



Comparison of the Effect of Aerobic and Resistance Training Combined with Black Seed Supplementation on the Expression of AMPK α 1 and CAT Genes in the Liver Tissue of Rats with Type 2 Diabetes

Mohammad Hossein Lotfi¹ , Abbas Mehranpour^{2✉} , Mahdi Moradi³

1. Department of Exercise Physiology, Maha.C., Islamic Azad University, Mahallat, Iran.

E-mail: 0381685411@iau.ir

2. **Corresponding Author**, Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, School of Literature and Humanity Sciences, Qom University of Tolo Mehr, Qom, Iran.

E-mail: dr.mehranpour@tolouemehr.ac.ir

3. Department of Exercise Physiology, Ar.C., Islamic Azad University, Arak, Iran.

E-mail: mmoradi@iau.ac.ir

Article Info

Article type:

Research

Article history:

Received:

27 Apr 2026

Received in revised form:

10 Jul 2026

Accepted:

09 Aug 2026

Published online:

05 Sep 2026

ABSTRACT

Introduction: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with impaired metabolic regulation, increased oxidative stress, and inflammation. Exercise training and bioactive compounds of *Nigella sativa*, particularly thymoquinone, may contribute to improving these disturbances through the modulation of metabolic pathways and antioxidant defense mechanisms. Therefore, the present study aimed to compare the effects of aerobic and resistance exercise combined with *Nigella sativa* supplementation on the expression of AMPK α 1 and CAT genes in the liver tissue of rats with type 2 diabetes.

Methods: The present study was an experimental animal study. Fifty-six male Wistar rats were randomly assigned to seven groups: healthy control, diabetic control, diabetes + high-intensity interval training (HIIT), diabetes + resistance training, diabetes + *Nigella sativa*, diabetes + HIIT + *Nigella sativa*, and diabetes + resistance training + *Nigella sativa*. Type 2 diabetes was induced using the nicotinamide-streptozotocin (NA-STZ) model. Exercise interventions and supplementation were administered for 8 weeks. HIIT was performed on a treadmill, while resistance training was conducted using a ladder with progressive loading. *Nigella sativa* oil extract was administered daily by gavage at a dose of 400 mg/kg/day. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni post hoc test.

Results: Diabetes resulted in a significant decrease in AMPK α 1 gene expression and a significant increase in CAT gene expression in liver tissue. The combination of HIIT and *Nigella sativa*, as well as the combination of resistance training and *Nigella sativa*, significantly increased AMPK α 1 gene expression and significantly altered CAT gene expression.

Conclusion: Overall, combining exercise training with *Nigella sativa* supplementation had more favorable effects on some molecular and metabolic indicators compared with individual interventions and may represent an effective approach for improving metabolic disturbances and antioxidant defense mechanisms associated with type 2 diabetes mellitus.

Keywords:

Aerobic exercise,
resistance training,
Nigella sativa supplementation,
type 2 diabetes mellitus.

Cite this article: Lotfi MH, Mehranpour A, Moradi M. Comparison of the Effect of Aerobic and Resistance Training Combined with Black Seed Supplementation on the Expression of AMPK α 1 and CAT Genes in the Liver Tissue of Rats with Type 2 Diabetes. Journal of Modern Approaches in Education Management and Health Sciences. 2026; 03 (02): 97-114. [Doi: 10.22034/edus.2026.598559.1142](https://doi.org/10.22034/edus.2026.598559.1142)

Journal of Modern Approaches in Education Management and Health Sciences is licensed under CC BY-NC 4.0.

| Web site: <https://www.eduhealthsci.ir> | Email: eduhealthsci@gmail.com.

© The Author(s).

| Publisher: Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Mazandaran Branch, Mazandaran, Iran.





Extended Abstract

Introduction

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a chronic metabolic disorder characterized by persistent hyperglycemia, impaired insulin action, and progressive disturbances in glucose and lipid metabolism. In addition to its systemic metabolic consequences, T2DM can substantially affect liver function, as the liver plays a central role in glucose homeostasis, lipid metabolism, and the regulation of inflammatory and oxidative processes. Persistent hyperglycemia and metabolic dysregulation may increase the production of reactive oxygen species (ROS), leading to oxidative stress and cellular damage. The imbalance between oxidative stress and antioxidant defense mechanisms is considered an important factor in the development and progression of hepatic complications associated with T2DM. Among the molecular pathways involved in metabolic regulation, adenosine monophosphate-activated protein kinase alpha 1 (AMPK α 1) is considered an important cellular energy sensor. AMPK activation contributes to the regulation of glucose uptake, fatty acid oxidation, mitochondrial function, and energy balance. Impaired AMPK signaling has been associated with insulin resistance, abnormal lipid accumulation, and metabolic dysfunction in diabetes. Therefore, interventions capable of modulating AMPK α 1 expression may have beneficial effects on metabolic homeostasis and liver function in individuals with T2DM. The antioxidant defense system also plays a critical role in protecting hepatic cells against oxidative damage. Catalase (CAT) is one of the major antioxidant enzymes responsible for converting hydrogen peroxide into water and molecular oxygen, thereby limiting the accumulation of potentially harmful reactive oxygen species. Alterations in CAT expression may reflect changes in the antioxidant response to metabolic and oxidative challenges associated with diabetes. Consequently, investigating AMPK α 1 and CAT gene expression may provide useful molecular information regarding the effects of therapeutic interventions on metabolic regulation and antioxidant defense. Exercise training is widely recognized as an effective non-pharmacological strategy for improving metabolic health in diabetes. Aerobic and resistance exercise may influence glucose metabolism, insulin sensitivity, mitochondrial activity, oxidative stress, and inflammatory pathways through different physiological mechanisms. High-intensity interval training (HIIT), in particular, has received increasing attention because alternating periods of high-intensity exercise and recovery may induce substantial metabolic adaptations within a relatively short training period. Resistance training may also improve glucose utilization, muscle metabolism, and systemic metabolic regulation through mechanisms that differ from those of aerobic exercise. In parallel, *Nigella sativa*, commonly known as black seed, has attracted considerable scientific interest because of its bioactive compounds, particularly thymoquinone. Experimental evidence suggests that *Nigella sativa* may possess antioxidant, anti-inflammatory, and metabolic regulatory properties. However, the comparative effects of different exercise modalities combined with *Nigella sativa* supplementation on hepatic molecular markers in T2DM remain insufficiently understood. Therefore, the present study was designed to compare the effects of HIIT and resistance training, alone and in combination with *Nigella sativa* supplementation, on AMPK α 1 and CAT gene expression in the liver tissue of rats with T2DM.

Methods

This experimental animal study included 56 male Wistar rats randomly assigned to seven groups: healthy control, diabetic control, diabetes + high-intensity interval training (HIIT), diabetes + resistance training, diabetes + *Nigella sativa*, diabetes + HIIT + *Nigella sativa*, and diabetes + resistance training + *Nigella sativa*. Type 2 diabetes was induced using the nicotinamide–streptozotocin (NA-STZ) model. Exercise interventions and supplementation were administered for 8 weeks. HIIT was performed on a treadmill, while resistance training was conducted using a ladder with progressive loading. *Nigella sativa* oil extract was administered daily by gavage at a dose of 400 mg/kg/day. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni post hoc test.

Results

The results showed that type 2 diabetes was associated with a significant decrease in AMPK α 1 gene expression and a significant increase in CAT gene expression in liver tissue. The combination of HIIT and *Nigella sativa* supplementation significantly increased AMPK α 1 gene expression and significantly altered CAT gene expression. Similarly, the combination of resistance training and *Nigella sativa* supplementation significantly increased AMPK α 1 gene expression and significantly altered CAT gene expression.

Conclusion

The present study investigated and compared the effects of HIIT and resistance training, both alone and combined with *Nigella sativa* supplementation, on AMPK α 1 and CAT gene expression in the liver tissue of rats with T2DM. The findings demonstrated that diabetes was associated with significant alterations in the expression of both genes, suggesting that



T2DM can disrupt metabolic signaling and antioxidant defense mechanisms in hepatic tissue. Importantly, the combination of exercise training and *Nigella sativa* supplementation produced favorable molecular responses, particularly with respect to AMPK α 1 expression. The observed reduction in AMPK α 1 gene expression in diabetic rats may be related to impaired cellular energy regulation and metabolic dysfunction caused by chronic hyperglycemia and insulin resistance. AMPK functions as an important regulator of cellular energy balance and contributes to glucose and lipid metabolism. Reduced AMPK activity or expression may impair fatty acid oxidation, glucose utilization, and metabolic flexibility, thereby contributing to hepatic metabolic disturbances. The increase in AMPK α 1 expression following both HIIT and resistance training combined with *Nigella sativa* supplementation suggests that these interventions may improve hepatic metabolic signaling. Exercise-induced increases in energy demand can stimulate AMPK-related pathways, while the bioactive components of *Nigella sativa* may provide additional metabolic and antioxidant effects. The findings concerning CAT expression also indicate that diabetes may induce substantial changes in hepatic antioxidant responses. The significant increase in CAT gene expression observed in diabetic animals may represent a compensatory response to elevated oxidative stress. Under conditions of persistent hyperglycemia, excessive ROS production may stimulate antioxidant defense mechanisms as the organism attempts to neutralize oxidative damage. The significant alteration in CAT expression following combined exercise and *Nigella sativa* supplementation may therefore reflect modulation of the oxidative stress response rather than a simple increase or decrease in antioxidant capacity. The beneficial effects observed following *Nigella sativa* supplementation may be partly attributed to thymoquinone, one of its major bioactive constituents. Thymoquinone has been investigated for its potential antioxidant and anti-inflammatory properties and may influence cellular signaling pathways involved in oxidative stress and metabolic regulation. When combined with exercise, these effects may be complementary. Exercise can enhance metabolic efficiency and antioxidant adaptations, whereas *Nigella sativa* may provide additional protection against oxidative and inflammatory disturbances. An important finding of the present study is that the effects of the two exercise modalities were not completely identical across the investigated molecular markers. This observation may be explained by differences in the physiological adaptations induced by HIIT and resistance training. HIIT places substantial demands on energy metabolism and mitochondrial function, whereas resistance training produces prominent adaptations related to muscle metabolism, protein turnover, and glucose disposal. The interaction between exercise modality and *Nigella sativa* supplementation may therefore influence molecular responses through partially distinct mechanisms. Overall, the findings suggest that combining structured exercise training with *Nigella sativa* supplementation may be a promising strategy for modifying hepatic metabolic and antioxidant pathways in T2DM. Nevertheless, because the present study focused on gene expression, further investigations involving protein expression, enzyme activity, oxidative stress biomarkers, inflammatory mediators, and AMPK-related signaling pathways are warranted to clarify the mechanisms underlying these effects.

Ethical Considerations

This study was approved by the Ethics Committee of the Islamic Azad University, Sari Branch, under ethics ID IR.IAU.SARI.REC.1405.240

Funding

This research received no specific grant from any funding agency.

Authors' contribution

Conceptualization, Abbas Mehranpour; Methodology, Mohammad Hossein Lotfi; Analysis, Abbas Mehranpour; Investigation, Mahdi Moradi; Data Curation, Abbas Mehranpour; Writing - Original Draft Preparation, Abbas Mehranpour; Supervision, Mahdi Moradi; Project Administration, Abbas Mehranpour.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding this article.

Acknowledgments

The authors extend their sincere gratitude to all participants and collaborators for their involvement in every stage of this study.



مقایسه تأثیر تمرین هوازی و مقاومتی به همراه مکمل یاری سیاه‌دانه بر بیان ژن‌های AMPK α 1 و

CAT در بافت کبد موش‌ها مبتلا به دیابت نوع ۲

محمدحسین لطفی^۱، عباس مهران‌پور^۲، مهدی مرادی^۳

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد محلات، دانشگاه آزاد اسلامی، محلات، ایران. رایانامه: 0381685411@iau.ir

۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه غیرانتفاعی طلوع مهر قم، قم، ایران. رایانامه: dr.mehranpour@tolouemehr.ac.ir

۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران. رایانامه: mmoradi@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	مقدمه: دیابت نوع ۲ با اختلال در تنظیم متابولیک، افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب همراه است و تمرینات ورزشی و ترکیبات زیست‌فعال سیاه‌دانه، به‌ویژه تیموکینون، از طریق تعدیل مسیرهای متابولیکی و دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در بهبود این اختلالات نقش داشته باشند. لذا پژوهش حاضر با هدف مقایسه تأثیر تمرین هوازی و مقاومتی به همراه مکمل یاری سیاه‌دانه بر بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT در بافت کبد موش‌ها مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد.
تاریخ دریافت:	روش پژوهش: پژوهش حاضر از نوع تجربی حیوانی بود. در این مطالعه ۵۶ سر رت نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در هفت گروه شامل کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابت+تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا (HIIT)، دیابت+تمرین مقاومتی، دیابت+سیاه‌دانه، دیابت+HIIT+سیاه‌دانه و دیابت+تمرین مقاومتی+سیاه‌دانه قرار گرفتند. دیابت نوع ۲ با استفاده از مدل نیکوتینامید-استرپتوزوتوسین (NA-STZ) القا شد. مداخلات ورزشی و مکمل‌یاری به مدت ۸ هفته انجام شد. تمرین HIIT بر روی نوارگردان و تمرین مقاومتی با استفاده از نردبان و بار افزایشی اجرا شد. عصاره روغنی سیاه‌دانه نیز به‌صورت روزانه با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز از طریق گاوژ تجویز شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد.
تاریخ بازنگری:	یافته‌ها: دیابت موجب کاهش معنادار بیان ژن AMPK α 1 و افزایش معنادار بیان CAT در بافت کبد شد. ترکیب HIIT و سیاه‌دانه و همچنین ترکیب تمرین مقاومتی و سیاه‌دانه، موجب افزایش معنادار بیان AMPK α 1 و تغییر معنادار بیان CAT شد.
تاریخ پذیرش:	نتیجه‌گیری: به‌طور کلی می‌توان بیان نمود ترکیب تمرینات ورزشی با مکمل‌یاری سیاه‌دانه در مقایسه با مداخلات منفرد، اثر مطلوب‌تری بر برخی شاخص‌های مولکولی و متابولیکی داشت و می‌تواند رویکردی مؤثر برای بهبود اختلالات متابولیکی و دفاع آنتی‌اکسیدانی مرتبط با دیابت نوع ۲ باشد.
تاریخ انتشار:	
کلیدواژه‌ها:	
تمرین هوازی، تمرین مقاومتی، مکمل‌یاری سیاه‌دانه، دیابت نوع ۲.	

استناد: لطفی، محمدحسین؛ مهران‌پور، عباس؛ مرادی، مهدی. مقایسه تأثیر تمرین هوازی و مقاومتی به همراه مکمل یاری سیاه‌دانه بر بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT در بافت کبد موش‌ها مبتلا به دیابت نوع ۲. نشریه رویکردهای نوین در مدیریت آموزش و علوم سلامت. ۱۴۰۵؛ ۰۳ (۰۲): ۹۷-۱۱۴. Doi: 110.22034/edus.2026.598559.1142



دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کرییتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.

| آدرس نشریه: <https://www.eduhealthsci.ir> | ایمیل: eduhealthsci@gmail.com

ناشر: جهاد دانشگاهی واحد استان مازندران.

مقدمه

دیابت نوع ۲ یکی از مهم‌ترین اختلالات متابولیکی مزمن در جهان است که علاوه بر اختلال پایدار در هموستاز گلوکز، با مقاومت به انسولین، اختلال در متابولیسم چربی‌ها، التهاب مزمن با درجه پایین و افزایش استرس اکسیداتیو همراه است (۱). اگرچه اختلالات متابولیکی دیابت نوع ۲ در سطح کل بدن بروز می‌کنند، کبد در مرکز بسیاری از این تغییرات قرار دارد (۲). زیرا این بافت نقش اساسی در تنظیم برداشت و ذخیره گلوکز، گلوکونئوژنز، گلیکونئولیز و متابولیسم اسیدهای چرب دارد. در شرایط دیابت، اختلال در پاسخ کبد به انسولین و افزایش تولید گلوکز کبدی می‌تواند به تداوم هیپرگلیسمی کمک کند و در مقابل، اختلال در برداشت و مصرف گلوکز کبدی نیز کنترل متابولیک را دشوارتر می‌سازد (۳). از این‌رو، کبد نه تنها یکی از اندام‌های آسیب‌پذیر در برابر پیامدهای دیابت، بلکه یکی از اهداف کلیدی برای مداخلات متابولیک محسوب می‌شود (۴).

یکی از سازوکارهای مولکولی مهم در تنظیم متابولیسم انرژی کبد، مسیر پروتئین کیناز فعال‌شونده با AMP (AMPK: activated protein kinase) است (۵). AMPK به‌عنوان یک حسگر انرژی سلولی، نسبت انرژی سلولی و وضعیت سوخت‌وساز را پایش کرده و در پاسخ به تغییرات انرژی، مسیرهای متابولیکی را به سمت افزایش تولید انرژی و محدود کردن فرایندهای انرژی‌بر هدایت می‌کند (۶). در کبد، AMPK در تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی، اکسیداسیون اسیدهای چرب و تعادل انرژی نقش اساسی دارد؛ بنابراین تغییر در فعالیت یا بیان اجزای این مسیر می‌تواند پیامدهای مهمی برای هموستاز متابولیکی داشته باشد (۷). شواهد موجود نشان می‌دهد که اختلال در تنظیم AMPK کبدی می‌تواند با مقاومت به انسولین، اختلال متابولیسم چربی و افزایش تولید گلوکز کبدی در شرایط متابولیکی نامطلوب ارتباط داشته باشد. در میان زیرواحدهای AMPK، زیرواحد کاتالیتیک α 1 از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و می‌تواند در پاسخ کبد به تغییرات وضعیت انرژی و محرک‌های متابولیکی از جمله ورزش نقش داشته باشد (۸). از منظر فیزیولوژی ورزش، افزایش تقاضای انرژی موجب فعال‌شدن سازوکارهای حسگر انرژی و تعدیل مسیرهای متابولیکی می‌شود (۹)؛ از این‌رو، AMPK یکی از مهم‌ترین مسیرهای مولکولی مطرح در تبیین آثار متابولیکی فعالیت بدنی محسوب می‌شود. با این حال، پاسخ بیان ژن AMPK α 1 در کبد ممکن است به نوع، شدت، مدت و ساختار تمرین وابسته باشد و نمی‌توان نتایج حاصل از یک شیوه تمرینی را بدون بررسی مستقیم با شیوه‌ای دیگر به تمام اشکال فعالیت بدنی تعمیم داد (۱۰).

از سوی دیگر، دیابت نوع ۲ با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و برهم‌خوردن تعادل میان تولید اکسیدان‌ها و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه است. استرس اکسیداتیو می‌تواند از طریق آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، عملکرد طبیعی سلول‌های کبدی را مختل کند و در تشدید مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی نقش داشته باشد (۱۱). در این شرایط، سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زاد از اهمیت زیادی برخوردار است. کاتالاز (CAT: Catalase) یکی از آنزیم‌های اصلی دفاع آنتی‌اکسیدانی است که با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن، در کنترل تجمع گونه‌های اکسیدکننده و حفظ تعادل اکسیداسیون- احیا نقش دارد (۱۲). بنابراین، تغییرات بیان ژن CAT می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های مرتبط با ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول در برابر فشار اکسیداتیو مورد توجه قرار گیرد (۱۳).

شواهد تجربی و انسانی نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند از طریق مجموعه‌ای از سازوکارهای متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی، وضعیت افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ را بهبود بخشد (۱۴). تمرین منظم با افزایش حساسیت به انسولین و تعدیل متابولیسم گلوکز، نقش مهمی در کنترل متابولیک دارد و کبد یکی از بافت‌های مهم در این پاسخ است. در واقع، شواهد نشان می‌دهد که آثار بهبوددهنده ورزش بر متابولیسم گلوکز کل بدن تا حد زیادی با بهبود تنظیم متابولیسم کبدی مرتبط است (۱۵). افزون بر این، مطالعات مقایسه‌ای نشان داده‌اند که تمرینات هوازی و قدرتی می‌توانند بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های کنترل متابولیک افراد مبتلا به دیابت اثرگذار باشند؛ با این حال، نوع تمرین می‌تواند الگوی پاسخ متفاوتی ایجاد کند (۱۶).

برای نمونه، در یک مطالعه مداخله‌ای، تمرین هوازی موجب افزایش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ شد. بنابراین، مقایسه مستقیم تمرین هوازی و مقاومتی از منظر سازوکارهای مولکولی کبدی می‌تواند به درک دقیق‌تر پاسخ اختصاصی هر شیوه تمرینی کمک کند (۱۷).

با وجود مزایای شناخته‌شده ورزش، توجه روزافزون پژوهشگران به استفاده همزمان از مداخلات تغذیه‌ای و ترکیبات زیست‌فعال برای تقویت سازگاری‌های متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی معطوف شده است. در این میان، سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال، به‌ویژه تیموکینون (*Thymoquinone*) مورد توجه قرار گرفته است (۱۸). مطالعات پیشین، اثرات ضد دیابتی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی سیاه‌دانه و تیموکینون را گزارش کرده‌اند و شواهد حاصل از مطالعات انسانی و حیوانی نشان می‌دهد که این ترکیبات می‌توانند در تعدیل هموستاز گلوکز، مقاومت به انسولین و استرس اکسیداتیو نقش داشته باشند (۱۹). همچنین، مرورهای نظام‌مند و فراتحلیل‌های کارآزمایی‌های بالینی نشان داده‌اند که مکمل‌یاری سیاه‌دانه می‌تواند برخی شاخص‌های کنترل قند خون، از جمله گلوکز ناشتا و HbA1c، را بهبود دهد؛ هرچند ناهمگونی مطالعات از نظر دوز، مدت مداخله و ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه، ضرورت انجام مطالعات مکانیزمی دقیق‌تر را برجسته می‌کند (۲۰). اهمیت سیاه‌دانه در زمینه استرس اکسیداتیو نیز قابل توجه است (۲۱). شواهد موجود از نقش بالقوه تیموکینون در تعدیل AMPK و تنظیم هموستاز انرژی حمایت می‌کنند (۲۲).

با وجود این، بخش قابل توجهی از مطالعات مربوط به سیاه‌دانه در دیابت بر شاخص‌های سرمی مانند گلوکز، انسولین، چربی‌های خون و شاخص‌های التهابی متمرکز بوده‌اند و اطلاعات کمتری درباره اثر همزمان مکمل‌یاری سیاه‌دانه و شیوه‌های مختلف تمرین بر سازوکارهای مولکولی اختصاصی بافت کبد وجود دارد. برای مثال، در یک مطالعه انسانی، ترکیب تمرین مقاومتی و مصرف سیاه‌دانه در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ نسبت به مداخلات منفرد، برخی شاخص‌های متابولیکی و التهابی را بهبود بخشید (۲۳)؛ بااین‌حال، این مطالعه عمدتاً بر شاخص‌های سرمی و بالینی متمرکز بود و نمی‌توان از آن به‌طور مستقیم درباره تغییرات بیان ژن‌های متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد نتیجه‌گیری کرد (۲۴). از سوی دیگر، مطالعات حیوانی و فراتحلیل‌ها نیز اثرات مطلوب تیموکینون بر شاخص‌های دیابت را گزارش کرده‌اند، اما همچنان درباره تعامل اختصاصی نوع تمرین، مکمل‌یاری سیاه‌دانه و پاسخ مولکولی کبد، شواهد کافی وجود ندارد (۲۵). این خلأ زمانی اهمیت بیشتری پیدا می‌کند که بدانیم تمرین هوازی و مقاومتی از نظر نوع محرک فیزیولوژیک، الگوی مصرف انرژی، بار متابولیکی و سازگاری‌های سلولی یکسان نیستند. تمرین هوازی عمدتاً با افزایش تقاضای انرژی اکسیداتیو و سازگاری‌های مرتبط با ظرفیت هوازی همراه است، در حالی که تمرین مقاومتی بیشتر بر افزایش تولید نیرو، سازگاری عضلانی و تغییرات متابولیکی ناشی از بار مکانیکی تأکید دارد (۲۶). بنابراین، احتمال دارد این دو شیوه تمرینی، حتی در صورت ایجاد بهبود مشابه در شاخص‌های عمومی دیابت، پاسخ‌های متفاوتی در مسیرهای مولکولی کبد ایجاد کنند. همین مسئله ضرورت مقایسه مستقیم آنها را در شرایط دیابت نوع ۲ برجسته می‌کند. در این چارچوب، بررسی اثر یک مداخله ترکیبی شامل ورزش و مکمل‌یاری سیاه‌دانه می‌تواند مشخص کند که آیا تحریک همزمان سازگاری‌های ناشی از فعالیت بدنی و ظرفیت زیست‌فعال ترکیبات سیاه‌دانه قادر است پاسخ مولکولی کبد را بیش از هر مداخله به‌تنهایی تغییر دهد یا خیر. چنین رویکردی به‌جای تمرکز صرف بر پیامدهای نهایی مانند قند خون، به بررسی سازوکارهای مولکولی احتمالی پشت این تغییرات می‌پردازد. با وجود شواهد موجود درباره اثرات مستقل ورزش، تمرین مقاومتی، تمرین هوازی و سیاه‌دانه بر شاخص‌های متابولیکی و اکسیداتیو، هنوز مشخص نیست که آیا نوع تمرین می‌تواند پاسخ ژنی کبد به مکمل‌یاری سیاه‌دانه را تعدیل کند و آیا ترکیب هر یک از این شیوه‌های تمرینی با سیاه‌دانه، الگوی متفاوتی از بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT ایجاد می‌کند یا خیر. از این‌رو، مطالعه حاضر با هدف مقایسه تأثیر تمرین

هوازی و مقاومتی به همراه مکمل یاری سیاه‌دانه بر بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT در بافت کبد موش‌ها مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد.

روش‌شناسی

در این مطالعه تجربی، ۵۶ سر موش صحرایی نر با نژاد ویستار (محدوده سنی ۶-۴ هفته و میانگین وزنی ۱۷۰-۱۴۰ گرم) از انستیتو پاستور، تهران، ایران خریداری شدند. حیوانات پس از انتقال به آزمایشگاه جانوری دانشگاه مازندران در شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی به صورت گروه‌های ۸ تایی (در دو قفس ۴ تایی) پلی‌اتیلنی استاندارد، با دمای محیط 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با شناسه اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1405.240 تصویب شد. حجم نمونه پژوهش با استفاده از روش تحلیل توان آماری تعیین شد. با توجه به طراحی پژوهش و وجود هفت گروه مستقل، تحلیل واریانس یک‌طرفه به‌عنوان آزمون اصلی مقایسه بین گروه‌ها در نظر گرفته شد. در تعیین حجم نمونه، سطح معناداری ۰/۰۵ و توان آماری ۸۰ درصد در نظر گرفته شد. بر این اساس، تعداد ۸ سر رت برای هر گروه و در مجموع ۵۶ سر رت برای پژوهش در نظر گرفته شد. بررسی توان آماری نشان داد که در این حجم نمونه، با درجات آزادی بین‌گروهی ۶ و درجات آزادی خطا ۴۹، اندازه اثر حدود ۰/۵۳ بر اساس شاخص Cohen's f با توان ۸۰ درصد قابل شناسایی است. بنابراین، حجم نمونه ۸ حیوان در هر گروه، با هدف دستیابی به توان آماری مناسب برای شناسایی اثرات نسبتاً بزرگ و هم‌زمان رعایت اصل کاهش استفاده غیرضروری از حیوانات آزمایشگاهی انتخاب شد. انتخاب و گزارش حجم نمونه بر اساس اصول طراحی آزمایش‌های حیوانی و توصیه‌های مربوط به استفاده از تحلیل توان آماری انجام گرفت (۱۱).

در مطالعه حاضر، در فاز اول، حیوانات بعد از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه بر اساس همسان‌سازی وزن بدن، به ۲ گروه (۱) کنترل نرمال (سالم) (۸ سر) و (۲) دیابت (۴۸ سر) تقسیم‌بندی شدند. القای دیابت به روش تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال انجام شد (۵). سپس رت‌های گروه دیابت به ۶ گروه: (۱) کنترل دیابتی، (۲) دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا، (۳) دیابت + تمرین مقاومتی، (۴) دیابت + مکمل سیاه‌دانه، (۵) دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه و (۶) (۴) دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه تقسیم‌بندی شدند. به طور کلی در این مطالعه تعداد گروه‌ها شامل گروه کنترل سالم، گروه کنترل دیابتی، گروه دیابت + تمرین هوازی، گروه دیابت + تمرین مقاومتی، گروه دیابت + مکمل، گروه دیابت + تمرین هوازی + مکمل و گروه دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل بود که هر گروه ۸ سر در نظر گرفته شد. تمامی مراحل انجام طرح اعم از نگهداری حیوانات، گاوآژ مکمل و اجرای تمرین ورزشی در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش دانشکده علوم ورزشی دانشگاه مازندران و زیر نظر متخصص مربوطه انجام و کلیه مراقبت‌ها و اصول اخلاقی بر اساس راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی رعایت و به تأیید کمیته اخلاقی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری رسید.

رژیم غذایی پرچرب از پژوهشکده رویان اصفهان خریداری شد که شامل ترکیبات زیر بود: ۶۰ درصد چربی (۲۴۵ گرم Lard و ۲۵ گرم روغن سویا)، ۲۰ درصد کربوهیدرات (۱۲۵ گرم Lodex و ۷۲/۸ گرم سوکروز)، ۲۰ درصد پروتئین (۲۰۰ گرم کازئین و ۳ گرم سیستئین)، فیبر ۵۰ گرم (Solca Floc)، ۵۰ گرم مواد معدنی، ۳ گرم ویتامین و ۵/۰ گرم رنگ. ترکیب رژیم غذایی معمولی مشابه با ترکیب بیان شده برای رژیم پرچرب است، با این تفاوت که مقدار ترکیبات دو نوع رژیم غذایی با هم متفاوت است. ملاک چاقی هر موش در این تحقیق وزنی حدود ۴۰۰-۳۰۰ گرم در نظر گرفته شد (۵). پس از یک هفته

سازگاری حیوانات با شرایط آزمایشگاه، دیابت نوع ۲ با استفاده از مدل نیکوتینامید-استرپتوزوتوسین (Nicotinamide-Streptozotocin: NA-STZ) القا شد. این مدل بر اساس روش پیشنهادی ماسیلو (Masiello) و همکاران طراحی شده است که از اثر محافظتی نسبی نیکوتینامید بر سلول‌های بتای پانکراس در برابر سمیت استرپتوزوتوسین استفاده می‌کند و در مطالعات حیوانی به عنوان مدلی برای ایجاد اختلالات متابولیکی مشابه دیابت نوع ۲ به کار رفته است (۹). پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، ابتدا نیکوتینامید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد. نیکوتینامید در محلول نرمال سالین تازه تهیه و حل شد. ۱۵ دقیقه پس از تزریق نیکوتینامید، استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق شد. این ترکیب دوزی و فاصله زمانی در مطالعات حیوانی متعددی برای ایجاد مدل دیابت نوع ۲ مورد استفاده قرار گرفته است (۵). برای آماده‌سازی STZ، مقدار مورد نیاز بلافاصله پیش از تزریق در بافر سیترات سرد ۰/۱ مولار با pH حدود ۴/۵ حل شد و محلول تازه تهیه‌شده مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از بافر سیترات برای STZ و تهیه محلول آن در شرایط سرد و بلافاصله پیش از تزریق در مطالعات مربوط به مدل NA-STZ گزارش شده است (۱۴). پس از تزریق، حیوانات تحت پایش قرار گرفتند و برای تأیید القای دیابت، قند خون ناشتا در زمان تعیین‌شده پس از تزریق اندازه‌گیری شد. پس از ۹۶ ساعت و با رعایت ۱۲ ساعت ناشتایی، نمونه خون از قسمت انتهایی ورید دمی حیوان تهیه و یک قطره خون روی نوار دستگاه گلوکومتر قرار گرفت. غلظت گلوکز خون با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد. حیواناتی که غلظت گلوکز خون آنها بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، به عنوان حیوانات مبتلا به دیابت نوع ۲ وارد مطالعه شدند (۶).

پروتکل تمرین مقاومتی فزاینده بدن گونه بود که پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، حیوانات گروه تمرین مقاومتی به مدت ۸ هفته، سه جلسه در هفته و یک روز در میان تحت تمرین مقاومتی فزاینده قرار گرفتند. پروتکل تمرین مقاومتی با اقتباس از روش هورنبرگ (Hornberger) و همکاران (۲۰۰۴) طراحی شد (۸). در این روش، رت‌ها از یک نردبان عمودی با شیب ۸۰ درجه صعود کرده و وزنه‌ای که به قسمت ابتدایی دم متصل شده بود، حمل می‌کردند. در پژوهش حاضر، نردبان مورد استفاده دارای ۲۶ پله و ارتفاع تقریبی یک متر بود و با زاویه ۸۰ درجه نسبت به سطح افقی قرار گرفت. وزنه تمرینی به وسیله‌ای مناسب به قسمت نزدیک به تنه دم حیوان متصل شد. پیش از شروع برنامه اصلی، حیوانات با محیط تمرین، نردبان و نحوه صعود از آن سازگار شدند. در مرحله سازگاری، صعودها بدون حمل وزنه انجام شد و بین صعودها حدود دو دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. برای تحریک حیوان به ادامه حرکت از روش‌های غیرآسیب‌زا مانند لمس و مالش ملایم دم استفاده شد. پس از پایان مرحله سازگاری، تمرین مقاومتی اصلی آغاز شد.

پروتکل تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا (HIIT: High-Intensity Interval Training) بدین گونه بود که پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه و نوارگردان، حیوانات گروه تمرین هوازی به مدت ۸ هفته، سه جلسه در هفته و یک روز در میان تمرین HIIT را روی نوارگردان موتوردار انجام دادند. پروتکل هوازی با اقتباس از روش گزارش‌شده توسط بیات و همکاران (۲۰۲۳) تنظیم شد (۳). در مطالعه مذکور، رت‌ها به مدت ۸ هفته و سه جلسه در هفته با شدت ۹۰ تا ۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی روی نوارگردان تمرین کردند. در مرحله سازگاری، حیوانات به مدت یک هفته با نوارگردان آشنا شدند. در این مرحله، حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درجه روی نوارگردان حرکت کردند. هدف از این مرحله، ایجاد سازگاری با حرکت نوارگردان، کاهش استرس ناشی از دستگاه و آموزش نحوه دویدن روی نوارگردان بود. پس از دوره سازگاری، حداکثر ظرفیت هوازی حیوانات برای تعیین شدت نسبی تمرین ارزیابی شد. برای این منظور، آزمون تعیین VO_{2max} انجام گرفت. آزمون با ۵ دقیقه دویدن با سرعت ۶ متر در دقیقه و شیب صفر درجه آغاز شد. سپس سرعت

نوارگردان هر سه دقیقه ۳ متر در دقیقه افزایش یافت و این روند تا رسیدن حیوان به مرحله خستگی ادامه پیدا کرد. سرعت مربوط به حداکثر ظرفیت دویدن حیوان به‌عنوان مبنای تعیین شدت تمرین مورد استفاده قرار گرفت. هر جلسه HIIT شامل سه بخش گرم کردن، تمرین تناوبی اصلی و سرد کردن بود. بخش گرم کردن با شدت معادل ۵۵ درصد VO_{2max} به مدت چهار دقیقه انجام شد. پس از آن، بخش اصلی تمرین شامل ۹ وهله دویدن با شدت ۹۰ تا ۹۵ درصد VO_{2max} بود. بین وهله‌های شدید، حیوانات به مدت یک دقیقه با شدت ۵۰ درصد VO_{2max} به‌صورت ریکاوری فعال روی نوارگردان حرکت کردند. پس از پایان آخرین وهله، مرحله سرد کردن به مدت چهار دقیقه و با شدت ۵۵ درصد VO_{2max} انجام شد. این ساختار در مطالعه بیات و همکاران (۲۰۲۳) نیز گزارش شده است (۳). تمرین HIIT با شیب صفر درجه انجام شد و سرعت نوارگردان متناسب با شدت نسبی تعیین شده برای هر حیوان تنظیم گردید. استفاده از درصد VO_{2max} به جای یک سرعت ثابت، امکان اعمال شدت نسبتاً مشابه بین حیوانات را فراهم می‌کند؛ زیرا توانایی دویدن حیوانات مختلف ممکن است متفاوت باشد. در نتیجه، حیوانات در وهله‌های اصلی با شدت ۹۰ تا ۹۵ درصد ظرفیت هوازی خود و در دوره‌های ریکاوری با شدت ۵۰ درصد ظرفیت هوازی تمرین کردند. برنامه تمرین هوازی در مجموع به مدت ۸ هفته و سه جلسه در هفته اجرا شد. بنابراین، از نظر مدت و فراوانی تمرین، شرایط گروه هوازی با گروه مقاومتی یکسان بود و تفاوت اصلی دو گروه در ماهیت محرک تمرینی بود؛ به‌گونه‌ای که گروه هوازی تحت تمرین تناوبی با شدت بالا و گروه مقاومتی تحت تمرین صعود از نردبان با بار افزایشی قرار گرفتند. عصاره سیاه‌دانه به کمک قهوه آسیاب کن پودر شده و به وسیله‌ی دستگاه سوکسله با به حجم ۲۵۰ میلی لیتر حلال آن-هگزان ساخت شرکت Merck به مدت ۲ ساعت عصاره گیری شد. سپس از کاغذ صافی عبور داده و در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد به کمک دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد و عصاره‌ی روغنی آن به رنگ زرد به دست آمد و بر اساس وزن بدن رت‌ها، پایان هر جلسه تمرینی به صورت گاوژ و با دوز مؤثر ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم/روز به رت‌ها خورانده شد (۲). برای قربانی کردن و بافت‌برداری، با توجه به رعایت موازین اخلاقی رت‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله با حداقل ۸ ساعت ناشتایی، رت‌ها توسط کتامین (۵۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بیهوشی عمیق داده شدند و پس از باز کردن قفسه سینه، خون از بطن چپ قلب جمع‌آوری شد که در حدود ۵ میلی‌لیتر از بطن چپ آن‌ها گرفته شد و پس از جداسازی سرم به وسیله سانتریفیوژ (۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه)، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش برای اندازه‌گیری گلوکز، انسولین سرم به روش الایزا استفاده شد. با استفاده از وسایل جراحی بافت کبد به دقت جداسازی شد و مورد بررسی آناتومیکی قرار گرفت و بلافاصله به نیتروژن مایع منتقل گردید سپس در یخچال با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. بیان ژن شاخص‌های تحقیق با استفاده از RT-PCR اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل آماری و بررسی تأثیر متغیرهای مستقل بر هر یک از متغیرها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معنی داری آزمون‌ها $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقادیر میانگین، انحراف استاندارد، کمینه و بیشینه‌ی هر یک از گروه‌های تحقیق در **جدول ۱** گزارش شده است. در ابتدای تحقیق حیوانات بر اساس وزن بدن در گروه‌های همسان تقسیم شدند. بیشترین وزن اولیه ۱۵۴/۶۵ و کمترین مقدار آن ۱۶۲/۵۳ گرم بود. در پایان پژوهش بیشترین وزن ۳۶۰/۷ گرم که در گروه کنترل چاق بود و کمترین مقدار آن ۳۰۴ گرم که در گروه تمرین تناوبی+ مکمل+ رژیم پرچرب مشاهده گردید.

جدول ۱- وزن بدن رت‌ها به تفکیک گروه‌ها

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	کمینه	بیشینه
وزن اولیه (گرم)	کنترل سالم	۱۶۲/۵۳	۷/۴۴	۱۵۵	۱۷۰
	کنترل دیابتی	۱۶۲/۱۵	۹/۲۶	۱۵۲	۱۷۱
	دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا	۱۵۴/۶۵	۹/۴۱	۱۴۵	۱۶۴
	دیابت + تمرین مقاومتی	۱۵۷/۴	۵/۰۶	۱۵۲	۱۶۲
	دیابت + مکمل سیاه‌دانه	۱۶۰/۶	۸/۵۷	۱۵۱	۱۶۹
	دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه	۱۵۹/۷	۹/۶۳	۱۵۰	۱۷۰
	دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه	۱۵۵/۴۱	۶/۰۹	۱۴۹	۱۶۱
وزن نهایی (گرم)	کنترل نرمال	۳۰۷/۱۱	۱۶/۲۱	۲۹۰/۹	۳۲۳/۳۲
	کنترل چاق	۳۶۰/۷	۱۸/۸۵	۳۴۱	۳۸۰
	تمرین تناوبی + رژیم پرچرب	۳۰۹	۱۳/۵۶	۲۹۵	۳۲۲
	تمرین تداومی + رژیم پرچرب	۳۱۸/۵	۱۹/۱۴	۳۰۰	۳۳۸
	مکمل + رژیم پرچرب	۳۲۵/۱	۹/۲	۳۱۵/۹	۳۳۵
	تمرین تناوبی + مکمل + رژیم پرچرب	۳۰۴	۱۶/۸۵	۲۸۷/۱۵	۳۲۱
	تمرین تداومی + مکمل + رژیم پرچرب	۳۰۷	۱۰/۹۹	۲۹۶/۰۱	۳۱۸

بر اساس نتایج توصیفی [جدول ۲](#)، در متغیر AMPK α 1، میانگین سطح پروتئین در گروه کنترل سالم برابر با ۱ بود، در حالی که در گروه کنترل دیابتی به ۰/۵۴۳۹ کاهش یافت. در گروه‌های مداخله‌ای، میانگین AMPK α 1 نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش داشت؛ به‌طوری‌که بیشترین میانگین در گروه دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه (۲/۱۲۶۸) و پس از آن در گروه دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه (۱/۸۳۶۱) مشاهده شد. در مورد CAT نیز میانگین سطح پروتئین در گروه کنترل سالم ۱ و در گروه کنترل دیابتی ۰/۵۸۶۲ بود. در گروه‌های مداخله‌ای، افزایش میانگین CAT نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده شد و بیشترین میانگین مربوط به گروه دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه (۲/۱۷۶۷) بود. پس از آن، گروه دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا (۱/۵۸۹۴) و گروه دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه (۱/۷۲۱۷) قرار داشتند.

جدول ۲- سطوح متغیرهای اندازه‌گیری شده تحقیق

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد
AMPK α 1	کنترل سالم	۱	۰/۰۳۳
	کنترل دیابتی	۰/۵۴۳۹	۰/۰۲۳
	دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا	۱/۴۶۰۲	۰/۰۲۲
	دیابت + تمرین مقاومتی	۱/۱۷۷۰	۰/۰۵۲
	دیابت + مکمل سیاه‌دانه	۱/۰۴۲۵	۰/۰۳۲
	دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه	۲/۱۲۶۸	۰/۰۶۷
	دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه	۱/۸۳۶۱	۰/۰۵۳
CAT	کنترل سالم	۱	۰/۰۴۲
	کنترل دیابتی	۰/۵۸۶۲	۰/۰۵۱
	دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا	۱/۵۸۹۴	۰/۰۳۲
	دیابت + تمرین مقاومتی	۱/۲۲۷۷	۰/۰۵۳
	دیابت + مکمل سیاه‌دانه	۱/۰۱۱۲	۰/۰۳۸
	دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه	۲/۱۷۶۷	۰/۰۶۳
	دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه	۱/۷۲۱۷	۰/۰۵۸

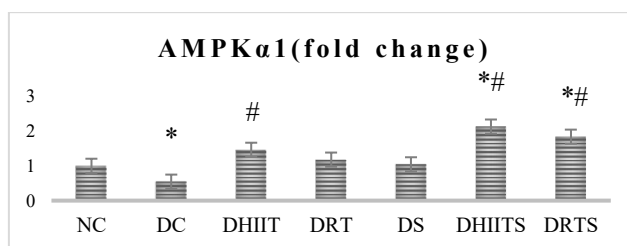
در **جدول ۳** آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه بیان ژن AMPK α 1 در گروه‌های مختلف پژوهش نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مورد بررسی از نظر سطح بیان ژن AMPK α 1 وجود دارد ($P=0/015$)؛ همچنین مقدار اندازه اثر برابر با $0/410$ به دست آمد که بیانگر آن است که گروه‌بندی توانسته است حدود 41% درصد از تغییرات بیان ژن AMPK α 1 را تبیین کند و اثر بسیار قوی بر این متغیر داشته است. نتایج این آزمون حاکی از آن است که نوع گروه‌بندی نمونه‌ها در این مطالعه نقش مهم و معناداری در تغییرات بیان ژن AMPK α 1 داشته و این تفاوت‌ها از نظر آماری قابل توجه هستند.

جدول ۳- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه سطح بیان ژن AMPK α 1

منبع واریانس	جمع مجزورات نوع سوم	میانگین مجزورات	مقدار F	سطح معناداری	اتا اسکوتر جزئی (اندازه اثر)
مدل اصلاح شده	۹/۱۸۱	۱/۵۳۰	۳/۲۴۸	۰/۰۱۵	۰/۴۱۰
عرض از مبدأ	۵۹/۵۷۶	۵۹/۵۷۶	۱۲۶/۴۵۸	۰/۰۰۰	۰/۸۱۹
گروه	۹/۱۸۱	۱/۵۳۰	۳/۲۴۸	۰/۰۱۵	۰/۴۱۰
خطا	۱۳/۱۹۱	۰/۴۷۱	-	-	-
مجموع	۸۱/۴۶۶	-	-	-	-
مجموع اصلاح شده	۲۲/۳۷۲	-	-	-	-

R Squared = $a/410$ = (ضریب تعیین تعدیل شده $(Adjusted R^2) = 0/284$)

نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در **نمودار ۱** نشان داد که بین گروه کنترل سالم (NC) و کنترل دیابتی (DC) از نظر سطح بیان ژن AMPK α 1 تفاوت معناداری وجود دارد (اختلاف میانگین = $0/456$ ، $p=0/048$) که بیانگر تغییر معنادار بیان این ژن در اثر ابتلا به دیابت نوع ۲ است. همچنین، بین گروه کنترل دیابتی و گروه دیابت همراه با تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا (DHIIT) تفاوت معناداری مشاهده شد (اختلاف میانگین = $-0/9162$ ، $p=0/032$). در مقایسه گروه کنترل دیابتی با گروه دیابت همراه با تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل سیاه‌دانه (DHIITS) نیز تفاوت معناداری وجود داشت و همین‌طور بین گروه کنترل دیابتی و گروه دیابت همراه با تمرین مقاومتی و مکمل سیاه‌دانه (DRTS) تفاوت معناداری مشاهده شد (اختلاف میانگین = $-1/2922$ ، $p=0/024$). در مقابل، مقایسه گروه کنترل دیابتی با گروه دیابت همراه با تمرین مقاومتی (DRT) و گروه دیابت همراه با مکمل سیاه‌دانه (DS) معنادار نبود ($p>0/05$). همچنین در سایر مقایسه‌های دو به دو، شامل مقایسه گروه کنترل سالم با گروه‌های مداخله‌ای و همچنین مقایسه بین گروه‌های مداخله‌ای، تفاوت معناداری در سطح بیان ژن AMPK α 1 مشاهده نشد ($p>0/05$).



نمودار ۱- نتایج آزمون بنفرونی شاخص بیان ژن AMPK α 1 در گروه‌های مختلف پژوهش

NC: کنترل سالم؛ DC: کنترل دیابتی؛ DHIIT: دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا؛ DRT: دیابت + تمرین مقاومتی؛ DS: دیابت + مکمل سیاه‌دانه؛ DHIITS: دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه‌دانه؛ DRTS: دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه‌دانه؛ سطح معنی داری $0/05 \geq$ گزارش شده است. * در مقایسه با گروه کنترل سالم، # در مقایسه با گروه کنترل دیابت.

در **جدول ۴** آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه بیان ژن CAT در گروه‌های مختلف پژوهش نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مورد بررسی از نظر سطح بیان ژن CAT وجود دارد ($P=0/001$ ؛ $F=4/939$).

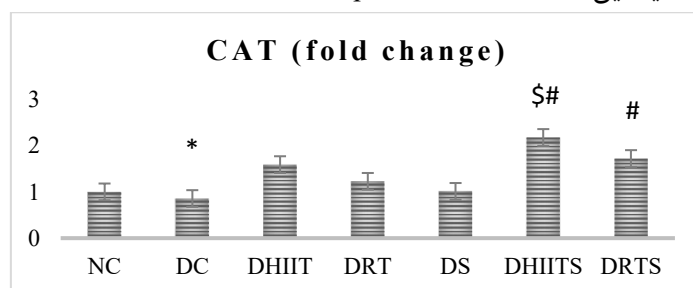
همچنین مقدار اندازه اثر برابر با ۰/۵۱۴ به دست آمد که بیانگر آن است که گروه بندی توانسته است حدود ۵۱ درصد از تغییرات سطح بیان ژن CAT را تبیین کند و اثر بسیار قوی بر این متغیر داشته است. علاوه بر این، مقدار ضریب تعیین تعدیل شده برابر با ۰/۴۱۰ بوده که نشان دهنده توان پیش بینی بالای مدل می باشد. نتایج این آزمون حاکی از آن است که نوع گروه بندی نمونه ها در این مطالعه نقش مهم و معناداری در تغییرات بیان ژن CAT داشته و این تفاوت ها از نظر آماری قابل توجه هستند.

جدول ۴- نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه سطح بیان ژن CAT

منبع واریانس	جمع مجزورات نوع سوم	میانگین مجزورات	مقدار F	سطح معناداری	اتا اسکوتر جزئی (اندازه اثر)
مدل اصلاح شده	۸/۹۹۸	۱/۵۰۰	۴/۹۳۹	۰/۰۰۱	۰/۵۱۴
عرض از مبدأ	۶۱/۲۲۱	۶۱/۲۲۱	۲۰۱/۶۲۲	۰/۰۰۰	۰/۸۴۸
گروه	۸/۹۹۸	۱/۵۰۰	۴/۹۳۹	۰/۰۰۱	۰/۵۱۴
خطا	۸/۵۰۲	۰/۳۰۴	-	-	-
مجموع	۷۸/۳۵۳	-	-	-	-
مجموع اصلاح شده	۱۷/۵۰۰	-	-	-	-

$R^2 = 0.514$ (ضریب تعیین تعدیل شده) $(Adjusted R^2) = 0.410$

نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی **نمودار ۲** نشان داد که بین گروه کنترل سالم (NC) و کنترل دیابتی (DC) تفاوت معناداری در سطح بیان ژن CAT مشاهده شد (اختلاف میانگین = 0.4137 ، $p = 0.049$)؛ این یافته نشان می دهد که القای دیابت نوع ۲ موجب تغییر معنادار در بیان ژن CAT بافت کبد شده است. با این حال، مقایسه گروه کنترل سالم با سایر گروه های مداخله ای شامل DHIIT، DRT، DS، DHIITS و DRTS، تفاوت معناداری را نشان نداد ($p > 0.05$). در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، گروه DHIITS، یعنی دیابت همراه با تمرین تناوبی با شدت بالا و مکمل سیاه دانه، تفاوت معناداری در بیان ژن CAT داشت (اختلاف میانگین = -1.5904 ، $p = 0.001$). همچنین بین گروه DC و DRTS، یعنی دیابت همراه با تمرین مقاومتی و مکمل سیاه دانه، تفاوت معناداری مشاهده شد (اختلاف میانگین = -1.3541 ، $p = 0.043$). در مقابل، بین گروه DC و DHIIT، DRT و DS تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p > 0.05$). این نتایج نشان می دهد که تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین مقاومتی هنگامی که همراه با مکمل یاری سیاه دانه باشند، در مقایسه با وضعیت دیابتی بدون مداخله، توانسته اند بیان ژن CAT را به طور معناداری تغییر دهند. در سایر مقایسه های زوجی نیز تفاوت معناداری مشاهده نشد؛ به گونه ای که بین DHIIT و DRT، DHIIT و DHIITS، DHIITS و DRT، DS و DHIIT، DHIITS و DRTS، DRTS و DRT، DHIITS و DRTS و نیز DS و DRTS تفاوت معناداری در بیان ژن CAT مشاهده نشد ($p > 0.05$). تنها در مقایسه DS با DHIITS اختلاف معناداری مشاهده شد (اختلاف میانگین = -1.1654 ، $p = 0.050$).



نمودار ۲- نتایج آزمون بونفرونی شاخص بیان ژن CAT در گروه های مختلف پژوهش

NC: کنترل سالم؛ DC: کنترل دیابتی؛ DHIIT: دیابت + تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا؛ DRT: دیابت + تمرین مقاومتی؛ DS: دیابت + مکمل سیاه دانه؛ DHIITS: دیابت + تمرین تناوبی با شدت بالا + مکمل سیاه دانه؛ DRTS: دیابت + تمرین مقاومتی + مکمل سیاه دانه؛ سطح معنی داری $0.05 \geq$ گزارش شده است. * در مقایسه با گروه کنترل سالم، # در مقایسه با گروه کنترل دیابتی؛ \$ در مقایسه با گروه دیابت + مکمل سیاه دانه.

بحث

پژوهش حاضر با هدف مقایسه تأثیر تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و تمرین مقاومتی، به‌تنهایی و در ترکیب با مکمل‌یاری سیاه‌دانه، بر بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT در بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد. یافته اصلی مطالعه نشان داد که القای دیابت با تغییر معنی‌دار بیان هر دو ژن همراه بود و برخی مداخلات ورزشی و ترکیبی توانستند این تغییرات را تعدیل کنند. به‌طور مشخص، در مورد AMPK α 1، گروه‌های DHIIT، DHIITS و DRTS در مقایسه با گروه کنترل دیابتی تغییر معنی‌دار داشتند، در حالی که DRT و DS به‌تنهایی اثر معنی‌داری ایجاد نکردند. در مورد CAT نیز تنها ترکیب تمرین با سیاه‌دانه، یعنی DHIITS و DRTS، در مقایسه با گروه دیابتی موجب تغییر معنی‌دار بیان ژن شد. این الگو نشان می‌دهد که پاسخ کبد به مداخلات ورزشی و تغذیه‌ای احتمالاً به نوع محرک، ترکیب مداخلات و سطح مولکولی مورد ارزیابی وابسته است. کاهش بیان AMPK α 1 در گروه دیابتی را می‌توان در چارچوب اختلال متابولیسم انرژی در دیابت نوع ۲ تفسیر کرد (۹). AMPK یکی از حسگرهای اصلی وضعیت انرژی سلول است و در کبد در تنظیم اکسیداسیون اسیدهای چرب، سنتز چربی، هموستاز گلوکز و پاسخ به انسولین نقش دارد (۱۹). در شرایط دیابت، مقاومت به انسولین و افزایش بار متابولیکی می‌تواند تنظیم این مسیر را مختل کند. یافته حاضر با مطالعه ایی (Yi) و همکاران (۲۰۱۳) همسو است که در مدل حیوانی دیابت نوع ۲، تغییر در مسیر کبدی leptin-AMPK-ACC را گزارش کردند و نشان دادند که ورزش می‌تواند اختلالات این مسیر را تعدیل کند (۱۶). همچنین، مطالعات جدیدتر نشان داده‌اند که AMPK کبدی برای بخشی از سازگاری‌های ناشی از تمرین در متابولیسم گلیکوژن و چربی کبد اهمیت دارد (۱۷). بنابراین، تغییر بیان AMPK α 1 در گروه دیابتی پژوهش حاضر می‌تواند نشان‌دهنده اختلال در یکی از محورهای کلیدی تنظیم متابولیسم کبدی در دیابت باشد.

افزایش معنی‌دار بیان AMPK α 1 در گروه DHIIT با شواهد موجود درباره اثر تمرین شدید بر مسیر AMPK کبدی همخوان است. در مطالعه مارکینکو (Marcinko) و همکاران (۲۰۱۳)، شش هفته HIIT در موش‌های دارای مقاومت به انسولین موجب بهبود حساسیت به انسولین در کبد و بافت چربی شد و پاسخ‌های ناشی از تمرین با تغییر در مسیرهای مرتبط با AMPK و ACC همراه بود (۱۸). همچنین، هوگای (Hughey) و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که سازگاری‌های کبدی ناشی از تمرین به AMPK کبدی وابسته است و این مسیر در تنظیم متابولیسم گلیکوژن و گلیسرولیپیدها نقش دارد (۱۶). بنابراین، افزایش AMPK α 1 در گروه DHIIT مطالعه حاضر می‌تواند بازتابی از سازگاری کبد با افزایش تقاضای انرژی ناشی از تمرین باشد. با این حال، باید توجه داشت که مارکینکو (Marcinko) و همکاران نشان دادند برخی آثار متابولیکی HIIT حتی مستقل از فسفریلاسیون AMPK-ACC نیز رخ می‌دهد (۱۷). این موضوع نشان می‌دهد که AMPK اگرچه مسیر مهمی است، اما نمی‌توان تمام آثار متابولیکی HIIT را به آن نسبت داد.

در مقابل، عدم مشاهده تغییر معنی‌دار AMPK α 1 در گروه DRT نشان می‌دهد که پاسخ این ژن به تمرین مقاومتی ممکن است با پاسخ به HIIT یکسان نباشد. تفاوت در ماهیت محرک فیزیولوژیک، شدت و الگوی مصرف انرژی و سازگاری‌های اختصاصی هر نوع تمرین می‌تواند در این تفاوت نقش داشته باشد. افزون بر این، اندازه‌گیری بیان ژن الزاماً بازتاب‌دهنده فعال‌شدن عملکردی AMPK نیست؛ زیرا فعال‌شدن این آنزیم عمدتاً از طریق تغییرات فسفریلاسیون تنظیم می‌شود. بنابراین، نبود تغییر معنی‌دار در بیان AMPK α 1 پس از تمرین مقاومتی به‌تنهایی نمی‌تواند به معنای عدم فعال‌شدن مسیر AMPK باشد. این تفسیر با شواهدی که نشان می‌دهند پاسخ متابولیکی ورزش می‌تواند بدون تغییر هم‌جهت در بیان ژن یا حتی بدون وابستگی کامل به محور AMPK-ACC رخ دهد، سازگار است (۱۰).

یافته مهم دیگر افزایش معنی‌دار AMPK α 1 در گروه‌های DHIITS و DRTS بود، در حالی که مصرف سیاه‌دانه به‌تنهایی (DS) اثر معنی‌داری ایجاد نکرد. شواهد سلولی از اثر مستقیم سیاه‌دانه بر مسیر AMPK حمایت می‌کنند. بنهادو اندلوسی

(Benhaddou-Andaloussi) و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که عصاره اتانولی سیاه‌دانه در سلول‌های کبدی H4IIE موجب افزایش فعالیت AMPK و Akt می‌شود و از این طریق می‌تواند بخشی از آثار ضد دیابتی سیاه‌دانه را توضیح دهد (۱۸). همچنین، در مطالعه الیامی (Alyami) و همکاران (۲۰۲۳)، شواهد موجود درباره ترکیب سیاه‌دانه و ورزش نشان داد که اگرچه مطالعات در این زمینه محدود و ناهمگون هستند، مداخلات ترکیبی در بسیاری از شاخص‌های دیابت نسبت به مداخلات منفرد پاسخ مطلوب‌تری ایجاد کرده‌اند (۱۹). بنابراین، افزایش AMPK α 1 در گروه‌های ترکیبی مطالعه حاضر با شواهد موجود درباره ظرفیت سیاه‌دانه برای تعدیل مسیرهای متابولیکی همسو است.

نتیجه حاصل از DRTS نیز از این دیدگاه قابل توجه است. در مطالعه جانگجو (Jangjo) و همکاران (۲۰۲۳)، تمرین مقاومتی همراه با مکمل سیاه‌دانه در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ برخی شاخص‌های متابولیکی و التهابی را بیشتر از برخی مداخلات منفرد بهبود داد (۲۰). اگرچه آن مطالعه بیان AMPK α 1 کبدی را بررسی نکرد و جامعه انسانی بود، الگوی پاسخ آن با یافته حاضر، یعنی اثر مطلوب‌تر ترکیب تمرین مقاومتی و سیاه‌دانه نسبت به برخی مداخلات منفرد، همخوانی دارد. از سوی دیگر، مرور نظام‌مند الیامی (Alyami) و همکاران (۲۰۲۳)، نیز نشان داد که شواهد موجود درباره ترکیب سیاه‌دانه و ورزش از احتمال اثرات مکملی دو مداخله حمایت می‌کنند، هرچند تعداد مطالعات حیوانی و انسانی موجود محدود است (۱۹). بنابراین، می‌توان فرض کرد که ورزش و سیاه‌دانه از مسیرهای متفاوت اما همگرا بر تنظیم متابولیسم انرژی اثر گذاشته‌اند (۲۰).

با وجود این، عدم معنی‌داری اثر سیاه‌دانه به‌تنهایی بر AMPK α 1 با برخی مطالعات که فعال‌شدن AMPK پس از مصرف سیاه‌دانه یا ترکیبات آن را گزارش کرده‌اند، ظاهراً ناهمسو است (۱۸،۲۱). این اختلاف احتمالاً به تفاوت در نوع فرآورده سیاه‌دانه، مقدار و مدت مصرف، ترکیب شیمیایی و میزان تیموکینون، مدل دیابت و مهم‌تر از همه تفاوت میان «بیان ژن» و «فعالیت پروتئین» مربوط است. برای مثال، بنهادو اندلوسی (Benhaddou-Andaloussi) و همکاران (۲۰۱۰) فعالیت AMPK را در سلول‌های کبدی ارزیابی کردند، در حالی که پژوهش حاضر بیان ژن AMPK α 1 را اندازه‌گیری کرده است (۱۸). بنابراین، عدم تغییر بیان ژن در گروه DS را نمی‌توان معادل فقدان اثر عملکردی سیاه‌دانه بر AMPK دانست.

در مورد CAT، یافته‌ها الگوی متفاوتی نشان دادند. دیابت نوع ۲ موجب تغییر معنی‌دار بیان CAT شد، اما DHIIT، DRT و DS به‌تنهایی در مقایسه با گروه دیابتی تغییر معنی‌داری ایجاد نکردند. در مقابل، هر دو گروه DHIITS و DRTS افزایش معنی‌دار بیان CAT نشان دادند. این نتیجه اهمیت ترکیب مداخلات را در تنظیم دفاع آنتی‌اکسیدانی کبد برجسته می‌کند. CAT یکی از آنزیم‌های مهم دفاع آنتی‌اکسیدانی است که با تجزیه هیدروژن پراکسید از تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند. در دیابت، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و اختلال در ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌تواند موجب آسیب اکسیداتیو و تشدید اختلال متابولیکی شود. مطالعات تجربی نیز تغییرات بیان و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در مدل‌های دیابت گزارش کرده‌اند (۲۲).

افزایش CAT در گروه DHIITS با مطالعاتی که نقش تمرین شدید در تحریک دفاع آنتی‌اکسیدانی را نشان داده‌اند، همخوانی دارد. کاظمی و همکاران (۲۰۲۴) در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ گزارش کردند که ۱۲ هفته HIIT موجب افزایش CAT و سایر شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی همراه با تغییرات Nrf2 شد (۲۳). همچنین، کراوس (Krause) و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی با شدت متوسط در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ موجب افزایش CAT پلازما شد و بهبود شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی را به دنبال داشت (۲۴). این نتایج نشان می‌دهد که ورزش می‌تواند با ایجاد یک محرک اکسیداتیو کنترل‌شده، سازگاری آنتی‌اکسیدانی را تقویت کند. با این حال، عدم تغییر CAT در گروه DHIIT مطالعه حاضر با برخی شواهد

انسانی که افزایش CAT را پس از تمرین هوازی گزارش کرده‌اند، ناهمسو است (۲۳،۲۴). تفاوت در بافت مورد مطالعه، نوع شاخص اندازه‌گیری‌شده، شدت و مدت تمرین و تفاوت بین بیان ژن و فعالیت آنزیم می‌تواند علت این اختلاف باشد. از سوی دیگر، افزایش CAT در DRTS با شواهد موجود درباره اثرات آنتی‌اکسیدانی سیاه‌دانه و تمرین مقاومتی سازگار است. در یک کارآزمایی بالینی، جانگجو (Jangjo) و همکاران (۲۰۲۳)، نشان دادند که ترکیب تمرین مقاومتی و سیاه‌دانه می‌تواند برخی شاخص‌های متابولیکی و التهابی را بیشتر از مداخلات منفرد بهبود دهد (۲۰). اگرچه CAT در آن مطالعه اندازه‌گیری نشد، این یافته از نظر الگوی پاسخ ترکیبی با نتایج پژوهش حاضر قابل مقایسه است. همچنین، کاتابی (Kaatabi) و همکاران در یک مطالعه بالینی یک‌ساله گزارش کردند که مکمل‌یاری سیاه‌دانه در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ موجب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش CAT در کنار افزایش سایر شاخص‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی شد (۲۵). این شواهد از ظرفیت سیاه‌دانه برای تعدیل سیستم آنتی‌اکسیدانی حمایت می‌کنند، اما عدم معنی‌داری DS در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که این اثر ممکن است در شرایط خاص پژوهش به‌تنهایی برای تغییر بیان ژن CAT کافی نباشد.

یکی از توضیحات احتمالی برای پاسخ قوی‌تر گروه‌های DHIITS و DRTS این است که ورزش و سیاه‌دانه ممکن است از دو مسیر مکمل بر تعادل اکسیداسیون- آنتی‌اکسیدان اثر بگذارند. ورزش موجب افزایش موقتی تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که در صورت کنترل‌شدن می‌تواند به‌عنوان محرک سازگاری آنتی‌اکسیدانی عمل کند؛ از سوی دیگر، ترکیبات زیست‌فعال سیاه‌دانه، به‌ویژه تیموکینون، دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده مسیرهای سلولی مرتبط با دفاع اکسیداتیو هستند (۲۱،۲۵). در نتیجه، ترکیب دو مداخله ممکن است پاسخ آنتی‌اکسیدانی کبد را بیشتر از هر مداخله منفرد تحریک کند. با این حال، از آنجا که در پژوهش حاضر مسیرهایی مانند Nrf2/HO-1 به‌طور مستقیم اندازه‌گیری نشده‌اند، این سازوکار باید به‌عنوان یک تبیین احتمالی و نه اثبات‌شده مطرح شود.

یافته حاضر در مورد عدم اثر معنی‌دار DHIIT و DRT بر CAT نیز از نظر زیستی قابل توجه است. نتایج کاظمی و همکاران نشان داد که HIIT می‌تواند CAT را افزایش دهد (۲۳)، در حالی که مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در بیان ژن CAT پس از HIIT به‌تنهایی نشان نداد. این ناهمسویی احتمالاً ناشی از تفاوت مهم در متغیر وابسته است؛ مطالعه کاظمی و همکاران سطح پروتئین/فعالیت CAT را بررسی کرده بود، در حالی که مطالعه حاضر بیان ژن CAT در بافت کبد را ارزیابی کرده است. همچنین، پاسخ آنتی‌اکسیدانی به ورزش به‌شدت وابسته به وضعیت اولیه اکسیداتیو، شدت تمرین و بافت مورد بررسی است. بنابراین، تغییر در فعالیت آنزیم ممکن است بدون تغییر متناظر در mRNA رخ دهد و بالعکس. در مجموع، نتایج دو ژن نشان می‌دهد که ترکیب تمرین با سیاه‌دانه نسبت به مداخلات منفرد، الگوی منسجم‌تری از تعدیل AMPK α 1 و CAT ایجاد کرده است. در AMPK α 1، هر دو گروه DHIITS و DRTS نسبت به گروه دیابتی تغییر معنی‌دار داشتند، در حالی که DS و DRT به‌تنهایی معنی‌دار نبودند. در CAT نیز تنها گروه‌های ترکیبی DHIITS و DRTS نسبت به گروه دیابتی تغییر معنی‌دار نشان دادند. این همگرایی می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که سیاه‌دانه در کنار محرک فیزیولوژیک حاصل از تمرین، پاسخ متابولیکی و آنتی‌اکسیدانی کبد را تقویت می‌کند. با این حال، از نظر استنباط آماری باید تأکید کرد که عدم معنی‌داری تفاوت مستقیم میان گروه‌های DHIITS و DRTS به این معناست که نمی‌توان برتری یکی از دو نوع تمرین ترکیبی را اثبات کرد. همچنین، بالاتر بودن مقدار توصیفی یک گروه به‌تنهایی برای ادعای برتری درمانی کافی نیست. از نظر نوآوری، یافته حاضر اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا بخش قابل توجهی از مطالعات پیشین یا اثر ورزش و سیاه‌دانه را بر شاخص‌های بالینی و بیوشیمیایی بررسی کرده‌اند، یا اثر هر یک را بر مسیرهای مولکولی به‌صورت جداگانه مطالعه کرده‌اند (۱۸،۲۰). در مقابل، پژوهش حاضر پاسخ دو محور مکمل، یعنی AMPK α 1 به‌عنوان تنظیم‌کننده متابولیسم انرژی و CAT به‌عنوان مؤلفه دفاع آنتی‌اکسیدانی، در بافت کبد یک مدل حیوانی دیابت نوع ۲ را در کنار مقایسه دو شیوه تمرینی بررسی کرده است. این رویکرد

می‌تواند درک جامع‌تری از سازگاری کبد به مداخلات ترکیبی فراهم کند. با وجود این، چند محدودیت باید در تفسیر نتایج در نظر گرفته شود. نخست، اندازه‌گیری mRNA به‌تنهایی برای نتیجه‌گیری درباره فعالیت عملکردی AMPK و CAT کافی نیست؛ بنابراین، افزایش بیان ژن الزاماً به معنای افزایش فعالیت پروتئین یا آنزیم نیست. دوم، در پژوهش حاضر شاخص‌های پایین‌دستی AMPK مانند p-AMPK/AMPK و ACC/ACC و همچنین مسیرهای تنظیم‌کننده دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند Nrf2/HO-1 اندازه‌گیری نشدند. سوم، تفاوت نوع، دوز و مدت مصرف سیاه‌دانه در مطالعات مختلف، مقایسه مستقیم نتایج را دشوار می‌کند (۱۹،۲۰). بنابراین، مطالعات آینده باید با اندازه‌گیری هم‌زمان بیان ژن، سطح پروتئین، فعالیت آنزیمی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو، سازوکار اثر ترکیبی ورزش و سیاه‌دانه را دقیق‌تر مشخص کنند. در نهایت، یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که دیابت نوع ۲ با اختلال در بیان ژن‌های AMPK α 1 و CAT در بافت کبد همراه است و ترکیب تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا یا تمرین مقاومتی با مکمل‌یاری سیاه‌دانه می‌تواند این اختلالات را تعدیل کند. به‌ویژه، پاسخ هم‌زمان دو ژن در گروه‌های ترکیبی از احتمال وجود یک اثر مکملی میان محرک ورزشی و سیاه‌دانه حمایت می‌کند. با این حال، با توجه به نبود تفاوت معنی‌دار بین دو مداخله ترکیبی، نتایج حاضر از برتری قطعی HIIT+ سیاه‌دانه نسبت به تمرین مقاومتی+سیاه‌دانه حمایت نمی‌کند و تبیین مکانیسمی نهایی نیازمند بررسی سطوح پروتئینی، فعالیت آنزیمی و مسیرهای پایین‌دستی است.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، یافته‌های پژوهش نشان داد که دیابت نوع ۲ موجب اختلال در بیان برخی ژن‌های مرتبط با متابولیسم و دفاع آنتی‌اکسیدانی و نیز افزایش گلوکز و کاهش انسولین سرمی شد. هر دو نوع تمرین، به‌ویژه زمانی که با مکمل سیاه‌دانه همراه شدند، توانستند بخشی از این اختلالات را اصلاح کنند. در میان مداخلات، ترکیب تمرین هوازی تناوبی با شدت بالا و سیاه‌دانه در بهبود بیان ژن‌های AMPK α 1، CAT، SOD و NRF2 عملکرد مطلوبی داشت، در حالی که ترکیب تمرین مقاومتی و سیاه‌دانه بیشترین اثر را بر کاهش گلوکز سرمی نشان داد. همچنین هر دو مداخله ترکیبی موجب افزایش انسولین و نزدیک شدن آن به سطح گروه سالم شدند و در این شاخص تفاوتی بین دو روش مشاهده نشد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب تمرین ورزشی با مکمل سیاه‌دانه نسبت به استفاده از هر یک به‌تنهایی، راهبرد مؤثرتری برای بهبود اختلالات متابولیکی و دفاع آنتی‌اکسیدانی ناشی از دیابت نوع ۲ است؛ با این حال، میزان برتری تمرین هوازی یا مقاومتی به نوع شاخص مورد بررسی بستگی دارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با شناسه اخلاق IR.IAU.SARI.REC.1405.240 تصویب شد.

حامی مالی

این تحقیق هیچ بودجه‌ای دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌پردازی، عباس مهران‌پور؛ روش‌شناسی، محمدحسین لطفی؛ تحلیل داده‌ها، عباس مهران‌پور؛ انجام پژوهش، مهدی مرادی؛ گردآوری و مدیریت داده‌ها، عباس مهران‌پور؛ نگارش پیش‌نویس اولیه، عباس مهران‌پور؛ نظارت، مهدی مرادی؛ مدیریت پروژه، عباس مهران‌پور.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسنده، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی صمیمانه خود را از تمامی شرکت‌کنندگان و همکاران به‌دلیل مشارکتشان در تمامی مراحل این پژوهش ابراز می‌کنند.

References

1. Derosa G, D'Angelo A, Maffioli P, Cucinella L, Nappi RE. The Use of Nigella sativa in Cardiometabolic Diseases. *Biomedicines*. 2024;12(2):405. doi: [10.3390/biomedicines12020405](https://doi.org/10.3390/biomedicines12020405)
2. Wahab S, Alsayari A. Potential Pharmacological Applications of Nigella Seeds with a Focus on Nigella sativa and Its Constituents against Chronic Inflammatory Diseases: Progress and Future Opportunities. *Plants (Basel)*. 2023;12(22):3829. doi: [10.3390/plants12223829](https://doi.org/10.3390/plants12223829)
3. Bayat Z, Damirchi A, Hasannejad-Bibalan M, Babaei P. Concurrent high-intensity interval training and probiotic supplementation improve associative memory via increase in insulin sensitivity in ovariectomized rats. *BMC Complement Med Ther*. 2023;23(1):262. doi: [10.1186/s12906-023-04097-3](https://doi.org/10.1186/s12906-023-04097-3)
4. Lee TS, Park EJ, Choi M, Oh HS, An Y, Kim T, Kim TH, Shin BS, Shin S. Novel LC-MS/MS analysis of the GLP-1 analog semaglutide with its application to pharmacokinetics and brain distribution studies in rats. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2023;1221:123688. doi: [10.1016/j.jchromb.2023.123688](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2023.123688)
5. El-Missiry, M. A., Othman, A. I., Amer, M. A., & Al-Rejaie, S. S. Antihyperglycemic and antioxidant effects of a flavanone, naringenin, in streptozotocin-nicotinamide-induced experimental diabetic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2012, 26(4), 296–304. doi: [10.1016/j.bpa.2023.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bpa.2023.03.002)
6. Kumar M, Sharma S, Vasudeva N. In vivo assessment of antihyperglycemic and antioxidant activity from oil of seeds of brassica nigra in streptozotocin induced diabetic rats. *Adv Pharm Bull*. 2013;3(2):359-65. doi: [10.5681/apb.2013.058](https://doi.org/10.5681/apb.2013.058)
7. Liu Y, Cheng Y, Xiang N, Wang Z, Li S, Gong L, Wang X. Aerobic exercise improves BKCa channel-mediated vasodilation in diabetic vascular smooth muscle via AMPK/Nrf2/HO-1 pathway. *Acta Diabetol*. 2024;61(4):425-434. doi: [10.1007/s00592-023-02210-z](https://doi.org/10.1007/s00592-023-02210-z)
8. Hornberger TA Jr, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol*. 2004;29(1):16-31. doi: [10.1139/h04-002](https://doi.org/10.1139/h04-002)
9. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, Novelli M, Ribes G. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*. 1998;47(2):224-9. doi: [10.2337/diab.47.2.224](https://doi.org/10.2337/diab.47.2.224)
10. Gal A, Odunayo A. Diabetes Ketoacidosis and Hyperosmolar Hyperglycemic Syndrome in Companion Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2023;53(3):531-550. doi: [10.1016/j.cvsm.2023.01.005](https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.01.005)
11. Festing MF, Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J*. 2002;43(4):244-258. doi: [10.1093/ilar.43.4.244](https://doi.org/10.1093/ilar.43.4.244)
12. Li Q, Zhao Y, Guo H, Li Q, Yan C, Li Y, He S, Wang N, Wang Q. Impaired lipophagy induced-microglial lipid droplets accumulation contributes to the buildup of TREM1 in diabetes-associated cognitive impairment. *Autophagy*. 2023 Oct;19(10):2639-2656. doi: [10.1080/15548627.2023.2213984](https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2213984)

13. Yonamine CY, Michalani MLE, Moreira RJ, Machado UF. Glucose Transport and Utilization in the Hippocampus: From Neurophysiology to Diabetes-Related Development of Dementia. *Int J Mol Sci*. 2023;24(22):16480. doi: [10.3390/ijms242216480](https://doi.org/10.3390/ijms242216480)
14. Mansour, M. Soufi FG, Mohammad-Nejad D, Ahmadi H. Resveratrol improves diabetic retinopathy possibly through oxidative stress - nuclear factor κ B - apoptosis pathway. *Pharmacol Rep*. 2012;64(6):1505-14. doi: [10.1016/s1734-1140\(12\)70948-9](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(12)70948-9)
15. Yi X, Cao S, Chang B, Zhao D, Gao H, Wan Y, et al. Effects of acute exercise and chronic exercise on the liver leptin-AMPK-ACC signaling pathway in rats with type 2 diabetes. *J Diabetes Res*. 2013;2013:946432. doi: [10.1155/2013/946432](https://doi.org/10.1155/2013/946432).
16. Hughey CC, Bracy DP, Rome FI, Goelzer M, Donahue EP, Viollet B, et al. Exercise training adaptations in liver glycogen and glycerolipids require hepatic AMP-activated protein kinase in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2024;326(1):E14-E28. doi: [10.1152/ajpendo.00289.2023](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00289.2023).
17. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Trenell MI, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Mol Metab*. 2015;4(12):903-915. doi: [10.1016/j.molmet.2015.09.006](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.09.006).
18. Benhaddou-Andaloussi A, Martineau LC, Vallerand D, Haddad Y, Afshar A, Settaf A, et al. Multiple molecular targets underlie the antidiabetic effect of Nigella sativa seed extract in skeletal muscle, adipocyte and liver cells. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(2):148-157. doi: [10.1111/j.1463-1326.2009.01131.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01131.x).
19. Alyami HH, Al-Hariri MT. Synergistic effects of Nigella sativa and exercise on diabetic profiles: a systematic review. *Diabetes Ther*. 2023;14(3):467-478. doi: [10.1007/s13300-022-01362-5](https://doi.org/10.1007/s13300-022-01362-5).
20. Jangjo-Borazjani S, Dastgheib M, Kiyamarsi E, Jamshidi R, Rahmati-Ahmadabadi S, Helalizadeh M, et al. Effects of resistance training and Nigella sativa on type 2 diabetes: implications for metabolic markers, low-grade inflammation and liver enzyme production. *Arch Physiol Biochem*. 2023;129(4):913-921. doi: [10.1080/13813455.2021.1886117](https://doi.org/10.1080/13813455.2021.1886117).
21. Hadi V, Pahlavani N, Malekahmadi M, Nattagh-Eshstivani E, Gholizadeh Navashenag J, Hadi S, et al. Nigella sativa in controlling type 2 diabetes, cardiovascular, and rheumatoid arthritis diseases: molecular aspects. *J Res Med Sci*. 2021;26:20. doi: [10.4103/jrms.JRMS_236_20](https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS_236_20).
22. Shrilatha B, Muralidhara. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2007;305(1-2):1-10. doi: [10.1023/a:1021620414979](https://doi.org/10.1023/a:1021620414979).
23. Kazemi N, Afrasyabi S, Asle Mohamadi Zadeh M. The effects of high intensity interval training induced H₂O₂, Nrf2 changes on antioxidants factors in type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord*. 2024;23(2):1829-1838. doi: [10.1007/s40200-022-01128-7](https://doi.org/10.1007/s40200-022-01128-7).
24. Krause M, Rodrigues-Krause J, O'Hagan C, Medlow P, Davison G, Susta D, et al. The effects of aerobic exercise training at two different intensities in obesity and type 2 diabetes: implications for oxidative stress, low-grade inflammation and nitric oxide production. *Eur J Appl Physiol*. 2014;114(2):251-260. doi: [10.1007/s00421-013-2769-6](https://doi.org/10.1007/s00421-013-2769-6).
25. Kaatabi H, Bamasa AO, Badar A, Al-Elq A, Abou-Hozafa B, Lebda F, et al. Nigella sativa improves glycemic control and ameliorates oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus: placebo controlled participant blinded clinical trial. *PLoS One*. 2015;10(2):e0113486. doi: [10.1371/journal.pone.0113486](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113486).
26. Hoseini R, Rahim HA, Ahmed JK. Concurrent alteration in inflammatory biomarker gene expression and oxidative stress: how aerobic training and vitamin D improve T2DM. *BMC Complement Med Ther*. 2022;22(1):165. doi: [10.1186/s12906-022-03645-7](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03645-7).