Journal of Sport and Exercise Physiology
2025, 18(3): 1-17

Orginal Article

# The effects of high-intensity interval training on the content of mitophagy proteins in visceral adipose tissue of type 2 diabetic rats

**Hadi Golpasandi[1], Mohammad Rahman Rahimi[1*], Shadi Golpasandi[2], Mobina Khosravi[1]**

[1] Department of Exercise Physiology, Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
[2] Department 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 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, were 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 reductions in fasting glucose levels and the HOMA-IR index ($p<0.001$).

* 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/).

**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 High-Intensity Interval Training on the Content of Mitophagy Proteins in Visceral Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats. J Sport Exerc Physiol. 2025;18(3):1-17.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۴، دوره ۱۸، شماره ۳، صفحه‌های ۱-۱۷

مقاله پژوهشی

# اثرات تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی در بافت چربی احشایی موش‌های دیابتی نوع دو

هادی گلپسندی[۱]، محمدرحمان رحیمی[۲*]، شادی گلپسندی[۲]، مبینا خسروی[۱]

[۱] گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
[۲] گروه حرکت‌شناسی و مدیریت ورزشی، دانشگاه A&M، تگزاس، آمریکا

## چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت نوع دو اختلال سوخت‌وسازی شایعی است که با افزایش سطح گلوکز خون و اختلال در عملکرد میتوکندری همراه است. کاهش کارایی میتوکندری‌ها در این بیماری موجب کاهش فرایند میتوفاژی می‌شود که خود به پیشرفت عوارض دیابت از جمله مقاومت به انسولین و اختلالات سوخت‌وسازی کمک می‌کند. میتوفاژی، که فرایند 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 نشانگرهای این فرایند هستند. بنابراین، یافتن راهکارهایی برای تقویت میتوفاژی در دیابت نوع دو می‌تواند به بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش عوارض این بیماری کمک کند. یکی از این راهکارها، تمرین ورزشی است که تأثیرات مثبتی بر سلامت سوخت‌وسازی و عملکرد میتوکندری دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثر یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی شامل Parkin، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی القاشده به دیابت نوع دو بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی 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 موش‌های صحرایی القا شد. گروه تمرینی به مدت هشت هفته تحت تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) قرار گرفتند. شدت تمرین HIIT بین ۸۵-۹۰ درصد بیشینهٔ سرعت دویدن موش‌های صحرایی بود، درحالی‌که تناوب استراحتی با شدت کم (۵۰-۶۰ درصد) انجام می‌شد. در پایان دورهٔ 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**: یافته‌ها نشان داد که دیابت نوع دو به کاهش معنادار سطوح پروتئین‌های PARKIN (۳۳ درصد)، PINK-1 (۴۱ درصد) و OPTN (۴۶ درصد) در گروه DC نسبت به گروه HC منجر شد (P<۰/۰۰۱). با این همه، در گروه D+HIIT، تمرین HIIT موجب افزایش معنادار این پروتئین‌ها نسبت به گروه DC شد، به‌گونه‌ای که سطوح Parkin، PINK-1 و OPTN به‌ترتیب ۱۱۷/۹۱، ۱۰۳/۳۹ و ۵۳۶/۳۶ درصد افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). افزون بر این، تمرینHIIT در گروه D+HIIT به کاهش معنادار سطح گلوکز ناشتا و شاخص HOMA-IR منجر شد (P<۰/۰۰۱).

**نتیجه‌گیری**: بر پایهٔ یافته‌های این پژوهش، تمرین HIIT تأثیرات زیادی بر بازسازی پروتئین‌های میتوفاژی و بهبود شاخص‌های سوخت‌وسازی در بافت چربی احشایی در الگوی حیوانی دیابت نوع دو دارد. این یافته‌ها بر اهمیت تمرین ورزشی، به‌ویژه HIIT، در بهبود عملکرد میتوکندری و افزایش فرایندهای سلولی تأکید می‌کنند. با این همه، با توجه به ماهیت حیوانی این پژوهش، تعمیم نتایج

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

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

به بیماران مبتلا به دیابت نوع دو نیازمند بررسی‌های بیشتری در پژوهش‌های انسانی است.

**واژه‌های کلیدی:** دیابت نوع دو، میتوفاژی، PARKIN، OPTN، HIIT.

**نحوه استناد به این مقاله:** گلپسندی ه، رحیمی م ر، گلپسندی ش، خسروی م. تأثیرات تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی.۱۴۰۴؛۱۸(۳):۱-۱۷.

## مقدمه

دیابت نوع دو (T2DM) یک اختلال سوخت‌وسازی درازمدت (پایدار) است که با هیپرگلیسمی پایدار، مقاومت به انسولین و سوخت‌وساز چربی‌های نامنظم مشخص می‌شود (۱). افزایش گستردگی T2DM بر نیاز فوری به درک سازوکارهای 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 سازوکارهای کنترل کیفیت سلولی، مانند میتوفاژی، در بافت‌های حساس به انسولین، از جمله بافت چربی است (۳). بافت چربی نقش اساسی در هومئوستاز انرژی و تنظیم سوخت‌وسازی ایفا می‌کند و اختلال در عملکرد آن به‌طور چشمگیری در آغاز و پیشرفت T2DM نقش دارد (۴).

میتوفاژی، تخریب انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده یا ناکارامد از طریق اتوفاژی، برای حفظ کیفیت میتوکندری و هومئوستاز سلولی ضروری است (۵). این فرایند توسط پروتئین‌های کلیدی از جمله PINK1 کیناز ۱ ناشی از (PTEN)، پارکین لیگاز یوبی‌کوئیتین (E3) و اپتینورین (OPTN)تنظیم می‌شود که به‌طور مشترک تشخیص، برچسب‌گذاری و پاکسازی میتوکندری‌های آسیب‌دیده را هماهنگ می‌کنند (۶). در غشای خارجی میتوکندری (OMM)میتوکندری‌های آسیب‌دیده تجمع می‌یابند، جایی که پارکین برای تولید پروتئین‌های OMM فعال می‌شود. سپس آداپتورهایی مانند OPTN شناسایی میتوکندری‌های یوبی‌کوئیتین‌شده توسط اتوفاگوزوم‌ها را تسهیل می‌کنند و به تخریب آن‌ها در لیزوزوم‌ها منجر می‌شوند (۷). اختلال در میتوفاژی در اختلالات سوخت‌وسازی، از جمله دیابت نوع دو(T2DM)، که در آن پاکسازی میتوکندری‌های معیوب موجب تشدید فشار اکسایشی و پاسخ‌های التهابی می‌شود، نقش دارد (۳).

تمرین ورزشی یک مداخلهٔ غیردارویی شناخته‌شده برای بهبود سلامت سوخت‌وسازی در افراد مبتلا به T2D است (۸). در بین روش‌های مختلف ورزشی، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به‌دلیل توانایی آن در به‌دست آوردن مزایای سوخت‌وسازی عمیق در بازهٔ زمانی نسبتاً کوتاه توجه شایان توجهی را به خود جلب کرده است (۹). HIIT شامل دوره‌های متناوب ورزش شدید با تناوب استراحتی است که دستگاه‌های انرژی هوازی و بی‌هوازی را به چالش می‌کشد (۱۰). یافته‌ها نشان می‌دهد که HIIT بیوژنز میتوکندری، ظرفیت اکسایشی و حساسیت به انسولین را در عضلات اسکلتی و سایر بافت‌ها افزایش می‌دهد (۱۱، ۱۲). با این همه، تأثیرات آن بر میتوفاژی و کنترل کیفیت میتوکندری در بافت چربی، به‌ویژه در زمینهٔ T2DM، ناشناخته باقی می‌ماند. نشان داده شده است که تمرین تناوبی با شدت بالا با افزایش گردش میتوکندری آسیب‌دیده بر میتوفاژی تأثیر مثبت می‌گذارد و در نتیجه کیفیت و کارایی میتوکندری را بهبود می‌بخشد (۱۳). یافته‌ها نشان می‌دهد که HIIT می‌تواند پروتئین‌های کلیدی وابسته به میتوفاژی مانند PINK1، Parkin و OPTN را تنظیم و حذف میتوکندری‌های ناکارامد را تسهیل کند و هومئوستاز سلولی را ارتقا دهد (۱۳). این سازگاری‌ها به‌ویژه در بافت‌های فعال سوخت‌وسازی مفیدند، جایی که اختلال عملکرد میتوکندری به مقاومت سراسری به انسولین و التهاب کمک می‌کند. با فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی که اتوفاژی و میتوفاژی را تنظیم می‌کنند، HIIT علوه بر پشتیبانی از نوسازی میتوکندری، فشار اکسایشی و اختلالات سوخت‌وسازی را نیز کاهش می‌دهد و بر توان آن به‌عنوان یک راهبرد درمانی برای شرایطی مانند T2DM تأکید می‌کند (۱۴). یافته‌های نوین نشان می‌دهد که بهبودهای ناشی از ورزش در عملکرد میتوکندری شاید با تنظیم پروتئین‌های وابسته به میتوفاژی انجام شود. اخیراً

گزارش شده است که HIIT می‌تواند میتوفاژی را از طریق پیام‌رسانی Lactate-SIRT1-FOXO3-PINK1/Parkin در هیپوکامپ موش‌ها با T2D کاهش دهد که شاید خطر اختلالات حافظه را کاهش دهد (۱۵). در پژوهش دیگری، کاهش غیرمعناداری در بیان برخی پروتئین‌های دخیل در میتوفاژی شامل PARKIN، PINK-1 و BNIP3 و کاهش معنادار NIX متعاقب هشت هفته تمرین HIIT در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو گزارش شد (۱۴، ۱۶). پژوهش‌ها روی عضلات اسکلتی نشان داده است که ورزش می‌تواند بیان و فعالیت PINK1 و پارکین را تنظیم کند و موجب حذف میتوکندری‌های ناکارامد و افزایش کارایی میتوکندری شود (۱۷). با توجه به نقش حیاتی بافت چربی در سوخت‌وساز کلی 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 الگوهایی که با ترکیبی از رژیم غذایی پرچرب (HFD) و استرپتوزوتوسین (STZ) ایجاد می‌شوند، بینش‌های ارزشمندی را در مورد سازوکارهای پاتوفیزیولوژیکی زیربنایی این بیماری ارائه می‌دهند. این مدل‌ها از ویژگی‌های کلیدیT2DM انسانی، از جمله مقاومت به انسولین، هیپرگلیسمی و تغییر سوخت‌وساز لیپید تقلید می‌کنند (۱۸). افزون بر این، آن‌ها به‌عنوان زیرساخت قوی برای بررسی تأثیرات مولکولی مداخلات درمانی، از جمله تمرین ورزشی، بر بافت‌های هدف عمل می‌کنند. با استفاده از چنین الگویی، پژوهشگران می‌توانند پیوندهای مکانیکی بین HIIT و تنظیم میتوفاژی در بافت چربی را ارزیابی کنند.

اگرچه یافته‌های پیشین تأثیر HIIT بر عملکرد میتوکندری و تنظیم میتوفاژی را در برخی بافت‌ها مانند ماهیچهٔ اسکلتی و کبد بررسی کرده‌اند، اما یافته‌های کافی در خصوص 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 تنظیم‌کنندهٔ مهمی در سوخت‌وساز کلی است و اختلال عملکرد آن در دیابت نوع ۲ نقش اساسی دارد، بررسی دقیق سازوکارهای وابسته به کنترل کیفیت میتوکندری در این بافت، به‌ویژه از طریق تمرین ورزشی، ضروری است. یکی از مهم‌ترین نوآوری‌های این تحقیق بررسی نقش OPTN در کنار PINK1 و PARKINدر تنظیم فرایند میتوفاژی در بافت چربی احشایی است. بیشتر یافته‌های پیشین بر نقش این پروتئین‌ها در سایر بافت‌ها متمرکز بوده‌اند و نقش OPTNدر این زمینه تا حد زیادی ناشناخته است. بنابراین، این تحقیق با بررسی اثر HIIT بر تنظیم پروتئینOPTN و ارتباط آن با سازوکارهای میتوفاژی در بافت چربی احشایی، می‌تواند درک جدیدی از فرایندهای تنظیمی کنترل کیفیت میتوکندری در دیابت نوع ۲ ارائه دهد. افزون بر این، نتایج این پژوهش می‌تواند بینش جدیدی در خصوص نقش ورزش به‌عنوان یک مداخلهٔ غیردارویی مؤثر در بهبود عملکرد میتوکندری و تنظیم فرایندهای سلولی در دیابت نوع ۲ فراهم کند. این یافته‌ها نه‌تنها می‌توانند مسیر پژوهش‌های آینده را در زمینهٔ میتوفاژی و ورزش هموار کنند، بلکه شاید پیشنهادهای کاربردی برای بهینه‌سازی تمرین ورزشی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ ارائه دهند.

## روش پژوهش

برای بررسی تأثیر یک دوره تمرینHIIT بر پروتئین‌های وابسته به میتوفاژی در بافت چربی، از یک طرح آزمایشی کنترل‌شده با استفاده از الگوی موش T2DM استفاده شد. این روش به‌گونه‌ای ساختار یافته بود که به‌طور جامع به اهداف پژوهش می‌پرداخت و در عین حال تکرارپذیری و دقت علمی را تضمین می‌کرد (۱۹،

۲۰). پژوهش حاضر پس از بررسی کارگروه اخلاق در پژوهش معاونت پژوهش دانشگاه کردستان با کد IR.UOK.1400.01 به تصویب رسید.

**نمونه‌های پژوهش:** در این تحقیق از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (هشت تا ۱۰ هفته، با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده شد که از یک مرکز حیوانات دارای مجوز تهیه شده بودند. همهٔ روش‌های آزمایشی به‌دنبال شیوه‌نامه‌های اخلاقی تأییدشده توسط راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات (Arrive) انجام گرفت. برای القای دیابت ۲، موش‌ها تحت رژیم غذایی پرچرب (HFD)، ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین به مدت چهار هفته قرار گرفتند (۲۱) و به‌دنبال آن یک تزریق داخل‌صفاقی استرپتوزوتوسین (STZ)،( Sigma-Aldrich، کد: S۰۱۳۰، شرکت Merck آلمان)، به مقدار ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن در محلول بافر سیترات pH=۴/۵ انجام شد (۲۲). پس از تزریق STZ، سطح گلوکز خون ناشتا با استفاده از گلوکومتر (برندAccua- check performa ، سوئیس، کد نامبر: ۱۵۱۹۷، دقت بالا) اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که سطح گلوکز ناشتا بالای۱۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر داشتند، دیابتی در نظر گرفته شده و وارد تحقیق شدند.

**روش اجرای پژوهش:** موش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه (هر گروه: هشت سر)، ۱. گروه کنترل سالم، ۲. گروه کنترل دیابت و ۳. دیابت+ تمرین HIIT تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه‌های کنترل سالم و دیابت در طول هشت هفته، تحت مداخلهٔ تمرین ورزشی قرار نگرفتند، درحالی‌که گروه دیابت+ تمرین HIIT به مدت هشت هفته، هفته‌ای پنج جلسه با شدت محاسبه‌شده برحسب آزمون بیشینهٔ سرعت دویدن روی نوار گردان حیوانی (الگوی ۳۲۵۸۸، شرکت برج صنعت‌آزما، ساخت ایران) تعیین شد. آزمون تعیین بیشینهٔ سرعت دویدن شامل ۱۰ مرحله (هر مرحله سه دقیقه) است که با سرعت پنج متر بر دقیقه با شیب صفر شروع می‌شد. سپس سرعت در هر مرحله پنج متر بر دقیقه تا نقطهٔ فرسودگی افزایش یافت. سرعت به‌دست‌آمده در آخرین نقطهٔ تکمیل‌شده به‌عنوان زمان واماندگی واقعی موش‌های صحرایی[1] (TTE) معادل بیشینهٔ سرعت دویدن ($V_{max}$) به صورت دقیقه/ ثانیه محاسبه شد (۲۳). این آزمون در دو مرحلهٔ پیش‌آزمون (پیش از آغاز دوره هشت هفته مداخلات تمرین HIIT) و پس‌آزمون (پس از آغاز دوره هشت هفته مداخلات تمرین HIIT) اجرا شد. بدنهٔ اصلی تمرین HIIT شامل چهار دقیقه دویدن با ۸۵-۹۰ درصد بیشینه سرعت دویدن و سه دقیقه دویدن با ۵۰-۶۰ درصد بیشینه سرعت دویدن بود که هفت بار تکرار شد (در مجموع ۴۹ دقیقه تمرین). پیش و پس از جلسهٔ تمرین، پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با ۴۰ درصد بیشینه سرعت دویدن اجرا شد (۱۳، ۲۴).

**روش‌های آزمایشگاهی:** ۴۸ ساعت پس از جلسهٔ HIIT، موش‌ها با استفاده از کتامین فارما ۱۰ درصد، شرکت برمر آلمان، (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین شرکت سیگما، با کد X۱۱۲۶، ساخت آمریکا (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. نمونه‌های بافت چربی احشایی به‌سرعت برداشته شدند، در سالین سرد یخ شسته شده، در نیتروژن مایع منجمد شده و برای بررسی‌های آتی در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی پروتئین‌های Parkin، PINK-1 و OPTN از طریق وسترن بلات: پس از جداسازی، نمونه‌های بافت چربی احشایی بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج پروتئین، بافت‌ها در بافر لیز RIPA (Sigma-Aldrich, USA) حاوی مهارکننده‌های پروتئاز و فسفاتاز (Roche, Switzerland)به کمک هموژنایزر مکانیکی لیز شدند. این فرایند روی یخ انجام شد تا از تخریب پروتئین‌ها

جلوگیری شود. سپس نمونه‌ها در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد و با سرعت ۱۴۰۰۰ g × به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و سوپرناتانت جمع‌آوری شد (۲۵).

غلظت پروتئین کل با استفاده از روش برادفورد (Bradford Assay)و کیت Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, USA)بر پایهٔ شیوه‌نامهٔ شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. مقادیر جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Thermo Fisher Scientific, USA) ثبت شد. سپس نمونه‌های پروتئینی با بافر نمونهٔ Laemmli و ۵٪ بتا-مرکاپتواتانول (Sigma-Aldrich, USA)ترکیب شده و به مدت پنج دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد دناتوره شدند (۲۵).

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

برای جلوگیری از اتصال غیراختصاصی آنتی‌بادی‌ها، غشاها با ۵ درصد شیر بدون چربی در بافر (Tris-TBST buffed saline + 0.1% Tween-20) به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق مسدود شدند. سپس غشاها به مدت یک شب در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد با آنتی‌بادی‌های اولیهٔ 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) وβ-اکتین، به‌عنوان کنترل بارگذاری (Sigma-Aldrich, A5441, dilution 1:5000) انکوبه شدند (۲۵). پس از شست‌وشو با TBST، غشاها با آنتی‌بادی‌های ثانویهٔ کونژوگه با HRP (Jackson ImmunoResearch,)رقت ۱:۵۰۰۰ (به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند.

پیام‌رسان‌های 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) تجزیه‌وتحلیل شده و نسبت پروتئین‌های هدف به β-اکتین برای نرمال‌سازی داده‌ها محاسبه شد (۲۵).

**تحلیل آماری:** داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار از طریق نمودار ارائه شد. تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه‌های چندگانه به‌صورت اختلاف میانگین تجزیه‌وتحلیل شد. مقدار P<۰/۰۵ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

## نتایج

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

**جدول ۱. مشخصات وزن و شاخص‌های گلایسیمیک موش‌های صحرایی**

| | گروه HC | گروه DC | گروه D+HIIT |
|---|---|---|---|
| **وزن (گرم)** | ۳۷۷/۴ ± ۱۴/۱۵ | ۳۶۸/۸ ± ۱۲/۷۰ | ۲۷۱/۶ ± ۱۲/۶۳$ |
| **گلوکز (میلی‌مول/ لیتر)** | ۴/۴۲ ± ۱/۰۲ | ۲۰/۹۳ ± ۳/۱۸* | ۱۲/۷۰ ± ۲/۴۱$ |
| **انسولین (میلی‌مول/ لیتر)** | ۲/۶۳ ± ۰/۸۴ | ۵/۵۳ ± ۱/۰۳* | ۳/۱۸ ± ۱/۳۵$ |
| **HOMA-IR** | ۰/۵۹ ± ۰/۱۶ | ۵/۲۲ ± ۱/۳۲* | ۱/۸۶ ± ۰/۶۸$ |

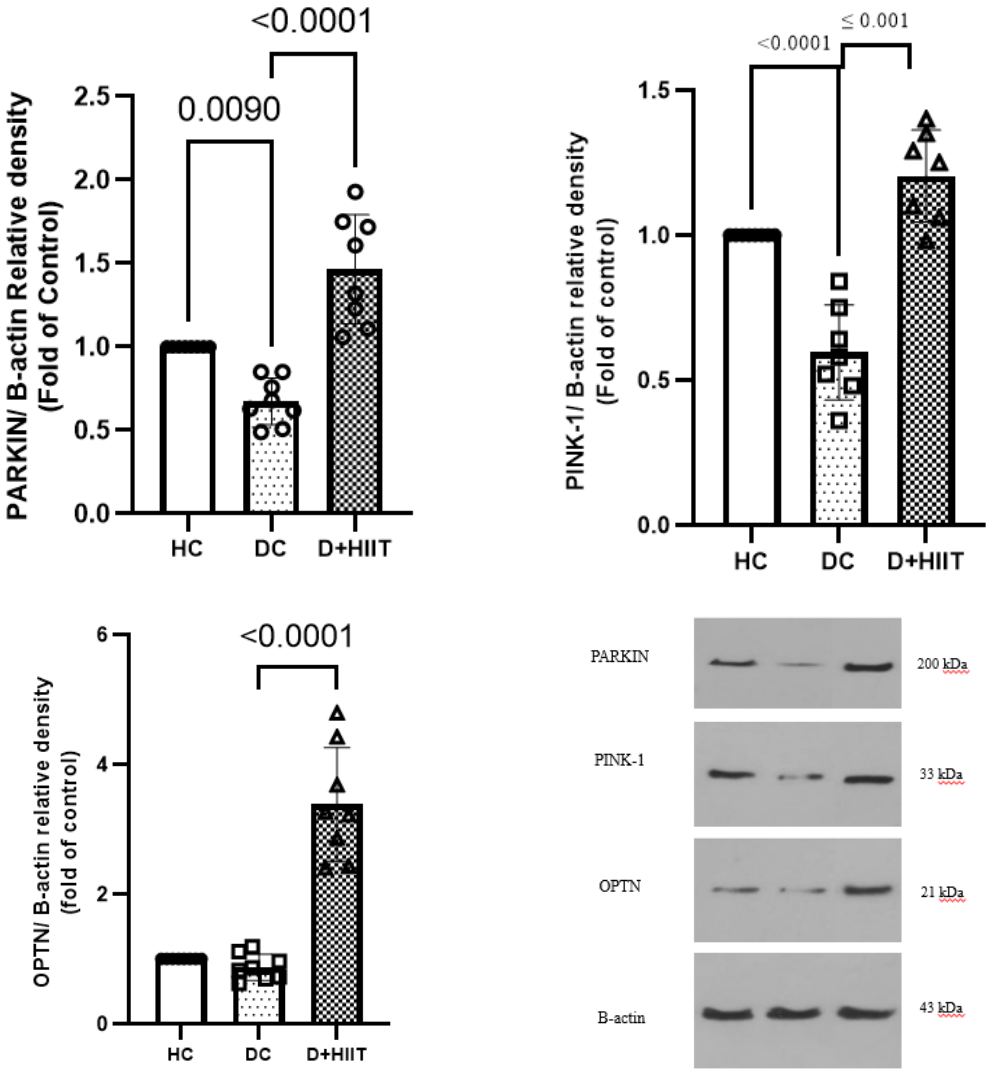
(P< ۰/۰۵).

(*): معناداری نسبت به گروه HC.

($): معناداری نسبت به گروه DC.

نتایج آزمون آنوا نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین وزن گروه‌های مختلف وجود دارد (F=۱۵۹/۱، P<۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های HC و DC وجود نداشت (P>۰/۳۷)، درحالی‌که در گروه D+HIIT به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود (۲۶/۳۶-٪، P< ۰/۰۰۱).

نتایج مربوط به سطوح سرمی گلوکز نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد (F=۳۵۹/۹، P<۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که میانگین سطوح گلوکز ناشتا در گروه DC به‌طور معناداری بالاتر از گروه HC بود (۳۷۳/۵۳٪، P<۰/۰۰۱). درحالی‌که در گروه D+HIIT به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود (۳۹/۳۲-٪، P< ۰/۰۰۱). نتایج تحلیل آنوا مربوط به شاخص HOMA-IR نیز نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌های مختلف پژوهش وجود دارد (F=۱۹۲/۴، P<۰/۰۰۱). میانگین شاخص HOMA-IR در گروه DC به‌طور معناداری بالاتر از گروه HC بود (P<۰/۰۰۱)، درحالی‌که در گروه D+HIIT به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه DC بود (۷۹/۰۷-٪، P< ۰/۰۰۱).




**شکل ۱. میانگین محتوای پروتئین‌های OPTN، PARKIN و PINK-1 در بافت چربی احشایی، HC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابت، D+HIIT: دیابت+ تمرین تناوبی با شدت بالا. (تعداد هر گروه= هشت سر موش صحرایی)**

نتایج تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که مقدار پروتئین PARKIN بین گروه‌های مختلف تفاوت معناداری دارد (F=۳۰/۱۲، P<۰/۰۰۱، $\eta^2$=۰/۷۳). تحلیل مقایسهٔ زوجی نشان داد که مقدار پروتئین PARKINدر گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معناداری ۳۳ درصد کمتر از گروه سالم کنترل (HC) بود (P<۰/۰۰۹، MD=-۰/۳۲)، که نشان‌دهندهٔ کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت است. در مقابل، مقدار این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT)به‌طور معناداری ۱۱۷/۹۱ درصد بیشتر از گروهDC بود (P<۰/۰۰۱، MD=۰/۷۹)، که حاکی از اثر مثبت این نوع تمرین بر افزایش سطح پروتئین PARKINدر بافت چربی احشایی است.

نتایج تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که مقدار پروتئین PINK-1 بین گروه‌های مختلف تفاوت معناداری دارد (F=۴۱/۱۱، P<۰/۰۰۱). مقایسهٔ زوجی نشان داد که مقدار پروتئین PINK-1 در گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معناداری ۴۱ درصد کمتر از گروه سالم کنترل (HC) بود (P<۰/۰۰۱، MD=۰/۴۰)، که بیانگر کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت است. در مقابل، مقدار این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT) به‌طور معناداری (۱۰۳/۳۹ درصد) بیشتر از گروه DC بود (P<۰/۰۰۱، MD=۰/۶۰)، که نشان‌دهندهٔ اثر مثبت این نوع تمرین در بازیابی سطح پروتئین PINK-1 در بافت چربی احشایی است.

نتایج تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که مقدار پروتئین OPTN بین گروه‌های مختلف تفاوت معناداری دارد (F=۴۱/۱۱، P<۰/۰۰۱). مقایسهٔ زوجی نشان داد که مقدار پروتئین OPTN در گروه دیابتی کنترل (DC) به‌طور معناداری (۴۱ درصد) کمتر از گروه سالم کنترل (HC)بود (P<۰/۰۲۶، MD=۰/۴۰)، که نشان‌دهندهٔ کاهش سطح این پروتئین در اثر دیابت نوع دو است. در مقابل، مقدار این پروتئین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا (D+HIIT) به‌طور معناداری (۵۳۶/۳۶ درصد) بیشتر از گروه DC بود (P<۰/۰۰۱، MD=۲/۳۶)، که بیانگر اثر مثبت این تمرین در بازیابی سطح پروتئین OPTNدر بافت چربی احشایی است.

## بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیرات یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های میتوفاژی (Parkin, Pink-1, OPTN) در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی القاشده به دیابت نوع دو از طریق استرپتوزوتوسین+رژیم غذایی پرچرب انجام شد. نتایج نشان داد که دیابت نوع دو موجب کاهش پروتئین‌های میتوفاژی Parkin، Pink-1 و OPTN در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی القاشده به دیابت نوع دو شد. نتایج این تحقیق با یافته‌های لی و همکاران (۲۰۲۴) (۲۶)، خسروی و همکاران (۱۵) و گلپسندی و همکاران (۲۰۲۴) (۱۳) همسوست. آن‌ها در کارهای پژوهشی خود نشان دادند که T2D موجب کاهش میتوفاژی از طریق کاهش محتوای پروتئینی PARKIN, PINK-1 می‌شود. این را می‌توان به سازوکارهای وابستهٔ چندگانه تحت تأثیر پاتوفیزیولوژی دیابت نوع دو، الگوی دیابتی تجربی (STZ + HFD) و نقش میتوفاژی در سلامت سوخت‌وسازی نسبت داد (۳).

دیابت نوع دو با هیپرگلیسمی مزمن و مقاومت به انسولین وابسته است که عملکرد میتوکندری را در بافت چربی مختل می‌کند (۲۷). این مسئله ممکن است به‌دلیل تولید بیش‌ازحد گونه‌های اکسیژن فعال[۲] (ROS) در میتوکندری باشد که به اجزای میتوکندری آسیب می‌رساند و توانایی آنها برای حفظ هومئوستاز را مختل می‌کند (۲۸). هنگامی‌که آسیب میتوکندری بر سازوکارهای ترمیم غلبه می‌کند، میتوفاژی مختل می‌شود و احتمالاً به کاهش پروتئین‌هایی مانند

PARKIN و PINK1 منجر می‌شود (۲۹). از طرفی، T2D اغلب موجب ایجاد حالت التهابی با درجهٔ پایین در بافت چربی می‌شود که با سطوح بالا سایتوکین‌هایی مانند TNF-α و IL-6 مشخص می‌شود (۲۷). مسیرهای پیام‌رسانی التهابی، به‌ویژه از طریق NF-κB، می‌توانند بیان اتوفاژی و پروتئین‌های وابسته به میتوفاژی را سرکوب کنند و عملکرد آنها را کاهش دهند (۳۰). مقاومت به انسولین به‌عنوان یکی از مشخصه‌های ویژهٔ T2D، در سلول‌های چربی مانع جذب گلوکز و سوخت‌وساز میتوکندری می‌شود. از طرفی، اختلال در پیام‌رسانی انسولین شاید مسیرهایی مانند فعال‌سازی AMPK را که برای حفظ میتوفاژی و تعادل انرژی در سلول‌ها حیاتی است، مختل کند (۲۷). در تحقیق حاضر نیز نشان داده شد که شاخص IR نسبت به گروه HC ۹۷/۵ درصد بالاتر بود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین HIIT موجب تقویت میتوفاژی از طریق PARKIN، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی T2D شد. این نتایج با یافته‌های لی و همکاران (۲۰۲۴) (۲۶) همسو بود. آن‌ها در پژوهش خود نشان دادند که هر دو نوع تمرین HIIT و MICT موجب تقویت میتوفاژی کبد (افزایش PARKIN و PINK-1) در موش‌های صحرایی چاق تحت رژیم غذایی HFD شدند (۲۶). در پژوهش دیگری نیز گزارش شد که ۱۲ هفته تمرین HIIT موجب تقویت میتوفاژی از طریق افزایش محتوای PARKIN در مردان بزرگسال شد (۳۱). همچنین گزارش شد که هشت هفته تمرین HIIT موجب افزایش سطوح PARKIN و PINK-1 در هیپوکامپ موش‌های صحرایی T2D شد (۲۶). این یافته‌ها با یافته‌های پژوهش حاضر همسو بود. با این همه، یافته‌های تحقیق حاضر با یافته‌های پژوهشی که اثر هشت هفته تمرین HIIT بر بیان پروتئین‌های میتوفاژی شامل PARKIN، PINK-1 در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو را بررسی کردند، ناهمسو بود. پژوهشگران کاهش غیرمعناداری بیان پروتئین‌های مذکور را متعاقب هشت هفته تمرین HIIT در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو گزارش کردند (۱۶). از دلایل ناهمسویی می‌توان به تفاوت در نوع بافت مورد بررسی، روش رژیم غذایی پرچرب (دو هفته در مقابل چهار هفته)، تفاوت در روش اندازه‌گیری (وسترن بلات در مقابل Real time PCR) و تفاوت در سازوکارهای تنظیم میتوفاژی در بافت چربی احشایی و بافت کبدی اشاره کرد. افزایش چشمگیر سطح PARKIN، PINK-1 و OPTN در گروه D+HIIT نشان‌دهندهٔ نقش کلیدی این نوع تمرین در بازیابی و تقویت مسیرهای میتوفاژی است که شاید به بهبود عملکرد سوخت‌وسازی بافت چربی احشایی کمک کند. همچنین شاید اثر بازسازی‌کننده این نوع تمرین بر دستگاه میتوکندریایی سلول‌ها را نشان می‌دهد. این امر می‌تواند با کاهش فشار اکسایشی و التهابی در بافت چربی احشایی وابسته شد. تمرین HIIT احتمالاً از طریق افزایش فشار مکانیکی و سوخت‌وسازی، پیام‌رسان‌هایی را فعال می‌کند که به افزایش بیان PINK-1 منجر می‌شوند. تمرین HIIT با فعال‌سازی مسیرهای مربوط به PINK-1 وParkin، فرایند حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده را تسریع می‌کند. این امر به بازسازی و حفظ عملکرد مطلوب میتوکندری کمک می‌کند (۳۲). از طرفی، تمرین HIIT از طریق بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش انباشت میتوکندری‌های ناکارامد، به کاهش تولید ROSها کمک می‌کند (۱۵). با کاهش فشار اکسایشی و بهبود عملکرد میتوکندری، سطح عوامل التهابی کاهش می‌یابد که این می‌تواند به بهبود وضعیت التهابی در بافت چربی احشایی منجر می‌شود.

کاهش معنادار پروتئین OPTN در گروه DC به‌طور مشابه حاکی از اختلال در مسیرهای میتوفاژی و

دستگاه‌های بازیافت سلولی در اثر دیابت نوع دو است. درحالی‌که افزایش چشمگیر این پروتئین در گروه HIIT+Dنشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا قادر است به‌طور مؤثری این مسیرها را بازسازی کند و تعادل سلولی را بهبود بخشد. پروتئین OPTN یکی از اجزای مهم در مسیرهای تنظیمی میتوفاژی و دستگاه‌های بازیافت سلولی است. این پروتئین در شناسایی و حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده نقش اساسی ایفا می‌کند و با فرایندهایی مانند پاکسازی سلولی و حفظ تعادل هومئوستازی وابسته است (۳۳). در دیابت نوع دو، کاهش سطح پروتئین OPTN نشان‌دهندهٔ اختلال جدی در این مسیرهای حیاتی است که به مشکلات گسترده‌ای در عملکرد سلولی منجر می‌شود (۳۴). این احتمال وجود دارد که تمرین HIIT از طریق فعال‌سازی مسیرهای AMPK و PGC-1α به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی انرژی و میتوکندری، در بهبود عملکرد میتوکندری و افزایش بیان OPTN نقش داشته است (۳۵، ۳۶). همچنین این می‌تواند از طریق کاهش التهاب سراسری از طریق HIIT توجیه‌پذیر باشد. به‌طوری‌که HIIT از طریق کاهش فشار سوخت‌وسازی و اکسایشی، پیام‌رسان‌های التهابی را مهار کرده و شرایط مناسبی برای بازسازی مسیرهای میتوفاژی ایجاد می‌کند (۱۹).

افزایش سطوح PARKIN، PINK-1 و OPTN در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو وابستگی تنگاتنگی با شاخص‌های وابسته به سلامت سوخت‌وسازی از جمله شاخص IR و سطوح گلوکز دارد. افزایش بیان این پروتئین‌ها پس از تمرینHIIT نشان‌دهندهٔ بازگشت عملکرد میتوکندری به حالت طبیعی است. این بهبود می‌تواند تأثیرات 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 شاخص‌های سطوح گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین بیشتر از طریق نقش میتوفاژی در حفظ سلامت میتوکندری‌ها و تنظیم فرایندهای سوخت‌وسازی توضیح داده می‌شود (۳۷). میتوفاژی، فرایند حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده، به‌عنوان سازوکاری کلیدی در جلوگیری از تجمع ROS و حفظ تعادل انرژی سلولی عمل می‌کند (۳۸). در شرایطی مانند دیابت نوع دو، عملکرد نامناسب میتوکندری و کاهش میتوفاژی به افزایش فشار اکسایشی و اختلال در مسیرهای سوخت‌وسازی وابسته به تنظیم گلوکز منجر می‌شود (۳). افزایش پروتئین‌های میتوفاژی نظیر PARKIN ، PINK1 و OPTN در اثر مداخلهٔ تمرین HIIT موجب بهبود عملکرد میتوکندری‌ها و کاهش فشار اکسایشی می‌شود. این بهبود در عملکرد میتوکندری، حساسیت سلول‌ها به انسولین را افزایش می‌دهد و جذب گلوکز در بافت‌های محیطی مانند بافت چربی احشایی را تسهیل می‌کند (۱۹). در نتیجه، شاخص مقاومت به انسولین کاهش می‌یابد و سطح گلوکز خون به وضعیت طبیعی نزدیک می‌شود. بنابراین، افزایش فعالیت میتوفاژی یکی از سازوکارهای پنهان و نهفته برای مقابله با اختلالات سوخت‌وسازی نظیر مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو به‌شمار می‌رود.

پژوهش حاضر با وجود ارائهٔ نتایج ارزشمند، دارای برخی محدودیت‌هاست که باید در تفسیر یافته‌ها در نظر گرفته شود. یکی از محدودیت‌های اصلی این تحقیق، انجام آزمایش روی الگوی حیوانی (موش‌های صحرایی دیابتی) است که شاید یافته‌های آن به‌طور مستقیم به انسان تعمیم‌پذیر نباشد. افزون بر این، اندازهٔ نمونه نسبتاً کوچک شاید دقت یافته‌ها را کاهش دهد و پیشنهاد می‌شود که پژوهش‌های آتی با حجم نمونهٔ بیشتر انجام شوند. از دیگر محدودیت‌های این پژوهش، تمرکز روی یک نوع تمرین (HIIT)و بررسی تنها چند شاخص میتوفاژی است. بررسی انواع دیگر تمرین‌های ورزشی (مانند تمرینات

هوازی تداومی یا مقاومتی) و ارزیابی سایر مسیرهای مولکولی وابسته می‌تواند در پژوهش‌های آینده مدنظر قرار گیرد. همچنین مدت زمان مداخله (هشت هفته) شاید برای بررسی تغییرات بلندمدت در میتوفاژی کافی نباشد و پژوهش‌های با دوره‌های طولانی‌تر می‌توانند اطلاعات دقیق‌تری ارائه دهند. افزون بر این، استفاده از روش‌های مکمل مانند بررسی فعالیت آنزیم‌های وابسته به میتوفاژی یا تجزیه‌وتحلیل‌های ژنتیکی می‌تواند تصویر جامع‌تری از تأثیرات تمرین HIIT بر میتوفاژی ارائه دهد. یکی دیگر از محدودیت‌های این پژوهش استفاده از موش‌های صحرایی ویستار به‌جای موش‌های C57BL/6 است، زیرا موش‌های C57BL/6 حساسیت بیشتری به اختلالات سوخت‌وسازی مانند دیابت و چاقی دارند و می‌توانند الگوی دقیق‌تری برای بررسی این بیماری‌ها باشند؛ بنابراین، این انتخاب شاید بر تعمیم‌پذیری نتایج تأثیر بگذارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که دیابت نوع دو با کاهش معنادار سطوح پروتئین‌های وابسته به میتوفاژی، شامل Parkin، PINK-1 وOPTN ، در بافت چربی احشایی همراه است. این کاهش به اختلال در تعادل میتوکندریایی و عملکرد سوخت‌وسازی وابسته است. با این همه، تمرین HIIT تأثیر شایان توجهی در بهبود این اختلالات نشان داد، به‌طوری‌که سطوح این پروتئین‌ها در گروه D+HIIT به‌طور 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 نشان‌دهندهٔ اثر مثبت تمرین HIIT در بازیابی پروتئین‌های میتوفاژی، بهبود تعادل میتوکندریایی و کاهش اختلالات سوخت‌وسازی ناشی از دیابت نوع دو است. از این‌رو تمرین HIIT می‌تواند به‌عنوان مداخله‌ای مؤثر در کنترل دیابت نوع دو و بهبود وضعیت سوخت‌وسازی پیشنهاد شود.


## تشکر و قدردانی

این پژوهش با کد اخلاقی IR.UOK.1400.01 مورد تأیید کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشگاه کردستان قرار گرفت. نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه کردستان جهت تصویب طرح پژوهشی حاضر تشکر و قدردانی می‌کنند.

## حمایت مالی

پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی از هیچ مؤسسهٔ خاصی دریافت نکرده است.


## مشارکت نویسندگان

## تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

## پی‌نوشت‌ها

[1] Time To Exhaustion
[2] Reactive oxygen species

## 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, Víctor 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, Faitg 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, Skulsuppaisarn 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.2024m1pbga1z

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/japplphysiol.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 Latef 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, Kovela 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, Veszelka 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. InHealthcare 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