

The Effects of a Period of High-Intensity Interval Training on the Content of Mitophagy Proteins in Visceral Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats Induced by High-Fat Diet + Streptozotocin

Hadi Golpasandi¹ , Mohammad Rahman Rahimi¹ * , Shadi Golpasandi² , Mobina Khosravi¹ 

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

²Department of Kinesiology and Sport Management, Texas A&M University, USA

Abstract

Background and Purpose: Type 2 diabetes is a common metabolic disorder characterized by elevated blood glucose levels and impaired mitochondrial function. Reduced mitochondrial efficiency in this disease leads to a decline in the mitophagy process, which in turn contributes to the progression of diabetes complications, including insulin resistance and metabolic disorders. Mitophagy, which involves the degradation and recycling of damaged mitochondria, is essential for maintaining cellular health. Parkin, PTEN-induced kinase 1 (PINK-1), and Optineurin (OPTN) are among the key markers of this process. Therefore, identifying strategies to enhance mitophagy in type 2 diabetes may help improve mitochondrial function and mitigate disease complications. One such strategy is exercise, which has been shown to have positive effects on metabolic health and mitochondrial function. This study aimed to investigate the effect of a high-intensity interval training (HIIT) regimen on the content of mitophagy-related proteins, including Parkin, PINK-1, and OPTN, in the visceral adipose tissue of rats with type 2 diabetes.

Materials and Methods: In this experimental study, 24 male rats were divided into three groups: healthy control (HC), diabetic control (DC), and diabetic + HIIT exercise (D+HIIT). Type 2 diabetes was induced in the rats through streptozotocin (STZ) injection combined with a high-fat diet (HFD). The exercise group underwent eight weeks of high-intensity interval training (HIIT). The intensity of the HIIT sessions was set at 85–90% of the rats' maximum running speed, while the low-intensity recovery intervals were performed at 50–60% of maximum speed. At the end of the HIIT intervention, visceral adipose tissue was extracted from each group, and the protein content of mitophagy markers, including Parkin, PINK-1, and OPTN, was measured using the Western blot technique.

Results: The results of this study showed that type 2 diabetes led to a significant reduction in the levels of PARKIN (33%), PINK-1 (41%), and OPTN (46%) in the DC group compared to the HC group ($p < 0.001$). However, in the D+HIIT group, HIIT exercise significantly increased these protein levels compared to the DC group, with PARKIN, PINK-1, and OPTN levels increasing by 117.91%, 103.39%, and 536.36%, respectively ($p < 0.001$). Additionally, HIIT exercise in the D+HIIT group resulted in a significant reduction in fasting glucose levels and the HOMA-IR index ($p < 0.001$).

Conclusion: The results of this study indicate that HIIT has significant effects on the restoration of mitophagy-related proteins and the improvement of metabolic indices in visceral adipose tissue in an animal model of type 2 diabetes. These findings highlight the importance of exercise, particularly HIIT, in enhancing mitochondrial function and promoting cellular processes. However, given the animal-based nature of this study, extrapolating the results to patients with type 2 diabetes requires further investigation in human studies.

Keywords: Type 2 Diabetes, Mitophagy, PARKIN, OPTN, HIIT

How to cite this article: Golpasandi H, Rahimi M R, Golpasandi Sh , Khosravi M. The Effects of a Period of High-Intensity Interval Training on the Content of Mitophagy Proteins in Visceral Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats Induced by High-Fat Diet +Streptozotocin. J Sport Exerc Physiol. 2025;18(3):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: r.rahimi@uok.ac.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2025.238528.1334>

Received: 26/01/2025

Revised: 06/03/2025

Accepted: 11/03/2025

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

نسخه
پیش
انتشار

اثرات تمرینات تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی در بافت چربی احشایی رت های مبتلا شده به دیابت نوع ۲

هادی گلپسندی^۱، محمد رحمان رحیمی^{۱*}، شادی گلپسندی^۲، مینا خسروی^۱

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲. گروه حرکت شناسی و مدیریت ورزشی، دانشگاه A&M، تگزاس، آمریکا

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک شایع است که با افزایش سطح گلوکز خون و اختلال در عملکرد میتوکندری همراه است. کاهش کارایی میتوکندری‌ها در این بیماری موجب کاهش فرآیند میتوفاژی می‌شود که خود به پیشرفت عوارض دیابت از جمله مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی کمک می‌کند. میتوفاژی، که فرآیند تجزیه و بازیافت میتوکندری‌های آسیب‌دیده را شامل می‌شود، برای حفظ سلامت سلولی ضروری است. پروتئین‌های Parkin، کیناز ۱ ناشی از PTEN (PINK-1) و اپتینورین (OPTN) از جمله مهم‌ترین مارکرهای این فرآیند هستند. بنابراین، یافتن راهکارهایی برای تقویت میتوفاژی در دیابت نوع ۲ می‌تواند به بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش عوارض این بیماری کمک کند. یکی از این راهکارها، تمرینات ورزشی است که تأثیرات مثبتی بر سلامت متابولیک و عملکرد میتوکندری دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر یک دوره تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی شامل Parkin، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی رت‌های الفاء شده به دیابت نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر رت نر به سه گروه تقسیم شدند: کنترل سالم (HC)، کنترل دیابتی (DC) و دیابتی + تمرین HIIT (D+HIIT) از طریق تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) همراه با رژیم غذایی پرچرب در رت‌ها القاء شد. گروه تمرینی به مدت ۸ هفته تحت تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) قرار گرفتند. شدت تمرینات HIIT بین ۸۵-۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن رت‌ها بود، در حالی که تناوب استراحتی با شدت کم (۵۰-۶۰٪) انجام می‌شد. در پایان دوره تمرین HIIT، بافت چربی احشایی از هر گروه استخراج شده و محتوای پروتئین‌های میتوفاژی شامل Parkin، PINK-1 و OPTN با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت نوع ۲ به کاهش معنادار سطوح پروتئین‌های PARKIN (۳۳٪)، PINK-1 (۴۱٪) و OPTN (۴۶٪) در گروه DC نسبت به گروه HC منجر شد ($p < 0.001$). با این حال، در گروه D+HIIT، تمرینات HIIT باعث افزایش معنادار این پروتئین‌ها نسبت به گروه DC گردید، به گونه‌ای که سطوح Parkin، PINK-1 و OPTN به ترتیب ۱۱۷/۹۱٪، ۱۰۳/۳۹٪ و ۵۳۶/۳۶٪ افزایش یافتند ($p < 0.001$). علاوه بر این، تمرینات HIIT در گروه D+HIIT منجر به کاهش معنادار سطح گلوکز ناشتا و شاخص HOMA-IR شد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تمرینات HIIT تأثیرات قابل توجهی بر بازسازی پروتئین‌های میتوفاژی و بهبود شاخص‌های متابولیکی در بافت چربی احشایی در مدل حیوانی دیابت نوع ۲ دارند. این یافته‌ها بر اهمیت تمرینات ورزشی، به ویژه HIIT، در بهبود عملکرد میتوکندری و افزایش فرآیندهای سلولی تأکید می‌کنند. با این حال، با توجه به ماهیت حیوانی این پژوهش، تعمیم نتایج به بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ نیازمند بررسی‌های بیشتری در مطالعات انسانی است.

کلمات کلیدی: دیابت نوع ۲، میتوفاژی، PARKIN، OPTN، HIIT.

نحوه استناد به این مقاله: گلپسندی، ر. رحیمی، م. ر.، گلپسندی، ش. خسروی، م. اثرات تمرینات تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی در بافت چربی احشایی رت‌های مبتلا شده به دیابت نوع ۲. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۴؛ ۱۸(۳): ۱-۹.

* رایانامه نویسنده مسئول: r.rahimi@uok.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۷ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۱

مقدمه

دیابت نوع ۲ (T2DM) یک اختلال متابولیک مزمن است که با هیپرگلیسمی مداوم، مقاومت به انسولین و متابولیسم چربی‌های نامنظم مشخص می‌شود (۱). افزایش شیوع T2DM بر نیاز فوری به درک مکانیسم‌های مولکولی زیربنایی آن و شناسایی مداخلات درمانی مؤثر تأکید کرده است (۲). یکی از جنبه‌های مهم پاتوفیزیولوژی T2DM شامل اختلال عملکرد میتوکندری و اختلال در مکانیسم‌های کنترل کیفیت سلولی، مانند میتوفاژی، در بافت‌های حساس به انسولین، از جمله بافت چربی است (۳). بافت چربی نقش اساسی در هموستاز انرژی و تنظیم متابولیک ایفا می‌کند و اختلال در عملکرد آن به طور قابل توجهی در شروع و پیشرفت T2DM نقش دارد (۴).

میتوفاژی، تخریب انتخابی میتوکندری‌های آسیب دیده یا ناکارآمد از طریق اتوفاژی، برای حفظ کیفیت میتوکندری و هموستاز سلولی ضروری است (۵). این فرآیند توسط پروتئین‌های کلیدی از جمله PINK1 کیناز ۱ ناشی از (PTEN)، پارکین لیگاز یوبی کوئیتین (E3) و اپتینورین (OPTN) تنظیم می‌شود که به طور مشترک تشخیص، برچسب‌گذاری و پاکسازی میتوکندری‌های آسیب دیده را هماهنگ می‌کنند (۶). در غشای خارجی میتوکندری (OMM) میتوکندری‌های آسیب دیده تجمع می‌یابند، جایی که پارکین برای تولید پروتئین‌های OMM فعال می‌شود. سپس، آداپتورهای مانند OPTN شناسایی میتوکندری‌های یوبی کوئیتین شده توسط اتوفاگوزوم‌ها را تسهیل کرده و منجر به تخریب آن‌ها در لیزوزوم‌ها می‌شوند (۷). اختلال در میتوفاژی در اختلالات متابولیک، از جمله دیابت نوع ۲ (T2DM)، که در آن پاکسازی میتوکندری‌های معیوب موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی می‌شود، نقش دارد (۳).

تمرین ورزشی یک مداخله غیردارویی شناخته شده برای بهبود سلامت متابولیک در افراد مبتلا به T2D است (۸). در میان روش‌های مختلف ورزشی، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به دلیل توانایی آن در به دست آوردن مزایای متابولیک عمیقی در یک بازه زمانی نسبتاً کوتاه توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است (۹). HIIT شامل دوره‌های متناوب ورزش شدید با تناوب استراحتی است که سیستم‌های انرژی هوازی و بی هوازی را به چالش می‌کشد (۱۰). شواهد نشان می‌دهد که HIIT بیونز میتوکندری، ظرفیت اکسیداتیو و حساسیت به انسولین را در عضلات اسکلتی و سایر بافت‌ها افزایش می‌دهد (۱۱، ۱۲). با این حال، اثرات آن بر میتوفاژی و کنترل کیفیت میتوکندری در بافت چربی، به ویژه در زمینه T2DM، ناشناخته باقی می‌ماند. نشان داده شده است که تمرینات تناوبی با شدت بالا با افزایش گردش میتوکندری آسیب دیده بر میتوفاژی تأثیر مثبت می‌گذارد و در نتیجه کیفیت و کارایی میتوکندری را بهبود می‌بخشد (۱۳). مطالعات نشان می‌دهند که HIIT می‌تواند پروتئین‌های کلیدی مرتبط با میتوفاژی مانند PINK1، Parkin و OPTN را تنظیم کند و حذف میتوکندری‌های ناکارآمد را تسهیل کند و هموستاز سلولی را ارتقا دهد (۱۳). این سازگاری‌ها به ویژه در بافت‌های فعال متابولیکی مفید هستند، جایی که اختلال عملکرد میتوکندری به مقاومت سیستمیک به انسولین و التهاب کمک می‌کند. با فعال کردن مسیرهای سیگنالی که اتوفاژی و میتوفاژی را تنظیم می‌کنند، HIIT نه تنها از نوسازی میتوکندری پشتیبانی می‌کند، بلکه استرس اکسیداتیو و اختلالات متابولیک را نیز کاهش می‌دهد، و بر پتانسیل آن به عنوان یک استراتژی درمانی برای شرایطی مانند T2DM تأکید می‌کند (۱۴).

تحقیقات نوظهور نشان می‌دهد که بهبودهای ناشی از ورزش در عملکرد میتوکندری ممکن است با تنظیم پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی انجام شود. اخیراً گزارش شده است که HIIT می‌تواند میتوفاژی را از طریق سیگنال دهی -Lactate-SIRT1-FOXO3 PINK1/Parkin در هیپوکامپ موش‌ها با T2D کاهش دهد که ممکن است خطر اختلالات حافظه را کاهش دهد (۱۵). در مطالعه دیگری، کاهش غیرمعنی داری در بیان برخی پروتئین‌های دخیل در میتوفاژی شامل PINK-1، PARKIN و BNIP3 و کاهش معنی‌دار NIX متعاقب هشت هفته تمرین HIIT در بافت کبد رت‌های دیابتی نوع ۲ گزارش شد (۱۴، ۱۶). مطالعات روی عضلات اسکلتی نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند بیان و فعالیت PINK1، پارکین و را تنظیم کند و باعث حذف میتوکندری‌های ناکارآمد و افزایش کارایی میتوکندری شود (۱۷). با توجه به نقش حیاتی بافت چربی در متابولیسم سیستمیک و حساسیت آن به اختلال عملکرد میتوکندری در T2DM، درک تأثیر HIIT بر میتوفاژی در این بافت از اهمیت خاصی برخوردار است.

مدل‌های جوندگان T2DM، مانند مدل‌هایی که با ترکیبی از رژیم غذایی پرچرب (HFD) و استرپتوزوتوسین (STZ) ایجاد می‌شوند، بینش‌های ارزشمندی را در مورد مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیکی زیربنایی این بیماری ارائه می‌دهند. این مدل‌ها از ویژگی‌های کلیدی T2DM انسانی، از جمله مقاومت به انسولین، هیپرگلیسمی و تغییر متابولیسم لیپید تقلید می‌کنند (۱۸). علاوه بر این، آنها به عنوان یک پلت فرم قوی برای بررسی اثرات مولکولی مداخلات درمانی، از جمله تمرین ورزشی، بر روی بافت‌های هدف عمل می‌کنند. با استفاده از چنین مدلی، محققان می‌توانند پیوندهای مکانیکی بین HIIT و تنظیم میتوفاژی در بافت چربی را ارزیابی کنند.

اگرچه مطالعات پیشین تأثیر HIIT بر عملکرد میتوکندری و تنظیم میتوفاژی را در برخی بافت‌ها مانند عضله اسکلتی و کبد بررسی کرده‌اند، اما شواهد کافی در مورد نقش این تمرین در تنظیم پروتئین‌های کلیدی میتوفاژی در بافت چربی احشایی، به‌ویژه در دیابت نوع ۲، وجود ندارد. از آنجایی که بافت چربی احشایی یک تنظیم‌کننده مهم در متابولیسم سیستمیک است و اختلال عملکرد آن در دیابت نوع ۲ نقش اساسی دارد، بررسی دقیق سازوکارهای مرتبط با کنترل کیفیت میتوکندری در این بافت، به‌ویژه از طریق تمرینات ورزشی، ضروری است. یکی از مهم‌ترین نوآوری‌های این مطالعه بررسی نقش OPTN در کنار PINK1 و PARKIN در تنظیم فرآیند میتوفاژی در بافت چربی احشایی است. بیشتر مطالعات پیشین بر نقش این پروتئین‌ها در سایر بافت‌ها متمرکز بوده‌اند و نقش OPTN در این زمینه تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است. بنابراین، این مطالعه با بررسی اثر HIIT بر تنظیم پروتئین OPTN و ارتباط آن با مکانیسم‌های میتوفاژی در بافت چربی احشایی، می‌تواند درک جدیدی از فرآیندهای تنظیمی کنترل کیفیت میتوکندری در دیابت نوع ۲ ارائه دهد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه می‌توانند بینش جدیدی در مورد نقش ورزش به‌عنوان یک مداخله غیر دارویی مؤثر در بهبود عملکرد میتوکندری و تنظیم فرآیندهای سلولی در دیابت نوع ۲ فراهم کنند. این یافته‌ها نه تنها می‌توانند مسیر تحقیقات آینده را در زمینه میتوفاژی و ورزش هموار کنند، بلکه ممکن است پیشنهادهای عملی برای بهینه‌سازی تمرینات ورزشی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ ارائه دهند.

روش پژوهش

برای بررسی تأثیر یک دوره تمرین HIIT بر پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی در بافت چربی، از یک طرح آزمایشی کنترل‌شده با استفاده از مدل موش T2DM استفاده شد. این روش به گونه‌ای ساختار یافته بود که به طور جامع به اهداف تحقیق پرداخته و در عین حال تکرارپذیری و دقت علمی را تضمین می‌کرد (۲۰، ۱۹). پژوهش حاضر پس از بررسی کارگروه اخلاق در پژوهش معاونت پژوهش دانشگاه کردستان با کد IR.UOK.1400.01 به تصویب رسید.

نمونه های پژوهش: در این مطالعه از موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۸ تا ۱۰ هفته، با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد که از یک مرکز حیوانات دارای مجوز تهیه شده بودند. تمام روش های آزمایشی به دنبال دستورالعمل های اخلاقی تایید شده توسط راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات (Arrive) انجام شد. برای القای دیابت ۲، موش ها تحت یک رژیم غذایی پرچرب (HFD)، ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین به مدت چهار هفته قرار گرفتند (۲۱) و به دنبال آن یک تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ)، (Sigma-Aldrich)، کد: S۰۱۳۰، شرکت Merck آلمان)، به مقدار ۳۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن در محلول بافر سیترات pH=۴/۵ انجام شد (۲۲). پس از تزریق STZ، سطح گلوکز خون ناشتا با استفاده از گلوکومتر (برند Accua-check performa، کشور سوئیس، کد نامبر: ۱۵۱۹۷، دقت بالا) اندازه گیری شد. موش هایی که سطح گلوکز ناشتا بالای ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر داشتند، دیابتی در نظر گرفته شدند و وارد مطالعه شدند.

روش اجرای پژوهش: موش ها به طور تصادفی به سه گروه (هر گروه: ۸ رت)، (۱) گروه کنترل سالم، (۲) گروه کنترل دیابت و (۳) دیابت+تمرین HIIT تقسیم بندی شدند. رت های گروه های کنترل سالم و دیابت در طول هشت هفته، تحت مداخله تمرین ورزشی قرار نگرفتند، در حالی که گروه دیابت+تمرین HIIT به مدت هشت هفته، هفته ای ۵ جلسه با شدت محاسبه شده برحسب تست حداکثر سرعت دویدن روی تردمیل حیوانی (مدل ۳۲۵۸۸، شرکت برج صنعت آزما، ساخت کشور ایران) تعیین گردید. آزمون تعیین حداکثر سرعت دویدن شامل ۱۰ مرحله (هر مرحله ۳ دقیقه) است که با سرعت ۵ متر بر دقیقه با شیب صفر شروع می شود. سپس سرعت در هر مرحله ۵ متر بر دقیقه تا نقطه فرسودگی افزایش یافت. سرعت به دست آمده در آخرین نقطه تکمیل شده به عنوان زمان واماندگی واقعی رت ها^۱ (TTE) معادل حداکثر سرعت دویدن (V_{max}) بصورت دقیقه/ثانیه محاسبه گردید (۲۳). این تست در دو مرحله پیش آزمون (قبل از شروع دوره هشت هفته مداخلات تمرین HIIT) و پس آزمون (پس از شروع دوره هشت هفته مداخلات تمرین HIIT) اجرا شد. بدنه اصلی پروتکل تمرین HIIT شامل ۴ دقیقه دویدن با ۸۵-۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن و ۳ دقیقه دویدن با ۵۰-۶۰٪ حداکثر سرعت دویدن بود که هفت بار تکرار شد (در مجموع ۴۹ دقیقه تمرین). قبل و پس از جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با ۴۰٪ حداکثر سرعت دویدن اجرا شد (۱۳، ۲۴).

روش های آزمایشگاهی: ۴۸ ساعت پس از جلسه HIIT، موش ها با استفاده از کتامین فارما ۱۰ درصد، شرکت برمر کشور آلمان، (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین شرکت سیگما، با کد X۱۱۲۶، ساخت کشور آمریکا، (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. نمونه های بافت چربی احشایی به سرعت برداشته شدند، در سالیین سرد یخ شسته شدند، در نیتروژن مایع منجمد شدند و برای آنالیزهای بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

آنالیز پروتئین های Parkin، PINK-1 و OPTN از طریق وسترن بلات: پس از جداسازی، نمونه های بافت چربی احشایی بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آزمایش ها در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای استخراج پروتئین، بافت ها در بافر لیز RIPA (Sigma-Aldrich, USA) حاوی مهارکننده های پروتئاز و فسفاتاز (Roche, Switzerland) به کمک هموژنایزر مکانیکی لیز شدند. این فرآیند بر روی یخ انجام شد تا از تخریب پروتئین ها جلوگیری شود. سپس، نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد و با سرعت ۱۴۰۰۰ g × به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت جمع آوری شد (۲۵).

غلظت پروتئین کل با استفاده از روش برادفورد (Bradford Assay) و کیت Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, USA) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه گیری شد. مقادیر جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Thermo Fisher)

¹ . Time To Exhaustion.

(Sigma-Aldrich, USA) ثابت گردید. سپس، نمونه‌های پروتئینی با بافر نمونه Laemmli و ۵٪ بتا-مرکاپتواتانول (Sigma-Aldrich, USA) ترکیب شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد دناتوره شدند (۲۵).

برای الکتروفورز، ۳۰ میکروگرم از پروتئین کل بر روی ژل SDS-PAGE (۱۲٪ پلی‌آکریل‌آمید) بارگذاری شد. پس از جداسازی، پروتئین‌ها به غشای پلی‌وینیلیدن‌دی‌فلوراید (Millipore, Germany) (PVDF) با استفاده از سیستم انتقال نیمه‌خشک (Bio-Rad Trans-Blot Turbo System) در ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه منتقل شدند (۲۵).

برای جلوگیری از اتصال غیراختصاصی آنتی‌بادی‌ها، غشاهای ۵٪ شیر بدون چربی در بافر TBST (Tris-buffered saline + Tween-20) ۰.۱٪ به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق مسدود شدند. سپس، غشاهای به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آنتی‌بادی‌های اولیه اختصاصی زیر (PINK1 (Abcam, D8G3, #6946 dilution 1:1000), Parkin (Cell Signaling Technology, #4211, dilution 1:1000), OPTN (Novus Biologicals, NBP1-83047, dilution 1:1000) و β -اکتین، به عنوان کنترل بارگذاری (Sigma-Aldrich, A5441, dilution 1:5000) انکوبه شدند (۲۵). پس از شستشو با TBST، غشاهای با آنتی‌بادی‌های ثانویه کونژوگه با HRP (Jackson ImmunoResearch, رقت ۱:۵۰۰۰ (به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند).

سیگنال‌های پروتئینی با استفاده از معرف نورتابی شیمیایی (ECL, Thermo Fisher Scientific, USA) و دستگاه تصویربرداری بیولومینسانس (ChemiDoc MP Imaging System, Bio-Rad, USA) آشکارسازی شدند. سپس، شدت باندها با استفاده از نرم‌افزار ImageJ (NIH, USA) تجزیه و تحلیل شده و نسبت پروتئین‌های هدف به β -اکتین برای نرمال‌سازی داده‌ها محاسبه گردید (۲۵).

تحلیل آماری: داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار از طریق نمودار ارائه شد. تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه‌های چندگانه بصورت اختلاف میانگین مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های مربوط به وزن و کنترل گلاسیمیک در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. مشخصات وزن و شاخص‌های گلاسیمیک رت‌ها

گروه D+HIIT	گروه DC	گروه HC	
$271.6 \pm 12.63^{\$}$	368.8 ± 12.70	377.4 ± 14.15	وزن (گرم)
$12.70 \pm 2.41^{\$}$	$20.93 \pm 3.18^{*}$	4.42 ± 1.02	گلوکز (میلی‌مول / لیتر)
$3.18 \pm 1.35^{\$}$	$5.53 \pm 1.03^{*}$	2.63 ± 0.84	انسولین (میلی‌مول / لیتر)
$1.86 \pm 0.68^{\$}$	$5.22 \pm 1.32^{*}$	0.59 ± 0.16	HOMA-IR

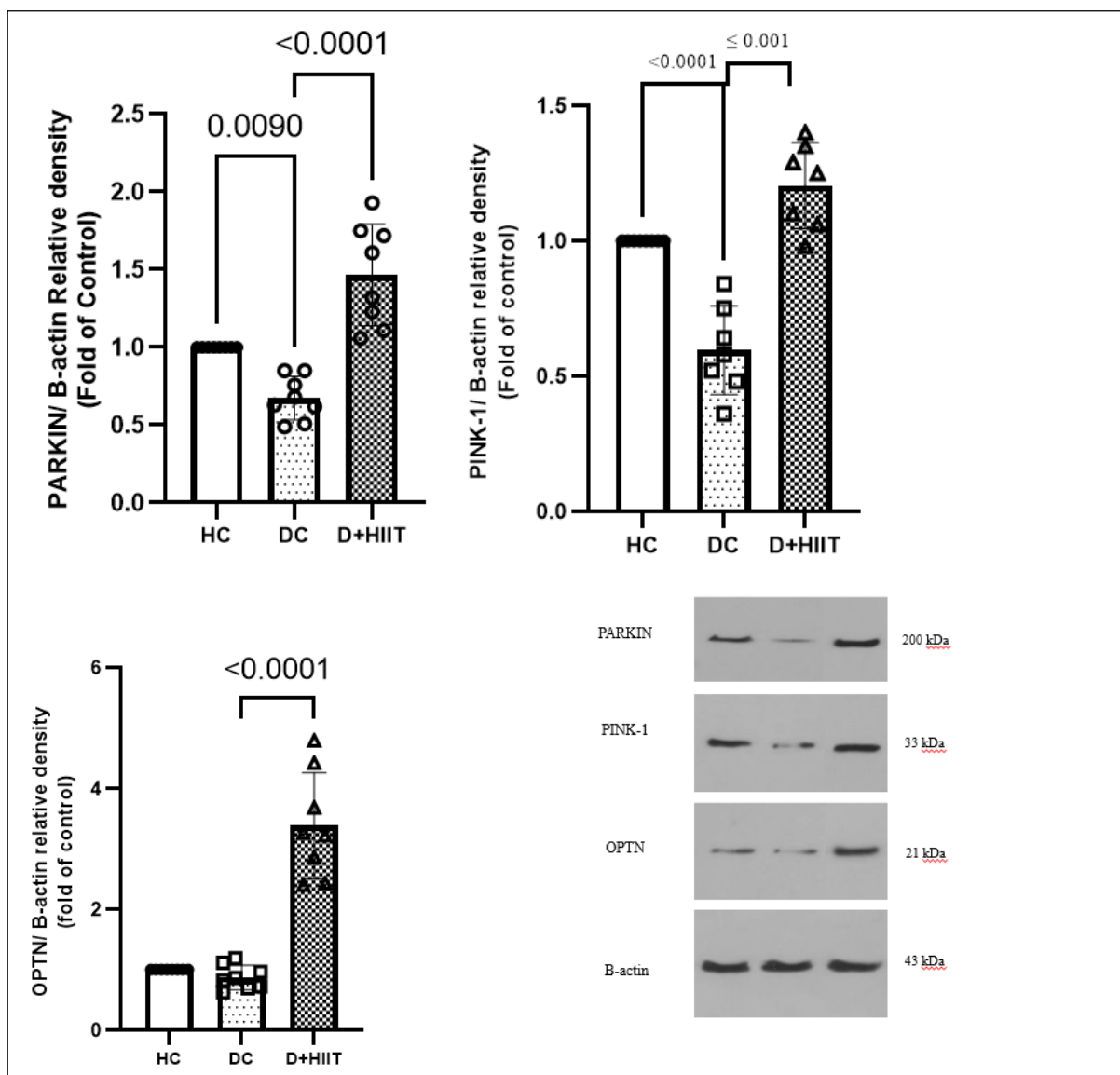
($p < 0.05$).

(*): معنی‌داری نسبت به گروه HC.

(\\$): معنی‌داری نسبت به گروه DC.

نتایج آزمون آنوآ نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین وزن گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=159/1$ ، $p<0/001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های HC و DC وجود نداشت ($p>0/37$). در حالی که در گروه D+HIIT بطور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود ($-26/36\%$ ، $p<0/001$).

نتایج مربوط به سطوح سرمی گلوکز نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ($F=359/9$ ، $p<0/001$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که میانگین سطوح گلوکز ناشتا در گروه DC بطور معناداری بالاتر از گروه HC بود ($373/53\%$ ، $p<0/001$). در حالی که در گروه D+HIIT بطور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود ($-39/32\%$ ، $p<0/001$). نتایج تحلیل آنوآ مربوط به شاخص HOMA-IR نیز نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد ($F=192/4$ ، $p<0/001$). میانگین شاخص HOMA-IR در گروه DC بطور معناداری بالاتر از گروه HC بود ($p<0/001$). در حالی که در گروه D+HIIT بطور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود ($-79/07\%$ ، $p<0/001$).



شکل ۲. میانگین محتوای پروتئین‌های PARKIN، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی، HC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابت، D+HIIT: دیابت+تمرینات اینتروال با شدت بالا. (تعداد هر گروه = ۸ رت).

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) نشان داد که میزان پروتئین PARKIN بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دارد ($F=3.0/12$, $p<0.01$, $\eta^2=0.73$). تحلیل مقایسه زوجی نشان داد که میزان پروتئین PARKIN در گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معنی‌داری ۳۳٪ کمتر از گروه سالم کنترل (HC) بود ($MD=-0.32$, $p<0.009$), که نشان‌دهنده کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت است. در مقابل، میزان این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT) به‌طور معنی‌داری ۱۱۷,۹۱٪ بیشتر از گروه

DC بود ($p < 0.001$, $MD = 0.79$)، که حاکی از اثر مثبت این نوع تمرین بر افزایش سطح پروتئین PARKIN در بافت چربی احشایی است (شکل ۲. A).

نتایج تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که میزان پروتئین PINK-1 بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دارد ($F = 41.11$, $p < 0.001$). مقایسه زوجی نشان داد که میزان پروتئین PINK-1 در گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معنی‌داری ۴۱٪ کمتر از گروه سالم کنترل (HC) بود ($p < 0.001$, $MD = 0.40$)، که بیانگر کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت است. در مقابل، میزان این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT) به‌طور معنی‌داری ۱۰۳،۳۹٪ بیشتر از گروه DC بود ($p < 0.001$ ، $MD = 0.60$)، که نشان‌دهنده اثر مثبت این نوع تمرین در بازیابی سطح پروتئین PINK-1 در بافت چربی احشایی است.

نتایج تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) نشان داد که میزان پروتئین OPTN بین گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دارد ($F = 41.11$, $p < 0.001$). مقایسه زوجی نشان داد که میزان پروتئین OPTN در گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معنی‌داری ۴۱٪ کمتر از گروه سالم کنترل (HC) بود ($p < 0.001$, $MD = 0.40$)، که نشان‌دهنده کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت نوع ۲ است. در مقابل، میزان این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT) به‌طور معنی‌داری ۵۳۶،۳۶٪ بیشتر از گروه DC بود ($p < 0.001$ ، $MD = 2.36$)، که بیانگر اثر مثبت این تمرین در بازیابی سطح پروتئین OPTN در بافت چربی احشایی است.

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات یک دوره تمرینات تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی (Parkin, Pink-1, OPTN) در بافت چربی احشایی رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ از طریق استرپتوزوتوسین+ رژیم غذایی پرچرب انجام شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت نوع ۲ باعث کاهش پروتئین‌های میتوفاژی Parkin, Pink-1, OPTN و بافت چربی احشایی رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ گردید. نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات لی و همکاران (۲۰۲۴) (۲۶)، خسروی و همکاران (۱۵)، گلپسندی و همکاران (۲۰۲۴) (۱۳) همسو بود. آنها در مطالعات خود نشان دادند که T2D باعث کاهش میتوفاژی از طریق کاهش محتوای پروتئینی PINK-1, PARKIN می‌گردد. این را می‌توان به مکانیسم‌های مرتبط متعدد تحت تأثیر پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲، مدل دیابتی تجربی (STZ + HFD) و نقش میتوفاژی در سلامت متابولیک نسبت داد (۳). دیابت نوع ۲ با هیپرگلیسمی مزمن و مقاومت به انسولین مرتبط است که عملکرد میتوکندری را در بافت چربی مختل می‌کند (۲۷). این می‌تواند بدلیل تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در میتوکندری باشد که به اجزای میتوکندری آسیب می‌رساند و توانایی آنها برای حفظ هموستاز را مختل می‌کند (۲۸). هنگامی که آسیب میتوکندری بر مکانیسم‌های ترمیم غلبه می‌کند، میتوفاژی مختل می‌شود و احتمالاً منجر به کاهش پروتئین‌هایی مانند PARKIN و PINK1 می‌شود (۲۹). از طرفی، اغلب باعث ایجاد یک حالت التهابی با درجه پایین در بافت چربی می‌شود که با سطوح بالا سیتوکین‌هایی مانند TNF- α و IL-6 مشخص می‌شود (۲۷). مسیرهای سیگنالینگ التهابی، به ویژه از طریق NF- κ B، می‌توانند بیان اتوفاژی و پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی را سرکوب کنند و عملکرد آنها را کاهش دهند (۳۰). مقاومت به انسولین به عنوان یکی از مشخصه‌های ویژه T2D، در سلول‌های چربی مانع جذب گلوکز و متابولیسم میتوکندری می‌شود. از طرفی، اختلال در سیگنال دهی انسولین ممکن است مسیرهایی مانند

² . Reactive oxygen species.

فعال سازی AMPK را که برای حفظ میتوفاژی و تعادل انرژی در سلول ها حیاتی است، مختل کند (۲۷). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد که شاخص IR نسبت به گروه HC ۹۷,۵٪ بالاتر بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین HIIT باعث تقویت میتوفاژی از طریق PARKIN، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی رت های T2D گردید. این نتایج با نتایج مطالعات لی و همکاران (۲۰۲۴) (۲۶) همسو بود. آنها در مطالعه خود نشان دادند که هر دو نوع تمرین HIIT و MICT باعث تقویت میتوفاژی کبد (افزایش PARKIN و PINK-1) در رت های چاق تحت رژیم غذایی HFD شدند (۲۶). در مطالعه دیگری نیز گزارش شد که ۱۲ هفته تمرین HIIT باعث تقویت میتوفاژی از طریق افزایش محتوای PARKIN در مردان بزرگسال گردید (۳۱). همچنین گزارش شد که ۸ هفته تمرینات HIIT باعث افزایش سطوح PARKIN و PINK-1 در هیپوکامپ رت های T2D گردید (۲۶). نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر همسو بود. با این وجود، یافته های ما با یافته های پژوهشی که اثر هشت هفته تمرین HIIT بر بیان پروتئین های میتوفاژی شامل PARKIN، PINK-1 در بافت کبد رت های دیابتی نوع ۲ را بررسی کردند، ناهمسو بود. پژوهشگران کاهش غیرمعنی داری بیان پروتئین های مذکور را متعاقب هشت هفته تمرین HIIT در بافت کبد رت های دیابتی نوع ۲ گزارش شد (۱۶). از دلایل ناهمسوایی می توان به تفاوت در نوع بافت مورد بررسی، پروتکل رژیم غذایی پرچرب (۲ هفته در مقابل ۴ هفته)، تفاوت در روش اندازه گیری (وسترن بلات در مقابل Real time PCR) و تفاوت در مکانیسم های تنظیم میتوفاژی در بافت چربی احشایی و بافت کبدی اشاره کرد. افزایش چشمگیر سطح PARKIN، PINK-1 و OPTN در گروه D+HIIT نشان دهنده نقش کلیدی این نوع تمرین در بازیابی و تقویت مسیرهای میتوفاژی است که ممکن است به بهبود عملکرد متابولیکی بافت چربی احشایی کمک کند. همچنین ممکن است که بدلیل اثر بازسازی کننده این نوع تمرینات بر سیستم میتوکندریایی سلول ها را نشان می دهد. این امر می تواند با کاهش تنش اکسیداتیو و التهابی در بافت چربی احشایی مرتبط باشد. تمرینات HIIT احتمالاً از طریق افزایش استرس مکانیکی و متابولیکی، سیگنال هایی را فعال می کند که به افزایش بیان PINK-1 منجر می شوند. تمرین HIIT با فعال سازی مسیرهای مربوط به PINK-1 و Parkin، فرایند حذف میتوکندری های آسیب دیده را تسریع می کند. این امر به بازسازی و حفظ عملکرد مطلوب میتوکندری کمک می کند (۳۲). از طرفی، تمرینات HIIT از طریق بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش تجمع میتوکندری های ناکارآمد، به کاهش تولید ROS ها کمک می کند (۱۵). با کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندری، سطح عوامل التهابی کاهش می یابد که این می تواند به بهبود وضعیت التهابی در بافت چربی احشایی منجر می شود.

کاهش معنادار پروتئین OPTN در گروه DC به طور مشابه حاکی از اختلال در مسیرهای میتوفاژی و سیستم های بازیافت سلولی در اثر دیابت نوع ۲ است. در حالی که افزایش چشمگیر این پروتئین در گروه D+HIIT نشان داد که تمرینات تناوبی با شدت بالا قادر است به طور موثری این مسیرها را بازسازی کرده و تعادل سلولی را بهبود بخشد. پروتئین OPTN یکی از اجزای مهم در مسیرهای تنظیمی میتوفاژی و سیستم های بازیافت سلولی است. این پروتئین در شناسایی و حذف میتوکندری های آسیب دیده نقش اساسی ایفا می کند و با فرایندهایی مانند پاکسازی سلولی و حفظ تعادل هموستازی مرتبط است (۳۳). در دیابت نوع ۲، کاهش سطح پروتئین OPTN نشان دهنده اختلال جدی در این مسیرهای حیاتی است که به مشکلات گسترده ای در عملکرد سلولی منجر می شود (۳۴). این احتمال وجود دارد که تمرینات HIIT از طریق فعال سازی مسیرهای AMPK و PGC-1 α به عنوان تنظیم کننده های اصلی انرژی و میتوکندری، در بهبود عملکرد میتوکندری و افزایش بیان OPTN نقش داشته است (۳۵، ۳۶). همچنین این می تواند از طریق کاهش التهاب سیستمیک از طریق HIIT قابل توجه باشد. بطوری که HIIT از طریق کاهش استرس متابولیکی و اکسیداتیو، سیگنال های التهابی را مهار کرده و شرایط مناسبی برای بازسازی مسیرهای میتوفاژی ایجاد می کند (۱۹).

افزایش سطوح PINK-1، PARKIN و OPTN در بافت چربی احشایی رت‌های دیابتی نوع ۲ ارتباط تنگاتنگی با شاخص‌های مرتبط با سلامت متابولیکی از جمله شاخص IR و سطوح گلوکز دارد. افزایش بیان این پروتئین‌ها پس از تمرین HIIT نشان‌دهنده بازگشت عملکرد میتوکندری به حالت طبیعی است. این بهبود می‌تواند اثرات گسترده‌ای در سطح سلولی و بافتی از جمله بر بهبود حساسیت به انسولین و کاهش سطح گلوکز خون داشته باشد.

ارتباط بین افزایش پروتئین‌های میتوفاژی و بهبود پارامترهای سطوح گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین عمدتاً از طریق نقش میتوفاژی در حفظ سلامت میتوکندری‌ها و تنظیم فرآیندهای متابولیکی توضیح داده می‌شود (۳۷). میتوفاژی، فرآیند حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده، به عنوان یک مکانیسم کلیدی در جلوگیری از تجمع ROS و حفظ تعادل انرژی سلولی عمل می‌کند (۳۸). در شرایطی مانند دیابت نوع ۲، عملکرد نامناسب میتوکندری و کاهش میتوفاژی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در مسیرهای متابولیکی مرتبط با تنظیم گلوکز می‌شود (۳). افزایش پروتئین‌های میتوفاژی نظیر PARKIN، PINK1 و OPTN در اثر مداخله تمرین HIIT باعث بهبود عملکرد میتوکندری‌ها و کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود. این بهبود در عملکرد میتوکندری، حساسیت سلول‌ها به انسولین را افزایش داده و جذب گلوکز در بافت‌های محیطی مانند بافت چربی احشایی را تسهیل می‌کند (۱۹). در نتیجه، شاخص مقاومت به انسولین کاهش یافته و سطح گلوکز خون به وضعیت طبیعی نزدیک می‌شود. بنابراین، افزایش فعالیت میتوفاژی به عنوان یک مکانیزم بالقوه برای مقابله با اختلالات متابولیکی نظیر مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ محسوب می‌شود.

پژوهش حاضر با وجود ارائه نتایج ارزشمند، دارای برخی محدودیت‌ها است که باید در تفسیر یافته‌ها در نظر گرفته شود. یکی از محدودیت‌های اصلی این مطالعه، انجام آزمایش بر روی مدل حیوانی (رت‌های دیابتی) است که ممکن است یافته‌های آن مستقیماً به انسان‌ها تعمیم‌پذیر نباشد. علاوه بر این، اندازه نمونه نسبتاً کوچک ممکن است دقت یافته‌ها را کاهش دهد و پیشنهاد می‌شود که مطالعات آتی با حجم نمونه بیشتر انجام شوند. از دیگر محدودیت‌های این پژوهش، تمرکز بر روی یک نوع تمرین (HIIT) و بررسی تنها چند شاخص میتوفاژی است. بررسی انواع دیگر تمرینات ورزشی (مانند تمرینات هوازی مداوم یا مقاومتی) و ارزیابی سایر مسیرهای مولکولی مرتبط می‌تواند در مطالعات آینده مدنظر قرار گیرد. همچنین، مدت زمان مداخله (۸ هفته) ممکن است برای بررسی تغییرات بلندمدت در میتوفاژی کافی نباشد و مطالعاتی با دوره‌های طولانی‌تر می‌توانند اطلاعات دقیق‌تری ارائه دهند. علاوه بر این، استفاده از روش‌های مکمل مانند بررسی فعالیت آنزیم‌های مرتبط با میتوفاژی یا تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی می‌تواند تصویر جامع‌تری از تأثیرات تمرینات HIIT بر میتوفاژی ارائه دهد. یکی دیگر از محدودیت‌های این مطالعه استفاده از رت‌های ویستار به جای موش‌های C57BL/6 است، زیرا موش‌های C57BL/6 حساسیت بیشتری به اختلالات متابولیکی مانند دیابت و چاقی دارند و می‌توانند مدل دقیق‌تری برای بررسی این بیماری‌ها باشند؛ بنابراین، این انتخاب ممکن است بر تعمیم‌پذیری نتایج تأثیر بگذارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که دیابت نوع ۲ با کاهش معنادار سطوح پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی، شامل PINK-1 و OPTN، در بافت چربی احشایی همراه است. این کاهش به اختلال در تعادل میتوکندریایی و عملکرد متابولیکی مرتبط است. با این حال، تمرینات HIIT تأثیر قابل توجهی در بهبود این اختلالات نشان داد، به طوری که سطوح این پروتئین‌ها در گروه D+HIIT به طور معناداری نسبت به گروه DC افزایش یافت. همچنین، این تمرینات موجب کاهش معنادار وزن، سطح گلوکز ناشتا و شاخص HOMA-IR در گروه D+HIIT در مقایسه با گروه DC شد. این نتایج نشان‌دهنده اثر مثبت تمرینات HIIT در بازیابی پروتئین‌های میتوفاژی، بهبود تعادل میتوکندریایی و کاهش اختلالات متابولیکی ناشی از دیابت نوع ۲ است. از این رو، تمرینات HIIT می‌توانند به عنوان یک مداخله مؤثر در کنترل دیابت نوع ۲ و بهبود وضعیت متابولیکی پیشنهاد شوند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با کد اخلاقی IR.UOK.1400.01 مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه کردستان قرار گرفت. نویسندگان این پژوهش از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه کردستان جهت تصویب طرح پژوهشی حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

حمایت مالی

پژوهش حاضر هیچ گونه حمایت مالی از هیچ موسسه خاصی را دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع

1. Lima JE, Moreira NC, Sakamoto-Hojo ET. Mechanisms underlying the pathophysiology of type 2 diabetes: From risk factors to oxidative stress, metabolic dysfunction, and hyperglycemia. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2022;874:503437, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2021.503437>
2. Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2020;2020(1):8609213, Doi: <https://doi.org/10.1155/2020/8609213>
3. Apostolova N, Vezza T, Muntane J, Rocha M, Victor VM. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in type 2 diabetes: pathophysiology and therapeutic targets. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2023;39(4-6):278-320, Doi: <https://doi.org/10.1089/ars.2022.0016>
4. Tang S, Hao D, Ma W, Liu L, Gao J, Yao P, Yu H, Gan L, Cao Y. Dysfunctional mitochondria clearance in situ: mitophagy in obesity and diabetes-associated cardiometabolic diseases. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2024 Feb 15;48(4):503-17, Doi: <https://doi.org/10.4093/dmj.2023.0213>
5. Picca A, Faltg J, Auwerx J, Ferrucci L, D'Amico D. Mitophagy in human health, ageing and disease. *Nature Metabolism*. 2023;5(12):2047-61, Doi: <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00930-8>
6. Nguyen TN, Sawa-Makarska J, Khuu G, Lam WK, Adriaenssens E, Fracchiolla D, Shoebridge S, Bernklau D, Padman BS, Skulsupaisarn M, Lindblom RS. Unconventional initiation of PINK1/Parkin mitophagy by Optineurin. *Molecular cell*. 2023 May 18;83(10):1693-709, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.04.021>
7. Wang Y. TOMM7 Alleviates Diabetic Kidney Disease by Regulating PINK1/Parkin-Mediated Mitophagy via Intracellular Redistribution of PLA2G6: FR-PO277. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2024;35(10S):10.1681, Doi: 10.1681/ASN.2024m1pbgalz
8. Liu J, Yao C, Wang Y, Zhao J, Luo H. Non-drug interventions of traditional Chinese medicine in preventing type 2 diabetes: a review. *Chinese Medicine*. 2023;18(1):151, Doi: <https://doi.org/10.1186/s13020-023-00854-1>
9. Santos A, Braaten K, MacPherson M, Vasconcellos D, Vis-Dunbar M, Lonsdale C, Lubans D, Jung ME. Rates of compliance and adherence to high-intensity interval training: a systematic review and Meta-analyses. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*. 2023 Nov 21;20(1):134, Doi: <https://doi.org/10.1186/s12966-023-01535-w>
10. Coates AM, Joyner MJ, Little JP, Jones AM, Gibala MJ. A perspective on high-intensity interval training for performance and health. *Sports Medicine*. 2023;53(Suppl 1):85-96, Doi: <https://doi.org/10.1007/s40279-023-01938-6>
11. Batterson PM, McGowan EM, Stierwalt HD, Ehrlicher SE, Newsom SA, Robinson MM. Two weeks of high-intensity interval training increases skeletal muscle mitochondrial respiration via complex-specific remodeling in sedentary humans. *Journal of applied physiology*. 2023;134(2):339-55, Doi: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00467.2022>
12. Golpasasndi S, Abdollahpour S, Golpasandi H. High-intensity interval training combined with saffron supplementation modulates stress-inflammatory markers in obese women with type 2 diabetes. *Research in Exercise Nutrition*. 2022;1(1):55-61, [In Persian], Doi: 10.34785/J019.2022.002

13. Golpasandi H, Rahimi MR. The combined effect of high-intensity interval training along with vitamin D3 supplementation on mitophagy factors in heart tissue of rats induced to type II diabetes. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2024 [In Persian], Doi: 10.22077/jpsbs.2024.8078.1907
14. Farajpour Khazaei S, Sari Sarraf V. Effect of eight weeks of high-intensity interval training on some indices of liver mitophagy in type 2 diabetic rats. *Yafteh*. 2023;25(1), Doi: <http://eprints.lums.ac.ir/id/eprint/4329>
15. Khosravi P, Shahidi F, Eskandari A, Khoramipour K. High-intensity interval training reduces Tau and beta-amyloid accumulation by improving lactate-dependent mitophagy in rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2024;27(11):1430, Doi: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2024.77038.16664>
16. Vakili J, Sari-Sarraf V, Farajpour Khazaei S. Effects of eight weeks of high-intensity interval training on the expression of Pink1 and Parkin proteins in the liver tissue of type 2 diabetic male rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2023 Nov 22;16(3):101-9, Doi: <https://doi.org/10.48308/joeppa.2023.103909>
17. Moustafa Mahmoud M, Abdel Hameed NQ, Adel Al Dreny Abd Al Latif B, Samir Kamar S, Ahmed Rashed L, Abdelhameed Gouda SA. High-intensity exercise alongside insulin alleviates muscle atrophy in type 1 diabetes mellitus concomitant with modulation of mitophagy-related proteins in skeletal muscle. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2024;1-13, Doi: <https://doi.org/10.1080/13813455.2024.2410791>
18. Andonova M, Dzhelebov P, Trifonova K, Yonkova P, Kostadinov N, Nancheva K, Ivanov V, Gospodinova K, Nizamov N, Tsachev I, Chernev C. Metabolic markers associated with progression of type 2 diabetes induced by high-fat diet and single low dose streptozotocin in rats. *Veterinary Sciences*. 2023 Jul 2;10(7):431, Doi: <https://doi.org/10.3390/vetsci10070431>
19. Mahatme S, Vaishali K, Kumar N, Rao V, Kovala RK, Sinha MK. Impact of high-intensity interval training on cardio-metabolic health outcomes and mitochondrial function in older adults: a review. *Medicine and Pharmacy Reports*. 2022;95(2):115, Doi: <https://doi.org/10.15386/mpr-2201>
20. Al-Awar A, Kupai K, Veszeka M, Szűcs G, Attieh Z, Murlasits Z, Török S, Pósa A, Varga C. Experimental diabetes mellitus in different animal models. *Journal of diabetes research*. 2016;2016(1):9051426, Doi: <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
21. Ali TM, Abo-Salem OM, El Esawy BH, El Askary A. The potential protective effects of diosmin on streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2020;359(1):32-41, Doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2019.10.005>
22. Guo X-x, Wang Y, Wang K, Ji B-p, Zhou F. Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2018;19(7):559, Doi: <https://doi.org/10.1631/jzus.B1700254>
23. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of Applied Physiology*. 1979;47(6):1278-83, Doi: <https://doi.org/10.1152/jappl.1979.47.6.1278>
24. Golpasandi H, Rahimi MR. The Effect of High-Intensity Interval Training along with Vitamin D3 Injection on Inflammation Caused by Excessive Autophagy in Heart Tissue of Type 2 Diabetic Rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2024;- [In Persian], Doi: <https://doi.org/10.22049/jahssp.2024.29952.1679>
25. Hirano S. Western blot analysis. *Nanotoxicity: methods and protocols*. 2012:87-97.
26. Li X, Yang JY, Hu WZ, Ruan Y, Chen HY, Zhang Q, Zhang Z, Ding ZS. Mitochondria-associated membranes contribution to exercise-mediated alleviation of hepatic insulin resistance: Contrasting high-intensity interval training with moderate-intensity continuous training in a high-fat diet mouse model. *Journal of Diabetes*. 2024 Apr;16(4):e13540, Doi: <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13540>
27. Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C, Beguinot F. Chronic adipose tissue inflammation linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Frontiers in physiology*. 2020 Jan 29;10:1607, Doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01607>
28. Paglialunga S, Ludzki A, Root-McCaig J, Holloway GP. In adipose tissue, increased mitochondrial emission of reactive oxygen species is important for short-term high-fat diet-induced insulin resistance in mice. *Diabetologia*. 2015;58:1071-80, Doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3531-x>
29. Gonzalez-Franquesa A, Patti M-E. Insulin resistance and mitochondrial dysfunction. *Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Medicine*. 2017:465-520, Doi: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-55330-6_25
30. Wang Y, Wang J, Tao SY, Liang Z, Xie R, Liu NN, Deng R, Zhang Y, Deng D, Jiang G. Mitochondrial damage-associated molecular patterns: A new insight into metabolic inflammation in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. 2024 Feb;40(2):e3733, Doi: <https://doi.org/10.1002/dmrr.3733>
31. Youssef L, Granet J, Marcangeli V, Dulac M, Hajj-Boutros G, Reynaud O, Buckinx F, Gaudreau P, Morais JA, Mauriège P, Gouspillou G. Clinical and biological adaptations in obese older adults following 12-weeks of high-

- intensity interval training or moderate-intensity continuous training. In *Healthcare* 2022 Jul 20 (Vol. 10, No. 7, p. 1346). MDPI, Doi: <https://doi.org/10.3390/healthcare10071346>
32. Cui K. Human skeletal muscle transcriptomic analysis of pathways associated with autophagy and mitophagy in response to a single session of high-intensity interval exercise in hypoxia: Victoria University; 2024, Doi: <https://vuir.vu.edu.au/48044/>
 33. Wang J, Qiu Y, Yang L, Wang J, He J, Tang C, Yang Z, Hong W, Yang B, He Q, Weng Q. Preserving mitochondrial homeostasis protects against drug-induced liver injury via inducing OPTN (optineurin)-dependent Mitophagy. *Autophagy*. 2024 Dec 1;20(12):2677-96, Doi: <https://doi.org/10.1080/15548627.2024.2384348>
 34. Chen K, Dai H, Yuan J, Chen J, Lin L, Zhang W, Wang L, Zhang J, Li K, He Y. Optineurin-mediated mitophagy protects renal tubular epithelial cells against accelerated senescence in diabetic nephropathy. *Cell Death & Disease*. 2018 Jan 24;9(2):105, Doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0127-z>
 35. Shahouzehi B, Masoumi-Ardakani Y, Aminizadeh S. Investigating the effect of calcitonin gene-related peptide antagonist and exercise trainings in rat aorta: Mitophagy, mitochondrial biogenesis, and apoptosis. *Chemical Biology Letters*. 2025;12(1):1256-, Doi: <https://doi.org/10.62110/sciencein.cbl.2025.v12.1256>
 36. Wang S, Long H, Hou L, Feng B, Ma Z, Wu Y, Zeng Y, Cai J, Zhang DW, Zhao G. The mitophagy pathway and its implications in human diseases. *Signal transduction and targeted therapy*. 2023 Aug 16;8(1):304, doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01503-7>
 37. Su Z, Nie Y, Huang X, Zhu Y, Feng B, Tang L, Zheng G. Mitophagy in hepatic insulin resistance: therapeutic potential and concerns. *Frontiers in pharmacology*. 2019 Oct 10;10:1193, doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01193>
 38. Novak I. Mitophagy: a complex mechanism of mitochondrial removal. *Antioxidants & redox signaling*. 2012;17(5):794-802, Doi: <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4407>