

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

Hadi Golpasandi¹, Mohammad Rahman Rahimi^{1*}

Receive 2024 August 15 ;Accepted 2024 November 06

Abstract

Aim: Excessive autophagy, together with inflammation, is a key pathological feature contributing to cardiac dysfunction in type 2 diabetes (T2D). This study aimed to investigate the effects of high-intensity interval training (HIIT) with vitamin D3 supplementation on inflammation and autophagy in heart tissue of T2D-induced rats. **Methods:** Forty male Wistar rats were induced to T2D through a combination of high-fat diet and low-dose streptozotocin (STZ) injection. After the induction of T2D, the animals were divided into four groups (N=8): Normal control, diabetes control, diabetes + HIIT, diabetes + vitamin D3 and diabetes + HIIT and vitamin D3. The HIIT protocol was performed for eight weeks, 3 sessions per week, with an intensity of 90-85% of maximum running speed through treadmill running. Vitamin D3 (0.25 mg.kg⁻¹) was injected weekly. At the end of the intervention period, heart tissue was evaluated for the content of autophagy marker ULK-1, inflammatory markers NF-κB and interleukin-6 (IL-6), and serum glucose levels and insulin resistance index. **Results:** The results showed that T2D significantly increases the levels of ULK-1, NF-κB and IL-6 in heart tissue, which indicates excessive autophagy and inflammation (P=0.001). However, eight weeks of HIIT, with or without vitamin D3 supplementation, significantly reduced these markers (P=0.001). Notably, the combination of HIIT and vitamin D3 injection showed the greatest reduction in autophagy and inflammation markers. Also, these interventions improved serum glucose levels and insulin resistance (P=0.001). **Conclusions:** A combination of HIIT and vitamin D3 injection effectively reduces inflammation and excessive autophagy in cardiac tissue of T2D rats and suggests a potential therapeutic strategy to prevent cardiovascular complications in T2D patients.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

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

*(corresponding author)

(r.rahimi@uok.ac.ir)

Keywords: Ulk1 protein, NF-kappa B, Autophagy, HIIT, Type 2 diabetes.

Cite as: Golpasandi, Hadi. Rahimi, Mohammad Rahman. 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. Applied Health Studies in Sport Physiology. ????; ?(In press): ?-?.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/jahssp.2024.29952.1679



Extended abstract

Background

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is closely associated with increased inflammation and cellular stress, particularly in cardiac tissue, where excessive autophagy may contribute to heart dysfunction. Autophagy, a key cellular process that maintains homeostasis by degrading and recycling cellular components, becomes dysregulated in the diabetic state, leading to excessive degradation and inflammation. As a result, markers such as ULK-1, which are associated with autophagy pathways, are elevated, contributing to tissue damage in the diabetic heart. Therapeutic approaches aimed at reducing excessive autophagy and controlling inflammation are of increasing interest for improving cardiac health in T2DM.

This study aims to evaluate the effects of high-intensity interval training (HIIT) combined with vitamin D3 supplementation on autophagy-related inflammation in the cardiac tissue of type 2 diabetic rats. By targeting key signaling proteins and inflammation markers, this research explores whether these interventions can potentially restore balance in autophagic processes, thereby improving cardiac health.

Materials and Methods

This experimental study involved 32 male Wistar rats. Type 2 diabetes was induced through a six-week high-fat diet (HFD) followed by a single subcutaneous injection of streptozotocin (STZ) at 35 mg/kg.

Experimental design

Rats with fasting blood glucose levels above 300 mg/dL were classified as diabetic and were randomly assigned to one of four groups: (1) Normal Control (NC), (2) diabetic control (DC), (3) diabetes + HIIT training (D+HIIT), (4) diabetes + vitamin D3 (DVD3), and (5) diabetes + HIIT + vitamin D3 (DTV3).

HIIT Protocol and Vitamin D3 Supplementation:

HIIT was conducted five times weekly for eight weeks, with training intensity set at 85-95% of the rats' maximum running speed, calculated as the velocity corresponding to 85-90% of Vmax. In parallel, rats in the DV and DTV groups received weekly subcutaneous injections of vitamin D3 (10000 IU/kg) prepared by diluting 10,000 IU/kg extracted from a 300,000 IU/kg ampoule with 5 cc of sesame oil.

Sample Collection and Analysis

Twenty-four hours after the last intervention, rats were anesthetized, and left ventricle tissue samples were collected and homogenized for analysis. Proteins were separated via SDS-PAGE and transferred to PVDF membranes for immunoblotting. Primary antibodies against ULK-1, NF- κ B and IL-6 were used to assess autophagy and inflammation markers. Serum glucose and insulin levels were measured to assess glycemic status, and plasma was analyzed for lipid and vitamin D3 levels.

Statistical analysis

Data were analyzed using descriptive statistics, including mean, standard deviation, and mean percentage change. A Shapiro-Wilk test assessed normality, and one-way ANOVA with Bonferroni's post hoc test identified significant differences between groups. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

Blood Glucose, Insulin, and Lipid Profiles

The induction of diabetes resulted in a significant increase in fasting glucose and insulin levels in the DC group. HIIT training and vitamin D3 supplementation led to a significant reduction in these levels, with the DTV group showing the most pronounced effects. The combined intervention group also displayed improved lipid profiles, with reduced serum cholesterol and triglyceride levels compared to the DC and single-intervention groups.

Cardiac Autophagy and Inflammatory Markers

The DC group exhibited elevated levels of autophagy markers ULK-1 in the left ventricle, indicating excessive autophagy and associated inflammation in diabetic heart tissue ($P < 0.05$). These increases in autophagy markers suggest an upregulation of cellular degradation processes that may lead to compromised cardiac function due to chronic inflammation which was identified through high levels of IL-6 and NF- κ B ($P < 0.05$).

Rats in the D+HIIT and D+VD3 groups exhibited moderate reductions in ULK-1, IL-6 and NF-kb levels ($P<0.05$). However, the DTV group demonstrated the most substantial decrease in these autophagy markers, indicating that combining HIIT with vitamin D3 supplementation has a synergistic effect in reducing excessive autophagy ($P<0.05$).

Time to Fatigue Indicators

This study demonstrates that HIIT combined with vitamin D3 injection can significantly mitigate autophagy-related inflammation in the cardiac tissue of type 2 diabetic rats. The interventions notably reduce levels of Beclin-1, Fyco-1, and cathepsin D, markers of excessive autophagy, while upregulating mTOR signaling, which helps control autophagic processes. These changes correspond with improvements in glycemic control, and cardiac function indicators, such as time to fatigue (TTE), suggesting enhanced resilience of cardiac tissue under diabetic conditions. The findings indicate that combining HIIT with vitamin D3 may offer a promising approach for managing cardiac health in individuals with T2DM by addressing underlying autophagy dysregulation and reducing inflammatory damage in heart tissue.

Discussion

In summary, the study's findings highlight that both HIIT and vitamin D3 independently reduce autophagy-related inflammation in the cardiac tissue of diabetic rats, but the combination of both interventions produces the most significant results. By modulating autophagy markers, the combined treatment appears to offer improved outcomes in glycemic control and cardiac function.

This study demonstrates that HIIT combined with vitamin D3 injection can significantly mitigate autophagy-related inflammation in the cardiac tissue of type 2 diabetic rats. The interventions notably reduce levels of ULK-1, markers of excessive autophagy, while down-regulation IL-6 and NF-kb signaling, which helps control autophagic processes. These changes correspond with improvements in glycemic control, lipid profiles, and cardiac function indicators, such as time to fatigue, suggesting enhanced resilience of cardiac tissue under diabetic conditions. The findings indicate that combining HIIT with vitamin D3 may offer a promising approach for managing cardiac health in individuals with T2DM by addressing underlying autophagy dysregulation and reducing inflammatory damage in heart tissue.

Article message

This study suggests that combining HIIT with vitamin D3 injection may effectively reduce excessive autophagy and inflammation in the cardiac tissue of type 2 diabetic rats. By rebalancing autophagic processes through autophagy down-regulation, this combined intervention appears to mitigate cellular damage, enhance cardiac endurance, and improve overall cardiac health under diabetic conditions. These findings underscore the potential benefits of lifestyle and nutritional interventions in managing heart complications associated with diabetes, offering a complementary strategy to conventional diabetes treatments and highlighting a novel approach for reducing autophagy-induced inflammation in the heart.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال دوازدهم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱۴۰۴؛ صفحات ۷۴-۶۱

Open Access

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرینات تناوبی شدید به همراه تزریق ویتامین دی ۳ بر التهاب ناشی از اتوفآژی بیش از حد در بافت قلب موش های دیابتی نوع ۲

هادی گلپسندی^۱، محمد رحمان رحیمی^{*۱}

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۵

چکیده

هدف: اتوفآژی بیش از حد، همراه با التهاب، یک ویژگی پاتولوژیک کلیدی است که در اختلال عملکرد قلبی در دیابت نوع ۲ (T2D) دخیل است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) همراه با مکمل ویتامین ۳ بر التهاب و اتوفآژی در بافت قلب رت های صحرایی القا شده با T2D انجام شد. **روش پژوهش:** چهل سر رت نر نژاد ویستار از طریق ترکیبی از رژیم غذایی پرچرب و تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز پایین به T2D القا شدند سپس حیوانات به چهار گروه (۸ سر) کنترل سالم، کنترل دیابت، دیابت + HIIT، دیابت + ویتامین ۳ و دیابت + HIIT و ویتامین ۳ تقسیم شدند. پروتکل HIIT برای هشت هفته، ۳ جلسه در هفته، با شدت ۸۵-۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن از طریق دویدن روی تردمیل اجرا شد. ویتامین ۳ (۰/۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت هفتگی تزریق شد. در پایان دوره مداخلات، بافت قلب از نظر محتوای نشانگر اتوفآژی ULK-1، نشانگرهای التهابی NF-kB و اینترلوکین-۶ (IL-6)، و سطوح سرمی گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین مورد بررسی قرار گرفت. **یافته ها:** نتایج نشان داد که T2D به طور قابل توجهی سطوح ULK-1، NF-kB و IL-6 را در بافت قلب افزایش می دهد، که نشان دهنده اتوفآژی بیش از حد است ($P=0/001$). با این حال، هشت هفته HIIT، چه با مکمل و چه بدون مکمل ویتامین ۳، به طور قابل توجهی این نشانگرها را کاهش داد ($P=0/001$). قابل ذکر است، ترکیب HIIT و تزریق ویتامین ۳ بیشترین کاهش را در نشانگرهای اتوفآژی و التهاب نشان داد. همچنین، این مداخلات سطح سرمی گلوکز و مقاومت به انسولین را بهبود بخشید ($P=0/001$). **نتیجه گیری:** ترکیبی از HIIT و تزریق ویتامین ۳ به طور موثر التهاب و اتوفآژی بیش از حد در بافت قلبی رت های T2D را کاهش می دهد و یک استراتژی درمانی بالقوه برای جلوگیری از عوارض قلبی عروقی در بیماران T2D را پیشنهاد می کند.

واژه های کلیدی: ULK-1، NF-kB، اتوفآژی، HIIT، دیابت نوع ۲.

نحوه ارجاع: گلپسندی، هادی، رحیمی، محمد رحمان. "تأثیر تمرینات تناوبی شدید به همراه تزریق ویتامین دی ۳ بر التهاب ناشی از اتوفآژی بیش از حد در بافت قلب موش های دیابتی نوع ۲". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۴: ۱۲ (۲)، ۷۴-۶۱.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/jahssp.2024.29952.1679



با اسکن QR فوق می توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید.

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم

انسانی و اجتماعی، دانشگاه کردستان،

سنندج، ایران.

(نویسنده مسئول):

(r.rahimi@uok.ac.ir)

مقدمه

دیابت نوع ۲ (T2DM) یک اختلال متابولیک شایع است که با هیپرگلیسمی مزمن ناشی از مقاومت به انسولین و اختلال عملکرد سلول‌های β پانکراس مشخص می‌شود. پاتوفیزیولوژی T2DM شامل تعامل پیچیده‌ای از عوامل ژنتیکی، محیطی و شیوه زندگی است که منجر به عوارض شدیدی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، نوروپاتی و نفروپاتی می‌شود. در میان این عوارض، قلب به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، که در شرایطی مانند کاردیومیوپاتی دیابتی، که تا حدودی ناشی از افزایش اتوفژی و التهاب است، ظاهر می‌شود (۱، ۲).

اتوفژی، یک فرآیند تخریب و بازیافت سلولی، برای حفظ هموستاز سلولی بسیار مهم است. با این حال، اتوفژی بیش از حد می‌تواند منجر به مرگ سلولی اتوفژیک شود و در پیشرفت بیماری‌های مختلف، از جمله T2DM نقش دارد. پروتئین ULK-1^۲ یک تنظیم کننده کلیدی شروع اتوفژی است و تنظیم مثبت آن در شرایط دیابتی مشاهده شده است که به افزایش فعالیت اتوفژی در بافت قلب کمک می‌کند (۳).

اتوفژی و التهاب ارتباط پیچیده‌ای دارند، زیرا اتوفژی بیش از حد می‌تواند منجر به مرگ سلول‌های اتوفژیک شود که باعث پاسخ‌های التهابی می‌شود، در حالی که التهاب مزمن می‌تواند باعث اختلال بیشتر در فرآیندهای اتوفژی، تشدید آسیب بافتی و کمک به پاتوژن بیماری‌های مختلف، از جمله اختلالات متابولیک و قلبی عروقی شود (۴). از طرفی، التهاب نقش مهمی در پاتوژن T2DM و عوارض آن دارد. فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF- κ B) و اینترلوکین-۶ (IL-6) واسطه‌های حیاتی پاسخ التهابی هستند و نشان داده شده است که در شرایط دیابتی افزایش یافته و آسیب بافتی و مقاومت به انسولین را تشدید می‌کنند (۵). با این حال، هدف قرار دادن این مسیرهای التهابی به عنوان یک فرصت درمانی برای کاهش اثرات مضر T2DM بر قلب می‌تواند موثر باشد.

تمرین ورزشی هوازی به دلیل مزایای آن در بهبود سلامت متابولیک، افزایش حساسیت به انسولین و کاهش التهاب به خوبی مستند شده است. علاوه بر این، مشاهده شده است که ویتامین د۳ به عنوان یک تنظیم کننده بالقوه هم برای اتوفژی و هم التهاب عمل می‌کند و شواهدی نیز در رابطه با اثرات مفید آن در کاهش خطر و پیشرفت عوارض مربوط به T2DM وجود دارد. تمرین تناوبی با شدت بالا^۳ (HIIT) به دلیل اثربخشی آن در بهبود سلامت متابولیک، افزایش حساسیت به انسولین و کاهش التهاب توجهات زیادی را به خود جلب کرده است (۶). HIIT شامل دوره‌های کوتاه تمرین شدید همراه با دوره‌های ریکاوری یا استراحت با شدت کم است (۷). نشان داده شده است که این شکل از تمرین سازگاری‌های قلبی عروقی و متابولیکی قابل توجهی را القا می‌کند و به ویژه برای افراد مبتلا به اختلالات متابولیک مانند T2DM مفید است (۸).

مطالعات نشان داده‌اند که HIIT می‌تواند به طور موثر توده چربی را کاهش دهد، متابولیسم گلوکز را بهبود بخشد و نشانگرهای التهابی را کاهش دهد و در نتیجه به نتایج کلی سلامت بهتر در بیماران دیابتی کمک کند (۹). علاوه بر این، ویتامین د۳ به عنوان یک تنظیم کننده بالقوه برای اتوفژی و التهاب ظاهر شده است، با شواهدی که نشان می‌دهد اثرات مفید آن در کاهش خطر و پیشرفت عوارض مربوط به T2DM وجود دارد. مکمل ویتامین د۳ با بهبود حساسیت به انسولین و کاهش پاسخ‌های التهابی مرتبط است و از نقش آن به عنوان یک مکمل درمانی در مدیریت دیابت حمایت می‌کند (۱۰). نشان داده شده است که ویتامین د۳ با تنظیم فعالیت پروتئین‌های مربوط به اتوفژی، اتوفژی را تنظیم می‌کند و در نتیجه به هموستاز سلولی کمک می‌کند و خطر بیماری‌های مربوط به اتوفژی را کاهش می‌دهد (۱۱). اثر ترکیبی ویتامین د۳ و تمرین ورزشی به طور هم افزایی باعث افزایش اتوفژی، بهبود سلامت سلولی و به طور بالقوه کاهش اختلالات مربوط به اتوفژی می‌شود (۱۲). از طرفی اخیراً گزارش شده است که ترکیب تمرین هوازی مداومی با شدت متوسط به همراه مکمل سازی ویتامین د۳ باعث کاهش سطوح مارکرهای پروتئینی اتوفژی از جمله ULK-1 و بکلین-۱ در رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ گردید (۱۲) که این با کاهش آپوپتوز همراه بود (۱۳). در یک مطالعه تصادفی کنترل شده نشان داده شد که ترکیب تمرین HIIT به همراه مکمل سازی ویتامین د۳ باعث کاهش مارکرهای التهابی در زنان با سطوح کم ویتامین د۳ گردید (۱۴). با این حال تحقیقات محدودی به اثرات تعاملی تمرینات HIIT به همراه تزریق ویتامین د۳ بر تنظیم اتوفژی پرداخته‌اند. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ترکیبی HIIT و ویتامین د۳ بر محتوای پروتئین ULK-1، NF- κ B، و IL-6 در بافت قلبی رت‌های صحرایی ناشی از T2DM انجام شد. با بررسی این مکانیسم‌ها، پژوهش ما به دنبال ارائه بینشی در مورد استراتژی‌های درمانی بالقوه برای کنترل T2DM و عوارض مرتبط با آن است.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی، پس آزمون با گروه کنترل و تایید شده توسط کمیته تحقیقات حیوانی دانشگاه کردستان (کد تایید: IR.UOK.REC.1400.015) بود. تعداد چهل سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۲۰ گرم و میانگین سن ۶ هفته از انستیتو پاستور کرج تهیه و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه کردستان نگهداری شدند. موش‌ها در قفس‌های شفاف پلی کربنات تحت دمای کنترل شده (۲۲±۲ درجه سانتی گراد) با چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب نگهداری شدند. همه رویه‌ها شامل مراقبت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی براساس راهنمایی‌های کار با حیوانات ARRIVE 2.0 انجام

³. High intensity interval training¹. Type 2 diabetes mellitus² Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1

بار تکرار شد (در مجموع ۴۹ دقیقه تمرین). قبل و بعد از جلسه تمرین، ۵ دقیقه گرم شدن و سرد شدن با ۴۰ درصد حداکثر سرعت دویدن اعمال شد (جدول ۱) (۱۸).

تزریق ویتامین ۳د

برای فرآیند تزریق ویتامین ۳د، به گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین ۳د (دیابت+ ویتامین ۳د و دیابت+ تمرین HIIT+ ویتامین ۳د) با دوز ۱۰۰۰۰ kg/IU معادل ۰/۲۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم (از شرکت کاسپین تامین در رشت) با روغن کنجد رقیق شد و از طریق زیر جلدی تزریق گردید (۱۹). این روند یک بار در هفته (آخر هر هفته، صبح‌ها) به مدت هشت هفته انجام شد.

فرآیند بیهوش سازی حیوانات

۲۴ ساعت پس از مداخلات تحقیقاتی شامل تزریق ویتامین ۳د و تمرین HIIT، موش‌ها با تزریق زیر جلدی ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین بیهوش شدند. پس از تزریق، هر موش به مدت ۱۰ دقیقه در محیطی آرام و بدون استرس رها شد تا از بیهوشی کامل اطمینان حاصل شود. پس از اطمینان از بیهوشی حیوانات، قفسه‌ی سینه موش‌ها شکافته شده و خون به‌طور مستقیم از قلب آن‌ها گرفته شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا پلاسما جدا شود، سپس پلاسما در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری سطح گلوکز و انسولین سرم نگهداری شد.

بافت برداری قلب و اندازه‌گیری محتوای پروتئینی

بافت قلب ابتدا استخراج و در نیتروژن مایع همگن شد و سپس پروتئین با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-PAGE جدا شد. پروتئین‌های جدا شده روی غشای پلی وینیلیدین دی فلوراید (PVDF) منتقل شدند. برای جلوگیری از اتصال غیر اختصاصی، غشاهای با شیر بدون چربی به مدت یک ساعت در دمای اتاق مسدود شدند. آنتی بادی‌های اولیه مخصوص ULK-1، NF-kB، و IL-6 (سانتا کروز بیوتکنولوژی، CA، ایالات متحده آمریکا) اعمال شد و غشاهای یک شبه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند تا اتصال بهینه اطمینان حاصل شود. روز بعد، غشاهای با آنتی بادی‌های ثانویه به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. تشخیص پروتئین با استفاده از معرف ECL Plus (Millipore)، Billerica، MA انجام شد.

شد (۱۵). پس از یک دوره سازگاری یک هفته‌ای با محیط جدید، رت‌ها به طور تصادفی به یک گروه کنترل سالم (۸ موش) یا یک گروه دیابتی (۳۲ موش) تقسیم شدند.

القاء دیابت نوع ۲

برای القای دیابت نوع ۲ در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار، یک مدل رژیم غذایی پرچرب^۴ (HFD) به مدت شش هفته و به دنبال آن تزریق استرپتوزوتوسین^۵ (STZ) مورد استفاده قرار گرفت. HFD شامل ۴۵٪ چربی، ۳۵٪ کربوهیدرات و ۲۰٪ پروتئین بود. پس از شش هفته استفاده از این رژیم غذایی، تزریق داخل صفاقی ۳۵ mg/kg STZ در محلول بافر سیترات ۰.۱ مول (pH 4.5) به موش‌ها داده شد (۱۶). هفتاد و دو ساعت پس از تزریق، سطح گلوکز خون ناشتا از ورید دم با استفاده از گلوکومتر (Accu Check، آلمان) اندازه‌گیری شد. موش‌های با سطح گلوکز خون ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا بالاتر، دیابتی در نظر گرفته شدند. موش‌های گروه کنترل سطح گلوکز طبیعی (۸۰-۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) را در طول مطالعه حفظ کردند (۱۶). پس از تزریق STZ، موش‌های دیابتی HFD را تا پایان مطالعه ادامه دادند. موش‌های دیابتی به طور تصادفی به چهار گروه هشت تایی تقسیم شدند: کنترل دیابت (DC)، دیابت با تزریق ویتامین ۳د (D+VD3)، دیابت با ورزش هوازی (D+HIIT) و دیابت با هر دو ورزش هوازی و تزریق ویتامین ۳د (D+HIIT+VD3). تصادفی‌سازی با استفاده از روش طراحی بلوک‌های تصادفی با نرم‌افزار Mini Tab (نسخه ۲۱/۴)، اطمینان حاصل کرد که سطوح اولیه گلوکز خون قبل از تخصیص به گروه‌های مداخله متعادل بوده است.

آزمون حداکثر سرعت دویدن و پروتکل تمرینی HIIT

پس از القای دیابت نوع ۲ در موش‌ها، موش‌های گروه تمرین تحت یک دوره سازگاری یک هفته‌ای قرار گرفتند. این شامل پیاده روی و دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در روز، پنج روز در هفته بود. پس از آن، حداکثر سرعت دویدن با استفاده از آزمون عملکرد درجه بندی شده بر اساس آزمون بدفورد تعیین شد (۱۷). پس از این ارزیابی، گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته پنج بار در هفته به تمرین روی تردمیل پرداختند و در طول هشت هفته، به تدریج شدت و مدت زمان برای رعایت اصل اضافه بار تمرین افزایش یافت. بدنه اصلی پروتکل تمرینی HIIT شامل ۴ دقیقه دویدن با ۸۵-۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن و ۳ دقیقه دویدن با ۵۰-۶۰٪ حداکثر سرعت دویدن بود که هفت

⁵ . Streptozotocin.

⁴ . High fat diet.

معناداری در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $42/86\%$ ، $23/81\%$ و $45/24\%$ کمتر بود که این در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه D+VD3 $39/13\%$ پایین‌تر بود ($P < 0/001$). همچنین این در گروه D+HIIT 25% نسبت به گروه D+VD3 کمتر بود ($P < 0/003$).

نتایج مربوط به میانگین شاخص HOMA-IR نشان داد که در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $59/09\%$ ، $38/64\%$ و $65/91\%$ پایین‌تر بود، که این در گروه‌های D+HIIT+VD3 و D+HIIT به طور معناداری نسبت به گروه D+VD3 به ترتیب: $44/44\%$ و $33/33\%$ پایین‌تر بود ($P < 0/001$).

نتایج مربوط به محتوای پروتئین ULK-1 در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ نشان داد به طور معناداری در گروه DC بالاتر از NC می‌باشد (122% ، $P < 0/001$). در حالی که در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $52/70\%$ ، $44/14\%$ و $72/52\%$ پایین‌تر بود. با این حال در گروه D+HIIT+VD3 به طور معناداری نسبت به گروه‌های D+HIIT و D+VD3 به ترتیب: $41/90\%$ ، $50/81\%$ و $50/49\%$ (بترتیب: $P < 0/001$ ، $P < 0/049$)، در حالی که تفاوت معناداری بین گروه‌های D+HIIT و D+VD3 وجود نداشت ($P > 0/99$)، (نمودار ۱، B) (نمودار ۱).

نتایج مربوط به محتوای پروتئین بافت قلب NF-kb در رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ نشان داد به طور معناداری در گروه DC بالاتر از NC می‌باشد (101% ، $P < 0/001$). در حالی که در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $52/74\%$ ، $39/30\%$ و $66/17\%$ پایین‌تر بود ($P < 0/001$). با این حال در گروه D+HIIT+VD3 به طور معناداری نسبت به گروه‌های D+HIIT و D+VD3 به ترتیب: $28/42\%$ ، $44/26\%$ و $44/26\%$ (بترتیب: $P < 0/001$)، همچنین در گروه D+HIIT به طور معناداری نسبت به گروه D+VD3 پایین‌تر بود ($13/22\%$ ، $P < 0/006$) (نمودار ۲).

نتایج مربوط به محتوای پروتئین IL-6 در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ نشان داد به طور معناداری در گروه DC بالاتر از NC می‌باشد (118% ، $P < 0/001$). در حالی که در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $45/87\%$ ، $38/07\%$ و $42/56\%$ پایین‌تر بود. با این حال در گروه D+HIIT+VD3 به طور معناداری نسبت به گروه‌های D+VD3 به ترتیب: $29/63\%$ و $29/63\%$ (بترتیب: $P < 0/011$)، در حالی که تفاوت معناداری بین گروه‌های D+HIIT و D+VD3 وجود نداشت ($P > 0/43$) (نمودار ۳).

که امکان تجسم پروتئین‌های هدف را فراهم می‌کرد. پس از آن، غشاهای با بافر در دمای 50°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه شسته شدند و دوباره رنگ آمیزی شدند تا سطوح کل ULK-1، NF-kB و IL-6 را شناسایی کنند و از اندازه‌گیری دقیق پروتئین اطمینان حاصل کنند. سطوح سرمی گلوکز با استفاده از دستگاه Mindrey BS200 به روش رنگ سنجی و سطح انسولین با استفاده از کیت الایزا (Alpco)، شماره کاتالوگ E10، 80-INSRTH-E01 اندازه‌گیری شد.

شاخص HOMA-IR نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (20):

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{گلوکز (mmol/L)} \times \text{انسولین (mmol/L)}}{22.5}$$

روش آماری

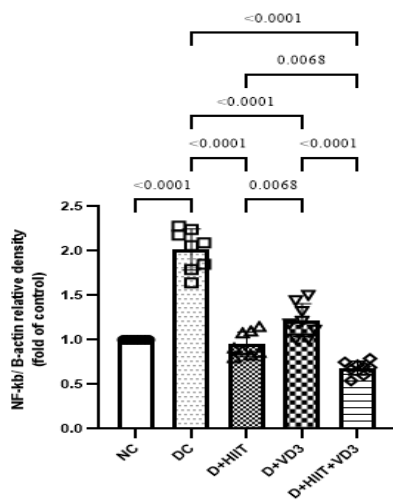
تجزیه و تحلیل آماری و نمودار نتایج این مطالعه با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۹ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین، خطای استاندارد میانگین، انحراف معیار و درصد تغییر میانگین بیان شد. بررسی توزیع داده‌ها و نرمال بودن آن‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک انجام شد که در صورت نرمال بودن، داده‌ها تحت آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی بونفرونی برای شناسایی تفاوت‌های زوجی بین گروه‌ها قرار گرفتند. مقدار احتمال $P < 0.05$ نشان دهنده معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

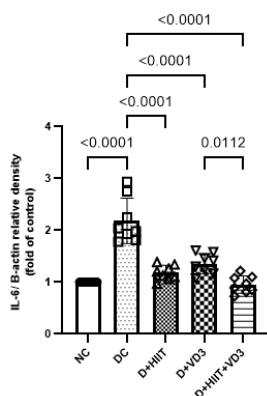
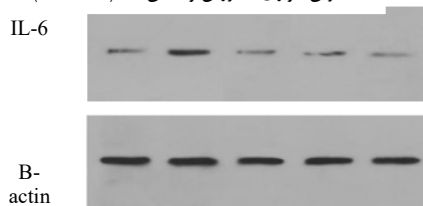
شاخص‌های مربوط به وزن و کنترل گلاسیمیک شامل: سطوح سرمی گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) در جدول ۱ بصورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است (جدول ۲).

نتایج میانگین وزن در گروه‌های مختلف نشان داد که به طور معناداری در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $13/23\%$ ، $5/70\%$ و $24/17\%$ کمتر بود (بترتیب: $P < 0/001$ ، $P < 0/002$ و $P < 0/001$ ، که کمترین آن در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه‌های D+HIIT و D+VD3 به ترتیب: $12/61\%$ و $19/59\%$ مشاهده گردید ($P < 0/001$). همچنین در گروه D+HIIT نسبت به گروه D+VD3 به طور معناداری پایین‌تر بود ($7/88\%$ ، $P < 0/001$).

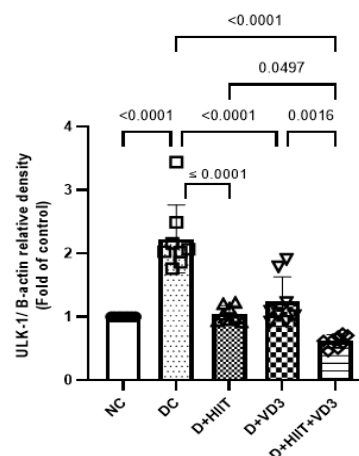
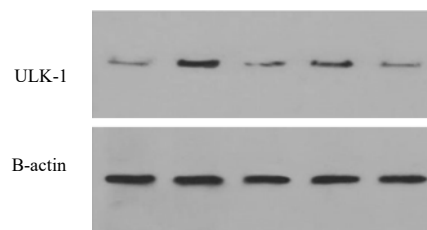
میانگین سطوح سرمی گلوکز به طور معناداری در گروه‌های D+HIIT و D+VD3 و D+HIIT+VD3 نسبت به گروه DC به ترتیب: $26/28\%$ ، 18% و $36/73\%$ کمتر بود که این در گروه D+HIIT+VD3 نسبت به گروه‌های D+HIIT و D+VD3 به ترتیب: $15/48\%$ و $22/84\%$ پایین‌تر بود. همچنین این در گروه D+HIIT $10/10\%$ نسبت به گروه D+VD3 کمتر بود ($P < 0/037$). میانگین سطوح سرمی انسولین نیز به طور



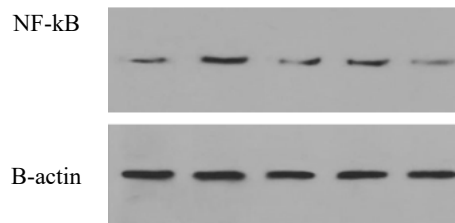
نمودار ۲. سطوح پروتئینی NF-kB در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ (NC): کنترل سالم، (DC): کنترل دیابتی، (D+HIIT): دیابت + تمرین هوازی، (D+VD3): دیابت + تزریق ویتامین د۳ و (D+HIIT+VD3): دیابت + تمرین هوازی + تزریق ویتامین د۳، ($P < 0.001$).



نمودار ۳. سطوح پروتئینی IL-6 در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ (NC): کنترل سالم، (DC): کنترل دیابتی، (D+HIIT): دیابت + تمرین هوازی، (D+VD3): دیابت + تزریق ویتامین د۳ و (D+HIIT+VD3): دیابت + تمرین هوازی + تزریق ویتامین د۳، ($P < 0.001$).



نمودار ۱. سطوح پروتئینی ULK-1 در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ (NC): کنترل سالم، (DC): کنترل دیابتی، (D+HIIT): دیابت + تمرین هوازی، (D+VD3): دیابت + تزریق ویتامین د۳ و (D+HIIT+VD3): دیابت + تمرین هوازی + تزریق ویتامین د۳، ($P < 0.001$).



جدول ۱. پروتکل تمرینی HIIT

هفته	تعداد- دقیقه و شدت وهله فعالیت شدید	تعداد- دقیقه و شدت وهله استراحت فعال	نسبت کار/ استراحت	حجم تمرین/ جلسه (متر)	مجموع (تایم به دقیقه)
هفته اول	۴-۴ (۸۵٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۴ (۵۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۶۲۷/۲	۲۸
هفته دوم	۴-۴ (۸۵٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۴ (۵۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۶۲۷/۲	۲۸
هفته سوم	۴-۵ (۸۵٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۵ (۵۳٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۷۹۶/۸	۳۵
هفته چهارم	۴-۵ (۸۷٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۵ (۵۳٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۸۱۱/۲	۳۵
هفته پنجم	۴-۶ (۸۷٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۶ (۵۶٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۸۷۹/۳	۴۲
هفته ششم	۴-۶ (۸۷٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۶ (۵۶٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۸۷۹/۳	۴۲
هفته هفتم	۴-۷ (۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۷ (۶۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۱۲۰۹/۶	۴۹
هفته هشتم	۴-۷ (۹۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۴-۷ (۶۰٪ حداکثر سرعت دویدن)	۱-۱	۱۲۰۹/۶	۴۹

جدول ۲. میانگین $\pm$ انحراف استاندارد شاخص‌های مرتبط با کنترل گلیسمیک و وزن در گروه‌های مختلف. NC: کنترل سالم، DC: کنترل دیابت، DVD3: دیابت + ویتامین ۳، D+HIIT: دیابت + تمرین هوازی و D+HIIT+VD3: دیابت + ویتامین ۳ + تمرین هوازی، (*) معنی‌داری نسبت به گروه NC، (\$) معنی‌داری نسبت به گروه DC، (†) معنی‌داری نسبت به گروه D+HIIT و (‡) معنی‌داری نسبت به گروه (D+HIIT+VD3).

گروه	NC	DC	D+HIIT	D+VD3	D+HIIT+VD3
متغیرها					
وزن (گرم)	۴۰۱/۵۳ $\pm$ ۱۱/۶۹	۳۹۳ $\pm$ ۱۲/۷۱	۳۴۱/۴ $\pm$ ۱۱/۱۰	۳۷۰/۶ $\pm$ ۱۱/۷۱	۲۹۸ $\pm$ ۹/۲۷
گلوکز (mmol/l)	۴/۶۲ $\pm$ ۱/۰۲	۲۳/۵۵ $\pm$ ۱/۸۳*	۱۷/۳۶ $\pm$ ۱/۰۸\$†	۱۹/۳۱ $\pm$ ۱/۲۰\$	۱۴/۹۰ $\pm$ ۱/۲۶\$††
انسولین (mmol/l)	۰/۱۳ $\pm$ ۰/۰۲	۰/۴۲ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۲۴ $\pm$ ۰/۰۴\$	۰/۳۲ $\pm$ ۰/۰۳\$	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۴\$†
HOMA-IR	۰/۰۲ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۴۴ $\pm$ ۰/۰۶*	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۰۴\$	۰/۲۷ $\pm$ ۰/۰۲\$	۰/۱۵ $\pm$ ۰/۰۲\$††

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تزریق ویتامین ۳ در ترکیب با تمرینات HIIT بر برخی فاکتورهای اتوفاژی و التهابی در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ انجام شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت نوع ۲ از طریق افزایش محتوای پروتئین ULK-1 باعث القای فعالیت

بیش از حد اتوفاژی در بافت قلب می‌گردد (۱۲۲ درصد در گروه DC نسبت به NC). همچنین افزایش در محتوای پروتئین‌های التهابی شامل NF- κ B و IL-6 در گروه DC نسبت به NC مشاهده گردید (به ترتیب: ۱۰۰٪ و ۱۱۸٪). نتایج مطالعه حاضر با مطالعات گلپسندی و همکاران (۲۰۲۳)

kB و اینترلوکین-۶ (IL-6) نشان می‌دهد که این مداخلات ممکن است نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای پاتولوژیک مرتبط با اختلال عملکرد قلبی ناشی از دیابت داشته باشند.

تمرینات HIIT احتمالاً، متابولیسم سلولی را از طریق تقویت سلامتی میتوکندری بهبود می‌بخشد و از این طریق احتمالاً منجر به تنظیم بهتر اتوفازای می‌شود. این می‌تواند احتمالاً از طریق افزایش فعال‌سازی AMPK^γ (پروتئین کیناز فعال شده با AMP) و کاهش ULK1 و در نهایت کاهش اتوفازای بیش از حد باشد (۱۲). بهبود حساسیت به انسولین و جذب گلوکز از طریق تمرینات ورزشی همچنین نیاز به اتوفازای بیش فعال را کاهش می‌دهد و تعادل را در بافت قلب بازیابی می‌کند (۱۲).

تمرینات ورزشی منظم، از جمله HIIT، التهاب مزمن را با افزایش فعال‌سازی AMPK، کاهش سطح ROS و کاهش فعالیت NF-kB کاهش می‌دهد. بهبودهای ناشی از ورزش در حساسیت به انسولین همچنین محرک های التهابی مزمن موجود در دیابت نوع ۲ را کاهش می‌دهد (۳۲). در ترکیب با ورزش، مکمل ویتامین D نقش مهمی در تنظیم التهاب دارد. ویتامین D می‌تواند با ترویج بیان IκB، مهار کننده NF-kB، فعال‌سازی NF-kB را سرکوب کند. این امر باعث کاهش انتقال NF-kB به درون هسته و بیان متعاقب آن سیتوکین‌های التهابی مانند IL-6 می‌شود (۳۳). ویتامین D همچنین حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد و پاسخ های ایمنی را تنظیم می‌کند و بار التهابی در دیابت نوع ۲ را کاهش می‌دهد.

کاهش محتوای ULK-1 پس از مداخلات تمرین HIIT نشان‌دهنده عادی‌سازی بالقوه سطوح اتوفازای است که ممکن است از اثرات مضر اتوفازای بیش از حد در بافت قلب دیابتی جلوگیری کند. از طرفی، کاهش قابل توجه سطوح NF-kB و IL-6 مشاهده شده در این مطالعه نیز نشان می‌دهد که تمرین تناوبی شدید، به ویژه هنگامی که با مکمل‌سازی ویتامین D همراه باشد، به طور موثر پاسخ التهابی در بافت قلب دیابتی را کاهش می‌دهد. این اثر ضد التهابی احتمالاً یک مکانیسم کلیدی است که از طریق آن مداخلات موجود سلامت قلب را در زمینه دیابت بهبود می‌بخشد.

ترکیب HIIT و ویتامین D احتمالاً منجر به یک اثر هم افزایی در تنظیم اتوفازای می‌شود. تمرینات HIIT عملکرد میتوکندری و کارایی متابولیک را بهبود می‌بخشد و نیاز به اتوفازای بیش از حد را کاهش می‌دهد، در حالی که ویتامین D با کنترل مسیرهای التهابی و بهبود حساسیت به انسولین به بازیابی هموستاز سلولی کمک می‌کند. اثر هم‌افزایی تمرینات HIIT و ویتامین D احتمالاً باعث کاهش فعالیت بیش از حد ULK1 می‌شوند، پاسخ اتوفازیک را تعدیل می‌کنند و از آسیب بافت قلب به دلیل دیابت نوع

و B2۰۲۴)، کوساکا و همکاران^۱ (۲۰۱۵)، سهرات و همکاران^۲ (۲۰۲۳)، ژانگ و همکاران (۲۰۲۳) و اوست و همکاران^۳ (۲۰۱۰) همسو بود (۱۲)، ۱۳، ۲۴-۲۱)، در حالی که با نتایج مطالعات لیو و همکاران^۴ (۲۰۱۸)، موراس و همکاران^۵ (۲۰۱۵)، اسکاریو و همکاران^۶ (۲۰۲۳) و (۲۷-۲۵) ناهمسو بود. از جمله دلایل ناهمسو بودن، می‌توان به اختلاف در سطوح اتوفازای پایه اشاره کرد؛ چرا که در تحقیقات لیو و همکاران، موراس و همکاران و اسکاریو و همکاران، دیابت نوع ۲ باعث کاهش سطح اتوفازای پایه شده بود در حالی که در پژوهش حاضر، سطح اتوفازای پایه افزایش یافته بود. با این حال بنظر میرسد که دیابت نوع ۲ می‌تواند باعث کاهش یا افزایش بیش از حد اتوفازای گردد که در هر دو حالت می‌تواند باعث بروز شرایط پاتولوژیکی جدی در بافت گردد.

دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک مزمن است که با مقاومت به انسولین، هیپرگلیسمی و عوارض مرتبط با آن مشخص می‌شود که به اندام‌های مختلف از جمله قلب گسترش می‌یابد (۲۸). یکی از فرآیندهای پاتولوژیک حیاتی درگیر در کاردیومیوپاتی دیابتی، اختلال در تنظیم اتوفازای و التهاب است که به بدتر شدن عملکرد قلب کمک می‌کند (۲۹). اتوفازای، یک فرآیند سلولی که مسئول تخریب و بازیافت اجزای سلولی است، توسط پروتئین‌های کلیدی مانند ULK-1 تنظیم می‌شود (۳۰). در مقابل، التهاب اغلب توسط فاکتور هسته‌ای کاپا-زنجیره سبک-افزایش‌دهنده سلول‌های NF-kB و IL-6 تنظیم می‌شود که هر دو نشانگرهای حیاتی پاسخ التهابی هستند (۴). افزایش قابل توجه محتوای پروتئین‌های NF-kB، ULK-1 و IL-6 در بافت قلب نشان‌دهنده افزایش اتوفازای و التهاب است. این موضوع نشان می‌دهد که T2DM منجر به اختلال پاتولوژیک این فرآیندها می‌شود که به طور بالقوه منجر به تشدید اختلال عملکرد قلبی می‌شود. با این حال، افزایش محتوای ULK-1 نشان‌دهنده یک پاسخ اتوفازیک بیش از حد است، که اگرچه در ابتدا می‌تواند یک مکانیسم محافظتی باشد، ولی در صورت فعال شدن بیش از حد مضر واقع شود. در همین راستا، افزایش سطح NF-kB و IL-6 به یک پاسخ التهابی بیش از حد در بافت قلب اشاره می‌کند.

نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT با و بدون تزریق ویتامین D باعث کاهش سطوح ULK-1، NF-kB و IL-6 در بافت قلب رت‌های القاء شده به دیابت نوع ۲ گردید که با نتایج پژوهش‌های قبلی همسو بود (۱۲)، ۳۱). یافته‌های این مطالعه شواهد قانع‌کننده‌ای برای اثرات مفید تمرینات HIIT، با و بدون تزریق ویتامین D، در کاهش نشانگرهای اتوفازای و التهاب در بافت قلب موش‌های صحرایی القا شده با دیابت نوع ۲ ارائه می‌دهد. به طور خاص، کاهش مشاهده شده در محتوای NF-kB، ULK-1

⁵. Murase and et al.

⁶. Scervino and et al.

⁷. AMP-activated protein kinase.

¹. Kosacka and et al.

². Sehrawat and et al.

³. Ost and et al.

⁴. Liu and et al.



یک مزیت اضافی داشته باشد، چرا که محتوای پروتئین‌های ULK-1، NF-kb و IL-6 در گروه تعامل تمرینات HIIT و تزریق ویتامین دی ۳ به طور معناداری پایین‌تر از گروه D+VD3 و بعضاً D+HIIT بود. با این حال، تحقیقات بیشتر برای روشن شدن کامل مکانیسم‌هایی که توسط آن مکمل ویتامین دی ۳ اثرات ورزش را افزایش می‌دهد و تعیین شرایط بهینه برای این مداخلات در محیط‌های بالینی، ضروری است.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر بر اهمیت پرداختن به مسیرهای متابولیک و التهابی در کنترل عوارض دیابت تأکید می‌کند. به نظر می‌رسد تمرینات HIIT، با یا بدون مکمل ویتامین دی ۳، رویکردی امیدوارکننده برای کاهش اتوفاژی و التهاب قلبی، بهبود هموستاز گلوکز و در نهایت محافظت در برابر پیشرفت بیماری قلبی دیابتی باشد.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

Tavakoly R, Talaei B. Effects of cinnamon supplementation on expression of systemic inflammation factors, NF-kB and Sirtuin-1 (SIRT1) in type 2 diabetes: a randomized, double blind, and controlled clinical trial. *Nutrition journal*. 2020 Dec;19:1-8.

6. 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 Sep 23;9(2):123-37, (In Persian).
7. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of physiology*. 2012 Mar 1;590(5):1077-84.

۲ جلوگیری می‌کنند. تمرینات HIIT با افزایش عملکرد میتوکندری و بهبود حساسیت به انسولین، فعال شدن NF-kB را کاهش می‌دهد، در حالی که ویتامین دی ۳ مستقیماً NF-kB را از طریق خواص ضد التهابی خود مهار می‌کند. این اثر دوگانه منجر به کاهش بارزتر التهاب مزمن و سطوح پایین‌تر IL-6 در بافت قلب می‌شود. با بهبود سلامت کلی متابولیک و کاهش استرس اکسیداتیو، مداخله ترکیبی HIIT و ویتامین دی ۳ نه تنها التهاب را کاهش می‌دهد، بلکه به بازایی سیگنال‌های مناسب انسولین، که اغلب در دیابت نوع ۲ مختل می‌شود، کمک می‌کند.

کاهش همزمان سطح گلوکز سرم و بهبود شاخص مقاومت به انسولین بیشتر از اثرات محافظتی قلبی این مداخلات حمایت می‌کند (۳۴). هیپرگلیسمی مزمن و مقاومت به انسولین از ویژگی‌های بارز دیابت نوع ۲ هستند و ارتباط نزدیکی با ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی دارند (۳۵). با کاهش سطح گلوکز خون و افزایش حساسیت به انسولین، تمرین ورزشی و مداخلات ویتامین دی ۳ احتمالاً به محیط متابولیک مطلوب‌تری کمک می‌کند که به نوبه خود استرس بر بافت قلب را کاهش می‌دهد و نیاز به مکانیسم‌های جبرانی مانند اتوفاژی بیش از حد و التهاب را کاهش می‌دهد. تأثیر ترکیبی این یافته‌ها پتانسیل تمرینات HIIT را به عنوان یک استراتژی درمانی برای کنترل عوارض قلبی عروقی مرتبط با دیابت نوع ۲ برجسته می‌کند. افزودن ویتامین دی ۳ ممکن است به دلیل نقش شناخته شده آن در تنظیم عملکرد سیستم ایمنی و حمایت از متابولیسم گلوکز،

Reference

1. Heather LC, Gopal K, Srnic N, Ussher JR. Redefining Diabetic Cardiomyopathy: Perturbations in Substrate Metabolism at the Heart of Its Pathology. *Diabetes*. 2024 May 1;73(5):659-70.
2. Zhang L, Hu C, Jin B, Bai B, Liao J, Jin L, Wang M, Zhu W, Wu X, Zheng L, Xu X. Bicyclol alleviates streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy by inhibiting chronic inflammation and oxidative stress. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2024 Jun;38(3):555-68.
3. Li Q, Peng G, Liu H, Wang L, Lu R, Li L. Molecular mechanisms of secretory autophagy and its potential role in diseases. *Life Sciences*. 2024 Apr 23:122653.
4. Jones SA, Mills KH, Harris J. Autophagy and inflammatory diseases. *Immunology and cell biology*. 2013 Mar;91(3):250-8.
5. Davari M, Hashemi R, Mirmiran P, Hedayati M, Sahranavard S, Bahreini S,

- Training with Vitamin D Intake on Interleukin-10 and Lipid Peroxidation Levels in Overweight Women with Low Vitamin D Status: A Randomized Clinical Trial.
15. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, Clark A, Cuthill IC, Dirnagl U, Emerson M. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2020 Sep;40(9):1769-77.
16. 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 Jan 1;359(1):32-41.
17. 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 Dec 1;47(6):1278-83.
18. 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 Aug 1;12(2):2374-82.
19. Mehdipoor M, Damirchi A, Razavi Tousi SM, 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 Feb;77:75-84.
20. 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
8. Edwards JJ, Griffiths M, Deenmamode AH, O'Driscoll JM. High-intensity interval training and cardiometabolic health in the general population: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Sports Medicine*. 2023 Sep;53(9):1753-63.
9. Sabouri M, Hatami E, Pournemati P, Shabkhiz F. Inflammatory, antioxidant and glycemic status to different mode of high-intensity training in type 2 diabetes mellitus. *Molecular Biology Reports*. 2021 Jun;48:5291-304.
10. 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 Dec 10;23(5):327-37, (In Persian).
11. Bhutia SK. Vitamin D in autophagy signaling for health and diseases: Insights on potential mechanisms and future perspectives. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2022 Jan 1;99:108841.
12. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S, Łubkowska B, Cięszczyk 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 Sep 17;15(18):4024.
13. Golpasandi H, Rahimi MR, Ahmadi S. Investigating the mutual effects of autophagy and apoptosis in heart tissue of type 2 diabetic rats in interaction with aerobic exercise training and vitamin D3 injection. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2024;17(2):34-4(In Persian).
14. Keshvari R, HABIBIAN M, ASKARI B. The Effect of High-Intensity Interval

27. Scervino MV, Fortes MA, Vitzel KF, de Souza DR, Murata GM, Santana GO, da Silva EB, Levada-Pires AC, Kuwabara WM, Loureiro TC, Curi R. Autophagy signaling in hypertrophied muscles of diabetic and control rats. *FEBS Open Bio*. 2023 Sep;13(9):1709-22.
28. Tan Y, Zhang Z, Zheng C, Wintergerst KA, Keller BB, Cai L. Mechanisms of diabetic cardiomyopathy and potential therapeutic strategies: preclinical and clinical evidence. *Nature Reviews Cardiology*. 2020 Sep;17(9):585-607.
29. Dewanjee S, Vallamkondu J, Kalra RS, John A, Reddy PH, Kandimalla R. Autophagy in the diabetic heart: a potential pharmacotherapeutic target in diabetic cardiomyopathy. *Ageing research reviews*. 2021 Jul 1;68:101338.
30. Rajak S, Raza S, Sinha RA. ULK1 signaling in the liver: autophagy dependent and independent actions. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2022 Feb 18;10:836021.
31. 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.
32. Salehpoor Z, Jahromi BN, Tanideh N, Nemati J, Akbarzade-Jahromi M, Jahromi MK. High intensity interval training is superior to moderate intensity continuous training in enhancing the anti-inflammatory and apoptotic effect of pentoxifylline in the rat model of endometriosis. *Journal of Reproductive Immunology*. 2023 Mar 1;156:103832.
33. Zhang WY, Guo YJ, Wang KY, Chen LM, Jiang P. Neuroprotective effects of vitamin D and 17 β -estradiol against ovariectomy-induced neuroinflammation and depressive-like state: Role of the AMPK/NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology*. 2020 Sep 1;86:106734.
- Wistar rats. *Archives of endocrinology and metabolism*. 2016;60:138-42.
21. Kosacka J, Kern M, Klötting N, Paeschke S, Rudich A, Haim Y, Gericke M, Serke H, Stumvoll M, Bechmann I, Nowicki M. Autophagy in adipose tissue of patients with obesity and type 2 diabetes. *Molecular and cellular endocrinology*. 2015 Jul 5;409:21-32.
22. Sehrawat A, Mishra J, Mastana SS, Navik U, Bhatti GK, Reddy PH, Bhatti JS. Dysregulated autophagy: a key player in the pathophysiology of type 2 diabetes and its complications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-molecular basis of Disease*. 2023 Apr 1;1869(4):166666.
23. Öst A, Svensson K, Ruishalme I, Brännmark C, Franck N, Krook H, Sandström P, Kjolhede P, Strålfors P. Attenuated mTOR signaling and enhanced autophagy in adipocytes from obese patients with type 2 diabetes. *Molecular medicine*. 2010 Jul;16:235-46.
24. Zhang L, Zhang H, Xie X, Tie R, Shang X, Zhao Q, Xu J, Jin L, Zhang J, Ye P. Empagliflozin ameliorates diabetic cardiomyopathy via regulated branched-chain amino acid metabolism and mTOR/p-ULK1 signaling pathway-mediated autophagy. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2023 May 6;15(1):93.
25. Liu M, Lu S, He W, Zhang L, Ma Y, Lv P, Ma M, Yu W, Wang J, Zhang M, Zhang Y. ULK1-regulated autophagy: A mechanism in cellular protection for ALDH2 against hyperglycemia. *Toxicology letters*. 2018 Feb 1;283:106-15.
26. Murase H, Kuno A, Miki T, Tanno M, Yano T, Kouzu H, Ishikawa S, Tobisawa T, Ogasawara M, Nishizawa K, Miura T. Inhibition of DPP-4 reduces acute mortality after myocardial infarction with restoration of autophagic response in type 2 diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology*. 2015 Dec;14:1-6.

34. 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 Lipid Disorders. 2023;23(5):327-37, (In Persian).
35. Longo M, Scappaticcio L, Cirillo P, Maio A, Carotenuto R, Maiorino MI, Bellastella G, Esposito K. Glycemic control and the heart: the tale of diabetic cardiomyopathy continues. Biomolecules. 2022 Feb 8;12(2):272.