



Ministry of Science, Research and Technology
Sport Sciences Research Institute

Sport Physiology

Journal homepage: <https://spj.ssric.ac.ir>



Original Article

The Effect of Combined and Separate Interventions of High-Intensity Interval Training and Eryngium Extract on Apoptosis Biomarkers in the Soleus Muscle of Male Rats with Type 2 Diabetes

Ghassan Amer Bedno¹, Asghar Tofighi^{*1}, Bahram Jamali²,
Mohammad Reza Shiri-Shahsavar³

1. Department of exercise physiology and corrective movements, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Paramedical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
3. Department of Nutrition, Faculty of Health, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran.

Received: 7-Jul-2025 | Accepted: 23-Nov-2025 | Online Available: 1-Dec-2025

*Corresponding Author: Asghar Tofighi, E-mail: a.tofighi@urmia.ac.ir

How to Cite: Amer Bedno, GH; Tofighi, A; Jamali B; Shiri-Shahsavar, M. (2026). The Effect of Combined and Separate Interventions of High-Intensity Interval Training and Eryngium Extract on Apoptosis Biomarkers in the Soleus Muscle of Male Rats with Type 2 Diabetes. *Sport Physiology*, 17(68):39-54. (In Persian). Doi: [10.22089/spj.2025.18090.2376](https://doi.org/10.22089/spj.2025.18090.2376)

Extended Abstract

Background and Purpose

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a common metabolic disorder characterized by insulin resistance, impaired insulin secretion, and chronic hyperglycemia that together promote tissue damage. Skeletal muscle, a major site of insulin-mediated glucose uptake, is especially vulnerable and in diabetic conditions shows reduced mass, impaired function, mitochondrial dysfunction, and activation of apoptotic pathways. Among the key regulators of apoptosis are the pro-apoptotic protein Bax and the anti-apoptotic protein Bcl-2, and their balance critically determines cell survival. High-intensity interval training (HIIT) is a time-efficient exercise modality that can improve insulin sensitivity, oxidative capacity, and cellular stress tolerance. Eryngium (Buganagh) is a medicinal plant rich in antioxidant and anti-inflammatory constituents that may help counteract oxidative stress and metabolic disturbances in diabetes. The present study investigated the independent and combined effects of HIIT and Eryngium extract on Bax, Bcl-2, and the Bax/Bcl-2 ratio in the soleus muscle of rats with type 2 diabetes.



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Materials and Methods

This experimental study involved fifty male Wistar rats aged 8–10 weeks and weighing 200 ± 20 g. Animals were housed under standard laboratory conditions, including a temperature of 22 ± 2 °C, a 12-hour light/dark cycle, and humidity of 50–60%, with free access to chow and water. Before interventions, rats completed a two-week acclimatization period to the housing environment and treadmill running to reduce stress. Type 2 diabetes was induced by two weeks of high-fat diet followed by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (50 mg/kg in citrate buffer, pH 4.5). Seventy-two hours later, fasting blood glucose was measured, and rats with values above 250 mg/dL were considered diabetic. Animals were randomly assigned to five groups ($n = 10$): healthy control, diabetic control, diabetic plus Eryngium extract, diabetic plus HIIT, and diabetic plus HIIT with Eryngium extract. The extract was administered orally by gavage at 100 mg/kg/day for six weeks. The HIIT protocol was performed on a motorized treadmill five days per week for six weeks using repeated high-speed bouts with active recovery, with intensity progressively increased. At the end, rats were fasted overnight, anesthetized with ketamine/xylazine, and euthanized according to ethical guidelines. Soleus muscles were excised, cleaned, snap-frozen, and stored at -80 °C. Bax and Bcl-2 protein levels were measured with commercial ELISA kits, and the Bax/Bcl-2 ratio was calculated as an apoptotic index. Body weight and glucose were monitored, treadmill intensity was adjusted individually, and investigators were blinded to group allocation during biochemical analyses. All procedures followed institutional animal care standards, ensuring humane treatment, minimized distress, and consistent handling throughout the study. Sample processing, data recording, and assay validation were performed under controlled laboratory conditions to maintain reliability, reduce variability, and ensure that measured apoptotic markers accurately reflected intervention effects on skeletal muscle tissue in this experiment.

Results

In this study, the soleus muscle was chosen because its oxidative and slow-twitch profile makes it particularly sensitive to diabetes-induced apoptotic alterations. The induction of diabetes produced marked alterations in apoptosis-related proteins within the soleus muscle. One-way ANOVA revealed that Bax protein levels were significantly higher in the diabetic control group compared to all other groups ($p = 0.001$). Specifically, streptozotocin (STZ) injection resulted in a profound elevation of Bax concentration in diabetic rats relative to healthy controls, confirming the pro-apoptotic impact of diabetes induction. Intervention analyses showed that both high-intensity interval training (HIIT) and the combined protocol of HIIT with Eryngium extract significantly reduced Bax levels in diabetic rats when compared to the diabetic control group ($p = 0.001$). Importantly, the reduction in Bax was more pronounced in the combined intervention group, demonstrating a significantly greater improvement than that observed in the extract-only group ($p = 0.001$). In contrast, administration of Eryngium extract alone did not produce a statistically significant reduction in Bax levels ($p > 0.05$), indicating that the extract by itself was insufficient to counteract diabetes-induced increases in pro-apoptotic signaling. Similarly, the one-way ANOVA for Bcl-2 revealed that healthy controls exhibited significantly higher Bcl-2

protein levels than diabetic controls ($p = 0.001$), reflecting the suppression of anti-apoptotic mechanisms under diabetic conditions. Treatment with Eryngium extract, HIIT, or their combination all resulted in significant increases in Bcl-2 levels compared to the diabetic control group ($p = 0.001$). However, no significant differences were observed among the three intervention groups ($p > 0.05$), suggesting that although all interventions enhanced anti-apoptotic signaling, none was superior in elevating Bcl-2 expression. Analysis of the Bax/Bcl-2 ratio further supported these findings. The ratio was markedly elevated in the diabetic control group relative to the healthy controls ($p = 0.001$), indicating a strong shift toward apoptosis. Both the HIIT group and the combined HIIT + extract group demonstrated significant reductions in the Bax/Bcl-2 ratio compared with diabetic controls ($p = 0.001$). Notably, the combined intervention resulted in a significantly greater reduction in the Bax/Bcl-2 ratio compared to the extract-only group ($p = 0.001$), highlighting the synergistic effect of combining exercise with Eryngium extract. Collectively, these results show that diabetes promotes a pro-apoptotic environment in skeletal muscle by increasing Bax and the Bax/Bcl-2 ratio while suppressing Bcl-2. HIIT—especially when combined with Eryngium extract—exerts stronger protective effects by attenuating pro-apoptotic markers and enhancing anti-apoptotic signaling more effectively than the extract alone.

Conclusion

This study demonstrated that the combination of high-intensity interval training and Eryngium extract effectively attenuated apoptosis in the soleus muscle of rats with type 2 diabetes. Diabetes induction markedly increased Bax, decreased Bcl-2, and elevated the Bax/Bcl-2 ratio, while both HIIT and the combined intervention significantly reversed these detrimental changes. The extract alone was less effective in lowering Bax but still enhanced Bcl-2, indicating that exercise provided the primary protective stimulus and the plant extract acted mainly as a complementary support. Overall, the combined protocol produced the most favorable profile of apoptotic markers, suggesting improved cellular survival under diabetic conditions. These findings highlight the potential of integrating structured high-intensity exercise with antioxidant herbal supplementation as a non-pharmacological strategy to limit diabetes-related muscle complications and may provide a rationale for future translational and clinical studies targeting diabetic sarcopenia and functional decline. In practice, such combined interventions may help preserve muscle function.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Eryngium Extract, Type 2 Diabetes, Apoptosis.

Article Message

The growing burden of type 2 diabetes demands practical, low-cost strategies to protect vulnerable tissues such as skeletal muscle. In this experimental model, combining high-intensity interval training with Eryngium extract reduced pro-apoptotic signaling, increased anti-apoptotic defenses, and improved the Bax/Bcl-2 balance in the soleus muscle of diabetic rats. These findings suggest that structured high-intensity exercise, particularly when paired with antioxidant herbal supplementation, may mitigate diabetes-related muscle damage and delay progression toward diabetic sarcopenia. Further clinical research is needed to determine optimal protocols and

to clarify the translational relevance of this combined non-pharmacological approach. Future work should refine dose and intensity.

Ethical Considerations

All experimental procedures involving animals were carried out in accordance with the guidelines of the Laboratory Animal Ethics Committee of the University of Urmia. The study was approved under Ethics Code: IR-UU-AEC-3/53. All stages of work with laboratory animals were performed strictly according to the committee's instructions to ensure humane care, minimization of pain and distress, and adherence to national and institutional standards for animal research. Further information about the ethical framework can be obtained from the Laboratory Animal Ethics Committee of the University of Urmia.

Authors' Contributions

Conceptualization: Ghassan Amer Bedno, Asghar Tofighi

Data Collection: Ghassan Amer Bedno, Bahram Jamali, Mohammad Reza Shiri-Shahsavari

Data Analysis: Ghassan Amer Bedno, Bahram Jamali, Asghar Tofighi

Manuscript Writing: Ghassan Amer Bedno, Asghar Tofighi

Review and Editing: Asghar Tofighi, Mohammad Reza Shiri-Shahsavari

Responsible for Funding: Asghar Tofighi

Literature Review: Ghassan Amer Bedno

Project Manager: Asghar Tofighi

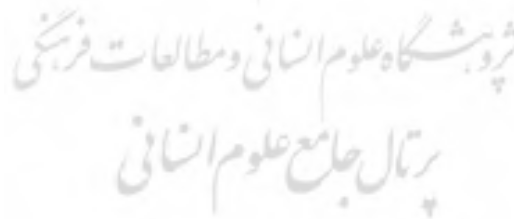
Any Other Contribution: All authors contributed to the interpretation of findings and approved the final version of the manuscript.

Conflict of Interest

The Authors Declare no Competing Financial or Professional Interests.


Acknowledgments

We extend our gratitude to all individuals who supported and facilitated this study.





اثر مداخله ترکیبی و جداگانه تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل یاری عصاره بوقناق بر بیومارکرهای آپوتوز در بافت عضله دوقلو موش‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

غسان عامر بیدنو^۱، اصغر توفیقی*^۱، بهرام جمالی^۲، محمدرضا شیری شاهسوار^۳ 

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی و حرکات اصلاحی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم پایه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳. گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۶ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۸ | تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۴/۰۹/۱۰

*نویسنده مسئول: اصغر توفیقی، ایمیل: a.tofighi@urmia.ac.ir

نحوه ارجاع دهی: عامر بیدنو، غسان؛ توفیقی، اصغر؛ جمالی، بهرام و شیری شاهسوار، محمدرضا. (۱۴۰۴). اثر مداخله ترکیبی و جداگانه تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل یاری عصاره بوقناق بر بیومارکرهای آپوتوز در بافت عضله دوقلو موش‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲. فیزیولوژی ورزشی، ۱۷(۶۸): ۳۹-۵۴.

چکیده

هدف: دیابت نوع ۲ (T2DM) اختلال متابولیک شایعی است که با مقاومت به انسولین و نقص ترشح انسولین همراه است و موجب آسیب و تحلیل عضلانی می‌شود. از آنجاکه استرس اکسیداتیو و آپوتوز نقش مهمی در آسیب عضلات اسکلتی در دیابت دارند، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و عصاره بوقناق، به صورت جداگانه و ترکیبی، بر بیومارکرهای آپوتوز در عضله سولئوس موش‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۵۰ موش صحرایی نر به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی+بوقناق، دیابتی+HIIT و دیابتی+HIIT+بوقناق. دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) القا شد. مداخلات شامل شش هفته تمرین HIIT و تجویز خوراکی عصاره بوقناق (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بود. در پایان دوره، سطوح پروتئین‌های Bax و Bcl-2 و نسبت Bcl-2/Bax در عضله سولئوس اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تمرین HIIT باعث کاهش معنادار BAX ($p=0.001$) و افزایش معنادار Bcl-2 ($p=0.001$) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد. تجویز بوقناق به تنهایی تأثیر معناداری بر سطوح Bax و Bcl-2 نداشت ($p>0.05$). در مقابل، گروه ترکیبی کاهش چشمگیر BAX ($p=0.001$)، افزایش چشمگیر Bcl-2 ($p=0.001$) و کاهش قابل توجه نسبت Bcl-2/Bax را نشان داد که از سایر گروه‌های مداخله‌ای بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه بیانگر آن است که تمرین HIIT اثرات حفاظتی قابل توجهی بر عضلات دیابتی دارد و ترکیب آن با عصاره بوقناق می‌تواند این اثرات را تقویت کند و میزان آپوتوز را کاهش دهد. به طور کلی، مداخله ترکیبی HIIT و بوقناق ممکن است رویکردی مؤثر برای مدیریت و کاهش عوارض عضلانی مرتبط با دیابت نوع ۲ باشد.

واژگان کلیدی: تمرینات تناوبی با شدت بالا، عصاره بوقناق، دیابت نوع ۲، آپوتوز



مقدمه

دیابت ملیتوس نوع ۲ (T2DM) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک است که با مقاومت انسولینی و نقص در ترشح انسولین شناخته می‌شود و اغلب در اثر اضافه‌وزن، تغذیه نادرست و کاهش تحرک جسمی ایجاد می‌شود (۱، ۲). طبق گزارش سال ۲۰۲۱ فدراسیون بین‌المللی دیابت، بیش از ۵۳۷ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا هستند که حدود ۱۰ درصد از جمعیت جهانی را درگیر می‌کند. دیابت نوع ۲ بیش از ۹۰ درصد از کل موارد دیابت را تشکیل می‌دهد (۳). دیابت نوع ۲ با عوارض خطرناکی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، نارسایی کلیوی، کوری و نوروپاتی محیطی همراه است. هیپرگلیسمی مزمن در این بیماری موجب فعال شدن مسیرهای سیگنالی مختلفی می‌شود که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، پروتئین‌های AGE و واسطه‌های التهابی می‌شود و در نهایت به مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (آپوپتوز یا اتوفازی غیرطبیعی) می‌انجامد (۴).

در سال‌های اخیر، شیوع این بیماری رو به افزایش بوده است و عوارض متعددی در بافت‌ها و اندام‌های مختلف بدن از جمله عضله اسکلتی ایجاد می‌کند (۵). عضله اسکلتی از اصلی‌ترین بافت‌های هدف انسولین است و در شرایط دیابت نوع ۲ دچار اختلالات متعددی می‌شود؛ از جمله این اختلالات می‌توان به آتروفی عضلانی (۶)، تغییر نوع تارهای عضلانی از اکسیداتیو به گلیکولیتیک (۷)، اختلال در متابولیسم انرژی و میتوکندری‌ها (۸) و ضعف عضلانی و کاهش تحمل فعالیت بدنی اشاره کرد (۹، ۶). علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که افزایش قندخون و استرس اکسیداتیو در دیابت نوع ۲ می‌تواند باعث القای آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی) در عضله اسکلتی شود که خود عاملی مهم در پیشرفت ضعف و تحلیل عضلانی در بیماران دیابتی به شمار می‌رود (۱۰). آپوپتوز، نوعی مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده است که از طریق دو مسیر درونی و بیرونی انجام می‌شود. خانواده پروتئینی لنفوما سلول B-2 (BCL-2) یکی از اجزای اصلی مسیر درونی شناخته می‌شود (11). شواهد موجود نشان می‌دهند که پروتئین‌های مهمی مانند BAX و BCL-2 در کنترل این مسیرها دخالت دارند و این دو پروتئین نقش مهمی در فعال‌سازی مسیرهای داخلی آپوپتوزی ایفا می‌کنند (۱۳، ۱۲). این فرایند از نظر فیزیولوژیک نقش مهمی در تنظیم فرایندهای مختلفی همچون رشد، تکامل، حفظ تعادل داخلی بدن و مهار تومورها در بافت‌های میتوزی دارد (۱۴)؛ با این حال، از جنبه پاتولوژیک، گاهی اوقات آپوپتوز ممکن است اثرات منفی بر عملکرد عضله اسکلتی داشته باشد؛ به‌ویژه در وضعیت‌هایی که میزان آپوپتوز در سلول‌های عضله اسکلتی افزایش یابد، باعث آسیب به بافت عضلانی و ایجاد مشکلات در عملکرد آن می‌شود (۱۰).

این موضوع موجب شده است که پژوهشگران به دنبال یافتن روش‌های مؤثر برای جلوگیری از آپوپتوز و پیشگیری از بیماری‌های عضلانی مرتبط با آن باشند. ورزش منظم، مداخله‌ای مؤثر در پیشگیری و درمان دیابت نوع ۲ شناخته شده است. اغلب مطالعات در این حوزه بر فعالیت‌های جسمانی با شدت کم تا متوسط نظیر پیاده‌روی، دویدن یا دوچرخه‌سواری تمرکز دارند که مدت‌زمان هر جلسه آن‌ها معمولاً کمتر از ۳۰ دقیقه است (۱۶، ۱۵). با وجود آنکه هنوز پروتکل درمانی بهینه برای دیابت نوع ۲ به طور قطعی مشخص نشده است، HIIT روشی مؤثر در مدیریت دیابت نوع ۲ شناخته می‌شود. این تمرینات باعث بهبود تحمل گلوکز، افزایش حساسیت به انسولین و فعال‌سازی مکانیسم‌های سلولی مفیدی می‌شوند و به بهبود وضعیت متابولیک کمک می‌کنند (۱۹-۱۷). HIIT نوعی تمرین است که در آن

فازهای فعالیت شدید و سریع به صورت متناوب با دوره‌های کوتاه استراحت یا فعالیت با شدت کمتری ترکیب می‌شود (۲۰). چندین مطالعه اثرات تمرینات HIIT و سایر تمرینات ورزشی را بر تعدیل نشانگرهای آپوپتوز، بهبود کنترل متابولیک و کاهش آسیب‌های بافتی در بیماری دیابت نشان داده‌اند؛ به عنوان نمونه، ابراهیم‌زاده و همکاران دریافتند که تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PGC1 α -Keap1-Nrf2 موجب افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین ضد آپوپتوزی Bcl-2 و کاهش پروتئین پروآپوپتوزی Bax در بافت هیپوکامپ موش‌های دیابتی می‌شوند (۲۳-۱۹)؛ با این حال، اثر دقیق HIIT بر مولکول‌های آپوپتوز در عضلات اسکلتی در شرایط دیابتی هنوز نیازمند انجام پژوهش‌های بیشتر است.

درباره درمان‌های دارویی نیز بوقناق یا ایرینجیوم، دسته‌ای از گیاهان گل‌دار از خانواده Apiaceae است که شامل حدود ۲۵۰ گونه می‌شود. این گیاه می‌تواند به طور طبیعی یا در محیط‌های باغی رشد کند و برای درمان بیماری دیابت و بیماری‌های التهابی استفاده شود (۲۴). «بوقناق» که در ایران با نام‌های شکاک و شوکه‌الابیضا شناخته می‌شود، طبعی گرم و خشک دارد و در مناطق بیابانی رشد می‌کند (۲۵). به طور کلی، داده‌ها حاکی از آن است که مصرف بوقناق می‌تواند از طریق ترکیبات فنولی و ساپونین موجود در عصاره‌های آن، با تنظیم مسیرهای متابولیک، کاهش التهاب و مهار استرس اکسیداتیو، به کنترل قندخون و محافظت از بافت‌ها در دیابت کمک کند (۲۶).

با وجود شواهدی مبنی بر اثرات مثبت HIIT و عصاره بوقناق به طور جداگانه، تاکنون در هیچ مطالعه‌ای اثرات ترکیبی این دو رویکرد را بررسی نشده است. در حالی که تمرینات تناوبی با شدت بالا می‌توانند به طور مستقیم بر استرس اکسیداتیو و آپوپتوز تأثیر بگذارند، گیاه بوقناق نیز با مکانیسم‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی ممکن است اثرات مشابهی در کاهش مرگ سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو داشته باشد؛ بنابراین هدف تحقیق کنونی پرکردن شکاف‌های علمی موجود و ارائه راهکاری مؤثر برای مدیریت بهتر عوارض دیابت، به‌ویژه در بافت عضلانی بود.

روش پژوهش

توضیح تمامی مراحل کار با حیوانات مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه (کد اخلاق IR-UU-AEC-3/53) انجام شد. در این پژوهش، ۵۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین وزنی 200 ± 20 گرم و در محدوده سنی ۸ تا ۱۰ هفته از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. برای انطباق با محیط آزمایشگاه، حیوانات به مدت دو هفته پیش از شروع مداخلات در قفس‌های پلی‌پروپیلن استریل در شرایط کنترل‌شده شامل دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. پس از پایان دوره انطباق، حیوانات به صورت تصادفی به پنج گروه ده‌تایی شامل گروه کنترل سالم (بدون مداخله)، گروه کنترل دیابتی، گروه دیابتی دریافت‌کننده مکمل گیاهی بوقناق، گروه دیابتی HIIT و گروه دیابتی دریافت‌کننده هم‌زمان مکمل بوقناق و HIIT، تقسیم شدند. تعیین حجم نمونه با استناد به مطالعات پیشین انجام گرفت که حداقل ۶ حیوان در هر گروه برای تحلیل‌های آماری کافی گزارش شده است (۲۷، ۲۸)، اما با توجه به احتمال بروز تلفات، ۱۰ موش برای هر گروه در نظر گرفته شد (۲۷).

نحوه آماده‌سازی و دریافت مکمل بوقناق

عصاره آبی بوقناق پس از تهیه از عطاری‌ها و مراکز معتبر گیاهان دارویی، با مشاوره داروساز در شرایط آزمایشگاهی آماده‌سازی شد. این عصاره به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت خوراکی و از طریق سرنگ گاواژ، روزانه یک‌بار رأس ساعت ۹ صبح به مدت شش هفته به حیوانات گروه‌های مربوط، تجویز شد. در گروه‌های کنترل که عصاره بوقناق دریافت نمی‌کردند، به‌منظور یکسان‌سازی استرس ناشی از گاواژ، در همان شرایط و زمان، آب مقطر به همان میزان از طریق سرنگ گاواژ داده شد (۲۹).

القای دیابت

پس از دو هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، برای دیابتی کردن گروه‌های مدنظر، به مدت دو هفته مصرف غذای پرچرب شامل ۵۰ درصد چربی، ۲۵ درصد پروتئین و ۲۵ درصد کربوهیدرات به شکل پلیت بدون محدودیت داده شد. همچنین پس از دو هفته، تزریق درون‌صفاقی تک‌دوز استرپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۵۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن در بافر سیترات سدیم سرد (۱۰۰ میلی‌مولار، با $\text{pH} = 4/5$) بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی اعمال شد (۳۰). در ادامه، ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ نمونه خونی از ورید دمی حیوان با استفاده از گلوکومتر برای بررسی گلوکز خون انجام شد؛ به این ترتیب، موش‌هایی که گلوکز سرم آن‌ها از 250 mg/dL بیشتر بود، به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. طی دوره آزمایش، وزن بدن، گلوکز خون، مصرف غذا و آب در مقاطع معینی به صورت هفتگی کنترل شد. دوز تجویزی در طول مطالعه هر هفته کنترل شد تا از هرگونه انحراف جلوگیری شود و دوز تکمیلی به‌ازای کیلوگرم وزن بدن تنظیم شد (۳۱). به‌منظور کنترل وزن، موش‌ها در ابتدا و انتهای پروتکل توسط ترازوی دیجیتالی وزن شدند.

پروتکل اجرای تمرین اینتروال با شدت بالا (HIIT)

پروتکل HIIT به‌کاررفته برای گروه‌های تمرینی شامل پنج جلسه در هفته و به مدت شش هفته روی نوارگردان بود. در ابتدا و قبل از پروتکل اصلی، موش‌های دیابتی به مدت یک هفته به‌منظور آشناسازی، ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه تمرین خود را آغاز کردند. پروتکل اصلی بعد از آشناسازی طبق جدول (۱) پیش رفت (۳۲). برای رعایت ملاحظات اخلاقی از شوکر الکتریکی به‌منظور وادار کردن حیوانات به ادامه فعالیت بدنی استفاده نشد؛ بلکه یک میله پلاستیکی به کار رفت.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری نشانگرهای آپوپتوز

چهل‌وهشت ساعت پس از اتمام پروتکل شش‌هفته‌ای، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا نگه داشته شدند و پس از آن، حیوانات با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به‌ازای کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی به طور عمیق بیهوش شدند. سپس برای برداشتن نمونه‌های بافتی، سر موش‌ها از ناحیه گردن توسط قیچی مخصوص جدا شد. در ادامه با استفاده از تیغ جراحی، عضله سولئوس با دقت برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده شد و بلافاصله به میکروتیوب برای آنالیز بیوشیمیایی به فریز دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. برای بررسی میزان آپوپتوز، سطح پروتئین‌های Bax و Bcl2 در بافت هموژنیزه‌شده عضله

سولئوس تمام نمونه‌ها توسط کیت تجاری ZellBio ساخت آلمان، به روش ELISA و براساس دستورات شرکت سازنده آن اندازه‌گیری شد (Rat Bax-ZB-0034-R9648 و Rat Bcl2-ZB-0037-R9648). نتایج حاصل به صورت نانوگرم به‌ازای هر میلی‌گرم بافت ارائه شد.

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)
Table 1- High-Intensity Interval Training (HIIT) Protocol

تعداد جلسات در هفته Sessions	بازگشت به حالت اولیه Recovery	سرعت Speed (m/min)	تعداد تکرار (۴۰ ثانیه) Repetitions (40-sec)	شیب (%) Incline	مدت تمرین (دقیقه) Duration (min)	هفته Week
5		25	8	5		1
	۱۲۰ ثانیه فعال با	25	10	10	۳۰ دقیقه + ۱۰ دقیقه	2
	سرعت ۱۰ متر بر دقیقه	28	10	10	گرم و سرد کردن با	3
	120 s active	28	10	10	سرعت ۱۰ متر بر دقیقه	4
	recovery at 10 m/min	32	10	10	30 min + 10 min warm-up and cool-down at 10 m/min	5
		35	10	10		6

تجزیه و تحلیل آماری

همه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism تجزیه و تحلیل آماری شدند. در این پژوهش برای اثبات نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد و سپس برای سنجش مقایسه گروه‌ها، آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنادار بودن نتایج، آزمون تعقیبی توکی به کار رفت. به‌علاوه سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین گزارش شد.

نتایج

مطابق داده‌های توصیفی ارائه‌شده در جدول (۱)، الگوی اولیه مقادیر Bax، Bcl-2 و نسبت Bax/Bcl-2 در گروه‌های مختلف تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد که مبنای تحلیل‌های استنباطی بعدی قرار گرفت. نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که میانگین غلظت پروتئین Bax در بافت عضله سولئوس موش‌های دیابتی در مقایسه با سایر گروه‌ها تفاوت معناداری داشت ($P = 0.001$). تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) باعث افزایش معنادار سطح Bax در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم شد ($P = 0.001$). در گروه‌های دیابتی که تمرینات تناوبی با شدت بالا یا ترکیب تمرین و مکمل عصاره بوقناق دریافت کرده بودند، کاهش معناداری در سطح Bax در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده شد ($P = 0.001$)؛ به‌ویژه در گروه ترکیبی، کاهش سطح Bax به طور معناداری بیشتر از گروهی بود که تنها مکمل دریافت کرده بود ($P = 0.001$). از طرفی، تجویز عصاره بوقناق به‌تنهایی تغییری معناداری را در سطح Bax ایجاد نکرد ($P > 0.05$) (شکل ۱).

در ادامه، نتایج آزمون واریانس یک‌طرفه نشان داد که سطح پروتئین Bcl-2 در گروه کنترل سالم به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل دیابتی بود ($P = 0.001$). همچنین در گروه‌های دیابتی+مکمل، دیابتی+تمرین و ترکیبی، افزایش

معناداری در سطح Bcl-2 در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده شد ($P=0/001$)؛ با این حال، بین گروه‌های مداخله‌ای تفاوت معناداری وجود نداشت ($P>0/05$) (شکل ۱).

جدول ۲- یافته‌های توصیفی متغیرها

Table 2- Descriptive results of the main variables

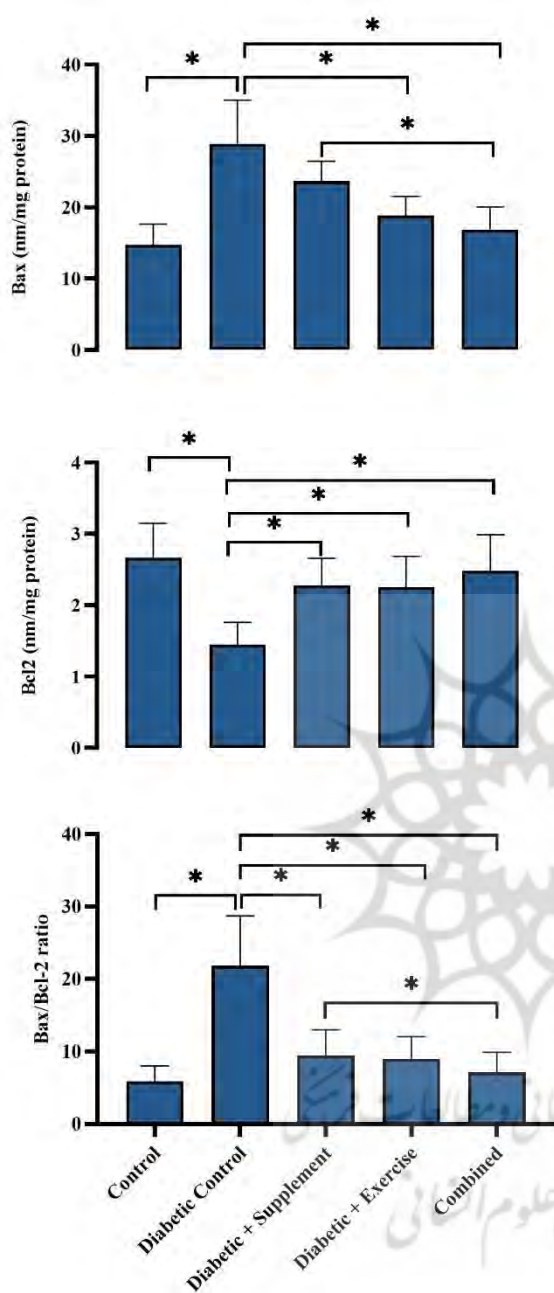
متغیرها Variables	کنترل سالم Control	دیابتی Diabetic	دیابتی-مکمل Diabetic-Supplement	دیابتی-ورزش Diabetic-Exercise	ترکیبی Combined
Bax (nm/mg protein)	14.71±2.95	28.92±6.1	23.65±2.8	18.86±2.65	16.89±3.16
Bcl2 (nm/mg protein)	2.67±0.48	1.45±0.31	2.82±0.38	2.17±0.44	2.48±0.51
Bax/Bcl2	5.89±2.11	21.81±6.92	9.41±3.56	8.95±3.09	7.12±2.75

در نهایت، آنالیز نسبت Bax/Bcl2 نشان داد که این نسبت در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش یافته بود ($P=0/001$). در گروه‌های دیابتی که تمرین یا ترکیب تمرین و مکمل دریافت کرده بودند، نسبت Bax/Bcl2 به طور معناداری کاهش یافت ($P=0/001$). همچنین در گروه ترکیبی، این کاهش به طور معناداری بیشتر از گروه دریافت کننده تنها مکمل بود ($P=0/001$) (شکل ۱).

بحث و نتیجه‌گیری

دیابت نوع ۲ با ایجاد اختلالات متابولیک مزمن و محیطی تنش‌زا، شرایطی فراهم می‌آورد که می‌تواند آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) را در عضلات اسکلتی القا کند. هایپرگلیسمی ناشی از دیابت، با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و التهاب، تعادل پروتئین‌های تنظیم کننده بقای سلول و مرگ سلولی را بر هم می‌زند. در این شرایط، بیان پروتئین‌های پروآپوپتوزی مانند Bax افزایش و پروتئین‌های ضدآپوپتوزی مانند Bcl-2 کاهش می‌یابد که منجر به افزایش نسبت Bax/Bcl-2 و تمایل بیشتر سلول به آپوپتوز می‌شود (۳۳). از دیدگاه مکانیکی، Bax با استقرار در غشای خارجی میتوکندری موجب آزادسازی فاکتورهای آپوپتوزی مانند سیتوکروم C از میتوکندری می‌شود؛ در حالی که Bcl-2 از رهاسازی آن جلوگیری می‌کند (۳۴)؛ در نتیجه دیابت می‌تواند باعث القای آپوپتوز در عضله اسکلتی شده و به کاهش تعداد فیبرهای عضلانی و افت عملکرد عضله منجر شود (۳۳، ۳۵).

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مداخله HIIT و مکمل‌یاری عصاره بوقناق، به طور جداگانه و ترکیبی، تأثیرات مثبتی بر پروفایل آپوپتوز در عضله سولئوس موش‌های دیابتی داشتند. در گروه‌های مداخله‌ای، سطح پروتئین Bax به طور معناداری کاهش و سطح پروتئین Bcl-2 افزایش یافت که این تغییرات نشان‌دهنده کاهش تمایل سلول‌ها به آپوپتوز و تقویت مکانیسم‌های ضدآپوپتوزی است.



شکل ۱- مقایسه مقادیر متغیرها بین گروه‌ها. * تفاوت معنی دار در سطح $p < 0.05$

Figure 1- Comparison the values of variables between groups. *Significant difference at $p < 0.05$.

نسبت Bax/Bcl-2 در گروه کنترل دیابتی افزایش یافت؛ در حالی که در گروه‌های مداخله‌ای کاهش معناداری داشت؛ به‌ویژه در گروه ترکیبی که بیشترین تغییر مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیب HIIT و بوقناق می‌تواند اثر هم‌افزایی بر بهبود تعادل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 داشته باشد. مطالعات پیشین نیز نتایج مشابهی را با یافته‌های مطالعه حاضر نشان دادند؛ برای مثال، در مطالعه بوجیک و همکاران مشاهده شد که تمرین HIIT موجب کاهش معنادار سطح پروتئین Bax و افزایش سطح Bcl-2 در عضله سولئوس موش‌های دیابتی شد. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌راستا است و نشان‌دهنده تأثیر مثبت تمرینات HIIT بر بهبود تعادل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 در عضلات اسکلتی موش‌های دیابتی است (۳۶). همچنین براساس نتایج مطالعه مرادی و همکاران، تمرینات تناوبی با شدت بالا و تمرینات ادامه‌دار با شدت کم، قادر بودند به طور معناداری میزان Bcl-2 را افزایش داده و سطح Bax و p53 را کاهش دهند. همچنین نسبت Bax به Bcl-2 بهبود یافت (۳۷) که با نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا است. علاوه بر این، رضایی و همکاران در مطالعه‌ای درباره اثر تمرین ورزشی هوازی بر شاخص‌ها آپوتوزی در رت‌های دیابتی نشان دادند که گروه تمرین هوازی به طور معناداری باعث کاهش بیان ژن‌های Bax و p53 و همچنین نسبت Bax/Bcl2 در عضلات شد. علاوه بر این، میزان بیان ژن Bcl2 در این گروه به طور معناداری افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که

تمرین هوازی نیز می‌تواند از طریق تعدیل مسیرهای سیگنالینگ آپوتوز، به‌ویژه با کاهش پروتئین‌های پیش‌مؤثر در فرایند آپوتوز p53 و Bax، از آسیب‌های سلولی جلوگیری کند. یافته‌های این مطالعه با نتایج پژوهش حاضر نیز همسوست؛ مبنی بر اینکه نشان می‌دهد هر دو تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین هوازی می‌توانند اثرات ضدآپتوتیک

بر بافت عضلانی در شرایط دیابتی ایجاد کنند (۳۸). همچنین در مطالعات قبلی، اثرات مثبت عصاره گیاه بوقناق بر کاهش آسیب‌های ناشی از دیابت، به‌ویژه از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن گزارش شده است (۳۸). این خواص به طور عمده در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت‌های مختلف بدن، به ویژه در بافت‌های حساس به دیابت مانند عضله و کبد مؤثر هستند (۳۹، ۲۶، ۲۴). این گیاه به‌عنوان یک منبع طبیعی برای کاهش عوارض جانبی دیابت، به‌ویژه در مراحل پیشرفته‌تر آن، توجه بسیاری از پژوهشگران را جلب کرده است. در مطالعه حاضر، به بررسی اثرات ضد آپوپتوزی گیاه بوقناق در موش‌های رت مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداخته شد. نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره بوقناق به‌تنهایی، تغییر معناداری در غلظت پروتئین Bax و Bcl-2 مشاهده نشد. براساس این یافته‌ها، تأثیر عصاره بوقناق به‌تنهایی در مهار آپوپتوز و کاهش آسیب‌های سلولی ناشی از دیابت در مقایسه با گروه کنترل دیابتی محدود بود؛ با این حال، در گروه‌های دیابتی که تمرینات تناوبی با شدت بالا را همراه با مصرف عصاره بوقناق دریافت کرده بودند، تغییرات معناداری در سطح پروتئین‌های Bax و Bcl-2 مشاهده شد. این گروه نشان‌دهنده تأثیرات مثبت ترکیب تمرینات تناوبی با شدت بالا و مکمل عصاره بوقناق بر کاهش غلظت Bax و افزایش سطح Bcl-2 بود؛ به‌ویژه نسبت Bax/Bcl-2 در این گروه کاهش معناداری داشت که به‌عنوان یک نشانگر برای بهبود تعادل بین فرایندهای آپوپتوز و بقای سلولی در بافت عضله سولئوس موش‌های دیابتی به شمار می‌رود.

برخی محدودیت‌ها در مطالعه حاضر وجود دارد که ممکن است بر دقت نتایج تأثیرگذار باشند؛ برای مثال، در کنار فاکتورهای آپوپتوزی بررسی شده، شاخص کاسپاز-۳ نیز می‌توانست به‌عنوان یک نشانگر اضافی برای اندازه‌گیری آپوپتوز در نظر گرفته شود. علاوه بر این، تأثیر دوزهای گوناگون عصاره بوقناق و دوره‌های زمانی مختلف مصرف آن نیز می‌توانست بررسی شود تا دقت و گستره نتایج بهتر درک شود؛ بر این اساس، انجام مطالعات بیشتری در آینده ضروری است تا اثرات طولانی‌مدت این ترکیب‌ها، مکانیسم‌های مولکولی دقیق‌تر و تأثیرات آن‌ها در بازه‌های زمانی مختلف در شرایط دیابتی بررسی شود.

به طور کلی، یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که ترکیب تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و عصاره گیاه بوقناق می‌تواند به طور مؤثر باعث کاهش آپوپتوز و بهبود تعادل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 در عضلات اسکلتی موش‌های دیابتی شود. این نتایج بیانگر نقش بالقوه رویکردهای چندوجهی شامل ورزش و مکمل‌های طبیعی در مدیریت و پیشگیری از عوارض دیابت نوع ۲ است؛ بنابراین استفاده از مداخلات ترکیبی می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد نوین و مؤثر در بهبود سلامت عضلانی بیماران دیابتی مدنظر قرار گیرد.

پیام مقاله

با توجه به شیوع روزافزون دیابت نوع ۲، یافته‌های این مطالعه نشان داد که ترکیب HIIT و عصاره بوقناق در مدل موش‌های صحرائی دیابتی موجب کاهش آپوپتوز عضلانی و بهبود تعادل پروتئین‌های Bax و Bcl-2 می‌شود. این نتایج بیانگر پتانسیل اثرات هم‌افزایشی ورزش و مکمل‌های گیاهی در کاهش عوارض عضلانی دیابت است؛ البته انجام پژوهش‌های بیشتر، به‌ویژه در مطالعات بالینی برای تأیید این یافته‌ها ضروری است.

ملاحظات اخلاقی

تمامی مراحل مربوط به کار با حیوانات، مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه انجام شد (کد اخلاق IR-UU-AEC-3/53). تمامی مراحل آزمایش به صورت کاملاً منطبق با استانداردهای اخلاقی مؤسسه و با رعایت کامل اصول رفاه و رفتار انسانی با حیوانات در طول دوره پژوهش اجرا شد.

مشارکت نویسندگان

ایده‌پردازی: غسان عامر بیدنو و اصغر توفیقی

جمع‌آوری داده‌ها: غسان عامر بیدنو، بهرام جمالی و محمدرضا شیرینی‌شهسوا

تحلیل داده‌ها: غسان عامر بیدنو، بهرام جمالی و اصغر توفیقی

نگارش مقاله: غسان عامر بیدنو و اصغر توفیقی

بازبینی و ویرایش: اصغر توفیقی و محمدرضا شیرینی‌شهسوار

مرور ادبیات: غسان عامر بیدنو

مدیر پروژه: اصغر توفیقی

هرگونه مشارکت دیگر: تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ‌گونه تعارض منافع مالی یا حرفه‌ای ندارند.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که در حمایت و تسهیل انجام این پژوهش نقش داشتند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌کنیم.

منابع

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011;34(Suppl 1):S62-9. <https://doi.org/10.2337/dc11-S062>
2. Groop LC, Eriksson JG. The etiology and pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes. *Ann Med*. 1992;24(6):483-9. <https://doi.org/10.3109/07853899209167000>
3. Hossain MJ, Al-Mamun M, Islam MR. Diabetes mellitus, the fastest growing global public health concern: early detection should be focused. *Health Sci Rep*. 2024;7(3):e2004. <https://doi.org/10.1002/hsr2.2004>
4. Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):119. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0135-z>
5. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends Neurosci*. 2000;23(11):542-9. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01656-8](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01656-8)
6. Kamei Y, Miura S, Suzuki M, Kai Y, Mizukami J, Taniguchi T, et al. Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated Type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. *J Biol Chem*. 2004;279(39):41114-23. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400674200>

7. Hickey MS, Carey JO, Azevedo JL, Houmard JA, Pories WJ, Israel RG, et al. Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans. *Am J Physiol.* 1995;268(3 Pt 1):E453-7. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.3.E453>
8. Brandenburg SL, Reusch JE, Bauer TA, Jeffers BW, Hiatt WR, Regensteiner JG. Effects of exercise training on oxygen uptake kinetic responses in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 1999;22(10):1640-6. <https://doi.org/10.2337/diacare.22.10.1640>
9. Regensteiner JG, Sippel J, McFarling ET, Wolfel EE, Hiatt WR. Effects of non-insulin-dependent diabetes on oxygen consumption during treadmill exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(6):875-81. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0135-z>
10. Koliaki C, Katsilambros N. Repositioning the role of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) on the TRAIL to the development of diabetes mellitus: an update of experimental and clinical evidence. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6). <https://doi.org/10.3390/ijms23063225>
11. Qian S, Wei Z, Yang W, Huang J, Yang Y, Wang J. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Front Oncol.* 2022;12:985363. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
12. Joseph AM, Joannisse DR, Baillot RG, Hood DA. Mitochondrial dysregulation in the pathogenesis of diabetes: potential for mitochondrial biogenesis-mediated interventions. *Exp Diabetes Res.* 2012;2012:642038. <https://doi.org/10.1155/2012/642038>
13. Pal P, Zhang P, Poddar SK, Zheng G. Patent landscape of inhibitors and PROTACs of the anti-apoptotic BCL-2 family proteins. *Expert Opin Ther Pat.* 2022;32(9):1003-26. <https://doi.org/10.1080/13543776.2022.2116311>
14. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495-516. <https://doi.org/10.1080/13543776.2022.2116311>
15. Karstoft K, Safdar A, Little JP. Editorial: optimizing exercise for the prevention and treatment of type 2 diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:237. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00237>
16. van Dijk JW, van Loon LJ. Exercise strategies to optimize glycemic control in type 2 diabetes: a continuing glucose monitoring perspective. *Diabetes Spectr.* 2015;28(1):24-31. <https://doi.org/10.2337/diaspect.28.1.24>
17. Francois ME, Little JP. Effectiveness and safety of high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Spectr.* 2015;28(1):39-44. <https://doi.org/10.2337/diaspect.28.1.39>
18. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2016;59(1):56-66. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3741-2>
19. Al-Rawaf HA, Gabr SA, Iqbal A, Alghadir AH. High-intensity interval training improves glycemic control, cellular apoptosis, and oxidative stress of type 2 diabetic patients. *Medicina (Kaunas).* 2023;59(7). <https://doi.org/10.3390/medicina59071320>
20. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia.* 2017;60(1):7-23. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4106-1>
21. Li F, Shi W, Zhao EY, Geng X, Li X, Peng C, et al. Enhanced apoptosis from early physical exercise rehabilitation following ischemic stroke. *J Neurosci Res.* 2017;95(4):1017-24. <https://doi.org/10.1002/jnr.23890>
22. Rami M, Rahdar S, Ahmadi Hekmatikar A, Awang Daud DM. Highlighting the novel effects of high-intensity interval training on some histopathological and molecular indices in the heart of type 2 diabetic rats. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1175585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1175585>

23. Ebrahimnezhad N, Nayebifar S, Soltani Z, Khoramipour K. High-intensity interval training reduced oxidative stress and apoptosis in the hippocampus of male rats with type 2 diabetes: The role of the PGC1 α -Keap1-Nrf2 signaling pathway. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(11):1313-9. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2023.70833.15387>
24. Pérez-Muñoz EP, Antunes-Ricardo M, Martínez-Ávila M, Guajardo-Flores D. Eryngium species as a potential ally for treating metabolic syndrome and diabetes. *Front Nutr.* 2022;9:878306. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.878306>
25. Rehman AU, Hashmi MA, Tehseen Y, Khan A, Khan SS, Iqbal J, et al. Antidiabetic flavonol glycosides from *Eryngium caeruleum*. *Rec Nat Prod.* 2017;11(2):229-34.
26. Hamami Chamgordani Z, Mazaheri M, Iraj B, Baghshahi H, Sabouhi F. Antidiabetic effects of *Eryngium billardieri* hydrosol in the treatment of type 2 diabetic patients: A double-blind randomized clinical trial. *Avicenna J Phytomed.* 2023;13(1):34-44. <https://doi.org/10.22038/AJP.2022.21175>
27. Li L, Meng F, Li N, Zhang L, Wang J, Wang H, et al. Exercise training prevents the attenuation of anesthetic pre-conditioning-mediated cardioprotection in diet-induced obese rats. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2015;59(1):85-97. <https://doi.org/10.1111/aas.12414>
28. Sudha M, Rajkumar D, Felix JW. Protective effect of glutathione against isoproterenol induced myocardial injury in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2013;57(2):132-7. <https://doi.org/10.3390/medicina59071320>
29. Cai X, Zhou H, Wong YF, Xie Y, Liu ZQ, Jiang ZH, et al. Suppression of the onset and progression of collagen-induced arthritis in rats by QFGJS, a preparation from an anti-arthritis Chinese herbal formula. *J Ethnopharmacol.* 2007;110(1):39-48. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.008>
30. Palsamy P, Sivakumar S, Subramanian S. Resveratrol attenuates hyperglycemia-mediated oxidative stress, proinflammatory cytokines and protects hepatocytes ultrastructure in streptozotocin-nicotinamide-induced experimental diabetic rats. *Chem Biol Interact.* 2010;186(2):200-10. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.03.028>
31. Noriega Cisneros R, Salgado Garciglia R, Clemente Guerrero M, Cortés Rjo C, Esquivel Gutiérrez E, Montoya Pérez R, et al. Improvement on lipid abnormalities in diabetes by *Eryngium carlinae*. *The FASEB Journal.* 2015;29:885.8. https://doi.org/10.1096/fasebj.29.1_supplement.885.8
32. Ito S. High-intensity interval training for health benefits and care of cardiac diseases- the key to an efficient exercise protocol. *World J Cardiol.* 2019;11(7):171-88. <https://doi.org/10.4330/wjc.v11.i7.171>
33. Pourmousavi L, Hashemkandi Asadi R, Zehsaz F, Jadidi RP. Effect of crocin and treadmill exercise on oxidative stress and heart damage in diabetic rats. *PLoS One.* 2023;18(12):e0281692. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0281692>
34. Eydivandi K, Azarbayjani MA, Farzanegi P. The effect of high intensity interval training (HIIT) and crocin consumption on doxorubicin-induced apoptotic indices in the muscle tissue of rats. *Gene, Cell and Tissue.* 2020;7(4). <https://doi.org/10.5812/gct.108227>
35. Giha HA, Alamin OA, Sater MS. Diabetic sarcopenia: metabolic and molecular appraisal. *Acta diabetologica.* 2022;59(8):989-1000. <https://doi.org/10.1007/s00592-022-01883-2>
36. Soltany A, Daryanoosh F, Gholampour F, Sadat Hosseini N, Khoramipour K. Potential role of high-intensity interval training-induced increase in humanin levels for the management of type 2 diabetes. *J Cell Mol Med.* 2025;29(3):e70396. <https://doi.org/10.1111/jcmm.70396>
37. Moradi A, Hosseini SA, Nikbakht M. Anti-apoptotic effects of interval and continued training and crocin on the muscle tissue of the rats with type II diabetes induced by a high-fat diet. *Journal of Nutrition, Fasting & Health.* 2019;7(3). <https://doi.org/10.22038/jnfh.2019.39346.1186>
38. Rezaee N, Rahmani-Nia F, Delfan M, Ghahremani R. Exercise training and probiotic supplementation effects on skeletal muscle apoptosis prevention in type-I diabetic rats. *Life Sci.* 2021;285:119973. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119973>

39. Trejo-Hurtado CM, Landa-Moreno CI, la Cruz JL, Peña-Montes DJ, Montoya-Pérez R, Salgado-Garciglia R, et al. An ethyl acetate extract of *eryngium carlinae* inflorescences attenuates oxidative stress and inflammation in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(6). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119973>

