  
**تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح پروتئینی TFAM و NRF-1:** بر اساس نتایج آزمون ANOVA و کروسکال -

والیس، اگرچه تفاوت معنی داری بین گروه‌های تحقیق در مورد TFAM ( $F = 0.52$ ,  $p > 0.05$ ) و NRF1 ( $\chi^2 = 3.07$ ,  $p > 0.05$ ) وجود نداشت؛ با این وجود HIIT منجر به افزایش غیر معنی داری  $\sim 1/5$  برابری و MIIT منجر به افزایش  $\sim 1/4$  برابری NRF-1 نسبت به گروه DC شد. به علاوه، تغییرات معنی داری در TFAM به دنبال هر دو برنامه تمرینی به اجرا در آمده مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱. بررسی تغییرات سطوح پروتئینی TFAM (الف) و NRF1 (ب). C: نشانه گروه کنترل سالم، D: دیابتی نوع دو، DC: کنترل دیابتی، MIIT: تمرین تناوبی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا. \* نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه C در سطح  $p < 0.05$ .

## بحث

نمونه‌های حیوانی مبتلا به دیابت نوع دو گزارش شده است (پیترسن<sup>۳</sup> و دیگران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۵). در تأیید مطالعات قبلی، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که القاء دیابت نوع دو منجر به کاهش مارکرهای درگیر در بایوژنز میتوکندریایی از جمله کاهش در NRF-1 و TFAM می‌شود. اگرچه در حال حاضر مشخص نیست که اختلال در میتوکندری عضله اسکلتی باعث مقاومت به انسولین می‌شود یا خیر (هولسزی<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۰۹)؛ و این که اختلال در تنظیم بایوژنز میتوکندریایی در عضله اسکلتی ممکن است در پاتوژنز دیابت نوع دو هم نقش داشته باشد؛ افزایش عملکرد میتوکندری می‌تواند از نظر درمانی برای دیابت

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که القاء دیابت نوع دو (با ترکیب رژیم غذایی پرچرب و تزریق داروی STZ) منجر به کاهش قابل توجه سطوح پروتئینی TFAM و NRF1 عضله اسکلتی می‌شود. مطالعات انجام شده قبلی نشان داده‌اند که اختلالات متابولیکی مانند چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو؛ با اختلال در عملکرد میتوکندری، کاهش محتوای میتوکندری (ریتسووا<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۰) و کاهش نشانگرهای بایوژنز میتوکندریایی (موتها<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۰۳) در عضله اسکلتی همراه است. علاوه بر این، کاهش ژن‌های درگیر در فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی در

نوع دو بسیار حائز اهمیت باشد (کایکینی<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۷).  
 عامل PGC-1 $\alpha$  به عنوان تنظیم کننده اصلی بیوژنز میتوکندریایی در تعامل با NRF-1، NRF-2 و TFAM عمل می کند (هوک و دیگران، ۲۰۰۹) و افزایش آن با بهبود در رونویسی NRF-1 و NRF-2؛ منجر به افزایش واحدهای میتوکندریایی کد گذاری شده هسته ای، برای مجموعه زنجیره انتقال الکترون می گردد (اسکریولا<sup>۲</sup>، ۲۰۰۲) احتمالاً تغییرات وابسته به جذب گلوکز و مصرف آن در عضله اسکلتی در پاسخ به تمرین ورزشی، سازوکاری برای بهبود مقاومت به انسولین و کاهش گلوکز سرمی ایجاد می کند. به علاوه، ممکن است بهبود در عملکرد میتوکندری و همچنین بیوژنز میتوکندریایی به دنبال تمرینات ورزشی، دلیل دیگری بر بهبود مقاومت به انسولین تلقی شود؛ به طوری که مطالعات قبلی در این زمینه تنظیم کاهشی PGC-1 $\alpha$  را دلیل بر توسعه مقاومت به انسولین گزارش کرده اند (لیانگ و وارد<sup>۳</sup>، ۲۰۰۶). بر طبق شواهد موجود، چاقی ناشی از رژیم غذایی پر چرب در رت های صحرایی، منجر به کاهش چشمگیر محتوی پروتئین PGC-1 $\alpha$  و همچنین کاهش محتوی میتوکندری در بافت چربی شده و در مقابل، اجرای دو برنامه تمرینات تناوبی با شدت بالا و متوسط، افزایش محتوی میتوکندری و بیان پروتئین PGC-1 $\alpha$  را در پی دارد (خلفی و دیگران، ۲۰۱۸). بنابراین، افزایش بیان PGC-1 $\alpha$  به واسطه تنظیم متابولیسم درون سلولی، ممکن است به بهبود مقاومت به انسولین در نمونه های چاق و یا دیابتی منجر شود.  
 یافته های پژوهش حاضر نشان داد که تمرینات ورزشی تناوبی مستقل از شدت تمرین، اثرات محدودی بر افزایش NRF1 دارند و موجب تغییرات قابل توجه در TFAM نمی شوند. این در حالی است که مطالعات انجام شده قبلی نشان داده اند که تمرینات ورزشی با الگوی وابسته به شدت تمرین، محرکی مؤثر برای بهبود بیوژنز میتوکندریایی و افزایش PGC-1 $\alpha$  (حداقل در نمونه های سالم) می باشد. در این راستا، مطالعات انسانی افزایش محتوی پروتئینی و بیان ژن هسته ای PGC-1 $\alpha$  را در عضله اسکلتی گزارش کرده اند (جیبالا<sup>۴</sup> و دیگران، ۲۰۰۶). همچنین، در مطالعات قبلی بر روی رت های صحرایی نر، افزایش مقادیر پروتئینی PGC-1 $\alpha$  طبق یک الگوی وابسته به شدت تمرین، در عضلات اسکلتی نمونه های دیابتی (تبری

و دیگران، ۲۰۱۹) و بافت چربی زیرپوستی نمونه های چاق (خلفی و دیگران، ۲۰۱۸) مشاهده شده است. با وجود این، اطلاعات محدود و همچنین ناهمسوایی در زمینه اثر تمرین ورزشی بر سایر نشانگرهای بیوژنز میتوکندریایی وجود دارد. بر این اساس، گزارش شده است که محتوای پروتئین TFAM پس از شدت های مختلف تمرینات ورزشی تغییر نمی کند (گراناتا<sup>۵</sup> و دیگران، ۲۰۱۶؛ پری<sup>۶</sup> و دیگران، ۲۰۱۰). در مقابل، مطالعات دیگری اظهار داشته اند که تمرین ورزشی می تواند مقادیر پروتئین TFAM را افزایش دهد (ماریسون<sup>۷</sup> و دیگران، ۲۰۱۵؛ لیتل<sup>۸</sup> و دیگران ۲۰۱۰). مکانیسم مسئول و دلایل سازگاری ها به روشنی مشخص نیست. در ارتباط با NRF-1، هیچ تغییری در مقادیر mRNA و پروتئین NRF-1 به دنبال یک جلسه تمرین ورزشی گزارش نشده است (سرویجتکال<sup>۹</sup> و دیگران، ۲۰۰۷؛ مندهام<sup>۱۰</sup> و دیگران، ۲۰۱۵). ضمن آن که نتایج مشابهی به دنبال تمرین ورزشی بدست آمده است. لیتل و دیگران (۲۰۱۰) گزارش کرده اند که مقادیر پروتئین NRF-1 پس از ۲ هفته HIIT بدون تغییر باقی می ماند. همین طور نشان داده شده است که PGC-1 $\alpha$  با کمپلکس TFAM در نوکلئوتیدهای mtDNA همراه است و افزایش PGC-1 $\alpha$  هسته ای و میزان پروتئین تام TFAM ممکن است در بیوژنز میتوکندریایی نقش اساسی داشته باشد (پری و دیگران، ۲۰۱۰). با این حال، نتایج ما نشان داد که پروتئین TFAM پس از هر دو HIIT و MIIT بدون تغییر باقی می ماند. اگرچه نتایجی در مورد mtDNA بدست نیامد، اما عدم تغییر در محتوای پروتئین TFAM بعد از تمرین ورزشی مطابق با این فرضیه است که بیوژنز میتوکندریایی به فعال سازی TFAM و تعامل آن با p53 در داخل میتوکندری بستگی دارد، نه به فراوانی خود (گراناتا و دیگران، ۲۰۱۶). بنابراین، با توجه به عدم در دسترس بودن mtDNA، تنها با تغییرات TFAM نمی توان نتیجه گیری دقیقی از بیوژنز میتوکندریایی ارائه کرد. علاوه بر این، NRF-1 بیان ژن های هسته ای پروتئین های موجود در زنجیره انتقال الکترون و فعالیت زیر واحد ۵ سیتوکروم C اکسیداز<sup>۱۱</sup> (COXIV) را رمزگذاری می کند (اسکریولا و دیگران، ۲۰۰۸). در واقع، NRF-1 با اتصال به عناصر مؤثر در پرموتور<sup>۱۲</sup> COXIV همراه است (ویرباسیوس<sup>۱۳</sup> و دیگران، ۱۹۹۳). بنابراین، افزایش NRF-1 به دنبال تمرینات تناوبی، نشان دهنده نقش مؤثر این نوع تمرینات در افزایش تنفس میتوکندری نسبت به

1. Kaikin  
 2. Hock  
 3. Liang and Ward  
 4. Gibala  
 5. Granata

6. Perry  
 7. Morrison  
 8. Little  
 9. Sriwijitkamol  
 10. Mendham

11. Cytochrome C Oxidase Subunit IV  
 12. Promoter  
 13. Virbasius

بیشتر (به دلیل تعداد کم نمونه ها و عدم اندازه گیری mTDNA در مطالعه حاضر)؛ تمرینات تناوبی بتوانند منجر به بهبود تنفس میتوکندریایی شوند.

#### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد و پژوهش حاضر با هزینه نویسندگان صورت گرفته است.

#### قدردانی و تشکر

مقاله حاضر از طرح رساله دکتری تخصصی دانشکده علوم ورزشی دانشگاه گیلان استخراج شده است. بدینوسیله از زحمات کادر آزمایشگاه و همکاران تشکر و قدردانی می گردد.

محتوای میتوکندری می باشد. این فرضیه با یافته های قبلی مبنی بر این که تغییرات ناشی از تمرین ورزشی در عملکرد تنفس میتوکندری بدون تغییر همزمان در محتوای میتوکندری (جاکوبس<sup>۱</sup> و دیگران، ۲۰۱۳) حاصل می شود، و تغییرات در محتوای میتوکندری همیشه با افزایش عملکرد تنفس میتوکندری همراه نیست (مونتر<sup>۲</sup> و دیگران، ۲۰۱۵)، همخوانی دارد.

**نتیجه گیری:** به طور کلی، تمرینات تناوبی (شدید و متوسط) نقش قابل توجهی در تغییرات مقادیر پروتئینی TFAM نداشتند و تنها منجر به افزایش غیر معنی داری NRF-1 شدند؛ تغییری که مستقل از شدت تمرینات تناوبی بود. احتمال می رود در صورت استفاده از تعداد نمونه

#### منابع

- Bartlett, J.D., Hwa Joo, C., Jeong, T.S., Louhelainen, J., Cochran, A.J., Gibala, M. J., ... & Morton, J.P. (2012). Matched work high-intensity interval and continuous running induce similar increases in PGC-1 $\alpha$  mRNA, AMPK, p38, and p53 phosphorylation in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 112(7), 1135-1143.
- Bishop, D.J., Botella, J., Genders, A.J., Lee, M.J., Saner, N.J., Kuang, J., ... & Granata, C. (2019). High-intensity exercise and mitochondrial biogenesis: current controversies and future research directions. *Physiology*, 34(1), 56-70.
- Burgomaster, K.A., Howarth, K.R., Phillips, S.M., Rakobowchuk, M., MacDonald, M.J., McGee, S.L., & Gibala, M.J. (2008). Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *The Journal of Physiology*, 586(1), 151-160.
- Ding, H., Jiang, N., Liu, H., Liu, X., Liu, D., Zhao, F., ... & Zhang, Y. (2010). Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1800(3), 250-256.
- Eckardt, K., Görgens, S.W., Raschke, S., & Eckel, J. (2014). Myokines in insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 57(6), 1087-1099.
- Flegal, K.M., Carroll, M.D., Ogden, C.L., & Curtin, L.R. (2010). Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *Jama*, 303(3), 235-241.
- Friedman, R.L., Manly, S.P., McMahon, M., Kerr, I.M., & Stark, G.R. (1984). Transcriptional and post-transcriptional regulation of interferon-induced gene expression in human cells. *Cell*, 38(3), 745-755.
- Frøsig, C., Rose, A.J., Trebak, J.T., Kiens, B., Richter, E.A., & Wojtaszewski, J.F. (2007). Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*, 56(8), 2093-2102.
- Gibala, M.J., Little, J.P., Van Essen, M., Wilkin, G.P., Burgomaster, K.A., Safdar, A., ... & Tarnopolsky, M.A. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology*, 575(3), 901-911.



- Gleyzer, N., Vercauteren, K., & Scarpulla, R.C. (2005). Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. *Molecular and Cellular Biology*, 25(4), 1354-1366.
- Goodyear, L.J., & Kahn, B.B. (1998). Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annual Review of Medicine*, 49(1), 235-261.
- Granata, C., Oliveira, R.S., Little, J.P., Renner, K., & Bishop, D.J. (2016). Training intensity modulates changes in PGC-1 $\alpha$  and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. *The FASEB Journal*, 30(2), 959-970.
- Hafstad, A.D., Boardman, N.T., Lund, J., Hagve, M., Khalid, A.M., Wisløff, U., ... & Aasum, E. (2011). High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *Journal of Applied Physiology*, 111(5), 1235-1241.
- Hafstad, A.D., Lund, J., Hadler-Olsen, E., Höper, A.C., Larsen, T.S., & Aasum, E. (2013). High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*, 62(7), 2287-2294.
- Hey-Mogensen, M., Højlund, K., Vind, B. F., Wang, L., Dela, F., Beck-Nielsen, H., ... & Sahlin, K. (2010). Effect of physical training on mitochondrial respiration and reactive oxygen species release in skeletal muscle in patients with obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 53(9), 1976-1985.
- Hock, M. B., & Kralli, A. (2009). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function. *Annual Review of Physiology*, 71, 177-203.
- Holloszy, J.O. (2009). Skeletal muscle "mitochondrial deficiency" does not mediate insulin resistance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(1), 463S-466S.
- Holmes, A., Coppey, L.J., Davidson, E.P., & Yorek, M.A. (2015). Rat models of diet-induced obesity and high fat/low dose streptozotocin type 2 diabetes: effect of reversal of high fat diet compared to treatment with enalapril or menhaden oil on glucose utilization and neuropathic endpoints. *Journal of Diabetes Research*, 2015.
- Hotamisligil, G.S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
- Jacobs, R.A., & Lundby, C. (2013). Mitochondria express enhanced quality as well as quantity in association with aerobic fitness across recreationally active individuals up to elite athletes. *Journal of Applied Physiology*, 114(3), 344-350.
- Kaikini, A.A., Kanchan, D.M., Nerurkar, U.N., & Sathaye, S. (2017). Targeting mitochondrial dysfunction for the treatment of diabetic complications: pharmacological interventions through natural products. *Pharmacognosy Reviews*, 11(22), 128.
- Khalafi, M., Mohebbi, H., Symonds, M.E., Karimi, P., Akbari, A., Tabari, E., ... & Moghaddami, K. (2020). The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. *Nutrients*, 12(4), 925.
- Khalafi, M., Mohebbi, H., Karimi, P., Faridnia, M., & Tabari, E. (2018). The Effect of High Intensity Interval training and Moderate Intensity Continuous Training on Mitochondrial Content and PGC-1 $\alpha$  of Subcutaneous Adipose Tissue in Male Rats with High Fat Diet Induced Obesity. *Journal of Sport Biosciences*, 10(3), 297-315. [Persian]
- Liang, H., & Ward, W. F. (2006). PGC-1 $\alpha$ : a key regulator of energy metabolism. *Advances in Physiology Education*.30 145-151 ,(4)

- Little, J. P., Safdar, A., Wilkin, G. P., Tarnopolsky, M. A., & Gibala, M. J. (2010). A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *The Journal of Physiology*, 588(6), 1011-1022.
- Little, J.P., Safdar, A., Bishop, D., Tarnopolsky, M.A., & Gibala, M.J. (2011). An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 $\alpha$  and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300, 1303-1310.
- Lin, J., Handschin, C., & Spiegelman, B.M. (2005). Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metabolism*, 1(6), 361-370.
- Lowell, B.B., & Shulman, G.I. (2005). Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*, 307(5708), 384-387.
- Mendham, A.E., Duffield, R., Coutts, A.J., Marino, F., Boyko, A., & Bishop, D.J. (2015). Rugby-specific small-sided games training is an effective alternative to stationary cycling at reducing clinical risk factors associated with the development of type 2 diabetes: a randomized, controlled trial. *PLoS One*, 10(6), e0127548.
- Montero, D., Cathomen, A., Jacobs, R.A., Flück, D., de Leur, J., Keiser, S., ... & Lundby, C. (2015). Haematological rather than skeletal muscle adaptations contribute to the increase in peak oxygen uptake induced by moderate endurance training. *The Journal of Physiology*, 593(20), 4677-4688.
- Mootha, V.K., Lindgren, C.M., Eriksson, K.F., Subramanian, A., Sihag, S., Lehar, J., ... & Groop, L.C. (2003). PGC-1 $\alpha$  responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature Genetics*, 34(3), 267-273.
- Morrison, D., Hughes, J., Della Gatta, P.A., Mason, S., Lamon, S., Russell, A.P., & Wadley, G.D. (2015). Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance-training in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 89, 852-862.
- Noakes, T., & Spedding, M. (2012). Run for your life. *Nature*, 487(7407), 295-296.
- Perry, C.G., Lally, J., Holloway, G.P., Heigenhauser, G.J., Bonen, A., & Spriet, L.L. (2010). Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 588(23), 4795-4810.
- Petersen, K.F., Dufour, S., & Shulman, G.I. (2005). Decreased insulin-stimulated ATP synthesis and phosphate transport in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *PLoS Medicine*, 2(9), e233.
- Ritov, V.B., Menshikova, E.V., Azuma, K., Wood, R., Toledo, F.G., Goodpaster, B.H., ... & Kelley, D.E. (2010). Deficiency of electron transport chain in human skeletal muscle mitochondria in type 2 diabetes mellitus and obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 298(1), E49-E58.
- Scarpulla, R.C. (2002). Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells. *Gene*, 286(1), 81-89.
- Scarpulla, R.C. (2008). Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147, 321.
- Scarpulla, R. C. (2002). Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells. *Gene*, 286(1), 81-89.

- Sriwijitkamol, A., Coletta, D.K., Wajcberg, E., Balbontin, G.B., Reyna, S.M., Barrientes, J., ... & Musi, N. (2007). Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. *Diabetes*, 56(3), 836-848.
- Steiner, J.L., Murphy, E.A., McClellan, J.L., Carmichael, M.D., & Davis, J.M. (2011). Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. *Journal of Applied Physiology*, 111(4), 1066-1071.
- Tabari, E., Mohebbi, H., Karimi, P., Moghaddami, K., & Khalafi, M. (2019). The Effects of Interval Training Intensity on Skeletal Muscle PGC-1 $\alpha$  in Type 2 Diabetic Male Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 18(4), 179-188. [Persian]
- Ventura-Clapier, R., Garnier, A., & Veksler, V. (2008). Transcriptional control of mitochondrial biogenesis: the central role of PGC-1 $\alpha$ . *Cardiovascular Research*, 79(2), 208-217.
- Virbasius, J. V., Virbasius, C. M.A., & Scarpulla, R.C. (1993). Identity of GABP with NRF-2, a multisubunit activator of cytochrome oxidase expression, reveals a cellular role for an ETS domain activator of viral promoters. *Genes & Development*, 7(3), 380-392.

