

Research Paper  

The Effect of Interval Training on the Expression of Humanin and MOTS-c Genes in Obese Diabetic Mice

Marziye Khatibzadeh¹ , Sadegh Cheragh Birjandi^{1*} , Najmeh Rezaeian¹ , Vahid Rezaei¹ 

Received: October 14, 2024

Revised: December 21, 2024

Accepted: December 27, 2024

ABSTRACT

Objective: Obesity and overweight are major global public health concerns. Obesity-related diabetes leads to mitochondrial dysfunction in adipocytes and promotes inflammation. The present study aimed to investigate the effect of interval training on the expression levels of Humanin and MOTS-c genes in obese diabetic mice.

Methodology: Thirty-two C57BL/6 mice with a mean weight and standard deviation of 20.7 ± 1 g were selected. After consuming a high-calorie diet and becoming obese (mean weight and standard deviation of 30.95 ± 3.20 g), they were divided into three groups: control, diabetic and interval training. Diabetes was induced via intraperitoneal administration of streptozotocin (STZ) for eight weeks. The interval training protocol consisted of 30 minutes of exercise, with intensity progressively increasing from 50% to 60% during low-intensity intervals and 85% to 90% during high-intensity intervals. One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test were used to evaluate the data.

Results: The results indicated that Humanin and MOTS-c gene expression levels in the interval training group significantly decreased compared to the control group and significantly increased compared to the diabetic group ($p \leq 0.001$).

Conclusion: In the context of obesity-related diabetes, interval training likely mitigates obesity-related inflammatory and detrimental factors in adipose tissue by enhancing the expression of Humanin and MOTS-c genes.

Keywords: Interval training Humanin MOTS-c Diabetes.

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Boj.C., Islamic Azad University, Bojnourd, Iran.

* Corresponding author's e-mail address: s_birjandi2001@yahoo.com

Cite this article: Khatibzadeh, M., Cheragh Birjandi, S., Rezaeian, N., Rezaei, V (2025). The Effect of Interval Training on the Expression of Humanin and MOTS-c Genes in Obese Diabetic Mice. *Journal of Metabolism and Exercise*, 15 (2), 92-107.

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.31668.427>



Extended Abstract

Introduction and State of Problem

Obesity is one of the most important causes of chronic diseases such as diabetes, hypertension, cardiovascular diseases and various cancers. With the increase in fat mass, the process of tissue nutrition changes with the adaptation process caused by atherogenesis and angiogenesis. If fat weight is reduced and muscle mass is developed as a result of sports activities, this situation causes an increase in the capillary network. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is the main mediator of angiogenesis (4). Exercise training is considered as a stimulus for the processes of angiogenesis and capillary density (9). Consumption of energy supplements such as arginine and caffeine also has an effect on this process. High-intensity exercise, by stimulating HIFs and compensating for cellular oxygen deficiency in fat cells, exacerbates diabetic phenotypes with inflammation and fibrosis of adipose tissue (10). Studies have shown the effectiveness of endurance training compared to resistance training; however, the effect of taking supplements is a new approach. The aim of the present study was to investigate the interactive effects of ten weeks of aerobic-resistance training and combined supplementation (L-carnitine, caffeine, and L-arginine) on blood HIF-1 α and VEGF in inactive obese men.

Methodology

In this study, 28 subjects (age 37.02 ± 3.89 y, height 1.74 ± 0.66 m, and BMI 34.04 ± 1.24 kg/m²) were divided into three groups: 1): combined exercise/supplement (n: 10), 2): exercise/placebo (n: 9), and 3): combined exercise (n: 9). A combined supplement capsule (caffeine 200 mg + L-carnitine 1000 mg + L-arginine 1000 mg) was prepared in Sobhan Pharmacy Laboratory, Rasht, and consumed with a glass of water, half an hour before the test. The training consisted of 10 weeks, 3 sessions per week, and each session consisted of 60 minutes consisting of 30 minutes of treadmill running at an intensity of 55-75% of maximum heart rate and 30 minutes of resistance training at an intensity of 50-70% of one repetition maximum. In the first two weeks (three sessions per week), the time and intensity of the activity were constant to allow adaptation to resistance training and to minimize muscle soreness and damage (14). In this preparation phase, the subjects performed 1 set of 10 repetitions of leg press, chest press, and shoulder press at 40% 1-RM. The intensity of aerobic exercise was based on a percentage of maximum heart rate (HRmax), and 1-RM was measured and calculated using the equation proposed in the Brzeski method. Serum VEGF and HIF-1 α concentrations were measured with an ELISA kit. For comparison between groups, MANCOVA and Bonferroni tests were used. Statistical analysis was performed at the $p < 0.05$ level using SPSS version 26.

Results

Regarding changes in HIF-1 α ($p=0.001$) and VEGF ($p=0.021$) levels, the results of the effect (time/group) showed that there was a significant difference between the exercise/combined supplement and exercise/placebo groups in HIF-1 α levels ($p=0.023$) and the exercise/combined supplement and combined supplement in VEGF levels ($p=0.023$).

Table 1. Table Table

Variabel	Mean	Standard Deviation	Significance Level
Age	22.1	5.4	0.05

Discussion and Conclusion

The change in VEGF and HIF-1 α levels in this study indicated that the vasodilatory effect of arginine, in addition to or in conflict with the stimulating effect of caffeine, was able to stimulate the angiogenesis process, increase blood flow to the tissues, and as a result, by activating the mechanism of nitric oxide action, meet the energy needs of muscle tissue, especially oxygenation, through lipolysis and beta-oxidation in interaction with L-carnitine. Combined exercises, in addition to the effects related to muscle growth of supplements that lead to sarcoplasmic hypertrophy, probably caused an increase in muscle mass because, in addition to aerobic exercises, a resistance training program was also implemented and its effect on increasing the cross-sectional area and hypertrophic adaptations of the muscle and increasing the resting metabolic rate has been confirmed (15). This point is in the change of angiogenic factors and indicators such as VEGF and HIF-1 α as a result of performing ten weeks of combined training and taking a mixture of supplements, which arginine consumption probably increased the level of NO-, and this nitric oxide plays a major and essential role in the proliferation of endothelial cells and is an important mediator for some substances that stimulate the growth of the endothelium such as VEGF and prostaglandins (17). According to the findings, simultaneous performance of aerobic-resistance training and taking a combined supplement of L-arginine-caffeine and L-carnitine can lead to an increase in VEGF and HIF-1 α levels in inactive obese adults. Performing resistance and aerobic training along with taking these supplements probably stimulated the endothelial membrane and increased intracellular aerobic function and capillary density during ten weeks of combination exercise training and ergogenic supplements.

Originality/Value

Research Limitations/Implications

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

Funding

This study received no funding from public, commercial, or non-profit Organizations.

Authors' contribution

All authors contributed to the design, implementation, and writing of all parts of the present study.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict.

Acknowledgments

The authors express their gratitude to the people who participated in this study and to their research staff.

References

1. Smith JA, Murach KA, Dyar KA, Zierath JR. Exercise metabolism and adaptation in skeletal muscle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2023 Sep; 24(9): 607-32. [<https://doi.org/10.1113/EP086249>]

2. Ward-Smith AJ. The kinetics of anaerobic metabolism following the initiation of high-intensity exercise. *Mathematical biosciences*. 1999 Jun 1; 159(1): 33-45. [[https://doi.org/10.1016/S0025-5564\(99\)00015-2](https://doi.org/10.1016/S0025-5564(99)00015-2)]
3. Mostafavian M, Abdi A, Mehrabani J, Barari A. Synergistic Effects of aerobic training and capsaicin on FNDC5 gene expression and Irisin protein level of visceral adipose tissue in Rat Fed a High-Fat Diet. *Journal of Metabolism and Exercise*. 2020 Nov 21; 10(2): 12-19. [<https://doi.org/10.22124/JME.2020.15868.184>] [In Persian]
4. Mehrabani J, Abdollahpour S. Interaction between green tea consumption and exercise training on HbA1C and metabolic syndrome components in sedentary women. *Journal of Metabolism and Exercise*. 2024 Dec 21; 3(4): 65-53. [[Link](#)] [In Persian]



اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن Humanin و MOTS-c در موش‌های چاق دیابتی

مرضیه خطیب‌زاده¹، صادق چراغ بیرجندی^{1*}، نجمه رضائیان¹، وحید رضایی¹

تاریخ دریافت: 1403/7/23 تاریخ بازنگری: 1403/10/01 تاریخ پذیرش: 1403/10/7

چکیده

هدف: چاقی و اضافه وزن یکی از مشکلات بهداشت عمومی در جهان می‌باشد. بیماری دیابت وابسته به چاقی سبب اختلال عملکرد میتوکندری در سلول‌های چربی و نیز التهاب می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تمرینات تناوبی بر سطوح بیان ژن Humanin و MOTS-c در موش‌های چاق دیابتی است.

روش‌شناسی: ۳۲ سر موش C57BL/6 با میانگین و انحراف معیار وزنی $1 \pm 20/7$ گرم انتخاب شدند و پس از مصرف رژیم غذایی پرکالری و چاق شدن (میانگین و انحراف معیار $3 \pm 30/95$ گرم) به سه گروه کنترل، دیابت و تمرین تناوبی تقسیم شدند. روش دیابتی شدن با استفاده از داروی استرپتوزوسین (STZ) به صورت درون‌صفاقی به مدت هشت هفته انجام شد. پروتکل تمرین تناوبی شامل ۳۰ دقیقه تمرین ورزشی بود که شدت آن به طور فزاینده ۵۰ درصد تا ۶۰ درصد در تناوب کم‌شدت و ۸۵ تا ۹۰ درصد در تناوب شدید افزایش یافت. از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی توکی جهت ارزیابی اطلاعات استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده از پژوهش نشان داد که میزان بیان ژن Humanin و MOTS-c در گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار و نسبت به گروه دیابت افزایش معناداری یافت ($p \leq 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد در شرایط دیابت وابسته به چاقی احتمالاً تمرینات تناوبی می‌تواند با افزایش بیان ژن Humanin و MOTS-c موجب جلوگیری از عوامل التهابی و مضر وابسته به چاقی در بافت چربی شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، Humanin، MOTS-c، دیابت

1. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران.

* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: s_birjandi2001@yahoo.com

استناد: خطیب‌زاده، مرضیه؛ چراغ بیرجندی، صادق؛ رضائیان، نجمه؛ رضایی، وحید (1404). اثر تمرینات تناوبی با شدت بالا بر بیان ژن Humanin و MOTS-c در موش‌های چاق دیابتی. *نشریه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی*، 15 (2)، 92 - 107

DOI: <https://doi.org/10.22124/jme.2025.31668.427>

نوآوری پژوهش و پیام کلی



Copyright © 2025 The Author(s);

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 International License (CC-BY-NC): <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode.en>,

which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.

Publisher: University of Guilan

چاقی به دلیل افزایش ذخایر چربی بدن در نتیجه عدم تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی ایجاد می‌شود (1)؛ و به واسطه انباشت چربی احشایی با التهاب مزمن و گسترش بیماری‌های متابولیکی مانند دیابت نوع 2 همراه می‌باشد (2). مشخصه دیابت نوع 2 افزایش قند خون و انسولین موجود در گردش خون است. این بیماری به دلیل برهم خوردن متابولیسم کربوهیدرات، چربی و کاهش عملکرد سلول‌ها در برداشت قند ایجاد می‌شود و ناشی از بروز مقاومت انسولینی و اختلال در سلول‌های بتای پانکراس به وجود می‌آید (1). التهاب مزمن سیستمیک از ویژگی‌های بارز دیابت نوع دوم می‌باشد. توده چربی هرچند منجر به بروز چاقی و ذخیره چربی می‌شود، اما از بافت چربی پپتیدهایی تحت عنوان آدیپوکین‌ها و سایتوکین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی مانند لپتین، آدیپونکتین، رزیستین، ویسفاتین، اینترلوکین‌های 4، 6، 10 و اینترفرون گاما ترشح می‌شود که دارای اثرات اندوکراین و پاراکراین هستند (3). یکی از دلایل بروز دیابت، بروز استرس متابولیکی ناشی از اختلال در سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها و چربی‌هاست و می‌تواند سبب اختلال در عملکرد میتوکندری‌ها، به‌ویژه در سلول‌های چربی می‌شود (1). میتوکندرها از مهم‌ترین ساختارهای متابولیسم سلولی به‌ویژه برای تولید انرژی هوازی است که با فعالیت خود، سطح انرژی را افزایش می‌دهند. پپتیدهای مشتق شده از میتوکندری (MDPs) پروتئین‌های تازه کشف شده از میتوکندری هستند. این مولکول‌ها اجزای ضروری میتوکندری بوده که مسیرهای سیگنالینگ مختلفی را فعال می‌کنند و باعث بیان ژن هسته سلول می‌شوند. طی روند برخی از بیماری‌ها، سطح این پپتیدها کاهش یافته و منجر به کاهش عملکرد فیزیولوژیکی میتوکندری می‌شود (4، 5). مطالعات روی جوندگان نشان می‌دهد که MDPs متابولیسم میتوکندری را تقویت کرده و فرآیندهای حیاتی مانند پیری، التهاب و مقاومت به انسولین را تنظیم می‌کند (6، 7). پپتید STrRNA-c12 میتوکندری (MOTS-c) و Humanin (Humanin) دو جزء اصلی MDPs می‌باشند. Humanin و MOTS-c تنظیم‌کننده‌های کلیدی حساسیت به انسولین و متابولیسم هستند. یک پلی‌پپتید محافظ عصبی 24 اسیدآمینو است که در نورون‌های سالم بیماران آلزایمر کشف شده است. Humanin و آنالوگ‌های آن عملکرد مهم سلولی مانند افزایش بقای سلولی، متابولیسم، پاسخ به عوامل استرس‌زا و التهاب را در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی تنظیم می‌کنند (7). میزان Humanin در پلاسما و مایع مغزی-نخاعی قابل اندازه‌گیری بوده و در بافت‌های مختلفی از جمله هیپوتالاموس، کبد، قلب، کلیه، روده بزرگ، بیضه‌ها، عروق و عضلات اسکلتی بیان می‌شود (8). MOTS-c نیز به عنوان یک MDP، چرخه فولات و بیوسنتز پورین را فعال کرده و متابولیسم میتوکندری را با سنتز پروتئین کیناز فعال شده با (AMPK' 5 AMP)، تقویت می‌کند (9). این پپتید در پلاسما، مغز، کبد و عضلات اسکلتی یافت می‌شود (4). تحقیقات بسیاری نشان‌دهنده خاصیت حساسیت به انسولین MDPها در مدل‌های سلولی و جوندگان می‌باشد. بوتاری و همکاران (2022) نشان دادند که تجویز Humanin و GF6A-HN باعث کاهش گلوکز خون و افزایش حساسیت به انسولین در موش‌های دیابتی شد، در حالی که در مدل موش دیابتی غیرچاق، تجویز Humanin از شروع زودرس دیابت نوع 1 جلوگیری کرد (7). همچنین نقش MDP در حساسیت به انسولین با کشف MOTS-c بیشتر حمایت شد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد بیان بیش از حد MOTS-c باعث افزایش جذب گلوکز در میوبلاست‌ها و تجویز داخل صفاقی MOTS-c باعث فعال شدن مسیر AMPK و بیان GLUT4 در عضله اسکلتی می‌شود و مقاومت به انسولین القا شده با سن و رژیم غذایی را در موش‌ها معکوس می‌کند. این داده‌ها نشان می‌دهد که در جوندگان، MDPها در بهبود مقاومت به انسولین نقش دارند (7). در این میان نشان داده شده است که ورزش و فعالیت بدنی می‌تواند اثرات مفیدی بر کاهش چاقی احشایی و دیگر عوامل متابولیکی مرتبط با مقاومت به انسولین و چاقی داشته باشد (1-3، 10-12). مطالعات قبلی نشان می‌دهد که اثرات مفید فعالیت ورزشی

بر بهبود مقاومت انسولینی، اختلالات متابولیسمی و فاکتورهای خطرهای کاردیومتابولیک می‌تواند تا حدی ناشی از تغییرات در آدیپوکین‌ها باشد (10). در همین رابطه، کاهش میزان توده چربی احشایی که سبب کاهش آزادسازی سایتوکین/آدیپوکین‌های پیش‌التهابی و کاهش نفوذ سلول‌های ایمنی به چربی می‌شود، به احتمال زیاد یکی از مکانیسم‌های ضدالتهابی تمرینات ورزشی منظم می‌باشد (13). همچنین فعالیت ورزشی بیان MOTS-c رمزگذاری شده با mtDNA را در انسان القا می‌کند. درمان با MOTS-c به طور قابل توجهی عملکرد بدنی را در موش‌های جوان، میانسال و مسن بهبود می‌بخشد، متابولیسم عضلات اسکلتی و بیان بسیاری از ژن‌ها را تنظیم می‌کند و باعث افزایش سازگاری با استرس متابولیک در سلول‌ها می‌شود (14). همچنین تمرینات ورزشی و درمان برون‌زا با Humanin در جوندگان باعث بهبود حساسیت به انسولین، ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز، کاهش توده چربی و بهبود عملکرد شناختی می‌شود (15). مطابق با این مشاهدات، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تمرین ورزشی ممکن است سطوح MDPها را تغییر دهد، هرچند تناقضاتی نیز در یافته‌ها مشاهده می‌شود. کیم و همکاران (2018) در پژوهشی نشان دادند که 13 هفته تمرین مقاومتی بیان Humanin را در عضلات اسکلتی افزایش داد (5). بوکابوسو و همکاران (2019) و وودهد و همکاران (2020) نیز عنوان می‌کنند که تمرینات تناوبی می‌تواند بر بهبود عوامل خطرهای قلبی، متابولیسمی و مقاومت به انسولین آثار مثبت و معنی‌داری داشته باشد (16, 17). با این حال، آثار تمرینات تناوبی بر فاکتورهای التهابی تا حدی ناشناخته است.

روش‌شناسی

پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه دو گروه تجربی و یک گروه کنترل بود که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار G*Power تعداد ۲۴ سر موش C57/BL نر به عنوان نمونه پژوهش تعیین شد. موش‌ها با سن ۸ هفته و میانگین وزن 1 ± 20.7 گرم از انستیتوی پاستور (تهران، ایران) خریداری و به مدت یک هفته با رژیم غذایی استاندارد (به‌پرور، تهران، ایران) برای تثبیت کلیه شرایط متابولیسمی و رسیدن به حد وزنی مطلوب تغذیه شدند. رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود (12, 22). همچنین موش‌ها در شرایط استاندارد شامل چرخه ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ثابت 1 ± 22 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 10 ± 55 درصد نگهداری شدند.

القای چاقی و دیابت نوع 2

پس از تثبیت، تمامی موش‌ها به مدت دو هفته با رژیم غذایی پرچرب، شامل پلت استاندارد موش به علاوه یک درصد پودر کلسترول و یک درصد روغن ذرت خالص برای ایجاد تحمل به انسولین تغذیه شدند (23). پس از دو هفته استفاده از این رژیم غذایی، به مدت هشت هفته داروی STZ، حل شده در بافر سیترات (pH = 5/4) با دوز 25 mg/kg روزانه در کنار رژیم غذایی به رت‌ها به صورت درون‌صفاقی تزریق شد. در نهایت چاقی حیوانات بر اساس وزن بیشتر از 35 گرم و القای دیابت نوع دو با تست قند ناشتای خون (FBS) از 150 الی 400 mg/dl تایید شد (24). پس از ایجاد مدل حیوانی چاق دیابتی، موش‌ها در دو گروه 8 تایی، شامل گروه کنترل دیابتی و تمرین تناوبی به صورت تصادفی تقسیم‌بندی و مورد آزمایش قرار گرفتند. در کنار این دو گروه، یک گروه کنترل سالم، بدون القای چاقی و دیابت، نیز در مطالعه شرکت داشت. بنابراین در مجموع این مطالعه با سه گروه 8 سر موش انجام شد (25, 26).

پروتکل تمرینی

پروتکل تمرین تناوبی به مدت ۸ هفته و شامل ۵ جلسه در هفته بود، با این تفاوت که قبل از اجرای پروتکل، آزمون رسیدن به واماندگی برای محاسبه‌ی بیشینه سرعت موش‌ها انجام شد. در این آزمون سرعت دویدن با ۱۰ متر بر دقیقه شروع و هر دو دقیقه یک‌بار و تا زمان رسیدن به واماندگی، سرعتی معادل با سه متر بر دقیقه به آن افزوده شد. زمان



رسیدن به خستگی با عدم توانایی موش‌ها در دویدن روی نوارگردان با وجود ایجاد شوک الکتریکی مشخص گردید. روش تمرین شامل سه مرحله‌ی گرم کردن، بدنه‌ی اصلی تمرین و سرد کردن است. گرم کردن و سرد کردن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه (برابر با شدت ۴۰-۳۰ درصد VO_{2max}) انجام شد. تمرین اصلی با شدت ۸۵-۹۰ درصد سرعت بیشینه شامل دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۰ متر در دقیقه در ۶ تا ۱۲ وهله (هر هفته یک نوبت به

جدول 1 مشخصات و توالی آغازگرهای استفاده‌شده در پژوهش

وهله‌ها اضافه شد) همراه با تناوب‌های یک دقیقه‌ای استراحت فعال بود. گروه کنترل سالم برای ایجاد شرایط یکسان با سایر گروه‌های تمرینی و سازگاری با محیط، ۵ روز در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه به صورت بی‌حرکت قرار داده شدند (27).

جمع آوری نمونه‌های خونی

در نهایت ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ۶ ساعت ناشتایی، حیوانات ابتدا وزن‌کشی و سپس بر اساس راهنما AVMA ویرایش ۲۰۲۰ با سه برابر دوز بیهوشی کتامین (دوز نهایی ۱۵۰ mg/kg) و زایلازین (دوز نهایی ۲۰ mg/kg)، دچار مرگ آسان و سپس خون‌گیری و تشریح شده و شاخص‌های مورد بررسی با استفاده از روش آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفتند. برای مقایسه میزان بیان ژن‌های Humanin و MOTS-c ابتدا RNA بافت چربی موش‌ها به وسیله کیت استخراج RNA شرکت به ژن (ایران) به روش ستونی استخراج شد. بافت چربی جدا شده ابتدا در PBS شستشو داده شد تا خون اضافی خارج شود. سپس بافت‌ها ریز خرد شده و در ۵ میلی‌لیتر PBS با هموژنایزر شیشه‌ای روی یخ همگن شدند. سلول‌ها به وسیله ۳ بار انجماد (۲۰- درجه سانتی‌گراد) / ذوب (دمای اتاق) لیز شدند و سپس به مدت ۵ دقیقه با مقدار $500 \times$ سانتی‌فیوژ گردیدند. از هموژنات نهایی برای استخراج RNA استفاده شد. برای بررسی کمیت و خلوص RNA استخراج شده، نسبت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر به وسیله نانودراپ اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج به دست آمده از نانودراپ، سنتز cDNA توسط کیت شرکت به ژن (ایران)، مطابق دستورالعمل این کیت، صورت گرفت. در نهایت مقدار mRNA پروتئین‌های مورد نظر به روش RT-qPCR اندازه‌گیری شد. برای انجام Real-Time PCR از دستگاه step-one (آمریکا)، رنگ فلورسنت SYBR Green و ژن مرجع GAPDH استفاده شد. پرایمرهای استفاده‌شده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.



ژن	توالی آغازگرها
<i>GAPDH</i>	F TGCACCACCAACTGCTTAGC R GGATGCAGGGATGATGTTCT
<i>Humanin</i>	F CTGCCTGCCCAGTGACTAAA R AGCCATTCATGCTAGTCCCTA
<i>MOTS-c</i>	F GCCCTGAGTCTGCTGCTGCT R CGTACGTACGTACGTACGTACG

روش های تحلیل آماری

یافته‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است. طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو - ویلک انجام شد. برای ارزیابی آماری تفاوت بین گروهی و درون گروهی متغیرها از آزمون ANOVA یک طرفه 2×3 و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۷ و در سطح معنی داری کمتر از 0/05 صورت گرفت.

یافته‌ها

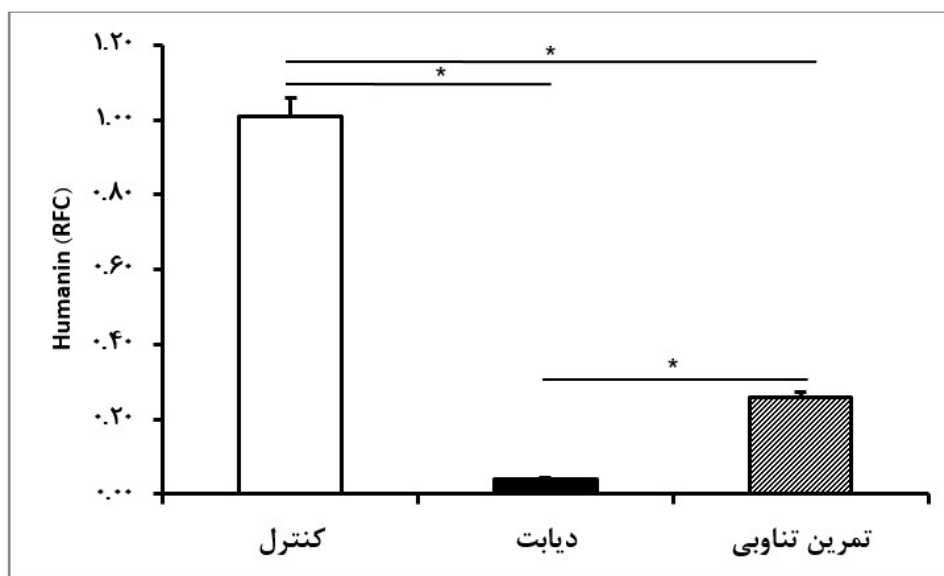
یافته‌های آزمون تحلیل واریانس در خصوص تاثیر تمرین تناوبی بر سطوح بیان ژن *Humanin* و *MOTS-c* در موش‌های چاق دیابتی در گروه‌های تحقیق در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که در هر دو متغیر وابسته در گروه‌های تمرینی تفاوت معنی داری وجود دارد ($p < 0/001$).

جدول ۲ مقایسه سطوح متغیرهای مورد نظر در گروه‌های تحقیق و یافته‌های آزمون آنالیز واریانس					
P	F	گروه‌ها (میانگین و انحراف معیار)			شاخص
		تناوبی	دیابت	کنترل	
*0/000	160/48	0/0 \pm 26/07	0/0 \pm 04/01	1/0 \pm 01/17	<i>Humanin</i> (RFC)

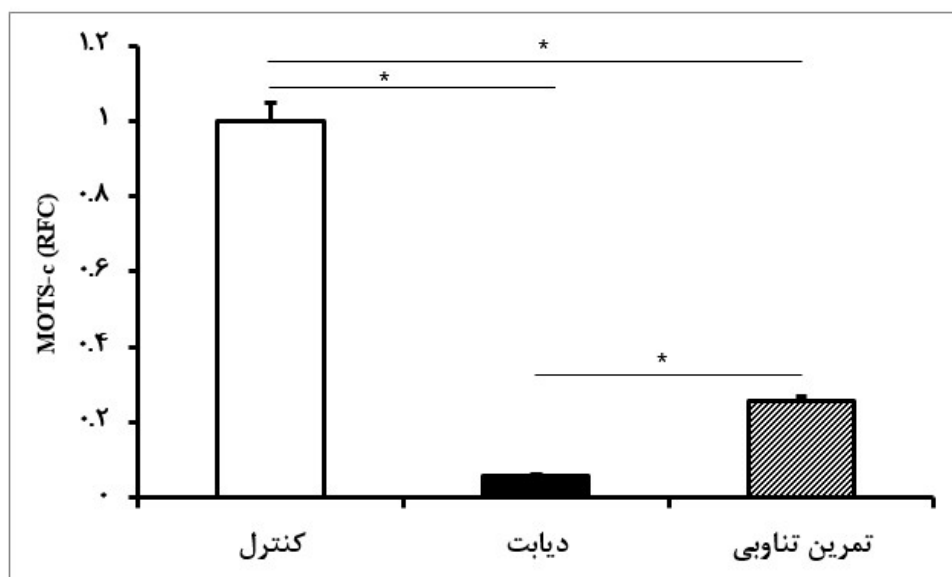
*0/000 250/16 0/0±256/06 0/0±057/01 1/0±00/14 (RFC) MOTS-c

* وجود تفاوت معنی داری ($p \leq 0/05$)

بر اساس نتایج حاصل از آزمون تعقیبی بونفرونی، سطح Humanin در گروه دیابت نسبت به دو گروه دیگر به طور معناداری پایین بود. همچنین میزان این متغیر در گروه کنترل به طور معناداری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش نشان داد (شکل شماره ۱).



نتایج حاصل از آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که سطح MOTS-c در گروه دیابت نسبت به دو گروه دیگر به طور معناداری پایین بود. همچنین میزان این متغیر در گروه کنترل به طور معناداری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش نشان داد (شکل ۲).





بحث

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که میزان بیان ژن‌های Humanin و MOTS-c در گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل، کاهش و نسبت به گروه دیابت، افزایش معناداری یافته است. چاقی به دلیل افزایش ذخایر چربی بدن در نتیجه عدم تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی ایجاد می‌شود و به واسطه انباشت چربی احشایی، با التهاب مزمن خفیف و گسترش بیماری‌های متابولیک مانند دیابت نوع ۲ همراه است. امروزه بافت چربی نه تنها به عنوان یک اندام ذخیره‌سازی چربی، بلکه به عنوان یک جایگاه مهم در تولید پاسخ‌ها و تنظیم‌کننده‌های التهابی شناخته شده است. تمرینات ورزشی می‌توانند اثرات مفیدی بر کاهش چاقی احشایی، مقاومت به انسولین و چاقی داشته باشند (1). مطالعات قبلی نشان می‌دهند که اثرات مفید فعالیت ورزشی بر بهبود مقاومت انسولینی، اختلالات متابولیکی و فاکتورهای خطرهای کاردیومتابولیک می‌تواند تا حدودی ناشی از تغییرات در آدیپوکین‌ها باشد (10, 13, 28). در همین رابطه، کاهش میزان توده چربی احشایی که سبب کاهش آزادسازی سایتوکین/آدیپوکین‌های پیش‌التهابی و کاهش نفوذ سلول‌های ایمنی به چربی می‌شود، به احتمال زیاد یکی از مکانیسم‌های ضدالتهابی تمرینات ورزشی منظم می‌باشد (19, 21). با وجود این، به خوبی مستند شده است که آثار تمرینات ورزشی وابسته به مؤلفه‌های تمرین به‌ویژه نوع، شدت و مدت تمرینات ورزشی می‌باشد و می‌تواند آثار متفاوتی بر فاکتورهای التهابی و ضدالتهابی داشته باشد (17, 21, 22, 27, 29). از دیگر یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر، بررسی اجرای هشت هفته تمرینات تناوبی بر سطوح Humanin و MOTS-c در موش‌های چاق مبتلا به دیابت نوع دو بود. نتایج نشان داد میزان این متغیرها در گروه تمرینی نسبت به گروه دیابت افزایش معناداری دارد که نشان‌دهنده تأثیر تمرینات ورزشی بر افزایش میزان این دو متغیر می‌باشد؛ همچنین میزان آن‌ها در گروه تمرین تناوبی به‌طور معناداری بیشتر بود. میتوکندری‌ها به دلیل نقش خود در متابولیسم سلولی از قبیل ترموزن و تولید ATP شناخته شده‌اند. علاوه بر این، میتوکندری‌ها در سیگنالینگ درون سلولی، آپوپتوز و سایر فرآیندهای سلولی نقش دارند (28). اختلال عملکرد میتوکندری باعث کاهش پپتیدهای مشتق شده از میتوکندری (MDPs) و در نتیجه کاهش عملکرد فیزیولوژیکی میتوکندری و Humanin می‌شود (5, 30).

MOTS-c به عنوان عضوی از MDPs، بیوسنتز پورین را فعال کرده و با فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK⁵)، متابولیسم میتوکندری را تقویت می‌کند (6, 31). علاوه بر این، Humanin و MOTS-c تنظیم‌کننده‌های کلیدی حساسیت به انسولین و متابولیسم هستند و می‌توانند با اثرگذاری مثبت بر روند متابولیسم گلوکز، موجب بهبود وضعیت وخیم مقاومت به انسولین ناشی از ابتلای به دیابت شوند.

Mui و همکاران (2023) نشان دادند که تجویز Humanin باعث کاهش گلوکز خون و افزایش حساسیت به انسولین در موش‌های دیابتی شد؛ در حالی که در مدل موش دیابتی غیرچاق، تجویز آن از شروع زودرس دیابت نوع ۱ جلوگیری کرد (15). نقش MDP در حساسیت به انسولین با کشف MOTS-c بیشتر حمایت شد. Muzumdar و همکاران (2009) عنوان می‌کنند که بیان بیش از حد MOTS-c باعث افزایش جذب گلوکز در میوبلاست‌ها شده و تجویز داخل صفاقی آن باعث فعال شدن مسیر AMPK و بیان GLUT4 در عضله اسکلتی شد که مقاومت به انسولین القاشده با سن یا رژیم غذایی را در موش‌ها معکوس می‌کند (32). این داده‌ها نشان می‌دهد که در جوندگان، MDP در بهبود مقاومت به انسولین ناشی از چاقی نقش دارد. نشان داده شده است که فعالیت ورزشی، بیان MOTS-c رمزگذاری شده



با mtDNA را در انسان القا می‌کند. درمان با این پپتید به طور قابل توجهی عملکرد بدنی را در موش‌های جوان، میانسال و مسن بهبود می‌بخشد، متابولیسم عضلات اسکلتی و بیان بسیاری از ژن‌ها را تنظیم می‌کند و باعث افزایش سازگاری با استرس متابولیک در سلول‌های C2C12 می‌شود (14). مطالعات روی جوندگان و همچنین مطالعات سلولی نشان داده است که MDP عمدتاً محافظ سلولی بوده و متابولیسم سلولی را کنترل می‌کند (35). Humanin و آنالوگ‌های آن نیز باعث محافظت در برابر سمیت سلولی ناشی از آمیلوئید بتا شده (36) و همچنین دارای اثرات ضدآپوپتوزی هستند (37). این متغیر همچنین تأثیرات مفیدی بر متابولیسم سلولی دارد؛ به طوری که به موازات تمرینات ورزشی شدید اینتروال، درمان برون‌زا با Humanin در جوندگان باعث بهبود حساسیت به انسولین، ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز و کاهش توده چربی می‌شود (38, 39). علاوه بر این، Humanin و آنالوگ‌های آن می‌توانند تنفس میتوکندری و میتوژنز را در انواع مختلف سلول ارتقا دهند (33, 34). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد تمرین ورزشی ممکن است سطوح MDP را تغییر دهد، هرچند تناقضاتی نیز در یافته‌ها با توجه به نوع، مدت و شدت تمرینات مشاهده شده است. هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، *رثوفی و همکاران (1401) نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی با شدت ۲۰ تا ۴۰ درصد حداکثر ضربان قلب باعث بهبود سطوح سرمی Humanin و MOTS-c و همچنین نیمرخ چربی و وضعیت متابولیک مردان دارای اضافه وزن می‌شود (34). Dieli-Conwright و همکاران (2021) نشان دادند که ۱۷ هفته تمرین ترکیبی هوازی-مقاومتی باعث افزایش بیان پلاسما MOTS-c در زنان مبتلا به سرطان سینه شده که این تغییرات با کاهش توده چربی و وزن همراه بود (40). Gidlund و همکاران (2016) گزارش دادند که میزان پروتئین Humanin در عضلات اسکلتی مردان پیش‌دیابتی میانسال به دنبال ۱۲ هفته تمرین تناوبی افزایش یافت (41). علت این افزایش، اثر احتمالی افزایش انسولین در جریان خون ناشی از مقاومت سلول‌های کبدی و عضلانی در برداشت گلوکز گزارش شده است. در حوزه مطالعات حیوانی، Guo و همکاران (2020) و Wu و همکاران (2021) نشان دادند که هشت هفته دویدن روی تردمیل باعث افزایش بیان MOTS-c عضلانی و پلاسمایی می‌شود. همچنین Gidlund و همکاران (2016) در پژوهشی نشان دادند که ۱۳ هفته تمرین مقاومتی، بیان Humanin را در عضلات اسکلتی افزایش داد (41). در تضاد با نتایج پژوهش حاضر، Woodhead و همکاران (2020) در مطالعه‌ای نشان دادند که ۳ هفته تمرین تناوبی شدت بالا، علیرغم بهبود در عملکرد ورزشی و افزایش عملکرد میتوکندری، تأثیری بر بیان Humanin عضلانی ندارد (42). همچنین Gidlund و همکاران (2016) گزارش کردند که ۱۳ هفته تمرین به صورت پیاده‌روی هوازی، تأثیر معنی‌داری بر بیان Humanin در عضلات اسکلتی نداشت (41). تفاوت در نتایج ممکن است ناشی از شیوه مداخلات تمرینی (شدت و نوع فعالیت ورزشی) و یا القای دیابت در رت‌ها باشد. همچنین Woodhead و همکاران (2021) بیان کردند که ممکن است تمرین ورزشی، MDP را در افرادی که از سلامت متابولیکی کمتری برخوردار هستند، بیشتر افزایش دهد و این تغییرات، تلاشی برای بازگرداندن تعادل متابولیکی می‌باشد (42).

نتیجه‌گیری کلی و پیام مقاله

به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان داد میزان Humanin و MOTS-c می‌تواند تحت تأثیر مثبت فعالیت‌های ورزشی شدید اینتروال قرار بگیرد. از این منظر می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالاً در بیماران مبتلا به دیابت، تمرینات ورزشی شدید متناوب می‌تواند به عنوان یک راهکار درمانی (یا مکمل درمانی) در نظر گرفته شود.

محدودیت‌ها

محدودیت‌های پژوهش ذکر شود.



پیشنهاد برای مطالعات آتی

بر اساس محدودیت‌های پژوهش، پیشنهاد برای مطالعات آتی ذکر شود.

ملاحظات اخلاقی

رعایت دستورالعمل‌های اخلاقی

در خصوص دستورالعمل‌های اخلاقی که در مقاله حاضر رعایت شده بیان شود. کد اخلاقی ذکر شود.

منابع مالی

پژوهش حاضر فاقد حامی مالی بوده و هیچ‌گونه حمایت مالی از سوی سازمان یا ارگانی دریافت نکرده است

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش، نویسنده اول در جایگاه دانشجوی دکتری، نویسنده دوم به عنوان استاد راهنما و سایر نویسندگان به عنوان اساتید مشاور حضور دارند.

تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله محققین مراتب تشکر و قدردانی را از کلیه عزیزانی که در مراحل مختلف اجرای پژوهش همکاری و مساعدت داشتند، اعلام می‌دارند.

References

1. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022;55(1):31-55.
2. Khanna D, Khanna S, Khanna P, Kahar P, Patel BM. Obesity: a chronic low-grade inflammation and its markers. *Cureus*. 2022;14(2)
3. Amin MN, Hussain MS, Sarwar MS, Moghal MMR, Das A, Hossain MZ, et al. How the association between obesity and inflammation may lead to insulin resistance and cancer. *Diabetes & metabolic syndrome: clinical research & reviews*. 2019;13(2):1213-24.
4. Nashine S, Kenney MC. Effects of mitochondrial-derived peptides (MDPs) on mitochondrial and cellular health in AMD. *Cells*. 2020;9(5):1102.
5. Kim KH, Son JM, Benayoun BA, Lee C. The mitochondrial-encoded peptide MOTS-c translocates to the nucleus to regulate nuclear gene expression in response to metabolic stress. *Cell metabolism*. 2018;28(3):516-24. e7.
6. Mohtashami Z, Singh MK, Salimiaghdam N, Ozgul M, Kenney MC. MOTS-c, the most recent mitochondrial derived peptide in human aging and age-related diseases. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(19):11991.
7. Boutari C, Pappas PD, Theodoridis TD, Vavilis D. Humanin and diabetes mellitus: A review of in vitro and in vivo studies. *World journal of diabetes*. 2022;13(3):213.
8. Coradduzza D, Congiargiu A, Chen Z, Cruciani S, Zinellu A, Carru C, et al. Humanin and its pathophysiological roles in aging: A systematic review. *Biology*. 2023;12(4):558.
9. Yu WD, Kim YJ, Cho MJ, Seok J, Kim GJ, Lee C-H, et al. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes homeostasis in aged human placenta-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Mitochondrion*. 2021;58:135-46.

10. Sirico F, Bianco A, D'Alicandro G, Castaldo C, Montagnani S, Spera R, et al. Effects of physical exercise on adiponectin, leptin, and inflammatory markers in childhood obesity: systematic review and meta-analysis. *Childhood obesity*. 2018;14(4):207-17.
11. Barry JC, Simtchouk S, Durrer C, Jung ME, Mui AL, Little JP. Short-term exercise training reduces anti-inflammatory action of interleukin-10 in adults with obesity. *Cytokine*. 2018;111:460-9.
12. Evans CC, LePard KJ, Kwak JW, Stancukas MC, Laskowski S, Dougherty J, et al. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. *PloS one*. 2014;9(3):e92193.
13. Chang Y-H, Yang H-Y, Shun S-C. Effect of exercise intervention dosage on reducing visceral adipose tissue: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *International journal of obesity*. 2021;45(5):982-97.
14. Reynolds JC, Lai RW, Woodhead JS, Joly JH, Mitchell CJ, Cameron-Smith D, et al. MOTs-c is an exercise-induced mitochondrial-encoded regulator of age-dependent physical decline and muscle homeostasis. *Nature communications*. 2021;12(1):470.
15. Moin H, Shafi R, Ishtiaq A, Liaquat A, Majeed S, Zaidi NN. Effectiveness of analog of Humanin in ameliorating streptozotocin-induced diabetic nephropathy in Sprague Dawley rats. *Peptides*. 2023;165:171014.
16. Souri M, Rvasi A, Birar A, Heydari F, Yousefzadeh H, Hosseini A, et al. The Effect of Aerobic Training before Alzheimer's Induction on the Expression of Calcineurin and Ca²⁺/Calmodulin-dependent Protein Kinase II Gene in the Hippocampus of Rats with Alzheimer's Disease. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2022;21(3):362-75.
17. Boukabous I, Marcotte-Chénard A, Amamou T, Boulay P, Brochu M, Tessier D, et al. Low-volume high-intensity interval training versus moderate-intensity continuous training on body composition, cardiometabolic profile, and physical capacity in older women. *Journal of aging and physical activity*. 2019;27(6):879-89.
18. Chaudhary P, Janmeda P. Quantification of phytochemicals and in vitro antioxidant activities from various parts of *Euphorbia neriifolia* Linn. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2022;10(2):133-45.
19. Al-Qahtani WH, Binobead MA. Anti-inflammatory, antioxidant and antihepatotoxic effects of *Spirulina platensis* against D-galactosamine induced hepatotoxicity in rats. *Saudi journal of biological sciences*. 2019;26(4):647-52.
20. Baker LH. Monitoring Mucosal Immunity, Upper Respiratory Illness, and the Influence of Vitamin D in Athletes. 2023.
21. Alizadeh H, Safarzade A. High intensity intermittent training induces anti-inflammatory cytokine responses and improves body composition in overweight adolescent boys. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2019;39(3):20190004.
22. KHALAFI M, RAVASI AA, SHABKHIZ F, MORADI M, ZAREI Y. The effects of high intensity interval exercise (hiie) and moderate intensity continuous exercise (mice) on serum irisin and subcutaneous ucp-1 in diabetic male rats. 2016.
23. Golpasandi H, Rahimi MR, Ghasemi P, Ahmadi S, Abdollahpour S. Investigation of Excessive Autophagy in Visceral Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats Following Eight Weeks of High-Intensity Interval Training and Moderate-Intensity Continuous Training. *Metabolism and Exercise*. 2025;15--:(1)
24. Atanasovska E, Tasic V, Slaninka-Miceska M, Alabakovska S, Zafirov D, Kostova E, et al. Six week follow-up of metabolic effects induced by a high-fat diet and streptozotocin in a rodent model of type 2 diabetes mellitus. *Contributions Sec Med Sci*. 2014;35(1):169-79.

25. Ahmadi M, Kazemzadeh Y, Mirzayan SS, Shahedi V, Eizadi M. Improvement of glucose levels and insulin resistance in the absence of change in adiponectin expression in subcutaneous adipose tissue in response to intense interval training in obese diabetic rats. 2021.
26. Akbarpour M, Mehrabe E. The Effect of Aerobic Exercise and Spirulina Supplementation on Some Cardiovascular Risk Factors in Overweight Women with Type 2 Diabetes. *Journal of Sport Biosciences*. 2020;12(2):207-22.
27. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High- and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2013;62(7):2287-94.
28. Maurizi G, Della Guardia L, Maurizi A, Poloni A. Adipocytes properties and crosstalk with immune system in obesity-related inflammation. *Journal of cellular physiology*. 2018;233(1):88-97.
29. Asgari Hazaveh D, Riyahi Malayeri S, Babaei S. Effect of eight weeks high intensity interval training and medium intensity interval training and Aloe vera intake on serum vaspin and insulin resistance in diabetic male rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences*. 2018;20(11):67-75.
30. Lee C, Zeng J, Drew BG, Sallam T, Martin-Montalvo A, Wan J, et al. The mitochondrial-derived peptide MOTS-c promotes metabolic homeostasis and reduces obesity and insulin resistance. *Cell metabolism*. 2015;21(3):443-54.
31. Reynolds JC, Lai RW, Woodhead JST, Joly JH, Mitchell CJ, Cameron-Smith D, et al. MOTS-c is an exercise-induced mitochondrial-encoded regulator of age-dependent physical decline and muscle homeostasis. *Nature communications*. 2021;12(1):470.
32. Muzumdar RH, Huffman DM, Atzmon G, Buettner C, Cobb LJ, Fishman S, et al. Humanin: a novel central regulator of peripheral insulin action. *PloS one*. 2009;4(7):e6334.
33. Guo Q, Chang B, Yu Q-l, Xu S-t, Yi X-j, Cao S-c. Adiponectin treatment improves insulin resistance in mice by regulating the expression of the mitochondrial-derived peptide MOTS-c and its response to exercise via APPL1-SIRT1-PGC-1 α . *Diabetologia*. 2020;63(12):2675-88.
34. Raoufi Sangachin A, Abdi A, Barari A. Effect of aerobic training and spirulina supplementation on mitochondrial-derived peptides in overweight elderly men. *Daneshvar Medicine*. 2022;30(2):12-23.
35. Mottis A, Herzig S, Auwerx J. Mitocellular communication: Shaping health and disease. *Science*. 2019;366(6467):827-32.
36. Ikonen M, Liu B, Hashimoto Y, Ma L, Lee K-W, Niikura T, et al. Interaction between the Alzheimer's survival peptide humanin and insulin-like growth factor-binding protein 3 regulates cell survival and apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(22):13042-7.
37. Hashimoto Y, Niikura T, Tajima H, Yasukawa T, Sudo H, Ito Y, et al. A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and A β . *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98(11):6336-41.
38. Gong Z, Su K, Cui L, Tas E, Zhang T, Dong HH, et al. Central effects of humanin on hepatic triglyceride secretion. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2015;309(3):E283-E92.
39. Kuliawat R, Klein L, Gong Z, Nicoletta-Gentile M, Nemkal A, Cui L, et al. Potent humanin analog increases glucose-stimulated insulin secretion through enhanced metabolism in the β cell. *The FASEB journal*. 2013;27(12):4890.
40. Dieli-Conwright CM, Sami N, Norris MK, Wan J, Kumagai H, Kim S-J, et al. Effect of aerobic and resistance exercise on the mitochondrial peptide MOTS-c in Hispanic and Non-Hispanic White breast cancer survivors. *Scientific Reports*. 2021;11(1):16916.

41. Gidlund EK, von Walden F, Venojärvi M, Risérus U, Heinonen OJ, Norrbom J, et al. Humanin skeletal muscle protein levels increase after resistance training in men with impaired glucose metabolism. *Physiological reports*. 2016;4(23):e13063.
42. Woodhead JS, D'Souza RF, Hedges CP, Wan J, Berridge MV, Cameron-Smith D, et al. High-intensity interval exercise increases humanin, a mitochondrial encoded peptide, in the plasma and muscle of men. *Journal of applied physiology*. 2020;128(5):1346-54.