

The Effect of Swimming Training on the Expression of NF- κ B Pathway and TFAM Mitochondrial Genes in the Cardiac Tissue of Diabetic Male Rats

Setareh Khakzad¹,
Hesam Parsa²

¹ MSc in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

² Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received August 28, 2025; Accepted October 29, 2025)

Abstract

Background and purpose: Diabetes mellitus, by increasing inflammatory mediators, contributes to cardiovascular diseases, and exercise may modulate inflammatory factors and improve cardiac health. The present study aimed to investigate the effects of 12 weeks of swimming training on the expression of NF- κ B pathway genes (TNF- α , IL-1 β , IKK- β) and the mitochondrial TFAM gene in the cardiac tissue of diabetic rats.

Materials and methods: Twenty-one male rats (160 ± 10 g) were randomly divided into three groups: healthy control, diabetic control, and diabetic-training groups. Diabetes was induced via an intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg). The training program consisted of swimming for 12 weeks, 5 days per week, 30 minutes per session. Forty-eight hours after the final training session, heart tissues were isolated for gene expression analysis using real-time PCR. Data were analyzed using SPSS version 21, with one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test, considering $P < 0.05$ as statistically significant.

Results: Diabetes **increased** the expression levels of IL-1 β , TNF- α , and IKK- β genes, which were subsequently reduced compared to the diabetic control group after 12 weeks of swimming intervention. Diabetes did not significantly affect TFAM gene expression; however, 12 weeks of swimming training in diabetic rats led to a significant increase in TFAM expression compared to both healthy and diabetic control groups ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Diabetes appears to elevate the expression of inflammatory genes in cardiac tissue, potentially leading to impaired mitochondrial function. Swimming training attenuates inflammation and may upregulate TFAM expression, thereby improving cardiac mitochondrial function in diabetic rats.

Keywords: Type 2 diabetes, swimming training, IKK- β , IL-1 β , TNF- α , TFAM

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (251): 30-41 (Persian).

Corresponding Author: Hesam Parsa - Faculty of Sport Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
E-mail: : h.parsa@basu.ac.ir

اثر ۱۲ هفته تمرین شنا بر بیان ژن های مسیر NF- κ B و ژن میتوکندریایی *TFAM* در بافت قلبی رت های نر دیابتی شده

ستاره خاکزاد^۱حسام پارسا^۲

چکیده

سابقه و هدف: دیابت ملیتوس از طریق افزایش بیومارکرهاي التهابی موجب بیماری های قلبی عروقی می شود، و ممکن است فعالیت ورزشی بر فاکتورهای التهابی تاثیر گذار باشد، و وضعیت قلبی - عروقی را بهبود بخشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تمرینات شنا بر بیان ژن های مسیر NF- κ B (*IKK- β* ، *TNF- α* ، *IL-1 β*) و ژن میتوکندریایی *TFAM* در بافت قلب رت های دیابتی نوع دو، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی - کاربردی، تعداد ۲۱ رت نر (160 ± 10 گرم) به طور تصادفی به سه گروه کنترل سالم، کنترل - دیابتی، و دیابتی - تمرین تقسیم شدند. دیابت نوع دو به روش درون صفاقی از استرپتوزوسین (۶۰ میلی گرم/کیلوگرم) القاء گردید. تمرین ورزشی شامل ۱۲ هفته شنا، پنج روز در هر هفته و ۳۰ دقیقه در هر جلسه بود. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، بافت قلب جدا گردید، و بیان ژن با روش Real time PCR بررسی شد، و داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ به روش تحلیل واریانس یک سویه، تست تعقیبی توکی و سطح معنی داری $P \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: دیابت بیان ژن های *IKK- β* ، *TNF- α* ، *IL-1 β* را افزایش داد، و پس از مداخله شای ۱۲ هفته ای این مقادیر در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیدا کردند. هم چنین دیابت تاثیر معنی داری بر بیان ژن *TFAM* نداشت، اما اجرای ۱۲ هفته تمرین شنا توسط رت های دیابتی ژن *TFAM* را در مقایسه با گروه کنترل سالم و دیابتی افزایش داد ($P \leq 0.05$).

استنتاج: به نظر می رسد که بیماری دیابت منجر به افزایش بیان ژن های التهابی در بافت قلب می شود و موجب تخریب عملکرد میتوکندری می گردد. تمرین شنا التهاب را کاهش می دهد، و ممکن است با افزایش بیان ژن *TFAM* در نهایت عملکرد میتوکندری قلب را در رت های دیابتی بهبود بخشد.

واژه های کلیدی: دیابت نوع دو، تمرین شنا، *IKK- β* ، *TFAM*، *TNF- α* ، *IL-1 β*

مقدمه

شناخته شده است، که با تغییراتی در فیزیولوژی، ساختار و عملکرد مکانیکی قلبی همراه است، و علائمی هم چون التهاب به همراه دارد (۱).

بر اساس نتایج مطالعات بالینی مشخص شده است که اغلب بیماران دیابتی بر اثر بیماری های قلبی از بین می روند، این شرایط تحت بیماری کاردیومیوپاتی دیابتی

Email: h.parsa@basu.ac.ir

مؤلف مسئول: حسام پارسا - همدان - دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۶/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۸/۷

از سوی دیگری در اثر بیماری دیابت، افزایش تولید محصول نهایی گلیکولیز و پروتئین های کلاژن موجب افزایش اتصال عرضی و سخت شدن عضله قلبی می گردد، و با اختلال عملکرد دیاستولی منجر به تولید سایتوکین های التهابی می شود (۲). فعالیت سیگنال های التهابی، اولین پاسخ به آسیب میوکارداست، و مراحل بعدی شامل فعال سازی فاکتور هسته ای تقویت کننده زنجیره سبک کاپا ($NF\kappa B$) و بیان سایتوکین های مرتبط با آن یعنی فاکتور نکروز تومور آلفا ($TNF\alpha$) می باشد. $TNF\alpha$ به عنوان یک مولکول کلیدی مقاومت به انسولین، در پاتوژنز آترواسکلروز و حمله قلبی نقش محوری دارد، به طوری که افزایش سطوح $TNF\alpha$ پیش بینی کننده اختلال عملکرد اندوتلیال و آترواسکلروز در نظر گرفته می شود (۱). علاوه بر $TNF\alpha$ یک سایتوکین التهابی دیگری به نام اینترلوکین ۱بتا ($IL-1\beta$) ناشی از اختلال غلظت سایتوکین های پیش و ضد التهابی گردش خون مشاهده شده است، که سطوح بالای این بیومارکر به همراه افزایش ثانویه در سطح $TNF\alpha$ از عملکرد مطلوب انسولین بر روی غشای سلول ها می کاهد، و باعث بروز مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو می شود (۳). در مقابل تاثیر بیماری دیابت بر شاخص های التهابی هم چون $TNF\alpha$ و $IL-1\beta$ عنوان شده است که اجرای تمرینات ورزشی اثر مطلوبی بر سطوح این ژن ها دارد، به طوری که در پژوهشی پس از اجرای هشت هفته تمرین شنا توسط رت های دیابتی کاهش سطوح $TNF\alpha$ مشاهده شده است (۴). در پژوهش دیگری انجام تمرینات هوازی با ۵۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، پروتئین $TNF\alpha$ را در رت های دیابتی نوع دو کاهش داده است (۵). در رابطه با اثر تمرینات ورزشی بر سطوح $IL-1\beta$ عنوان شده است که تمرینات منظم به واسطه کاهش مقادیر این سایتوکین، قادر است زمینه بروز مقاومت به انسولین را کاهش دهد (۳). علاوه بر این بیومارکر های التهابی، مهار کننده فاکتور هسته ای کاپای β ($IKK\beta$) نقش مرکزی در تنظیم پاسخ های التهابی دارد، در شرایط

نرمال، $NF\kappa B$ که در فعال سازی ژن های مرتبط با التهاب نقش دارد، به واسطه ی پروتئین $IK\beta$ در سیتوپلاسم به صورت غیر فعال قرار دارد. هنگامی که سیگنال های التهابی از طریق سایتوکین ها یا استروئیدها ارسال می شوند، کمپلکس $IKK\beta$ فسفوریله و فعال می شود، و متعاقباً $NF\kappa B$ به سمت هسته سلول حرکت می کند، و ژن های التهابی مانند سایتوکین های $IL-1\beta$ و $TNF\alpha$ را فعال می کند. به این ترتیب $IKK-\beta$ از طریق فعال سازی $NF\kappa B$ نقش اساسی در راهبرد تنظیم و استقرار فرآیندهای التهابی در بدن ایفاء می کند، و این فرآیند در ایجاد و پیشرفت بیماری های التهابی مانند دیابت نقش مهمی اجرا می کند (۶). مشخص شده است که افزایش مقادیر هر یک از این فاکتور های التهابی منجر به التهاب مزمن و افزایش مقاومت به انسولین و ایجاد بیماری دیابت نوع دو می گردد (۷). میتو کندری نقش اساسی در سازماندهی تولید انرژی در سلول، کنترل و تنظیم فرآیندهای متابولیک و تولید ATP را بر عهده دارد. با وجود اثرات منفی ژن های مذکور بر کارکرد قلب، ژن $TFAM$ (transcription factor A, mitochondrial) کد کننده پروتئینی است، که در تنظیم و کنترل بیان ژن های مرتبط با میتو کندری دخیل است، و این پروتئین به عنوان یک فاکتور رونویسی در اتصال به DNA و تنظیم بیان ژن های میتو کندریایی، بر سلامت میتو کندری و فعالیت متابولیک سلولی تاثیر می گذارد (۸). در واقع، ژن $TFAM$ از طریق تعامل با DNA میتو کندری، بر بیان زیر واحدهای تنفسی رمز گذاری شده کمک می کند، که گزارش شده است در شرایط رخداد التهاب مانند بیماری دیابت، تنظیم بیان ژن های میتو کندریایی تحت تأثیر قرار می گیرد، و به طور کلی، در برخی از شرایط التهابی، بیان $TFAM$ و فعالیت آن ممکن است کاهش یابد، که می تواند باعث نقص در عملکرد میتو کندری و کاهش تولید انرژی در سلول شود (۱۰-۸). در همین رابطه، نتایج چندین مطالعه نشان داده اند که دیابت موجب کاهش بیان ژن $TFAM$ می گردد، و کاهش مقادیر این ژن با اختلال در بیوژنز

میتوکندری قلب منجر به کار دیومیوپاتی دیابتی می‌گردد (۱۱). در همین راستا حیدر نیا و همکاران (۲۰۲۲) و عبدللهی و همکاران (۲۰۲۳) بیان داشته‌اند که در اثر القای دیابت نوع دو، سطوح بیان ژن *TFAM* بافت قلب و چربی احشایی رت‌های صحرایی کاهش پیدا می‌کند (۱۱)، (۱۲). در مقابل با بیماری دیابت، گزارش‌ها حاکی از تاثیر مثبت تمرینات ورزشی بر افزایش بیان ژن *TFAM* در نمونه‌های حیوانی می‌باشد. همسو با این مشاهده شده است که اجرای چهار هفته تمرینات HIIT موجب افزایش بیان ژن *TFAM* در چربی احشایی رت‌های دیابتی می‌گردد، به‌طوری‌که تمرینات HIIT می‌تواند با تنظیم پلازماسیون ماکروفاژها و دینامیک میتوکندریایی، التهاب کبد و متابولیسم لیپیدی را در رت‌های دیابت نوع دو بهبود بخشد (۱۲). به‌علاوه، تمرینات تناوبی باعث افزایش سطوح mRNA ژن‌های مرتبط با بیوسنتز میتوکندریایی کبد مانند *TFAM* در رت‌های دیابت نوع دو می‌شود (۱۳). هم‌چنین، بر اساس شواهد تمرینات مداوم و متناوب به‌طور چشم‌گیری بیان ژن *TFAM* را در بافت قلب افزایش می‌دهند (۱۴، ۱۵). اما بر خلاف با این یافته‌ها، مطالعه‌ای نشان داده است که اجرای ۸۰ دقیقه تمرینات ورزشی با ۶۰ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی تاثیری بر بیان ژن *TFAM* رت‌های دیابتی ندارد (۱۶). در مجموع عنوان شده است که اجرای تمرینات ورزشی، ممکن است با کاهش التهاب و افزایش بیوژنز میتوکندریایی در میوکارد افراد دیابتی، نقش محافظتی از قلب در برابر عوارض دیابت اجرا کند (۱۷). علاوه از عوارض مطرح شده ناشی از بیماری دیابت نوع دو، فشار خون بالا، عدم کنترل گلیسمیک، کلسترول بالا، علائم سندرم متابولیک، و اختلال اندوتلیال از ریسک فاکتورهای قلبی عروقی هستند، که در افراد دیابتی بسیار رایج است، به‌طوری‌که خطر مرگ و میر ناشی از امراض قلبی عروقی در افراد دیابتی بدون آمادگی بدنی، ۱/۷ تا ۶/۶ برابر بیش‌تر از افراد دارای آمادگی است (۲). برخی مطالعات پیشین تأثیر برخی مداخلات بیرونی هم‌چون

انجام فعالیت‌های بدنی بر مقادیر میانجی‌های التهابی در جمعیت‌های دیابتی را دنبال کرده‌اند، و بر کاهش التهاب مزمن در افراد به واسطه برنامه‌های تمرینی هوازی تأکید داشته‌اند. تمرینات منظم بدنی دارای اثرات ضد التهابی است، و موجب سرکوب التهاب سیستمی با درجه پایین‌تر می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که مارکرهای التهابی با تغییرات سبک زندگی همچون کاهش دریافت انرژی و افزایش فعالیت جسمانی کاهش پیدا می‌کنند (۵). بنابراین، با توجه به این موضوع که التهاب از پدیده‌های همراه با بیماری دیابت نوع دو است، و در بیان ژن‌های میتوکندری اختلال ایجاد می‌کند، ممکن است فعالیت‌های بدنی قادر به کند کردن این روند باشد؛ در پژوهش حاضر تأثیر ۱۲ هفته تمرین شنا بر مقادیر بیان ژن‌های التهابی *IL-1β*، *IKKβ*، *TNFα* و ژن میتوکندریایی *TFAM* در بافت قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد تحقیق

پژوهش حاضر از نوع مقطعی کاربردی بود، که با کد IR.BASU.REC.1402.67 در کمیته اخلاق دانشکده علوم ورزشی بوعلی سینای همدان به تصویب رسید. تعیین حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار جی‌پاور (G power software) حجم نمونه بر اساس توان آماری ۰/۸۵، اندازه اثر ۰/۵، و میزان خطای ۰/۰۵ گزارش شد، که در نهایت تعداد ۲۱ سر رت در محدوده وزنی ۲۰ ± ۲۱۰ گرم تعیین گردید (۱۸). تمامی مراحل پژوهش حاضر مطابق با دستورالعمل استفاده از حیوانات انجام گرفت. حیوانات در محیطی با درجه حرارت ۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت محیط ۵۰ ± ۵ درصد و چرخه‌ی روشنایی: تاریکی ۱۲:۱۲ نگه‌داری شدند. آب و غذا به‌صورت آزادانه در اختیار آن‌ها قرار داده شد. رت‌ها بر اساس میانگین وزن همگن شدند، و به‌طور تصادفی به سه گروه هفت تایی شامل گروه کنترل سالم، گروه کنترل دیابتی، و گروه دیابتی با تمرین تقسیم

استراحت، سپس دو روز تمرین، و یک روز استراحت در نظر گرفته شد (۲۱) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: برنامه اصلی تمرین شنای رت ها به مدت ۱۲ هفته و پنج روز در هفته (پس از یک هفته آشنا سازی با محیط استخر شنا)

هفته	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
زمان (دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۴۰	۵۰	۵۰

جمع آوری نمونه ها

پس از گذشت ۱۲ هفته از زمان آغاز مطالعه در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش، رت ها پس از بیهوشی عمیق با کتامین (۱۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۵ mg/kg)، بر روی صفحه جراحی مناسبی ثابت گردیدند. پس از شکافتن ناحیه قفسه سینه، بطن چپ قلب حیوان به دقت جدا گردید، و پس از پاکسازی از بافت چربی و همبند و شستشو با آب مقطر، بلافاصله توسط نیتروژن مایع منجمد شده و داخل میکروتیوب قرار داده شد. این نمونه ها در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

اندازه گیری بیان ژن

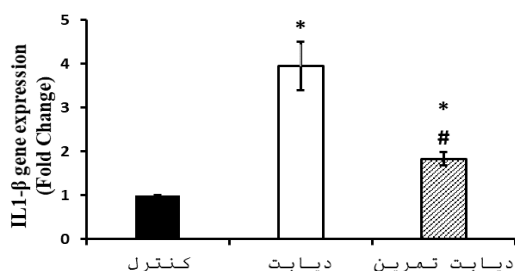
مقدار ۵۰ میلی گرم از بافت قلب با افزودن یک میلی مول معرف RNX Plus (سینا ژن، ایران) هموژن گردید، سپس ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل تکنیک Real Time-PCR (Real-time polymerase chain reaction) اجرا شد. از سایر گرین مسترمیکس Ampliqon ساخت کشور دانمارک استفاده شد. برای تعیین غلظت DNA از رنگ های فلورسانس استفاده می شود، که در این تکنیک متداول ترین رنگ، سایر گرین می باشد که به شیارهای کوچک DNA دو رشته ای متصل شده و با جذب طول موج ۴۹۸ نانومتر، نور ۵۲۲ نانومتری را به رنگ سبز ساطع می کند، که سپس توسط دستگاه ثبت می شود. بنابراین افزایش شدت فلورسنت با غلظت DNA متناسب است. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و

شدند. هر سه سر رت به صورت جداگانه در قفس های پلی اتیلن (۱۲×۲۳×۲۳ cm³) نگهداری شدند (۱۹). القای دیابت پس از ۱۶ ساعت ناشتایی توسط تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین ۶۰ میلی گرم/کیلوگرم انجام شد، و قند خون آن ها پس از چهار روز توسط گلوکومتر و روش پانچ کردن اندازه گیری شد، و معیار ۳۰۰ میلی گرم/دسی لیتر به عنوان معیار دیابتی شدن در نظر گرفته شد که در رت های گروه دوم و سوم مشاهده شد (۲۰). در رابطه با نرخ بقاء، گروه کنترل سالم از ابتدا هفت سر بودند و در طول مطالعه هیچ یک از رت ها تلف نشدند. در گروه دیابتی رت ها ده سر بودند که سه تا از آن ها در طول مطالعه تلف شدند. در گروه دیابت همراه با تمرین شنا نیز تعداد رت ها نه سر بودند که در انتها هفت سر باقی ماند و دو سر تلف شدند.

برنامه تمرین

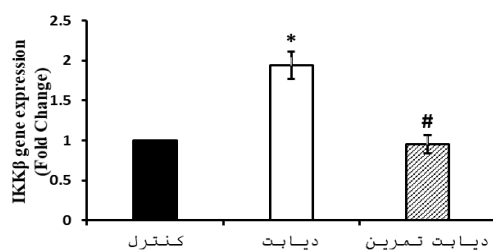
پس از انتقال رت ها به آزمایشگاه و پیش از اجرای تمرینات شنا، مرحله آشنایی با محیط استخر حیوانات، رت ها به مدت یک هفته و هر روز به مدت ۱۰ دقیقه در باکس استخر شنا رت ها شدند. سپس تمرین اصلی شنا به مدت ۱۲ هفته و پنج جلسه در هفته اجرا گردید. برای اطمینان از انجام شنای مداوم و اجباری، در استخر مخصوص رت دارای باکس جداگانه برای هر رت در ابعاد ۵۰×۵۰×۵۰ سانتی متر که دارای پروانه موج ساز و المنت تنظیم درجه حرارت بود، با دمای آب ۳۰ تا ۳۲ درجه سانتی گراد اجرا گردید. ابتدا جهت آماده سازی رت ها در یک هفته ابتدایی به مدت پانزده دقیقه عمل شنا کردن صورت گرفت، و سپس در مرحله اضافه بار، وزنه ای با دو درصد وزن بدن آن ها از هفته دوم تا هفته دوازدهم به دم آن ها متصل گردید. مدت زمان شنای اجباری از هفته دوم تا چهارم ۲۰ دقیقه، از هفته پنجم تا هفتم ۳۰ دقیقه، هفته نهم و دهم ۴۰ دقیقه، و هفته یازدهم و دوازدهم ۵۰ دقیقه توسط رت ها اجرا گردید، توالی روزهای تمرین، سه روز تمرین، یک روز

هدف، برای یک نمونه ی ۱۰ لاندایی، ترکیبی از مسترمیکس (۵ لاند)، پرایمر (۱ لاند)، cDNA (۱ لاند) و آب مقطر (۳ لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی، نسبت به ژن کنترل GAPDH ارزیابی شد. پس از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel، طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن محاسبه گردید، و با واحد Fold change بیان شد (۲۲). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک قابل مشاهده است (جدول شماره ۲).



تصویر شماره ۱: مقایسه مقادیر بیان ژن *IL-1β* در گروه های کنترل و تجربی، #: نشانه افزایش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل $p=0/001$ # نشانه کاهش معنی دار در مقایسه با گروه دیابت $p=0/01$

در رابطه با مقادیر بیان ژن *IKKβ* و مقایسه سه گروه مورد مطالعه مشاهده شد که مقادیر بیان ژن *IKKβ* در رت های دیابتی در مقایسه با رت های گروه کنترل افزایش معنی داری داشت ($P=0/001$)، که پس از مداخله ۱۲ هفته تمرین شنا توسط رت های دیابتی کاهش معنی داری در مقادیر این ژن به وجود آمد ($P=0/01$) (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: مقایسه مقادیر بیان ژن *IKKβ* در گروه های کنترل و تجربی، #: نشانه افزایش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل $p=0/001$ # نشانه کاهش معنی دار در مقایسه با گروه دیابت $p=0/01$

پس از بررسی نتایج آزمون توکی ملاحظه شد که در اثر القای دیابت در رت های صحرایی میزان بیان ژن

هدف، برای یک نمونه ی ۱۰ لاندایی، ترکیبی از مسترمیکس (۵ لاند)، پرایمر (۱ لاند)، cDNA (۱ لاند) و آب مقطر (۳ لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی، نسبت به ژن کنترل GAPDH ارزیابی شد. پس از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel، طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن محاسبه گردید، و با واحد Fold change بیان شد (۲۲). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول یک قابل مشاهده است (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: توالی پرایمرهای ژن ها

Gene	Forward	Reverse
GAPDH	ACATCATCCCTGCATCCACT	GGGAGTTGCTGTGAAGTCA
IKKβ	CCTCCTTAAGGCATGTGGCA	TGGAACAAGGTGTGCCCTTT
IL-1β	GACTTCACCATGGAACCCGT	GGAGACTGCCATTCTCGAC
TNFα	GACCCTCACACTCAGATCATCTC	TGCTACGACGTGGGCTACG
TFAM	AAGCACAAATCAAGAGGAGAGAAT	CACACTGCCGACGGATGAGAT

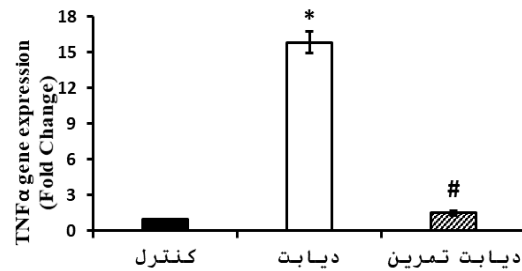
روش های آماری

برای دسته بندی و تعیین شاخص های مرکزی و پراکندگی از آمار توصیفی استفاده شد. جهت بررسی طبیعی بودن داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای بررسی تغییرات بین گروه ها در صورت طبیعی بودن داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک سویه و جهت تعیین تفاوت بین گروه ها از آزمون تعقیبی توکی (به دلیل مساوی بودن حجم نمونه ها و قدرت بیش تر برای رد فرض صفر در مقایسه با آزمون بونفرونی) استفاده شد. هم چنین در صورت طبیعی نبودن داده ها از آزمون کراس کال-والیس استفاده شد. در پژوهش حاضر، به منظور رد فرضیه صفر، سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ و هم چنین برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۲۰ استفاده شد.

یافته ها

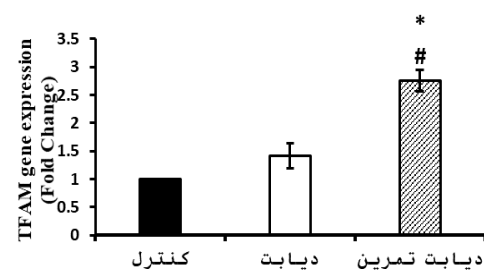
نتایج آنالیز واریانس یک راهه نشان داد که بین مقادیر بیان ژن *IL-1β* گروه های کنترل و تجربی تفاوت

TNF α در مقایسه با رت های گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است ($P=0/001$)، که با اجرای ۱۲ هفته تمرین شنا در گروه دیابتی تحت تمرین، در مقایسه با گروه دیابتی کاهش ۱۵ برابری مشاهده گردید ($P=0/01$) (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره ۳: مقایسه مقادیر بیان ژن *TNF α* در گروه های کنترل و تجربی، *: نشانه افزایش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل $p=0/001$ ، #: نشانه کاهش معنی دار در مقایسه با گروه دیابت $p=0/01$

القای دیابت اثر معناداری بر بیان ژن *TFAM* نداشت، اما با اجرای ۱۲ هفته تمرین شنای پیش رونده توسط رت های دیابتی افزایش معنی داری در مقادیر بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل سالم و دیابتی مشاهده گردید ($P\leq 0/05$) (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۴: مقایسه مقادیر بیان ژن *TFAM* در گروه های کنترل و تجربی، *: نشانه افزایش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل $p=0/001$ ، #: نشانه افزایش معنی دار در مقایسه با گروه دیابت $p=0/03$

بحث

مطالعات مختلفی نشان داده اند که بیماری دیابتی منجر به مرگ سلول های بتای پانکراس و هایپر

انسولینی مزمن می گردد، این عوامل موجب فعال شدن فاکتور نسخه برداری NF κ B می گردد، و نتیجه آن تجمع اضافی فاکتورهای التهابی می باشد (۲۳). از مهم ترین فاکتورهای التهابی، *TNF α* به عنوان یکی از سایتوکاین های پیش التهابی کلیدی، در ایجاد مقاومت به انسولین و آسیب های سلولی ناشی از دیابت نقش مهمی ایفاء می کند، و بیان شده است که افزایش بیان این ژن می تواند بازتابی از واکنش سیستم ایمنی به استرس اکسیداتیو و اختلالات متابولیکی در شرایط دیابتی باشد (۲۴، ۲۵). همان طور در نتایج عنوان شد، پس از القای دیابت نوع دوم در رت های صحرایی در مطالعه حاضر، سطوح بیان ژن *TNF α* بافت قلب افزایش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل داشت، در همین راستا، گزارش شده است که بیماری دیابت مقادیر بیان ژن *TNF α* را در بافت قلب رت افزایش می دهد (۲۶). در رابطه با سیگنالینگ پاتوفیزیولوژی بیماری دیابت عنوان شده است که اختلال در مسیر پروتئین کیناز و نقص در فعال شدن مسیر AKT موجب تشدید تولید *TNF α* و بروز عوارض کاردیومیوپاتی دیابت نیز می شود (۲۷). به علاوه، بر اساس یافته های مطالعات حیوانی، فاکتورهای التهابی *TNF α* و *IL-1 β* موجب هایپر تروفی پاتولوژیک و اختلال در عملکرد قلب می شوند، و مقادیر این شاخص های التهابی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم بالاتر از افراد سالم است، که می توانند بر بیان ژن پروتئین ناقل گلوکز ۴ (GLUT4) اثر مهاری داشته باشند، و مقاومت به انسولین را در این بیماران افزایش دهند (۲۸). هم چنین، *TNF α* قادر است که سوسترای گیرنده انسولین (IRS) در سرین را از طریق مسیرهای JNK و NF κ B/IKK β فسفوریله کند، و در اثر این مسیر سیگنالینگ انسولین تخریب می شود (۲۹).

با مداخله تمرین شنا در پژوهش حاضر مشاهده شد که پس از اجرای ۱۲ هفته تمرین شنا مقادیر بیان ژن *TNF- α* در بافت قلب کاهش پیدا می یابد. نتایج مطالعه ای نشان داده است که پس از اجرای دو ساعت فعالیت

ورزشی حاد مقادیر بیان ژن‌های $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ کاهش پیدا می‌کند، که به‌نظر می‌رسد با افزایش حساسیت به انسولین و بهبود متابولیسم گلوکز پس از مداخله تمرین ورزشی، تولید $TNF\alpha$ در بافت کاهش می‌یابد (۳۰، ۳۱). از سوی دیگری، $TNF\alpha$ مولکول کلیدی در ایجاد مقاومت به انسولین شناخته شده است، و مشخص شده است که فعالیت ورزشی از طریق مهار $TNF\alpha$ حساسیت به انسولین را تا حدی افزایش می‌دهد (۲). علاوه بر این، فعالیت ورزشی تولید $TNF\alpha$ را از طریق مسیری مستقل از اینترلوکین ۶ سرکوب می‌کند، که با افزایش سطوح اپی نفرین، پاسخ $TNF\alpha$ کاهش پیدا می‌کند (۳۲). در رابطه با تاثیر تمرین شنا گزارش شده است که ۱۲ هفته تمرین شنای متوسط نسبت به شدت بالا مقادیر $TNF\alpha$ را کاهش بیش‌تری می‌دهد (۳۳). علت این کاهش به فعال شدن ژن $CXCL5$ نسبت داده شده است، که این ژن توسط سایتوکین‌های پیش التهابی فعال می‌شود، و از طریق فعال کردن مسیر $JAK2/STAT5/SOCS2$ سیگنال‌دهی انسولین را مهار کرده و موجب بروز مقاومت به انسولین می‌گردد. مشاهده شده است که با اجرای فعالیت ورزشی، ژنوم $CXCL5$ در گردش خون فعال می‌شود، و باعث توقف در تولید $TNF\alpha$ و $IL-1\beta$ می‌شود (۳۴). محققان علت دیگر کاهش ژن‌های $TNF\alpha$ و $IL-1\beta$ را پس از ورزش به افزایش خانواده DUSP نسبت داده‌اند، که مشخص شده است فعالیت بدنی منجر به تنظیم مثبت این خانواده می‌گردد، این خانواده مسئول دفسفوریلایسیون فسفوتیروزین و فسفوتیروئین هستند (باقی‌مانده‌های مهم در کینازهای فعال میتوزن MAPK)، و از طریق غیر فعال کردن MAPKs نقش مهمی در تحریک عوامل پیش التهابی $IL-1\beta$ و $TNF\alpha$ ایفاء می‌کنند (۳۴). در حمایت از این یافته‌ها گزارش شده است که بر اثر انجام تمرین ورزشی با شدت بالا بیان ژن‌های $TNF\alpha$ و $IL-1\beta$ در بیماران دیابتی مهار می‌شود (۳۵). از سوی دیگری، عنوان شده است که با کاهش توده چربی بدن در اثر اجرای

فعالیت ورزشی، مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد، که موجب کاهش سطوح $IL-1\beta$ می‌شود (۳). مشابه با یافته‌های ژن‌های مطرح شده در مطالب فوق، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن $IKK\beta$ بافت قلب در اثر القای دیابت افزایش می‌یابد، و پس از اجرای ۱۲ هفته تمرین شنا سطوح این ژن در بافت قلب رت‌های دیابتی کاهش پیدا می‌کند. در برخی از شرایط التهابی مانند دیابت، تنظیم بیان ژن‌های میتوکندریایی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، و باعث کاهش عملکرد میتوکندری و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود، که ممکن است به نقض سلامت سلولی منجر شود. این ژن در تنظیم جریان کلسیم در میتوکندری نقش مهمی دارد، و مطالعات نشان داده‌اند تغییرات جریان کلسیم موجب افزایش احتمال ابتلا به بیماری‌های متابولیک از جمله مقاومت به انسولین و دیابت می‌شود (۱۰). به‌طور خلاصه، $IKK\beta$ یک تنظیم کننده کلیدی $NFK\beta$ است، که نقش دوگانه‌ای در التهاب دارد، که در ابتدا $NFK\beta$ را مهار می‌کند، سپس از طریق شکل هیپوفسفریله هسته‌ای خود، با اتصال به دایمرهای $NFK\beta$ ، بیان طولانی مدت میانجی‌گرهای التهابی خاص مانند $TNF\alpha$ را تحریک می‌کند. به این ترتیب $IKK\beta$ از طریق فعال‌سازی $NFK\beta$ نقش اساسی در راهبرد تنظیم و استقرار فرآیندهای التهابی در بدن ایفاء می‌کند، و این فرآیند می‌تواند در ایجاد و پیشرفت بیماری‌های التهابی مانند دیابت نقش مهمی داشته باشد (۶). علاوه بر تاثیرات دیابت بر مقادیر این ژن، اثر تمرینات شنا نیز مورد بررسی قرار گرفته است، و مشخص شده است که شنا ممکن است از طریق فعال‌سازی مسیرهای تنظیمی، مانند افزایش ترشح آدیپوکین‌های ضد التهابی، به کاهش بیان ژن $IKK\beta$ کمک کند (۳۶). شنا به‌عنوان یک فعالیت هوازی منظم می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندریایی، فعالیت مسیرهای التهابی را تعدیل کند، این یافته‌ها با مطالعات پیشین که تأثیر

مثبت ورزش بر کاهش التهاب و بهبود حساسیت به انسولین را گزارش کرده اند، همخوانی دارد (۳۷).

در رابطه با بیان ژن *TFAM* در پژوهش حاضر ملاحظه شد که با القای دیابت در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهشی به وجود آمد که به لحاظ آماری معنی داری نبود، اما با اجرای ۱۲ هفته تمرین شنای استقامتی افزایش معنی داری در سطوح آن در مقایسه با هر دو گروه کنترل و دیابتی به دست آمد. عنوان شده است که، در افراد مبتلا به دیابت اختلال در بیان ژن *TFAM* به طور خاص در بافت قلبی موجب کاهش قابل توجهی در ظرفیت حمل و نقل الکترونی و کاردیومیوپاتی و نارسایی قلبی می گردد (۳۸). علاوه بر تاثیر دیابت بر مقادیر بیان این ژن، گزارش شده است که تمرینات تناوبی بیان ژن *TFAM* را در قلب رت ها افزایش می دهد (۳۹). در مطالعه مشابه دیگری عنوان شده است که تمرینات تناوبی و مقاومتی منجر به افزایش بیان ژن *TFAM* میوسیت های قلبی رت های سالمند می گردد (۳۸). اجرای فعالیت ورزشی از طریق سازگاری های بیوترنژ میتوکندری موجب افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در افراد دیابتی می گردد، که این سازگاری ها شامل فعال سازی آدنوزین مونوفسفات کیناز، PGC1 α ، پروتئین کیناز II وابسته به کلسیم/کالمادولین است، که از عوامل تقویت میوسیت و سنتز پروتئین میتوکندری هستند (۱۱). به طور کلی گزارش شده است که افزایش بیان *TFAM* نشان دهنده تقویت فعالیت های ترانسکریپسیونی و بهبود ظرفیت

میتوکندریایی است، که برای تأمین نیازهای انرژی سلول های قلبی در شرایط استرس متابولیکی مانند دیابت، بسیار حیاتی است (۱۳). بیان ژن *TFAM* در هسته سلول، موجب سنتز پروتئین های زنجیره انتقال الکترونی میتوکندری می شود، و نقش محوری و موثری در بیوترنژ میتوکندری اجرا می کند (۱۲). از جمله محدودیت های پژوهش حاضر، می توان به عدم کنترل استرس رت ها حین اجرای تمرین شنا و بیهوشی جهت تشریح اشاره کرد.

در مجموع به نظر می رسد که بیماری دیابت موجب افزایش بیان ژن های سیستم التهابی در بافت قلب می گردد، و از سوی دیگری بیان ژن موثر در بیوترنژ عملکرد میتوکندری را نیز کاهش می دهد، و بر اساس یافته های پژوهش حاضر مشاهده شد که تمرین شنای استقامتی پیش رونده قادر است فاکتورهای التهابی را در بافت قلب کاهش دهد، و موجب بهبود ساختار و کارکرد میتوکندری بافت قلب رت های دیابتی شود. بنابراین، تمرین شنا به عنوان یک رهیافت درمانی و پیشگیری کننده از عوارض التهابی ناشی از بیماری دیابت نوع دو می تواند برای این بیماران در نظر گرفته شود، و در بهبود کاردیومیوپاتی ناشی از دیابت در برنامه درمانی آنان قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مطالعه حاضر از همه کسانی که در این پژوهش یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Tonkaboni SF, Khaledi N, Askari H. The effect of Progressive Resistance Training and High Intensity Interval Training on TRAF6 gene expression of the heart muscle and serum TNF- α levels in male diabetic rats. Med J Tabriz Uni Med Sci 2021; 43(2): 209-219.
2. Soltanian Z, Vanaky B, Ramezani N, Shakeri N, Shams Z, Rad FF. Effect of eight weeks resistance training on gene expression of TNF- α and IL10 in the heart of type ii diabetic male rats. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 2019; 27 (6): 1656-1667.

3. Babaei S, Fattahpou Marandi M. The effect of 12 weeks of aerobic training and zinc supplementation on interleukin 1 beta and TNF alpha in women with type 2 diabetes. *Research in Exercise Nutrition* 2022; 1(3):33-41.
4. Ghorbani R, Tofighi A, Babaei S. Copper supplementation response to lipid peroxidation and total antioxidant capacity in passive girls following exhaustive activity. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology* 2017;4(1):74-81.
5. Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Med* 2014;44(2):211-221 PMID: 24174305.
6. Rao P, Hayden MS, Long M, Scott ML, West AP, Zhang D, et al. I κ B β acts to inhibit and activate gene expression during the inflammatory response. *Nature* 2010; 466(7310): 1115-1119 PMID: 20740013.
7. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316(2): 129-139 PMID: 19723556.
8. Mitrofanova A, Fontanella AM, Burke GW, Merscher S, Fornoni A. Mitochondrial Contribution to Inflammation in Diabetic Kidney Disease. *Cells* 2022; 11(22):3635 PMID: 36429063.
9. Yang S, He X, Zhao J, Wang D, Guo S, Gao T, et al. Mitochondrial transcription factor A plays opposite roles in the initiation and progression of colitis-associated cancer. *Cancer Commun (Lond)* 2021;41(8):695-714 PMID: 34160895.
10. Koh JH, Kim YW, Seo DY, Sohn TS. Mitochondrial TFAM as a Signaling Regulator between Cellular Organelles: A Perspective on Metabolic Diseases. *Diabetes Metab J* 2021; 45(6):853-865 PMID: 34847642.
11. Heidarnia E, Taghian F, Dehkordi KJ, Moghadasi M. The effect of combined training and consumption of e and C antioxidant supplements on mitochondrial function and biogenesis in the heart tissue of diabetic rats. 2022 ; 21 (5) :323-333.
12. Abdollahi M, Hosseini M, RIYAH MS. The Effect of High Intensity Training and Beetroot Consumption on NRF1 and TFAM in Visceral Adipose Tissue of Aged Type 2 Diabetic Rats. 2023; 22 (6) :361-371.
13. Wang Y, Guo Y, Xu Y, Wang W, Zhuang S, Wang R, et al. HIIT Ameliorates Inflammation and Lipid Metabolism by Regulating Macrophage Polarization and Mitochondrial Dynamics in the Liver of Type 2 Diabetes Mellitus Mice. *Metabolites* 2022; 13(1):14 PMID: 36676939.
14. Koves TR, Ussher JR, Noland RC, Slentz D, Mosedale M, Ilkayeva O, et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab* 2008; 7(1): 45-56 PMID: 18177724.
15. Schwingshackl L, Missbach B, Dias S, König J, Hoffmann G. Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *Diabetologia* 2014; 57(9): 1789-1797 PMID: 24996616.
16. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training

- on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Sci Rep* 2017; 7(1):204 PMID: 28303003.
17. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2017; 125(09): 583-591 PMID: 26824288.
 18. Park S, Moon NR, Kang S, Kim DS. Ferulic acid and vinpocetine intake improves memory function by enhancing insulin sensitivity and reducing neuroinflammation and oxidative stress in type 2 diabetic animals with induced Alzheimer's disease. *Journal of Functional Foods* 2022; 95(3):105180.
 19. Alimohamadi Y, Sepandi M. Sample Size in Animal Studies (The number of laboratory animals in a Research study). *Iran J Med Microbiol* 2022;16(2):173-176.
 20. Majidi S, Banaeifar A, Azarbayjani MA, Arshadi S. Comparison the Effect of Exercise Types of Endurance, Resistance and Combine Training on NLRP-3 and Insulin Resistance in Visceral Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats 2022; 21(6): 366-378.
 21. Brandt N, De Bock K, Richter EA, Hespel P. Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(2): E215-E224 PMID: 20484011.
 22. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ (C(T) method. *Methods* 2001;25(4):402-408.
 23. Kaki A, Nikbakht M, Fathimoghadam H, Habibi A. The effect aerobic exercise on the level of expression of Toll-like receptor 4 and inflammatory mediators in the sensory spinal cord of Male Rats with diabetic neuropathic pain. *Jundishapur Scientific Medical Journal* 2019; 17(5): 503-517.
 24. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-alpha) in Autoimmune Disease and Current TNF-alpha Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci* 2021; 22(5): 2719 PMID: 33800290.
 25. Gonzalez Caldito N. Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders. *Front Immunol* 2023; 14:1213448 PMID: 37483590.
 26. Kosuru R, Kandula V, Rai U, Prakash S, Xia Z, Singh S. Pterostilbene decreases cardiac oxidative stress and inflammation via activation of AMPK/Nrf2/HO-1 pathway in fructose-fed diabetic rats. *Cardiovasc Drugs Ther* 2018; 32(2):147-163 PMID: 29556862.
 27. Alyari N, Vahdatpour T, Karami-bonari A. Effects of Swim Training on Inflammatory Factors and Oxidative Stress of Kidneys in Diabetic and Ovariectomized Female Rats. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2020; 16(31): 89-103.
 28. Malekshahiniya H, Mohammadi Mirzaei R, Vahdatpour H, Azarniveh M. The effect of a period of intermittent training on gene expression of TNF- α , CRP and IL-10 factors in the heart tissue of diabetic male rats. *Metabolism and Exercise* 2021; 11(2): 183-201.
 29. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related

- inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm* 2013; 2013(1): 139239 PMID: 24455420.
30. Büttner P, Mosig S, Lechtermann A, Funke H, Mooren FC. Exercise affects the gene expression profiles of human white blood cells. *J Appl Physiol* 2007; 102(1): 26-36 PMID: 16990507.
 31. Taghibeigi Hoseinabadi H EF, Marandi SM, Karami H. Effects of eight weeks of aerobic training on expression levels of the HMGB1-RAGE/TLR4-NF-kB proinflammatory pathway in cardiac tissue of male rats with hyperglycemia (Persian). *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2019; 20(5): 246-252.
 32. Flesch M, Höper A, Dell'Italia L, Evans K, Bond R, Peshock R, et al. Activation and functional significance of the renin-angiotensin system in mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. *Circulation* 2003; 108(5): 598-604 PMID: 12874189.
 33. Teixeira de Lemos E, Pinto R, Oliveira J, Garrido P, Sereno J, Mascarenhas-Melo F, et al. Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress status in an animal model of type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm* 2011; 2011(1): 253061 PMID: 22174491.
 34. Fatolahian Z, Monazzami AA, Tadibi V, Mostafaei A. Modulation Of Interleukin-1B (Il-1B), Tumor Necrosis Factor–A (TnfA) And Interleukin-10 (Il-10) Genes Expression Following Concurrent Training In Women With Type2 Diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2020; 19(3): 160-169.
 35. Hopps E, Canino B, Caimi G. Effects of exercise on inflammation markers in type 2 diabetic subjects. *Acta Diabetol* 2011; 48(3): 183-189 PMID: 21431832.
 36. Shekarchian M, Peeri M, Azarbayjani MA. Physical activity in a swimming pool attenuates memory impairment by reducing glutamate and inflammatory cytokines and increasing BDNF in the brain of mice with type 2 diabetes. *Brain Research Bulletin* 2023;201:110725.
 37. Jasper US. Diabetes and Exercise in Sub-Saharan Africa: Challenges and way forward. *Journal of Diabetes & Metabolism* 2014;05(04):1-3.
 38. Taheri R, Mirzaei B, Demirchi A. The effect of 8 weeks of interval and resistance training on expression PGC 1 α , AMPK, TFAM Elderly rat heart cells. *Med J Mashhad Univ Med Sci* 2021; 64(1):2511-2528.
 39. Popov DV, Lysenko EA, Bokov RO, Volodina MA, Kurochkina NS, Makhnovskii PA, et al. Effect of aerobic training on baseline expression of signaling and respiratory proteins in human skeletal muscle. *Physiol Rep* 2018; 6(17): e13868 PMID: 30198217.