

Research Paper

The combined effect of high-intensity interval training along with vitamin D3 supplementation on mitophagy factors in heart tissue of rats induced to type 2 diabetes



Hadi Golpasandi¹, Mohammad Rahman Rahimi^{2*}

Received: Aug 27, 2024

Revised: Oct 26, 2024

Accepted: Oct 27, 2024

Article info

1. Postdoctoral Researcher, Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran.
2. Associate Professor at Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran.

Extended abstract

Background and Aim: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a prevalent metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia that disrupts cellular and tissue homeostasis. One major consequence of T2DM is impaired mitochondrial function, which is essential for energy production and oxidative regulation, particularly in the high-energy-demand cardiac tissue, where dysfunction can cause diabetic cardiomyopathy. Mitophagy, a selective autophagy process that removes damaged mitochondria, is crucial for maintaining mitochondrial health. Key regulatory proteins such as PINK1 and Parkin initiate mitophagy, and their downregulation in T2DM leads to mitochondrial accumulation and oxidative stress. Non-pharmacological interventions, such as high-intensity interval training (HIIT) and vitamin D3 supplementation, have shown promise in improving mitochondrial function. HIIT enhances metabolism and aerobic capacity, while vitamin D3, often deficient in T2DM patients, offers anti-inflammatory and mitochondrial protective effects. The present study aimed to investigate the combined effects of HIIT and vitamin D3 supplementation on PINK1 and Parkin expression in cardiac tissue of T2DM Wistar rats, along with associated metabolic and functional outcomes.

Materials and Methods: In this experimental study, forty male Wistar rats (8–10 weeks old; 200–250 g) were obtained from the university's animal research center. The animals were housed under standard laboratory conditions (temperature of 22±2°C, humidity of 50-60%, and a 12:12-hour light/dark cycle) with free access to water and

***Corresponding Author's Address:**
Kurdistan, Sanandaj, Pasharan Boulevard, University of Kurdistan, Faculty of Humanities and Social Sciences, Department of Physical Education and Sport Sciences;
Email: r.rahimi@uok.ac.ir

Cite this article:

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*. 2025;13(36):8-25. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.8078.1907>



food. To induce T2DM, the rats were initially fed a high-fat diet (containing 40% fat, 40% carbohydrates, and 20% protein) for 8 weeks. Subsequently, Streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally at a dose of 35 mg per kilogram of body weight. Diabetes was confirmed 72 hours later by measuring a fasting blood glucose level exceeding 250 mg/dL. The diabetic rats were randomly assigned to 5 groups (n=8 per group): a normal control group (NC), a diabetic control group (DC), a diabetic + high-intensity interval training group (D+HIIT), a diabetic + vitamin D3 injection group (D+VD3), and a diabetic combined intervention group (D+HIIT+VD3). The HIIT protocol was performed for 8 weeks, with 5 sessions per week. Each session consisted of a 5-minute warm-up at 10 m/min, followed by 10 intervals of 4-minute high-intensity running at 85-90% of maximum running speed (approximately 20-25 m/min) interspersed with 2-minute active recovery periods at 10 m/min, and concluded with a 5-minute cool-down. The maximum running speed (V_{max}) was re-evaluated and adjusted biweekly. Vitamin D3 (10,000 IU/kg) was injected subcutaneously weekly. The D+HIIT+VD3 group received both interventions. Forty-eight hours after the final intervention, rats were anesthetized (Ketamine 80 mg/kg, Xylazine 10 mg/kg), and left ventricular tissue was collected and stored at -80°C . Parkin and PINK1 levels were measured via Western blot. Serum glucose, insulin, vitamin D3, HOMA-IR, body weight, and time to exhaustion (TTE) were assessed. Statistical analyses were conducted using one-way ANOVA with Bonferroni post-hoc tests and two-way ANOVA for TTE. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

Findings: The induction of T2DM resulted in a significant reduction in the cardiac expression of the mitophagy-related proteins Parkin and PINK1. A one-way ANOVA demonstrated statistically significant differences in the levels of both Parkin ($F=77.29$, $\eta^2=0.89$, $p=0.001$) and PINK1 ($F=58.31$, $\eta^2=0.86$, $p=0.001$) across the experimental groups. Post-hoc Bonferroni analysis specified that Parkin levels in the DC group were 50% lower than those in the NC group ($p=0.03$). In contrast, all intervention groups exhibited a substantial upregulation of Parkin compared to the DC group. The D+HIIT, D+VD3, and D+HIIT+VD3 groups showed increases of 344%, 394%, and 496%, respectively ($p=0.001$ for all). Furthermore, the combined intervention group (D+HIIT+VD3) demonstrated Parkin levels that were 34.23% and 20.65% higher than the D+HIIT and D+VD3 groups, respectively ($p=0.001$), while no significant difference was observed between the D+HIIT and D+VD3 groups ($p=0.97$) (Table 1). A similar pattern was observed for PINK1. Expression in the DC group were 36% lower than in the NC group ($p=0.01$). The interventions successfully elevated PINK1 levels, with the D+HIIT, D+VD3, and D+HIIT+VD3 groups showing increases of 143.75%, 75%, and 240.63% over the DC group, respectively ($p=0.001$). The combined therapy group (D+HIIT+VD3) also displayed significantly higher PINK1 levels than both the D+HIIT (39.74% higher, $p=0.001$) and D+VD3 (94.64% higher, $p=0.001$) groups. Additionally, the D+HIIT group had 39.29% higher PINK1 levels than the D+VD3 group ($p=0.002$). Concerning glycemic control, one-way ANOVA indicated significant inter-group differences in serum glucose ($F=221.5$, $\eta^2=0.96$, $p=0.001$). Serum glucose in the DC group was 396.90% higher than in the NC group ($p=0.001$). All intervention groups showed significant reductions compared to the DC group, with the D+HIIT, D+VD3, and D+HIIT+VD3 groups exhibiting 27.56%, 18.83%, and 37.31% lower glucose levels, respectively ($p=0.001$). The most pronounced effect was seen in the D+HIIT+VD3 group, which had significantly lower glucose than both the D+HIIT (13.51% lower) and D+VD3 (22.76% lower) groups ($p=0.001$). Similarly, HOMA-IR was 110% higher in DC than NC ($p=0.001$), but reduced by 66.67%, 47.92%, and 72.92% in D+HIIT, D+VD3, and D+HIIT+VD3 respectively ($p=0.001$). D+HIIT and D+HIIT+VD3 had 36% and 48% lower HOMA-IR than D+VD3 respectively ($p=0.001$). Both HIIT and vitamin D3 improved aerobic capacity in diabetic rats; combined group showed 186.39% TTE increase, surpassing vitamin D3 group ($p=0.007$), but not HIIT group ($p=0.065$).

Conclusion: The present findings demonstrate that the combination of HIIT and vitamin D3 significantly upregulates the levels of the mitophagy-related proteins Parkin and PINK1 in the cardiac tissue of T2DM rats, thereby enhancing mitochondrial protective

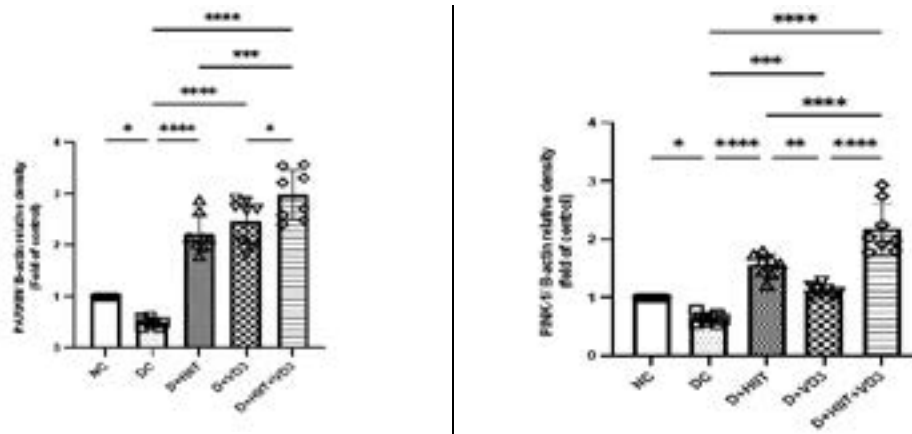


Figure 1. Changes in Parkin and PINK1 protein expression. (*): $p \leq 0.05$, (**): $p \leq 0.01$, (***): $p \leq 0.001$, (****): $p \leq 0.0001$, NC: Normal Control, DC: Diabetes Control, D+HIIT: Diabetes + High Intensity Interval Training, D+VD3: Diabetes + Vitamine D3, D+HIIT+VD3: Diabetes+ High Intensity Interval Training+ Vitamin D3. (N=8).

mechanisms. This combined intervention not only mitigates T2DM-induced mitochondrial dysfunction but also improves metabolic parameters, including serum glucose, insulin resistance, and vitamin D3 levels, while enhancing functional exercise capacity (TTE) and body weight control. These findings suggest that integrated exercise and nutritional supplement strategies could serve as an effective therapeutic approach for preventing cardiometabolic complications in T2DM. Future studies are warranted to examine the long-term effects and elucidate the molecular mechanisms to better support clinical translation. Overall, this study highlights the potential of pairing HIIT with vitamin D3 supplementation as a complementary strategy in T2DM management.

Keywords: Type 2 Diabetes, Mitophagy, Exercise training, Vitamin D3, Parkin.

Compliance with Ethical Guidelines: All experimental procedures were conducted in accordance with ethical guidelines for animal research and were approved by the Ethics Committee of the University of Kurdistan (Approval Code: IR.UOK.REC.1400.015). All steps were carried out with minimal pain and stress to the animals.

Funding: The present study received no financial support from any organization or entity.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

اثر ترکیبی تمرینات تناوبی با شدت بالا به همراه تزریق ویتامین D3 بر عوامل میتوفاژی بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع دو

هادی گلپسندی^۱، محمد رحمان رحیمی^{۲*}

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۶

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع دو (T2DM) از طریق هایپرگلیسمی مزمن، بر یکپارچگی و عملکرد میتوکندری تاثیر می‌گذارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر ترکیبی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تزریق ویتامین D3 بر پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی در بافت قلب رت‌های مبتلا به T2DM انجام شد. **روش تحقیق:** تعداد ۴۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی در پنج گروه کنترل سالم (NC)، کنترل دیابت (DC)، دیابت + HIIT (D+HIIT)، دیابت + ویتامین D3 (D+VD3)، دیابت + HIIT + ویتامین D3 (D+HIIT+VD3) قرار گرفتند. T2DM با تغذیه رت‌ها با رژیم غذایی پرچرب و به دنبال آن، تزریق استرپتوزوتوسین القا شد. پروتکل HIIT شامل دویدن روی نوارگردان در قالب وهله‌های کوتاه فعالیت با شدت بالا ۹۰-۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن در مدت زمان ۴۹ دقیقه بود و ویتامین D3 به صورت زیرجلدی هر هفته به میزان ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی / کیلوگرم تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از مداخله، نمونه‌های بافت قلب جمع‌آوری شد و پروتئین‌های پارکین و PINK-1 (کیناز یک القاشده توسط PTEN) با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شدند. علاوه بر این‌ها، سطح گلوکز سرم، مقاومت به انسولین و زمان رسیدن به خستگی هم اندازه‌گیری گردید. تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری (p < ۰/۰۵) انجام شد. **یافته‌ها:** القاء T2DM به‌طور قابل توجهی سطوح پارکین و PINK-1 را در بافت قلب کاهش داد (به ترتیب p = ۰/۰۱ و p = ۰/۰۳)؛ با این حال، هر دو مداخله تمرین HIIT و ویتامین D3، به صورت جداگانه و ترکیبی، به‌طور معنی‌دار محتوای پروتئین پارکین و PINK-1 را افزایش دادند (p = ۰/۰۱). به علاوه، مداخله ترکیبی HIIT و ویتامین D3، منجر به کاهش معنی‌دار در سطح گلوکز سرم، مقاومت به انسولین و افزایش ظرفیت هوازی شد (p = ۰/۰۰۱). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد ترکیب HIIT و ویتامین D3 از طریق تقویت میتوفاژی، یک اثر محافظتی در برابر اختلالات میتوکندریایی و متابولیکی ناشی از T2DM ایجاد می‌کند و به بهبود کلی سلامت متابولیک و عملکرد جسمانی در مدل حیوانی T2DM می‌انجامد.

واژه‌های کلیدی: تمرینات ورزشی، ویتامین D3، میتوفاژی قلب، دیابت کاربومیوپاتی.

اطلاعات مقاله

۱. پژوهشگر دوره پسادکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه کردستان، کردستان، ایران.
۲. دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه کردستان، کردستان، ایران.

* آدرس نویسنده مسئول:
کردستان، سنندج، بلوار پاسداران، دانشگاه کردستان، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک:
r.rahimi@uok.ac.ir

مقدمه

دیابت نوع دو^۱ (T2DM) یک اختلال متابولیک است که با هیپرگلیسمی^۲ مزمن، مقاومت به انسولین و اختلال در ترشح انسولین مشخص می‌شود که اغلب ناشی از ترکیبی از عوامل ژنتیکی، محیطی و شیوه زندگی است (۱). این بیماری به یک اپیدمی جهانی تبدیل شده است و به طور قابل توجهی به بیماری‌های قلبی عروقی، از جمله نارسایی قلبی، انفارکتوس میوکارد و سایر عوارض مربوط به قلب کمک می‌کند (۲). در میان مکانیسم‌هایی که به اختلال عملکرد قلب در T2DM کمک می‌کنند، اختلال عملکرد میتوکندری به عنوان یک عامل مهم ظاهر شده است (۳). میتوکندری‌ها اندامک‌های ضروری هستند که مسئول تولید انرژی مورد نیاز برای عملکردهای سلولی هستند و اختلال در آنها می‌تواند منجر به اختلالات متابولیکی قابل توجهی به ویژه در اندام‌های نیازمند انرژی، مانند قلب شود (۴).

یکی از مکانیسم‌هایی که سلول‌ها از طریق آن سلامت میتوکندری را حفظ می‌کنند، میتوفاژی است، یعنی یک شکل انتخابی اتوفاژی که میتوکندری‌های آسیب‌دیده یا ناکارآمد را حذف می‌کند (۵). میتوفاژی نقش حیاتی در حفظ کیفیت و عملکرد میتوکندری ایفا می‌کند و در نتیجه از استرس و آسیب سلولی محافظت می‌نماید. پارکین^۳ و کیناز یک القاء شده با ژن PTEN^۴ (PINK-1) پروتئین‌های کلیدی میتوفاژی هستند که حذف میتوکندری‌های آسیب دیده را تنظیم می‌کنند و برای حفظ سلامت میتوکندری ضروری هستند. در قلب، آنها با جلوگیری از اختلال عملکرد میتوکندری که برای محافظت در برابر استرس و بیماری، به ویژه در شرایطی مانند T2DM، حیاتی است، نقش مهمی در حفظ عملکرد قلب دارند (۶). اختلال در میتوفاژی در بیماری‌های متابولیک مختلف، از جمله T2DM، که در پیشرفت کاردیومیوپاتی نقش دارد، دخیل است. بنابراین، مداخلاتی که می‌تواند میتوفاژی را تنظیم کند ممکن است پتانسیل درمانی در کاهش اثرات نامطلوب T2DM بر سلامت قلب ارائه دهد (۵).

تمرینات ورزشی به دلیل اثرات مفید آن به عنوان یک مداخله درمانی در T2DM، بهبود حساسیت به انسولین،

متابولیسم گلوکز و سلامت قلب و عروق و در عین حال، مقابله با اثرات نامطلوب بیماری مانند التهاب مزمن، مقاومت به انسولین و افزایش خطر ابتلا به عوارض قلبی عروقی شناخته شده است (۷). تمرین تناوبی با شدت بالا^۵ (HIIT) به عنوان یک روش ورزشی موثر برای بهبود سلامت قلب و عروق و عملکرد متابولیک محبوبیت پیدا کرده است. HIIT شامل دوره‌های کوتاه تمرینات شدید همراه با دوره‌های استراحت یا ورزش با شدت کم است که آن را به یک استراتژی کارآمد برای افزایش آمادگی جسمانی تبدیل می‌کند (۸). مطالعات نشان داده‌اند HIIT می‌تواند مقاومت به انسولین را بهبود بخشد، چربی بدن را کاهش دهد و عملکرد قلبی عروقی را در افراد مبتلا به T2DM افزایش دهد (۹، ۱۰). علاوه بر این، نشان داده شده است که HIIT بر بیوژنز و عملکرد میتوکندری تأثیر می‌گذارد، که این ممکن است بر میتوفاژی در بافت‌های تحت تأثیر T2DM تأثیر بگذارد (۱۱). با این حال، مطالعات محدودی به بررسی اثرات تمرینات HIIT بر محتوای پارکین و PINK-1 پرداخته‌اند. اخیراً گزارش شده که فعالیت ورزشی و ماندن ساز باعث افزایش بیان ژن سطوح پارکین و PINK-1 در عضله اسکلتی رت‌ها گردید (۱۲). در مطالعه دیگری اثرات تمرینات مقاومتی بر بهبود عملکرد قلبی از طریق تنظیم میتوفاژی به وسیله فعال شدن محور سیگنالی آیریزین-پارکین - PINK-1 در رت‌های مدل القاء شده به سکت قلبی گزارش شده است (۱۳). در حالی که اثرات مزیت بخش تمرینات استقامتی با شدت متوسط نسبت به تمرینات HIIT در افزایش پارکین در رت‌های القاء شده به سکت قلبی گزارش شده است (۱۴).

علاوه بر ورزش، مداخلات تغذیه‌ای به عنوان استراتژی‌های بالقوه برای کنترل T2DM و عوارض آن مورد بررسی قرار گرفته است. ویتامین D₃، یک ویتامین محلول در چربی است که نقش مهمی در هموستاز کلسیم و متابولیسم استخوان ایفا می‌کند، همچنین در فرآیندهای متابولیکی مختلف نقش دارد. شواهد جدید نشان می‌دهد که کمبود ویتامین D₃ با افزایش خطر ابتلا به T2DM و بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است (۱۵). ویتامین D₃ اثرات خود را از طریق گیرنده ویتامین D₃^۶ (VDR) اعمال می‌کند که در

1. Type 2 diabetes mellitus

2. Hyperglycemia

3. Parkinson protein 2, E3 ubiquitin-protein

ligase

4. PTEN-induced kinase 1

5. High intensity interval training

6. Vitamin D receptor

برای حفظ کیفیت و عملکرد میتوکندری، به ویژه در زمینه عوارض قلبی مرتبط با دیابت، حیاتی است. در حالی که، مطالعات قلبی نقش ورزش یا ویتامین D3 را به طور جداگانه در بهبود سلامت قلبی عروقی مورد بررسی قرار داده‌اند، اما در مطالعه حاضر اثر ترکیبی آن‌ها بر تنظیم میتوفاژی از طریق پروتئین‌های PINK1 و پارکین، در یک مدل دیابتی مورد بررسی قرار گرفت. این تحقیق می‌تواند استراتژی‌های درمانی جدیدی را برای کاهش اختلال عملکرد میتوکندری و در نهایت، کاهش خطرات قلبی عروقی مرتبط با T2DM کشف کند. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ترکیبی تمرین HIIT و تزریق ویتامین D3 بر پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی در بافت قلب رت‌های مبتلا به T2DM انجام شد.

روش تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی بود. پس از تهیه و آماده‌سازی، رت‌های صحرایی نر نژاد ویستار (تعداد ۴۰ سر، میانگین وزن ۲۲۰ گرم، میانگین سن شش هفته) از انستیتو پاستور کرج، به آزمایشگاه حیوانی دانشگاه کردستان منتقل شدند. رت‌ها در قفس‌های شفاف پلی‌کربنات قرار گرفتند و در یک محیط کنترل‌شده نگهداری شدند. دمای محیط در 22 ± 2 درجه سانتیگراد با چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعته براساس چرخه طبیعی روز و شب تنظیم شد. حیوانات دسترسی نامحدود به آب داشتند و این اطمینان حاصل شد که در طول مطالعه هیدراته باقی می‌مانند. این شرایط برای به حداقل رساندن استرس و حفظ سلامت و تندرستی رت‌ها در طول آزمایش طراحی شده بود. پس از دوره یک هفته‌ای سازگاری با محیط، رت‌ها به طور تصادفی به یک گروه کنترل سالم (هشت رت) و یک گروه دیابتی (۳۲ رت) تقسیم شدند (شکل یک). این پژوهش براساس راهنمای کار با حیوانات و راهنمای گزارش‌دهی پژوهش‌های انجام‌شده در موجود زنده^۲ (ARRIVE 2.0) انجام و توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه کردستان با کد IR.UOK.REC.1400.015 تایید گردید. رت‌های دیابتی به‌طور تصادفی به چهار گروه هشت تایی کنترل دیابت (DC)، دیابت با تزریق ویتامین D3 (D+VD3)، دیابت با ورزش (D+HIIT) و دیابت به‌همراه ورزش و تزریق ویتامین D3 (D+HIIT+VD3) تقسیم شدند. در پژوهش حاضر، تصادفی‌سازی با هدف

بافت‌های مختلف از جمله قلب بیان می‌شود (۱۵، ۱۶). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مکمل ویتامین D3 می‌تواند حساسیت به انسولین را بهبود بخشد، التهاب را کاهش دهد و استرس اکسیداتیو را تنظیم کند و به طور بالقوه، اثرات محافظتی در برابر عوارض مربوط به T2DM ارائه دهد (۱۷). در مطالعات *in vitro* و *in vivo* اثرات ضد التهابی ویتامین D3 از طریق مسیر سیگنالی پارکین/PINK-1/ پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات^۱ (AMPK) گزارش گردیده است (۱۸). همچنین کاهش هایپرپروتروپی قلب از طریق افزایش سطوح Pink-1 در رت‌های سالمند نر نژاد ویستار گزارش شده است (۱۹). در حالی که، اثرات تنظیم کاهشی میتوفاژی و آسیب قلبی از طریق تزریق ویتامین D3 در یک مطالعه *in vitro* گزارش گردیده است (۲۰). با این حال، تحقیقات بسیار محدودی در راستای تاثیر ویتامین D3 بر شاخص‌های درگیر در میتوفاژی شامل پارکین و PINK-1 وجود دارد.

با توجه به مزایای HIIT و ویتامین D3، اثر ترکیبی آن‌ها بر فاکتورهای میتوفاژی در بافت قلب مدل‌های T2DM، حوزه تحقیقاتی جالبی را ارائه می‌دهد. گزارش شده است که تمرینات ورزشی با شدت بالا و ویتامین D3 تأثیر مثبتی بر چربی بدن و پروفایل لیپید خون در سالمندان دارای اضافه وزن دارد (۲۱). در حالی که، در مطالعه دیگری نشان داده شد که تمرینات HIIT تحمل گلوکز را در بزرگسالان غیردیابتی دارای اضافه وزن و چاق بهبود می‌بخشد، اما مکمل ویتامین D3 هیچ اثر مثبت اضافی بر تحمل گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین^۲ (HOMA-IR) ندارد (۲۲). قلب یک اندام بسیار وابسته به انرژی است که در معرض اختلال عملکرد میتوکندری و استرس اکسیداتیو در حالت T2DM است. با بررسی تعامل بین این دو مداخله، می‌توان بینشی در مورد اثرات هم‌افزایی بالقوه آن‌ها بر سلامت میتوکندری و عملکرد کلی قلب به دست آورد. این مطالعه به بررسی اثر ترکیبی تمرین HIIT و مکمل ویتامین D3 بر پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی، به‌ویژه PINK1 و پارکین، در بافت قلب رت‌های صحرایی القا شده با T2DM از طریق رژیم غذایی چربی و تجویز استرپتوزوتوسین می‌پردازد. نکته جدید در مطالعه حاضر، هدف قرار دادن مسیر میتوفاژی است که

1. Adenosine monophosphate-activated protein kinase

2. Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance

3. Animal research: reporting of *in vivo* experiments

تزریق، نمونه خونی از ورید دمی با استفاده از گلوکومتر (آکوچک^۱، آلمان) برای تعیین سطح گلوکز ناشتا گرفته شد. رت‌های با سطح گلوکز خون ۳۰۰ میلی گرم در دسی لیتر یا بالاتر، دیابتی در نظر گرفته شدند. رت‌های گروه کنترل با سطح گلوکز طبیعی (۱۰۰-۸۰ میلی گرم در دسی لیتر) در روند ادامه مطالعه حفظ شدند (۲۵).

پروتکل HIIT: پس از القای T2DM، رت‌های گروه تمرین تحت یک دوره سازگاری یک هفته‌ای قرار گرفتند که شامل پیاده‌روی و دویدن روی نوارگردان با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در روز، پنج روز در هفته بود. پس از ارزیابی حداکثر سرعت دویدن با استفاده از آزمون عملکرد درجه‌بندی شده، گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته پنج بار در هفته به تمرین روی نوارگردان پرداختند و در این دوره برای رعایت اصل اضافه بار، به تدریج شدت و مدت زمان تمرین افزایش یافت. آزمون عملکرد درجه‌بندی شده شامل ۱۰ مرحله (هر مرحله سه دقیقه) است که با سرعت ۰/۳ کیلومتر در ساعت با شیب صفر شروع می‌شود. سپس سرعت در هر مرحله ۰/۳ کیلومتر در ساعت تا نقطه فرسودگی افزایش یافت. سرعت به دست آمده در آخرین نقطه تکمیل شده به عنوان زمان واماندگی واقعی رت‌ها^۲ (TTE) معادل حداکثر سرعت دویدن (V_{max}) به صورت دقیقه/ثانیه محاسبه گردید (۲۶). این آزمون در دو مرحله پیش‌آزمون (قبل از شروع دوره هشت هفته

تخصیص هر واحد آزمایشی به گروه‌های کنترل و تیمار به صورتی انجام شد که ابتدا هر نمونه شماره‌گذاری شد (تگ پشت رت)، سپس با استفاده از تصادفی‌سازی آنلاین، نمونه‌هایی برای گروه‌های مختلف درمانی و گروه کنترل انتخاب شدند (۲۳). حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار جی پاور^۱ (نسخه ۳،۱،۹،۷) تعیین شد. بر اساس طراحی مطالعه و آنالیز واریانس یک‌راهه^۲ (ANOVA) که برای مقایسه میانگین گروه‌ها برنامه‌ریزی شده بود، و با در نظر گرفتن سطح معنی‌داری $p < 0/5$ ، توان آماری ۸۰ درصد (1-B) و اندازه اثر بزرگ $F = 0/5$ (اثر کوهن)، محاسبات نشان داد که برای دستیابی به قدرت آماری کافی، وجود هشت نمونه در هر گروه ضروری است. بنابراین، با در نظر گرفتن پنج گروه آزمایشی، تعداد کل ۴۰ سر موش صحرایی (رت) در این مطالعه استفاده شد.

نحوه القای T2DM: برای القای T2DM در رت‌ها، به مدت شش هفته از مدل رژیم غذایی پرچرب^۳ (HFD) و تزریق استرپتوزوتوسین^۴ (STZ) استفاده شد. رژیم HFD شامل ۴۵ درصد چربی، ۳۵ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین و رژیم غذایی سالم شامل ۱۵ درصد چربی، ۶۰ درصد کربوهیدرات و ۲۵ درصد پروتئین بود. پس از شش هفته استفاده از HFD، تزریق داخل صفاقی به میزان ۳۵ میلی گرم/کیلوگرم استرپتوزوتوسین در محلول ۰/۱ مول بافر سیترات صورت گرفت (۲۴). پس از ۷۲ ساعت از زمان



شکل ۱. طرح کلی فرآیند اجرایی پژوهش. NC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابتی، HIIT: تمرینات تناوبی شدید، STZ: استرپتوزوتوسین، HFD: رژیم غذایی پرچرب.

1. G*Power
2. One-way ANOVA

3. High fat diet
4. Streptozotocin

5. Accu Check
6. Time to exhaustion

مداخلات HIIT و تزریق ویتامین D3) و پس از آزمون (پس از شروع دوره هشت هفته مداخلات HIIT و تزریق ویتامین D3) اجرا شد. بدنه اصلی پروتکل HIIT شامل چهار دقیقه دویدن با ۹۰-۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن و سه دقیقه دویدن با ۶۰-۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن بود که ۷-۴ بار تکرار شد. قبل و پس از جلسه تمرین، پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با ۴۰ درصد حداکثر سرعت دویدن

اجرا شد (۲۷) (جدول یک).
نحوه تزریق ویتامین D3: گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین D3، دوز ۱۰۰۰۰ واحد بین‌المللی / کیلوگرم (از شرکت کاسپین تامین - رشت) را دریافت کردند. ویتامین D3 با روغن کنجد رقیق شده و به شیوه زیر جلدی تزریق شد (۲۸). این روند یک بار در هفته (آخر هفته) به مدت هشت هفته انجام شد (شکل یک).

جدول ۱. جزئیات پروتکل HIIT

هفته	تعداد مرحله - دقیقه (شدت وهله فعالیت شدید)	تعداد مرحله - دقیقه (شدت وهله استراحت فعال)	شدت معادل درصد Vo _{2max} مرحله فعال - استراحت	مجموع (زمان به دقیقه)
هفته اول	۴-۴ (۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۴ (۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳۵-۶۰	۲۸
هفته دوم	۴-۴ (۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۴ (۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳۵-۶۰	۲۸
هفته سوم	۴-۵ (۸۵ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۵ (۵۳ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳۷-۶۰	۳۵
هفته چهارم	۴-۵ (۸۷ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۵ (۵۳ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳۷-۶۲	۳۵
هفته پنجم	۴-۶ (۸۷ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۶ (۵۶ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۴۰-۶۲	۴۲
هفته ششم	۴-۶ (۸۷ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۶ (۵۶ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۴۰-۶۲	۴۲
هفته هفتم	۴-۷ (۹۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۷ (۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۴۴-۶۵	۴۹
هفته هشتم	۴-۷ (۹۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۳-۷ (۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن)	۴۴-۶۵	۴۹

نمونه برداری و تحلیل بافتی: پس از ۲۴ ساعت از اتمام مداخلات تحقیقاتی (ویتامین D3، HIIT)، موش‌ها با تزریق زیر جلدی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) در محیطی آرام و بدون استرس بی‌هوش شدند. پس از بی‌هوشی حیوانات و باز کردن قفسه سینه، خون به‌طور مستقیم از قلب چپ آن‌ها گرفته شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه برای جداسازی پلاسما سانتریفیوژ شدند، سپس پلاسما در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطح گلوکز و انسولین سرم نگهداری شد (شکل یک).

بدون چربی آنکوبه شدند تا مکان‌های اتصال غیراختصاصی مسدود شوند. نمونه‌ها به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با آنتی‌بادی‌های اولیه پارکین (کد محصول: #۲۱۳۲، شرکت سیگنالینگ سلول^۳، ماساچوست^۴، آمریکا) و PINK-1 (کد محصول BC-100-494: شرکت نووس بایولوژیکال^۵، برند بیوتکین، آمریکا) آنکوبه شدند. روز بعد، غشاها با آنتی‌بادی‌های ثانویه مناسب به مدت یک ساعت در دمای اتاق آنکوبه شده و سپس با استفاده از معرف شبتابی شیمیایی تقویت‌شده^۶ (ECL plus) (شرکت میلپور^۷، شهر بیلریکا^۸، ایالت ماساچوست، آمریکا) شناسایی شدند. برای پاکسازی ایمونوبلات‌ها، غشاها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در بافر (محتویات بافر در جدول دو) قرار داده شده و سپس مجدداً رنگ‌آمیزی شدند تا سطوح کل پارکین و PINK-1 شناسایی شود. سطح گلوکز سرمی با استفاده از دستگاه مایندری^۹ مدل BS200 به روش رنگ‌سنجی و سطح انسولین با کیت الیزا

پس از استخراج و همگن‌سازی بافت قلب در نیتروژن مایع، پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید با سدیم دودسیل سولفات^۱ (SDS-PAGE) جدا شدند و سپس به غشای پلی‌وینیلیدین دی‌فلوراید^۲ (PVDF) منتقل گردیدند. غشاها به مدت یک ساعت در دمای اتاق با شیر

1. Sodium dodecyl sulfate
 2. Polyvinylidene difluoride
 3. Cell signalling

4. Massachusetts
 5. Novus biological
 6. Enhanced chemiluminescence

7. Millipore
 8. Billerica
 9. Mindrey

جدول ۲. محتویات بافر لیز کننده بافت ها

۵۰۰ میکروواحد بر لیتر، PH = ۸	تریس - هیدروکلراید
۰/۰۰۳ گرم	ادتا
۰/۰۸ گرم	سدیم کلراید
۰/۰۲۵ گرم	سدیم دی اکسی کولات
۰/۰۱ گرم	صفحه SDS
۱ قرص	کوکتل مهار کننده پروتئاز
۱۰ میکرو واحد در لیتر	تریتون (NP40، یک درصد)

شرکت آلپکو^۱ (شماره: 80-INSRTH -E01, E10، حساسیت: MA-IR نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۹).
۰/۵۲ نانوگرم/ میلی لیتر) اندازه گیری شد. شاخص HO-

$$\text{HOMA-IR} = \frac{22}{5} \div (\text{میلی مول بر لیتر}) \times (\text{میلی مول بر لیتر}) \text{ انسولین ناشتا}$$

تفاوت های معنی دار بین گروه ها انجام شد. سطح معنی داری آماری با مقدار $p < 0/05$ تعیین شد.

یافته ها

نتایج مربوط به سطوح سرمی گلوکز، انسولین، ویتامین D3، شاخص HOMA-IR و TTE به صورت میانگین و انحراف استاندارد در جدول سه ارائه شده است.

نتایج مربوط به شاخص های میتوفاژی در بافت قلب: نتایج مربوط به همگنی واریانس ها با استفاده از آزمون بارتلیت، نشان داد که تجانس واریانس در تمامی متغیرها

روش های آماری: تحلیل آماری و ترسیم نمودارهای نتایج این مطالعه با استفاده از نرم افزار گراف پد پریم^۲ نسخه، ۹ انجام شد. داده ها به صورت میانگین، خطای استاندارد میانگین، انحراف معیار و درصد تغییر میانگین گزارش شدند. برای ارزیابی توزیع طبیعی داده ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۳ استفاده شد. جهت بررسی همگنی واریانس ها از آزمون بارتلیت^۴ استفاده گردید. تجزیه و تحلیل واریانس یک راهه برای شاخص های کنترل گلاسیسیمیک و میتوفاژی و تحلیل واریانس دوره ایه برای تحلیل شاخص TTE، و آزمون تعقیبی بونفرونی^۵ برای شناسایی

جدول ۳. توصیف (میانگین \pm انحراف استاندارد) و مقایسه شاخص های مرتبط با کنترل گلاسیسیمیک و وزن در گروه های مختلف

منغیرها	گروه ها	NC	DC	D+HIIT	D+VD3	D+HIIT+VD3
وزن (گرم)	۳۹۰/۵ \pm ۱۲/۰۷	۳۸۲/۸ \pm ۱۲/۴۴	۳۲۹/۸ \pm ۱۰/۵۴	۳۶۰/۶ \pm ۱۱/۸۶	۲۸۵/۹ \pm ۱۲/۵۲	
گلوکز (میلی مول / لیتر)	۴/۵۲ \pm ۱/۰۱	۲۲/۴۶ \pm ۲/۸۲ ^o	۱۶/۲۷ \pm ۱/۳۹ ^{§†}	۱۸/۲۳ \pm ۱/۳۳ [§]	۱۴/۰۸ \pm ۱/۱۸ ^{§††}	
انسولین (میلی مول / لیتر)	۰/۲۳ \pm ۰/۰۲	۰/۴۸ \pm ۰/۰۵	۰/۲۳ \pm ۰/۰۴ ^{§†}	۰/۳۰ \pm ۰/۰۳ [§]	۰/۲۰ \pm ۰/۰۳ ^{§†}	
HOMA-IR	۰/۰۴ \pm ۰/۰۱	۰/۴۸ \pm ۰/۰۷ ^o	۰/۱۶ \pm ۰/۰۲ ^{§†}	۰/۲۵ \pm ۰/۰۲ [§]	۰/۱۳ \pm ۰/۰۲ ^{§††}	
ویتامین D3 سرمی (نانوگرم / میلی لیتر)	۲۳/۳۳ \pm ۲/۱۸	۱۶/۱۲ \pm ۱/۳۸	۲۹/۶۹ \pm ۳/۲۰	۳۷/۲۳ \pm ۳/۵۱	۴۲/۰۸ \pm ۲/۳۹	
پیش آزمون	۲۱/۱۵ \pm ۱/۹۵	۲۰/۸۶ \pm ۲/۰۳	۲۱/۱۸ \pm ۱/۴۵	۲۰/۶۲ \pm ۱/۵۹	۲۰/۹۱ \pm ۱/۲۸	
پس آزمون	۱۹/۵۹ \pm ۲/۱۲	۱۱/۲۴ \pm ۲/۱۵	۲۹/۵۶ \pm ۳/۱۰	۲۱/۶۸ \pm ۲/۱۲	۳۲/۱۹ \pm ۲/۵۹	

NC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابت، D+VD3: دیابت + ویتامین D3، D+HIIT: دیابت + ورزش، D+HIIT+VD3: دیابت + ویتامین D3 + ورزش، TTE: زمان تا رسیدن به خستگی. * نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه NC، § نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه DC، † نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه D+HIIT؛ ‡ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه D+VD3؛ سطح معنی داری $p < 0/05$.

1. Alpcó

2. GraphPad Prism.

3. Shapiro-Wilk

4. Bartlett

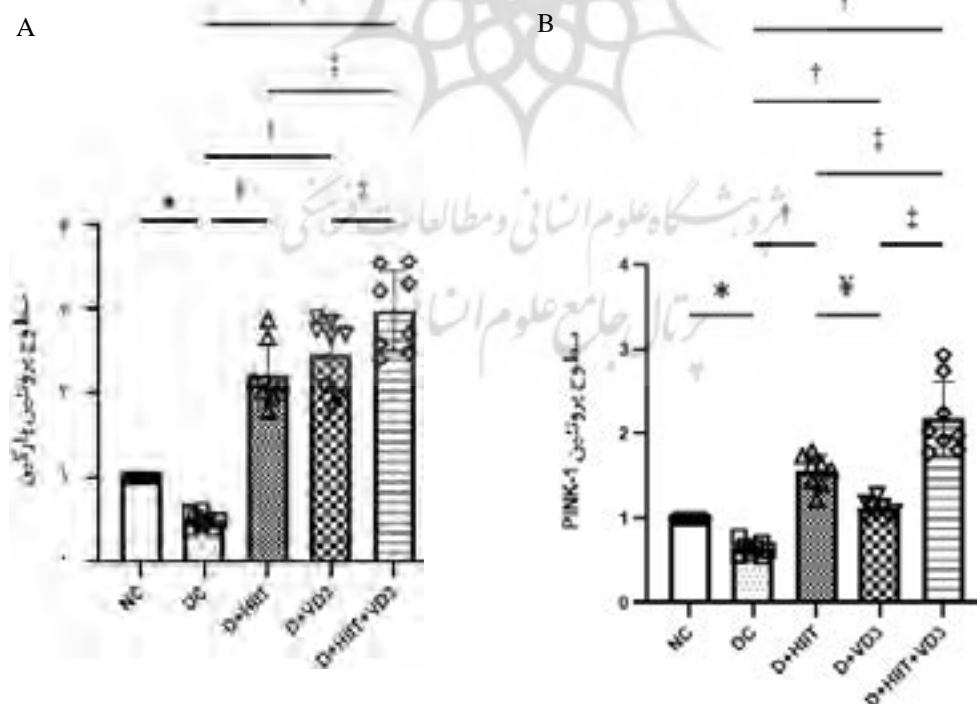
5. Bonferroni

میانگین پروتئین PINK-1 در گروه DC به طور معنی داری پایین تر از گروه NC بود (۳۶ درصد، $p=0/01$). در حالی که در گروه های D+HIIT، D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC درصد به طور معنی داری بالاتر بود (به ترتیب: ۱۴۳/۷۵، ۷۵ و ۲۴۰/۶۳ درصد، $p=0/001$). همچنین، میانگین این شاخص در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه های D+HIIT و D+VD3 بالاتر بود (به ترتیب، ۳۹/۷۴ درصد و ۹۴/۶۴ درصد، $p=0/001$). علاوه بر این، نتایج نشان دهنده بالاتر بودن سطوح پروتئین در گروه D+HIIT نسبت به گروه D+VD3 بود (۳۹/۲۹ درصد، $p=0/002$) (شکل دو).

نتایج مربوط به شاخص های گلیسمیک، وزن و TTE: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه مربوط به مقایسه میانگین گلوکز سرمی نشان داد که تفاوت معنی داری بین گروه های مختلف وجود دارد ($F=221/5$ ، $\eta^2=0/96$ ، $p=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد سطوح سرمی گلوکز به طور معنی داری در گروه DC بالاتر از گروه NC بود (۳۹۶/۹۰ درصد، $p=0/001$). در حالی که در گروه های D+VD3، D+HIIT و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC (به ترتیب: ۲۷/۵۶ درصد، ۱۸/۸۳ و ۳۷/۳۱ درصد پایین تر بود، $p=0/001$)، و کمترین

برقرار است؛ چرا که در تمام مقادیر p بزرگ تر از ۰/۰۵ می باشد. به علاوه نتایج آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد که تمامی داده های شاخص های مورد بررسی در مطالعه حاضر، دارای توزیع طبیعی هستند ($p<0/05$).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در خصوص شاخص های میتوفاژی در بافت قلب رت های القاء شده به T2DM نشان داد که تفاوت معنی داری در سطوح پروتئینی پارکین ($F=77/29$ ، $\eta^2=0/89$ ، $p=0/001$) و پروتئین PINK-1 ($F=58/31$ ، $\eta^2=0/86$ ، $p=0/001$) بین گروه های پژوهش وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد سطوح پروتئینی پارکین در گروه DC به طور معنی داری پایین تر از گروه NC بود (۵۰ درصد و $p=0/03$). این در حالی که سطح پروتئین پارکین در گروه های D+HIIT، D+VD3 و D+HIIT+VD3 به ترتیب ۳۴۴، ۳۹۴ و ۴۹۶ درصد بیشتر از گروه DC ($p<0/001$) برای همه مقایسه ها) بود. همچنین، این متغیر در گروه D+HIIT+VD3 به ترتیب ۳۴/۲۳ و ۲۰/۶۵ درصد بالاتر از گروه های D+HIIT و D+VD3 ($p=0/001$) برای همه مقایسه ها) بود. با این حال، بین گروه های D+HIIT و D+VD3 تفاوت معنی داری وجود نداشت ($p=0/97$). همچنین نتایج آزمون تعقیبی نشان داد



شکل ۲. مقایسه سطوح پروتئینی پارکین (A) و PINK-1 (B) در بافت قلب رت های القاء شده T2DM. (NC): گروه کنترل سالم، (DC): کنترل دیابتی، (D+HIIT): دیابت + ورزش، (D+VD3): دیابت + تزریق ویتامین D3 و (D+HIIT+VD3): دیابت + ورزش + تزریق ویتامین D3. * نشان معنی داری نسبت به گروه (NC)، † نشان معنی داری نسبت به گروه (DC)، ‡ نشان معنی داری نسبت به گروه (D+VD3)، § نشان معنی داری نسبت به گروه (D+HIIT+VD3). سطح معنی داری $p<0/05$.

معنی‌داری نسبت به گروه D+VD3، (۸/۵۴ درصد، $p=0/001$) پایین‌تر بود.

بر پایه نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه با اندازه‌گیری مکرر، هر سه اثر زمان، گروه و تعامل زمان در گروه برای شاخص TTE معنی‌دار بودند ($F=181/1$ ، $\eta^2=0/91$ ، $p=0/001$). در بررسی‌های تفصیلی، گروه DC-post کاهش معنی‌داری برابر با ۴۲/۶۲ درصد نسبت به گروه NC-post نشان داد ($p=0/001$). در مقابل، گروه‌های D+HIIT post، D+VD3 post و D+HIIT+VD3 post به ترتیب افزایش‌های معنی‌داری معادل ۱۶۲/۹۹ درصد، (۹۲/۸۸، $p=0/001$) درصد، (۱۸۶/۳۹ درصد، $p=0/001$) نسبت به گروه DC-post داشتند. همچنین، این شاخص در گروه D+HIIT+VD3 post در مقایسه با گروه D+VD3 post به میزان ۴۸/۴۸ درصد بالاتر بود ($p=0/007$). با این حال، بین گروه‌های D+HIIT post و D+HIIT+VD3 post تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/06$) (جدول سه).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که T2DM از طریق کاهش سطوح پروتئین‌های پارکین و PINK-1، باعث اختلال در میتوفاژی بافت قلب رت‌ها می‌گردد. در این راستا، نتایج پژوهش‌های آپوستواوا^۱ و دیگران (۲۰۲۳) و جی^۲ و دیگران (۲۰۲۲) با نتایج پژوهش حاضر همسو هستند (۳۰، ۳۱). این پژوهشگران در پژوهش‌های خود نشان دادند که آسیب میتوکندریایی ناشی از مقاومت به انسولین، التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو؛ از طریق تنظیم کاهش‌ی محور PINK-1/پارکین، به عنوان محور کلیدی در میتوفاژی، منجر به تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد و تشدید اختلالات متابولیک در T2DM می‌گردد. از طرف دیگر، نتایج پژوهش‌های بهانسالی^۳ و دیگران (۲۰۱۷) و هی^۴ و دیگران (۲۰۲۰) با نتایج پژوهش حاضر ناهمسو است (۳۲، ۳۳). در پژوهش آن‌ها با استفاده از مدل‌های تجربی، نشان داده شد که میتوفاژی مختل شده در سلول‌های چربی در T2DM در قالب میتوفاژی بیش از حد^۵، باعث افزایش محتوای پروتئین PINK-1/پارکین می‌گردد و از این طریق، مسیرهای سیگنالینگ پیش‌التهابی را هدایت می‌کند و مقاومت به انسولین را تشدید می‌کند. T2DM با اختلالات متابولیکی مختلفی مرتبط است که می‌تواند به‌طور قابل توجهی

مقدار آن در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه‌های D+HIIT (۱۳/۵۱ درصد) و D+VD3 (۲۲/۷۶ درصد) مشاهده گردید ($p=0/001$).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه مربوط به مقایسه میانگین شاخص HOMA-IR نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=86/2$ ، $\eta^2=0/89$ ، $p=0/001$). به‌طوری که میانگین این شاخص در گروه DC به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه NC بود (۱۱۰ درصد، $p=0/001$). در حالی که در گروه‌های D+HIIT، D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC پایین‌تر بود (به‌ترتیب: ۶۶/۶۷، ۴۷/۹۲ و ۷۲/۹۲ درصد، $p=0/001$). همچنین، میانگین شاخص HOMA-IR در گروه D+HIIT و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه D+VD3 (به‌ترتیب: ۳۶ و ۴۸ درصد، $p=0/001$) پایین‌تر بود.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه مربوط به مقایسه میانگین ویتامین D3 سرمی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=114/3$ ، $\eta^2=0/84$ ، $p=0/003$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که میانگین ویتامین D3 سرمی در گروه DC نسبت به گروه NC به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود (۳۰/۸۶ درصد، $p=0/001$). در حالی که میانگین این شاخص در گروه‌های D+HIIT، D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (به‌ترتیب: ۸۴/۰۷، ۱۳۰/۸۱ و ۱۶۰/۸۸ درصد، $p=0/001$ برای تمامی مقایسه‌ها). همچنین، میانگین این شاخص در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه‌های D+HIIT (۴۱/۷۳ درصد، $p=0/008$) و D+VD3 (۱۳/۰۳ درصد، $p=0/004$) بالاتر بود.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه مربوط به مقایسه میانگین وزن نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود دارد ($F=265/6$ ، $\eta^2=0/94$ ، $p=0/001$). به‌طوری که این شاخص به‌طور معنی‌داری در گروه‌های D+HIIT+VD3 و D+VD3 نسبت به گروه DC پایین‌تر است (به ترتیب: ۱۳/۸۵، ۵/۸۰ و ۲۵/۳۱ درصد و $p=0/001$ برای تمام مقایسه‌ها). همچنین، میانگین وزن در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه‌های D+HIIT و گروه D+VD3 به‌طور معنی‌داری کمتر بود (به ترتیب: ۱۳/۳۱ و ۲۰/۷۲ درصد، $p=0/001$) و میانگین وزن در گروه D+HIIT نیز به‌طور

1. Apostolova

3. Bahansali

5. Excessive mitophagy

2. Ji

4. Hi

افزایش داد، بلکه باعث بهبود سطح گلوکز ناشتای سرمی، کاهش مقاومت به انسولین و افزایش سطح ویتامین D3 شد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعات گلپسندی و دیگران (۲۰۲۳) و لی و دیگران (۲۰۲۱) همسو است (۱۶، ۲۰، ۳۷). در مطالعه گلپسندی گزارش شده است که هشت هفته تمرین ورزشی مداومی با شدت متوسط با و بدون تزریق ویتامین D3، باعث کاهش معنی‌دار سطوح گلوکز ناشتا و بهبود مقاومت به انسولین در رت‌های مبتلا به T2DM می‌گردد. لی نیز در مطالعه خود نشان داد که تمرین ورزشی به‌طور قابل توجهی میتوفاژی را در بافت میوکارده، از طریق افزایش محور پارکین-1/PINK، پروتئین پنج حاوی دامنه نوع III فیبرونکتین^۱ (FNDC5) و آیریزین، در رت‌های مبتلا به نارسایی قلبی افزایش می‌دهد و با بهبود متابولیسم گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین همراه است. در پژوهش حاضر نشان داده شد که HIIT و تعامل آن با ویتامین D3 باعث کاهش معنی‌دار سطوح سرمی گلوکز و شاخص HOMA-IR گردید که با نتایج پژوهش باترسون^۲ و دیگران (۲۰۲۳) ناهمسو است (۳۸). از جمله دلایل این ناهمسوئی، احتمالاً بتوان به تفاوت در مدت پروتکل HIIT و نوع آزمودنی در مطالعه باترسون اشاره کرد؛ به‌طوری که در مطالعه آن‌ها، آزمودنی‌های انسان به مدت دو هفته HIIT را انجام دادند و تغییرات معنی‌داری در سطوح پارکین و PINK-1 مشاهده نشد. گزارش شده است که HIIT، بیوزنز میتوکندریایی را از طریق فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ وابسته به AMPK و هم‌فعال کننده گاما گیرنده فعال شده با تکثیر کننده پراکسی زوم ۱-آلفا^۳ (PGC-1α) تحریک می‌کند (۱۱). این مسیرها تولید میتوکندری‌های جدید و همچنین مکانیسم‌های کنترل کیفیت میتوکندری را تقویت می‌کنند. افزایش بیان این پروتئین‌ها نشان می‌دهد که HIIT توانایی سلول‌ها را برای حفظ میتوکندری سالم با حذف موثر میتوکندری‌های آسیب دیده افزایش می‌دهد. از طرفی، ویتامین D3 می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در عملکرد میتوکندری و اتوفاژی را از طریق نقش آن در هموستاز کلسیم و اثرات ضد التهابی تنظیم کند. ویتامین D3 با کاهش التهاب و تثبیت سطح کلسیم درون سلولی از عملکرد مناسب PINK-1 و پارکین پشتیبانی می‌کند و در

بر عملکرد سلولی، از جمله میتوفاژی (به عنوان فرآیندی حیاتی برای حفظ سلامت میتوکندری) تأثیر بگذارد (۳۴). میتوفاژی، تخریب انتخابی میتوکندری‌های آسیب دیده یا ناکارآمد از طریق مسیر اتوفاژی- لیزوزوم است که به جلوگیری از تجمع میتوکندری‌های معیوب کمک می‌کند و هموستاز انرژی سلولی را تضمین می‌نماید (۳۴). تعامل پروتئین‌های کلیدی درگیر در میتوفاژی از جمله پارکین و PINK-1، نقش مهمی در حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده ایفا می‌کنند (۳۵). در پژوهش حاضر، سطوح کاهش یافته سطح پارکین و PINK-1 ناشی از میتوفاژی مختل شده، احتمالاً منجر به تجمع میتوکندری‌های آسیب دیده می‌شود که به اختلال عملکرد سلولی و به‌طور بالقوه در ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی کمک می‌کند. از طرفی ارتباط بین T2DM و میتوفاژی می‌تواند از طریق هیپرگلیسمی و مقاومت به انسولین ایجاد شود، به‌طوری که هیپرگلیسمی مزمن، مقاومت به انسولین و دیس‌لیپیدمی ناشی از T2DM احتمالاً از طریق القای استرس اکسیداتیو و التهاب منجر به اختلالات متابولیک و در نهایت، اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود و در این صورت، نیاز به میتوفاژی کارآمد را افزایش می‌دهد (۳۳). در پژوهش حاضر، کاهش مشاهده شده در سطوح پارکین و PINK-1 در گروه DC نشان از آن دارد که T2DM، احتمالاً با رژیم غذایی پرچرب تشدید می‌شود و منجر به اختلال در میتوفاژی در بافت قلب می‌گردد. این اختلال می‌تواند به پیشرفت اختلال عملکرد قلبی مشاهده شده در کاردیومیوپاتی دیابتی کمک کند. ترکیبی از یک رژیم غذایی پرچرب و اختلالات متابولیکی T2DM یک شرایط خطرناک برای میتوکندری ایجاد می‌کند که اثربخشی میتوکندری را کاهش می‌دهد و منجر به تجمع میتوکندری‌های آسیب‌دیده می‌شود، روندی که ممکن است عملکرد قلب را بیشتر به خطر بیندازد (۳۶).

نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که هر دو مداخله HIIT و تزریق ویتامین D3، و اثرات ترکیبی آن‌ها، تأثیرات مفیدی بر پارامترهای مرتبط با شاخص گلیسیمیک شامل سطوح سرمی گلوکز و شاخص HOMA-IR در موش‌های القا شده به T2DM دارند. این مداخلات نه تنها محتوای پروتئین پارکین و PINK-1 را در بافت قلب

1. Fibronectin type III domain-containing protein 5

2. Batterson

3. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha

D3 در مقایسه با گروه DC، به طور قابل توجهی کاهش یافت. این احتمالاً نشان دهنده توانایی هر دو مداخله برای افزایش سیگنال‌دهی انسولین و کاهش مقاومت محیطی به انسولین است. تعامل HIIT و ویتامین D3 منجر به کاهش بیشتر شاخص مقاومت به انسولین در مقایسه با هر دو مداخله به تنهایی شد، هر چند که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تعامل HIIT+ و ویتامین D3 و گروه HIIT به تنهایی وجود نداشت. این نشان می‌دهد که هر چند هر دو مداخله به طور جداگانه حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشند، اما رویکرد ترکیبی (+HIIT) با تمركز بر جنبه‌های مختلف سیگنال‌دهی انسولین و تنظیم گلوکز، بیشتر بهینه کند (۲۲).

نتایج مرتبط با سطوح سرمی ویتامین D3 در پژوهش حاضر نشان داد که هر سه مداخله HIIT، تزریق ویتامین D3 و تعامل هر دو باعث افزایش قابل توجه سطوح سرمی ویتامین D3 گردید؛ اما این افزایش بر اثر مداخلات تزریق ویتامین D3 و تعامل آن با HIIT نسبت به HIIT تنها، بیشتر بود (به ترتیب با ۱۳۰/۸۱ و ۱۶۰/۸۸ درصد). همسو با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه وکیلی و دیگران (۲۰۲۲) نیز افزایش سطوح ویتامین D3 سرمی در افراد سالمند پس از هشت هفته پروتکل HIIT گزارش گردید. این در حالی است که در پژوهش حاضر، تفاوت معنی‌داری بین اثرگذاری تزریق ویتامین D3 و تعامل آن با HIIT در سطوح سرمی ویتامین D3 وجود نداشت. عدم وجود تفاوت قابل توجهی بین گروه ویتامین D3 و گروه ترکیبی نشان می‌دهد که در حالی که HIIT ممکن است متابولیسم یا جذب ویتامین D3 را افزایش دهد، اما محرک اصلی افزایش سطح ویتامین D3 خود مکمل‌سازی آن است. این یافته‌ها اهمیت مکمل‌سازی ویتامین D3 را در کنترل دیابت، به‌ویژه زمانی که با HIIT ترکیب می‌شود، تقویت می‌کند که ممکن است متابولیسم ویتامین D3 را بیشتر حمایت کند (۴۱).

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش حاضر، بهبود TTE در گروه‌های D+HIIT و تعامل HIIT+VD3 بود؛ در حالی که تفاوت معنی‌داری در گروه D+VD3 مشاهده نگردید. این یافته همسو با تحقیقات قبلی است که نشان می‌دهد HIIT می‌تواند عملکرد میتوکندری و کارایی انرژی را افزایش

نتیجه، میتوفاژی را افزایش می‌دهد (۳۹). HIIT و ویتامین D3، هر دو، احتمالاً از طریق تقویت دفاع ضداکسایشی و کاهش استرس اکسیداتیو کمتر، آسیب میتوکندری را کاهش می‌دهد و منجر به فرآیند میتوفاژی موثرتر می‌شوند (۴۰). با این حال، تنظیم مثبت PINK-1 و پارکین احتمالاً نشان دهنده نیاز به کنترل گردش میتوکندری در پاسخ به استرس ناشی از ورزش و افزایش اثربخشی میتوفاژی می‌باشد. با این حال، تقویت هم افزایش کنترل کیفیت میتوکندری ناشی از تعامل HIIT و ویتامین D3، با هم شرایطی را برای میتوفاژی مؤثر ایجاد می‌کند که منجر به افزایش سطح پارکین و PINK-1 می‌شود. در مدل القای T2DM ناشی از رژیم غذایی پرچرب و استرپتوزوتوسین در پژوهش حاضر، بافت قلب احتمالاً به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب و اختلال در سیگنال‌دهی انسولین، به ویژه در برابر اختلال عملکرد میتوکندری آسیب پذیر شده و این عوامل می‌توانند به اختلال در میتوفاژی کمک کنند و منجر به تجمع میتوکندری‌های آسیب دیده گردند و این می‌تواند اختلال عملکرد قلب را تشدید کند (۴۱).

در هر دو گروه مداخله HIIT و ویتامین D3، کاهش قابل توجهی در سطح گلوکز سرم در مقایسه با گروه DC مشاهده شد که بر اثربخشی هر مداخله در تنظیم سطح گلوکز خون تأکید می‌کند. این یافته با تحقیقات موجود مطابقت دارد که نشان می‌دهد هم HIIT و هم ویتامین D3 با افزایش حساسیت به انسولین و جذب گلوکز در عضلات اسکلتی، متابولیسم گلوکز را بهبود می‌بخشد (۲۲). در پژوهش دیگری نیز گزارش شده که هشت هفته HIIT به همراه مکمل‌سازی ویتامین D3، باعث بهبود سطوح سرمی گلوکز در مردان بزرگسال می‌گردد (۴۲). ترکیب HIIT و ویتامین D3 بیشترین کاهش را در سطح گلوکز سرم ایجاد کرد که نشان می‌دهد مداخله دوگانه می‌تواند اثرات تکمیلی بر هموستاز گلوکز داشته باشد. HIIT احتمالاً جذب گلوکز توسط عضله را از طریق مسیرهای مستقل از انسولین افزایش می‌دهد، در حالی که ویتامین D3 ممکن است حساسیت به انسولین را از طریق خواص ضد التهابی خود بهبود بخشد. از این‌رو، ترکیب مداخله HIIT و VD3 اثرات هم‌افزایی در بهبود متابولیسم گلوکز ایجاد می‌کند (۲۲). مشابه سطح گلوکز سرمی، شاخص مقاومت به انسولین نیز در هر دو گروه HIIT و ویتامین

و ویتامین D3 منجر به کاهش قابل توجه سطح گلوکز سرم و مقاومت به انسولین و نیز افزایش ظرفیت هوازی شد. به طور کلی، یافته‌ها نشان می‌دهند که اگرچه T2DM مسیره‌های میتوکندریایی قلب را مختل می‌کند، اما هر دو مداخله ورزشی و مکمل‌یاری - به ویژه در قالب ترکیبی - قادر به بازگرداندن عملکرد این مسیره‌ها و بهبود شاخص‌های متابولیک هستند. این نتایج بر برتری رویکرد ترکیبی ورزش و مکمل‌یاری در مقابله با عوارض قلبی-متابولیک ناشی از دیابت تأکید می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

مقاله مذکور مستخرج از طرح پژوهشگر پسادکتری می‌باشد، بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را از معاونت محترم پژوهش، تحقیقات و فناوری دانشگاه کردستان جهت تصویب طرح اعلام می‌نمایند. لازم به ذکر می‌باشد که پژوهش حاضر هیچ‌گونه حمایت مالی از سازمان خاصی دریافت نکرده است.

داده و به ظرفیت هوازی بیشتر کمک کند (۴۳). آلدکویرا و دیگران (۲۰۲۰)، نیز در مطالعه خود نشان دادند که ۱۲ هفته مکمل‌سازی ویتامین D3، باعث افزایش حداکثر سرعت دویدن در موش‌های تغذیه شده با HFD گردید (۴۴). عدم تغییرات معنی‌دار در TTE در گروه D+VD3 نیز احتمالاً نشان می‌دهد که افزودن ویتامین D3 ممکن است مستقیماً بر ظرفیت هوازی تأثیر نداشته باشد، اما مزایای متابولیک را بهبود می‌بخشد (۴۵). اهمیت ویتامین D3 در تنظیم متابولیک و حساسیت به انسولین به خوبی شناخته شده است؛ با این حال، به نظر می‌رسد مشارکت آن در افزایش عملکرد ورزشی، یک نقش ثانویه در مقایسه با اثرات مستقیم فعالیت ورزشی است (۱۶).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با القای T2DM، سطوح پروتئین‌های پارکین و PINK1 در بافت قلب به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. در مقابل، مداخله HIIT و تزریق ویتامین D3، چه به صورت جداگانه و چه ترکیبی، توانستند محتوای این پروتئین‌های کلیدی را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند. همچنین، مداخله ترکیبی HIIT

منابع

1. Wondmkun YT. Obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes: associations and therapeutic implications. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*. 2020;3611-6. <https://doi.org/10.2147/dmso.s275898>
2. Andreadi A, Bellia A, Di Daniele N, Meloni M, Lauro R, Della-Morte D, et al. The molecular link between oxidative stress, insulin resistance, and type 2 diabetes: A target for new therapies against cardiovascular diseases. *Current Opinion in Pharmacology*. 2022;62:85-96. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.11.010>
3. Sangwung P, Petersen KF, Shulman GI, Knowles JW. Mitochondrial dysfunction, insulin resistance, and potential genetic implications: potential role of alterations in mitochondrial function in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocrinology*. 2020;161(4):bqaa017. <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa017>
4. Federico M, De la Fuente S, Palomeque J, Sheu SS. The role of mitochondria in metabolic disease: a special emphasis on heart dysfunction. *The Journal of Physiology*. 2021;599(14):3477-93. <https://doi.org/10.1113/jp279376>
5. Ajoolabady A, Chiong M, Lavandero S, Klionsky DJ, Ren J. Mitophagy in cardiovascular diseases: molecular mechanisms, pathogenesis, and treatment. *Trends in Molecular Medicine*. 2022;28(10):836-49. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.06.007>
6. Wu Y, Jiang T, Hua J, Xiong Z, Dai K, Chen H, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in cardiovascular disease: From pathogenesis to novel therapy. *International Journal of Cardiology*. 2022;361:61-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2022.06.007>

ijcard.2022.05.025

7. Balducci S, Sacchetti M, Haxhi J, Orlando G, D'Errico V, Fallucca S, et al. Physical exercise as therapy for type 2 diabetes mellitus. *Diabetes/metabolism Research and Reviews*. 2014;30(S1):13-23. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2514>
8. Atakan MM, Li Y, Koşar ŞN, Turnagöl HH, Yan X. Evidence-based effects of high-intensity interval training on exercise capacity and health: A review with historical perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021;18(13):7201. <https://doi.org/10.3390/ijerph18137201>
9. Noori Mofrad SR, Golpasandi H, Sakhaei MH, Khalafi M. The effect of high intensity interval training on inflammatory markers in patient with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2022;9(2):123-37. <https://doi.org/10.22049/jahssp.2022.27922.1487>
10. 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. <https://doi.org/10.34785/J019.2022.002>
11. Little JP, Safdar A, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 α and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2011;300(6):R1303-R10. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00538.2010>
12. Pan T, Ji M, Jiao J, Yin F, Qin C, Yang T. Effects of exhaustive exercise and contusion on autophagy-related factors in skeletal muscle of rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2021;27(6):563-7. https://doi.org/10.1590/1517-8692202127062020_0022
13. Li H, Qin S, Liang Q, Xi Y, Bo W, Cai M, et al. Exercise training enhances myocardial mitophagy and improves cardiac function via Irisin/FNDC5-PINK1/Parkin pathway in MI mice. *Biomedicines*. 2021;9(6):701. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060701>
14. Ebadi B, Naderi N, Darbandi Azar A, Damirchi A. Interval intensity Exercise improves the levels of Mitophagy-related proteins and ROS in rats with myocardial infarction. *Journal of Exercise and Health Science*. 2021;1(2):19-34. <https://doi.org/10.22089/jehs.2021.9615.1012>
15. de la Guía-Galipienso F, Martínez-Ferran M, Vallecillo N, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F, Pareja-Galeano H. Vitamin D and cardiovascular health. *Clinical Nutrition*. 2021;40(5):2946-57. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.12.025>
16. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S, Lubkowska B, Cieszczyk P. Effects of vitamin D3 supplementation and aerobic training on autophagy signaling proteins in a rat model type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. *Nutrients*. 2023;15(18):4024. <https://doi.org/10.3390/nu15184024>
17. Delrue C, Speeckaert MM. Vitamin D and vitamin D-binding protein in health and disease. *MDPI*; 2023. 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms24054642>
18. Yuan Y, Das SK, Li M. Vitamin D ameliorates impaired wound healing in streptozotocin-induced diabetic mice by suppressing NF-KB-mediated inflammatory genes. *Bioscience Reports*. 2018;38(2):BSR20171294. <https://doi.org/10.1042/bsr20171294>

19. Shahidi S, Ramezani-Aliakbari K, Komaki A, Salehi I, Hashemi S, Asl SS, et al. Effect of vitamin D on cardiac hypertrophy in D-galactose-induced aging model through cardiac mitophagy. *Molecular Biology Reports*. 2023;50(12):10147-55. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08875-7>
20. Lee T-L, Lee M-H, Chen Y-C, Lee Y-C, Lai T-C, Lin HY-H, et al. Vitamin D attenuates ischemia/reperfusion-induced cardiac injury by reducing mitochondrial fission and mitophagy. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:604700. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.604700>
21. Dalirani M, Gaeini AA, Kordi M. Investigating the effect of vitamin D and calcium supplementation along with high-intensity circuit training on lipid profile and body fat in overweight elderly. *Internal Medicine Today*. 2022;28(4):478-97. <http://dx.doi.org/10.32598/hms.28.4.3855.1>
22. Lithgow HM, Florida-James G, Leggate M. The combined effect of high-intensity intermittent training and vitamin D supplementation on glycemic control in overweight and obese adults. *Physiological Reports*. 2018;6(9):e13684. <https://doi.org/10.14814/phy2.13684>
23. Urbaniak G, Plous S. Research Randomizer (Version 4.0). 2015. [Computer software], randomizer org/ Accessed May. 2017;19. <https://www.randomizer.org/>
24. 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. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2019.10.005>
25. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2017;125(09):583-91. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1569332>
26. 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. <https://doi.org/10.1152/jappl.1979.47.6.1278>
27. Lu K, Wang L, Wang C, Yang Y, Hu D, Ding R. Effects of high-intensity interval versus continuous moderate-intensity aerobic exercise on apoptosis, oxidative stress and metabolism of the infarcted myocardium in a rat model. *Molecular Medicine Reports*. 2015;12(2):2374-82. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3669>
28. Mehdipoor M, Damirchi A, Razavi Tousi SMT, Babaei P. Concurrent vitamin D supplementation and exercise training improve cardiac fibrosis via TGF- β /Smad signaling in myocardial infarction model of rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2021;77(1):75-84. <https://doi.org/10.1007/s13105-020-00778-6>
29. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 2016;60:138-42. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000169>
30. 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. <https://doi.org/10.1089/ars.2023.39.4.278>

[org/10.1089/ars.2022.0016](https://doi.org/10.1089/ars.2022.0016)

31. Ji Y, Leng Y, Lei S, Qiu Z, Ming H, Zhang Y, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorates myocardial ischemia–reperfusion injury by enhancing PINK1/Parkin-mediated mitophagy in type 2 diabetic rats. *Cell Stress and Chaperones*. 2022;27(4):353-67. <https://doi.org/10.1007/s12192-022-01273-1>
32. Bhansali S, Bhansali A, Walia R, Saikia UN, Dhawan V. Alterations in mitochondrial oxidative stress and mitophagy in subjects with prediabetes and type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Endocrinology*. 2017;8:347. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00347>
33. He F, Huang Y, Song Z, Zhou HJ, Zhang H, Perry RJ, et al. Mitophagy-mediated adipose inflammation contributes to type 2 diabetes with hepatic insulin resistance. *Journal of Experimental Medicine*. 2020;218(3):e20201416. <https://doi.org/10.1084/jem.20201416>
34. Shan Z, Fa WH, Tian CR, Yuan CS, Jie N. Mitophagy and mitochondrial dynamics in type 2 diabetes mellitus treatment. *Aging (Albany NY)*. 2022;14(6):2902. <https://doi.org/10.18632/aging.203969>
35. Iorio R, Celenza G, Petricca S. Mitophagy: molecular mechanisms, new concepts on parkin activation and the emerging role of AMPK/ULK1 axis. *Cells*. 2021;11(1):30. <https://doi.org/10.3390/cells11010030>
36. Cioffi F, Giacco A, Petito G, de Matteis R, Senese R, Lombardi A, et al. Altered mitochondrial quality control in rats with metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) induced by high-fat feeding. *Genes*. 2022;13(2):315. <https://doi.org/10.3390/genes13020315>
37. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S. The interactive effect of eight weeks of aerobic training and vitamin D3 supplementation on cardiac Irisin protein levels, insulin resistance and lipid profile in rats induced with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2023;23(5):327-337. [In Persian]. <http://ijdlld.tums.ac.ir/article-1-6251-en.html>.
38. 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. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00467.2022>
39. García-García FJ, Monistrol-Mula A, Cardellach F, Garrabou G. Nutrition, bioenergetics, and metabolic syndrome. *Nutrients*. 2020;12(9):2785. <https://doi.org/10.3390/nu12092785>
40. Mirghani SJ, Peeri M, Yekani OY, Zamani M, Feizolahi F, Nikbin S, et al. Role or synergistic interaction of adenosine and vitamin D3 alongside high-intensity interval training and isocaloric moderate intensity training on metabolic parameters: Protocol for an Experimental Study. *JMIR Research Protocols*. 2019;8(1):e10753. <https://doi.org/10.2196/10753>
41. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S. The interactive effect of eight weeks of aerobic training and vitamin D3 supplementation on cardiac irisin protein levels, insulin resistance and lipid profile in rats induced with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2023. <http://ijdlld.tums.ac.ir/article-1-6251-en.html>
42. Sheikholeslami-Vatani D, Rostamzadeh N. Changes in appetite-dependent hormones and body composition after 8 weeks of high-intensity interval training and vitamin D supplementation in sedentary overweight men. *Frontiers in Nutrition*. 2022;9:827630. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.827630>

43. Yue T, Wang Y, Liu H, Kong Z, Qi F. Effects of high-intensity interval vs. moderate-intensity continuous training on cardiac rehabilitation in patients with cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:845225. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.845225>
44. Aldekwer S, Desiderio A, Farges M-C, Rougé S, Le Naour A, Le Guennec D, et al. Vitamin D supplementation associated with physical exercise promotes a tolerogenic immune environment without effect on mammary tumour growth in C57BL/6 mice. *European Journal of Nutrition*. 2021;60(5):2521-35. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02420-z>
45. Farag HAM, Hosseinzadeh-Attar MJ, Muhammad BA, Esmailzadeh A, Bilbeisi AHE. Comparative effects of vitamin D and vitamin C supplementations with and without endurance physical activity on metabolic syndrome patients: a randomized controlled trial. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2018;10(1):80. <https://doi.org/10.1186/s13098-018-0384-8>

