Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

# The Effect of Moderate-Intensity Interval Training (MIIT) on the Intracellular Content of Proteins Related to the Mitophagy Pathway in the Soleus Muscle of Male Wistar Rats

**Mohammad Sharif Bigdeli[1], Neda Aghaei Bahmanbeglou[2]✉, Reza Rezaee Shirazi[3], Mozhgan Ahmadi[4]**

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran. E-mail: dr.mohammad.bigdeli@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran. E-mail: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir
3. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran. E-mail: dr.rezaee@aliabadiau.ac.ir
4. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: mahmadi1376@gmail.com

## Article Info

**Article type:**
Research

**Article history:**
Received:
24 November 2023
Received in revised form:
18 March 2024
Accepted:
20 April 2024
Published online:
20 March 2024

**Keywords**:
*Moderate Intensity Interval Training,*
*FUNDC1 Protein,*
*NIX Protein,*
*Mitophagy.*

## ABSTRACT

**Introduction:** Mitophagy is a multifunctional pathway that can lead to mitochondrial defects or greater efficiency in skeletal muscles. Physical activities are an important factor in the regulation of mitophagy according to conditions, such as intensity, duration, and type. Therefore, the current study aimed to investigate the effect of moderate-intensity interval training (MIIT) on the intracellular content of proteins related to the mitophagy (FUNDC1 and NIX) pathway in the soleus muscle of male Wistar rats.

**Methods:** In this experimental study, 16 three-month-old Wistar rats with an average weight of 280±30 were randomly divided into two Control and MIIT groups (8 rats per group). Intervention for rats in the MIIT group consisted of running on a treadmill for 8 weeks, 5 sessions per week, and each session consisted of 10 MIIT bouts of 3 minutes, separated by 2-minute rest periods. In the first week, the average speed was 19 m/min, and in the last week, it reached 25 m/min. The variables were measured using the Western Blotting laboratory technique in the soleus muscle tissue. Data were analyzed using an independent t-test with GraphPad Prism software version 9.5. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

**Results:** The content of FUNDC1 and NIX proteins showed a significant decrease in the MIIT group compared to the control group ($P<0.0001$).

**Conclusion:** Considering the reduction of these factors, MIIT training can regulate the mitophagy process in skeletal muscles and help maintain mitochondrial health through related pathways. Therefore, further research is required.

**Cite this article:** Sharif Bigdeli M., Aghaei Bahmanbeglou N., Rezaee Shirazi R., & Ahmadi M. The Effect of Moderate-Intensity Interval Training (MIIT) on the Intracellular Content of Proteins Related to the Mitophagy Pathway in the Soleus Muscle of Male Wistar Rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2024; 16 (1):49-60.
DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2024.368627.1618

Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0.
| Web site: https://jsb.ut.ac.ir/ | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s). Publisher: University of Tehran Press.

Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

# Extended Abstract

## Introduction

Mitochondria are highly developed to maintain a proper balance between energy demand and supply in tissues, such as the brain, heart, liver, kidney, and skeletal muscles which consume large amounts of ATP. The quality and quantity of skeletal muscles change with specific physical conditions. Protein quality control in the mitochondria relies on several interconnected molecular and cellular processes and pathways. FUN14 Domain-Containing protein 1 (FUNDC1) is an outer mitochondrial membrane (OMM) protein. Phosphorylation and dephosphorylation of FUNDC1 play important roles in its interaction with other proteins. These factors can lead to the activation of the ULK1 complex (including 200 kDa protein (FIP200), ULK1, and autophagy-related proteins (ATGs)). Finally, it activates downstream factors, including the FUNDC1 protein. Another protein related to the mitophagy pathway is NIX, which is very similar to BNIP3, also known as BNIP3L. The mitochondrial outer membrane protein acts as a mitophagy receptor by recognizing autophagosomes via BNIP3L/NIX. Regular exercise is an important part of life and has significant effects on maintaining health and preventing muscle-related disorders. Moderate Intensity Interval Training (MIIT) is similar to HIIT, but the intensity of the training is lower in the ratio of work and rest time. MIIT is generally defined as repetitive bouts of relatively short, moderate-intensity intermittent activity with active rest. Understanding the complex mechanisms underlying mitochondrial homeostasis, quality, and function may provide valuable insights into the development of therapeutic strategies to treat skeletal muscle atrophy and hypertrophy and promote muscle health throughout the human lifespan. This study aimed to investigate the effect of MIIT on the intracellular content of proteins related to the mitophagy pathway in the soleus muscles of male Wistar rats.

## Methods

This study was conducted experimentally and based on fundamental developments. Sixteen three-month-old Wistar rats with an average weight of 280 ± 30 g were purchased and prepared. MIIT group rats were trained according to the training program for 8 weeks, with five sessions per week. Before the start of the training session, the rats in the training group worked for neck warming and cooling at a speed of approximately 5 to 15 m/min and a duration of 3 min. It is worth noting that each main MIIT training session consisted of 10 bouts of moderate intensity for 3 minutes, separated by 2-minute rest intervals. The average speed in the first week was 19 m/min, and in the last week, it reached 20 m/min. The incline of the treadmill was zero for all eight weeks. 48 hours after the last training session, the rats were anesthetized with an intraperitoneal injection of a combination of ketamine (30-50 mg/kg body weight) and xylazine (3-5 mg/kg body weight) following ethical principles. Soleus skeletal muscle tissue was taken from the rats' bodies and immediately frozen in a nitrogen tank after washing it in physiological serum. The study variables were measured using the Western Blotting laboratory technique. The normality of the data was checked using the Shapiro-Wilk test. Owing to the normality of the data, an independent t-test was used to check the average between the groups. GraphPad Prism version 9.5 software was used for the data analysis and figure design. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

## Results

The FUNDC1 protein content was significantly lower in the MIIT group than in the control group ($p \leq 0.05$). In addition, the NIX protein content was significantly lower in the MIIT group than in the control group ($p \leq 0.05$).

## Conclusion

The results showed that MIIT training caused a significant decrease in FUNDC1 and NIX protein content in the MIIT group compared to the control group. These findings suggest that MIIT training can regulate mitophagy in skeletal muscles and help maintain mitochondrial health through related pathways. As mitophagy is a cellular solution for removing damaged mitochondria and preventing the production of free radicals, MIIT training may have a protective role against many muscle and metabolic diseases. To confirm this assumption, it is necessary to conduct clinical and physiological studies to identify additional mechanisms.

## Ethical Considerations

**Compliance with ethical guidelines:** The study was considered following the ethical principles of working with laboratory animals with the ethical ID registered in the National Ethics System. Code: IR.US.PSYEDU.REC.1402.067.

**Funding:** This article is derived from the PhD dissertation; all expenses were borne by the authors.

**Authors' contribution:** All authors contributed equally to the preparation of the article.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments:** We are grateful to all participants who helped us in this research.

علوم زیستی ورزشی
انتشارات دانشگاه تهران
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

# تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر میتوفاژی در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار

محمد شریف بیگدلی[۱]، ندا آقایی بهمن‌بگلو[۲]✉، رضا رضایی شیرازی[۳]، مژگان احمدی[۴]

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: dr.mohammad.bigdeli@gmail.com
۲. نویسندهٔ مسئول، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir
۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: dr.rezaee@aliabadiau.ac.ir
۴. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: mahmadi1376@gmail.com

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:** پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۹/۰۳
**تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۱۲/۲۸
**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۲/۰۱
**تاریخ انتشار:** ۰۱/ ۱۴۰۳/۰۱

**کلیدواژه‌ها:**
*تمرین تناوبی با شدت متوسط*،
*پروتئین FUNDC1*،
*پروتئین NIX*،
*میتوفاژی*.

**چکیده**

**مقدمه:** میتوفاژی به‌عنوان یک مسیر چندعملکردی می‌تواند به نقص یا کارایی بیشتر میتوکندری در عضلات اسکلتی منجر شود. فعالیت‌های ورزشی با توجه به شرایطی مانند شدت، مدت و نوع یک عامل مهم برای تنظیم میتوفاژی هستند. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار است.

**روش پژوهش:** در این پژوهش تجربی، ۱۶ سر رت سه‌ماهه نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰±۲۸۰، به‌صورت تصادفی به دو گروه: ۱. گروه کنترل، ۲. MIIT (هر گروه هشت سر) تقسیم شدند. رت‌های گروه MIIT شامل دویدن رت‌ها روی تردمیل به مدت هشت هفته، هر هفته پنج جلسه و هر جلسه شامل ۱۰ تناوب MIIT، سه‌دقیقه‌ای بود که از طریق تناوب‌های استراحتی دودقیقه‌ای از هم جدا شد. میانگین سرعت در هفتهٔ اول ۱۹ m/min بود که در هفتهٔ آخر میانگین سرعت به ۲۵ m/min رسید. محتوای متغیرها از طریق روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات در بافت عضلهٔ نعلی اندازه‌گیری شد. داده‌ها از طریق آزمون t–مستقل در نرم‌افزار گراف‌پد پریسم نسخهٔ ۹/۵ تجزیه‌وتحلیل شد. سطح معناداری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** محتوای پروتئین‌های FUNDC1 و NIX کاهش معناداری را در گروه MIIT نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۰۱).

**نتیجه‌گیری:** با توجه به کاهش این عوامل تمرین MIIT می‌تواند فرایند میتوفاژی را در عضلات اسکلتی تنظیم و به حفظ سلامت میتوکندری از طریق مسیرهای مرتبط کمک کند. نیاز به تحقیقات و بررسی‌های بیشتر است.

**استناد:** شریف بیگدلی، محمد؛ آقایی بهمن‌بگلو، ندا؛ رضایی شیرازی، رضا؛ و احمدی، مژگان. تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر میتوفاژی در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار. نشریهٔ *علوم زیستی ورزشی*.۱۴۰۲؛ (۱)۱۶، ۶۰-۴۹.

DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2024.368627.1618

دسترسی به این نشریهٔ علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کریتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.| آدرس نشریه: https://jsb.ut.ac.ir/ | ایمیل: jsb@ut.ac.ir

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

## مقدمه

میتوکندری به‌منظور حفظ تعادل مناسب بین تقاضای انرژی و عرضه در بافت‌هایی مانند مغز، قلب، کبد، کلیه و عضلهٔ اسکلتی که مقدار زیادی ATP مصرف می‌کنند، بسیار توسعه یافته است [۱]. تخریب میتوکندری از طریق یک شکل انتخابی اتوفاژی[1](مرگ سلول)، به نام میتوفاژی[2](مرگ میتوکندری) انجام می‌شود و سازوکاری اساسی است که در انسان حفظ می‌شود تا کیفیت میتوکندری و کنترل کمیت آن را تنظیم کند. میتوفاژی از طریق گیرنده‌های خاص غشای بیرونی میتوکندری، یا مولکول‌های مسیر سلولی مانند یوبی‌کوئیتین[3]که به پروتئین‌های موجود در سطح میتوکندری کونژوگه[4]مزدوج شده‌اند، به تشکیل اتوفاگوزوم‌های[5]اطراف میتوکندری منجر می‌شود [۲].

کیفیت و کمیت عضلات اسکلتی با شرایط خاص بدنی تغییر می‌کند. بخشی از این تغییر در عملکرد را می‌توان به تغییرات در تنظیم پویایی میتوکندری و سازوکارهایی که هموستاز میتوکندریایی را تنظیم می‌کند، نسبت داد. کنترل کیفیت پروتئین در میتوکندری به تعدادی از فرایندها و مسیرهای سلولی‌ملکولی به‌هم‌پیوسته متکی است [۳]. در مسیرهای سلولی مرتبط با میتوفاژی پروتئین‌های بسیار مهمی درگیرند که با تنظیم این مسیر می‌توانند به پاکسازی میتوکندری‌های معیوب منجر شود [۴].

پروتئین حاوی ۱ دامنهٔ FUN14 (FUNDC1) یک پروتئین درون‌غشایی (OMM) است که در سلول‌های انسانی در سراسر بدن بیان می‌شود [۵]. FUNDC1 از ۱۵۵ اسید آمینه تشکیل شده است و سه قسمت متمایز دارد. تحت استرس FUNDC1 از طریق موتیف LIR خود که در ناحیهٔ N ترمینال قرار دارد با پروتئین ۱ زنجیره سبک ۳ (LC3) تعامل دارد و به‌عنوان یک گیرنده برای آغاز میتوفاژی عمل می‌کند [۶]. فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون FUNDC1 نقش مهمی در تعامل آن با LC3 و تنظیم میتوفاژی دارند. پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP (AMPK)، که در تشخیص تغییرات انرژی سلولی مهم است، در شرایط کاهش انرژی، جذب پروتئین کیناز ۱-شبه Unc-51 (ULK1) به میتوکندری را تقویت می‌کند و این به فعال شدن کمپلکس ULK1 (شامل پروتئین ۲۰۰ کیلو دالتون (FIP200)، ULK1 و پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی (ATGs)) و در نهایت موجب فعال شدن عوامل پایین‌دست از جمله پروتئین FUNDC1 منجر می‌شود. FUNDC1 ممکن است به‌عنوان یک سوئیچ مهم برای میتوفاژی با واسطهٔ پروتئین‌هایی مانند LC3 و پروتئین تعاملی-۳ شبه-BCL2 (NIX) عمل کند [۷].

پروتئین دیگر مرتبط با مسیر میتوفاژی NIX است که بسیار مشابه با پروتئین BNIP3 است. همچنین به نام پروتئین BNIP3L شناخته می‌شود [۸]. پروتئین غشای خارجی میتوکندری از طریق BNIP3L/NIX با شناسایی اتوفاگوزوم‌ها به‌عنوان گیرندهٔ میتوفاژی عمل می‌کند [۹]. میتوفاژی با واسطهٔ NIX به تخلیهٔ میتوکندری کمک می‌کند. نبود NIX به تخلیهٔ نامناسب میتوکندری منجر می‌شود، این مسئله موجب گسترش بیماری می‌شود [۱۰]. در مقابل پژوهش‌های اخیر تمرینات ورزشی را برای بسیاری از بیماری‌ها تجویز می‌کنند [۱۱].

تمرینات ورزشی منظم جزء جدایی‌ناپذیر زندگی است که تأثیرات زیادی بر حفظ سلامت و پیشگیری از اختلالات مرتبط با عضله دارد. سلامت و کارایی میتوکندری‌های عضلهٔ اسکلتی برای حفظ سلامت بدنی بسیار مهم است، زیرا آنها مسئول تأمین انرژی از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو در سلول‌های عضلانی اسکلتی‌اند [۱۲]. تمرین تناوبی با شدت متوسط[6]همانند تمرین‌های HIIT هستند، با این تفاوت که شدت تمرین در نسبت زمان کار و استراحت کمتر است. اغلب MIIT به وهله‌های تکراری با فعالیت‌های تناوبی نسبتاً کوتاه با شدت متوسط همراه با وهله‌های استراحت فعال گفته می‌شود [۱۳].

اگرچه نقش FUNDC1 در فعالیت‌های ورزشی به‌طور کامل بررسی نشده است، با این حال تحقیقات نشان داده‌اند که تحریک پالس الکتریکی موجب افزایش سطوح FUNDC1 می‌شود. این در حالی است که مهار عوامل بالادستی FUNDC1، سطوح آن را کاهش

---

1. Autophagy
2. Mitophagy
3. Ubiquitin
4. Conjugated
5. Autophagosomes
6. Moderate-Intensity Interval Training (MIIT)

می‌دهد، که نشان‌دهندهٔ نقش FUNDC1 در تنظیم میتوفاژی ناشی از فعالیت ورزشی است [۱۴]. همچنین نشان داده شده است که تمرین‌های هوازی (استقامتی) استقرار میتوکندریایی را از طریق بیان BNIP3 و NIX و میتوفاژی در عضلهٔ اسکلتی افزایش می‌دهد [۱۲, ۱۵-۱۸]. جالب توجه است که شش هفته دویدن اختیاری میتوفاژی پایه در عضلات موش را کاهش می‌دهد و در مقابل پاسخ میتوفاژی به تمرین ورزشی حاد را ضعیف می‌کند، که نشان می‌دهد افزایش کیفیت میتوکندری ناشی از تمرین ورزشی به سازگاری با تمرین ورزشی منجر می‌شود که نیاز به تخریب میتوکندری آسیب‌دیده را کاهش می‌دهد [۱۲, ۱۹]. در تحقیقی دیگر ما و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که میتوفاژی با واسطهٔ FUNDC1 می‌تواند به‌عنوان یک هدف درمانی بالقوه برای موش‌های سالمند باشد و تنظیم میتوفاژی از طریق FUNDC1 می‌تواند از آسیب‌پذیری میوکارد جلوگیری کند [۲۰]. همچنین در تحقیقی دیگر بیان شده است که افزایش عملکرد عضلانی ناشی از ورزش ممکن است به مسیر AMPK/FUNDC1 نسبت داده شود [۲۱]. ازاین‌رو درک سازوکارهای پیچیدهٔ نهفته در هموستاز، کیفیت و عملکرد میتوکندری ممکن است بینش‌های ارزشمندی را در زمینهٔ توسعهٔ راهبردهای درمانی برای درمان آتروفی، هیپرتروفی عضلات اسکلتی و ارتقای سلامت عضلات در طول عمر انسان ارائه دهد. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تمرین MIIT بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های FUNDC1 و NIX در بافت عضلهٔ نعلی موش‌های صحرایی انجام گرفت. از آنجایی که افزایش پویایی میتوکندری (که از طریق میتوفاژی، شکافت و همجوشی میتوکندری به‌دست می‌آید) می‌تواند در کنترل تولید چرخهٔ انرژی و تنظیم سوخت‌وساز از طریق تمرین‌های ورزشی حیاتی باشد، این تحقیق به بررسی تمرین MIIT بر روی میتوفاژی می‌پردازد؛ همچنین یافتن ارتباط‌های مهم بین مسیرهای سلولی و ظرفیت‌های هوازی و بی‌هوازی که می‌توانند با سرعت، شدت، مدت زمان و دیگر عوامل مرتبط با تمرین ارزیابی شوند، امری مهم خواهد بود. در این تحقیق به بررسی شدت متوسط تمرین در کنترل کیفیت میتوکندری می‌پردازیم. تحقیق ما می‌تواند کمک‌کننده به شناخت ادبیات فعلی درباره میتوفاژی باشد، زیرا مسیر میتوفاژی عضله را در ارتباط با دو پروتئین FUNDC1 و NIX در رت‌هایی که تحت تمرین MIIT قرار گرفته‌اند، بررسی می‌کند. همچنین محققان تحقیق حاضر به‌دنبال این یافته هستند که آیا تمرین MIIT محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های FUNDC1 و NIX را می‌تواند تغییر دهد یا تأثیری بر آنها ندارد؛ بنابراین هدف از تحقیق حاضر، تأثیر تمرین MIIT بر میزان پروتئین‌های میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار است.

## روش‌شناسی پژوهش

### نمونه و نوع تحقیق

این پژوهش از نوع تجربی و بر اساس بنیادی-توسعه‌ای بود. ۱۶ سر موش نر سه‌ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰±۲۸۰ گرم خریداری و تهیه شد. هر چهار موش رت در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط آزمایشگاه ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و چرخهٔ روشنایی و تاریکی به‌صورت ۱۲ به ۱۲ و رطوبت حدود ۵۵ تا ۶۰ درصد بود. برای تمامی موش‌ها آب و غذای استاندارد به شکل پلت به‌صورت آزاد در دسترس بود. مطالعه مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و شناسهٔ ثبت‌شده در سامانهٔ ملی اخلاق، کد (IR.US.PSYEDU.REC.1402.067)، مدنظر قرار گرفته است.

### برنامهٔ تمرینی تناوبی با شدت متوسط (MIIT)

به‌منظور از بین بردن تأثیر یک هفته آشناسازی با تردمیل، همهٔ موش‌ها به مدت یک هفته با سرعت حدود ۱۰ تا ۱۵ متر بر دقیقه با تردمیل مخصوص جوندگان آشنا شدند. سپس موش‌ها به گروه کنترل (هشت سر)، و تمرین MIIT (هشت سر) به‌صورت تصادفی تقسیم شدند. موش‌های گروه MIIT بر اساس برنامهٔ تمرینی، هشت هفته و هر هفته پنج جلسه تمرین کردند. پیش از شروع جلسهٔ تمرینی موش‌های گروه تمرین برای گرم کردن و سرد کردن، با سرعت حدود پنج تا ۱۵ متر بر دقیقه و مدت زمان سه دقیقه فعالیت کردند. شایان ذکر است هر جلسهٔ اصلی تمرین MIIT شامل ۱۰ تناوب با شدت متوسط به مدت سه دقیقه بود که از طریق تناوب‌های استراحتی دودقیقه‌ای از هم

جدا شدند. میانگین سرعت در هفتهٔ اول ۱۹ متر بر دقیقه بود که در هفتهٔ آخر میانگین سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه رسید. شیب تردمیل در تمام هشت هفته صفر بود (جدول ۱) [۲۲].

**جدول ۱. برنامهٔ تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) [۲۲]**

| هفته | تکرار تناوب | زمان تناوب (دقیقه) | زمان استراحت (دقیقه) | تعداد جلسه در هفته | میانگین سرعت (متر بر دقیقه) | کمترین سرعت در هر جلسه (متر بر دقیقه) | بیشترین سرعت در هر جلسه (متر بر دقیقه) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| اول – دوم | ۱۰ | ۳ | ۲ | ۵ | ۱۹ | ۱۵ | ۲۳ |
| سوم – چهارم | ۱۰ | ۳ | ۲ | ۵ | ۲۲ | ۱۹ | ۲۵ |
| پنجم – ششم | ۱۰ | ۳ | ۲ | ۵ | ۲۴ | ۲۰ | ۲۷ |
| هفتم – هشتم | ۱۰ | ۳ | ۲ | ۵ | ۲۵ | ۲۰ | ۲۹ |

## روش بافت برداری

گروه کنترل در مدت هشت هفته هیچ‌گونه برنامهٔ تمرینی نداشتند. در انتهای برنامهٔ تمرینی (هشت هفته) برای از بین بردن آثار متغیرهای کنترل‌نشدنی مانند استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامهٔ تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس بافت عضلهٔ اسکلتی نعلی (سولئوس) از بدن حیوان شد و بعد از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شدند. سپس بافت‌های عضلهٔ اسکلتی نعلی منجمدشده برای سنجش‌های بعدی به فریزر مخصوص نگهداری بافت با دمای ۸۰- انتقال داده شد.

## روش آزمایشگاهی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن–بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت عضلهٔ نعلی از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) به اضافهٔ ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کنندهٔ پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری شد (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد).

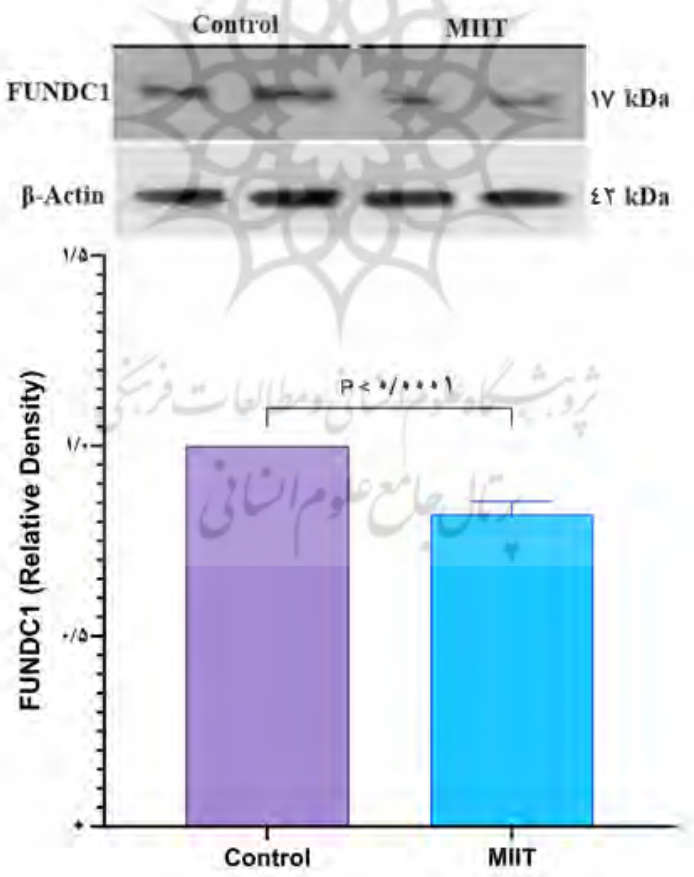
در نهایت در ۲۰ درجهٔ زیر صفر نگهداری شد، سپس هموژن به‌دست‌آمده به نسبت ۱:۱ با نمونهٔ لودینگ بافر (mM50 تریس‌کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتامرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط شد. در ادامه، نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشا به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت یک ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام گرفت. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه‌وتحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخهٔ ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های anti-FUNDC1 (H-22) (sc-133597) و anti-NIX (H-8) (Sc-166332) شرکت سانتاکروز ساخت آمریکا استفاده شدند.

## روش آماری

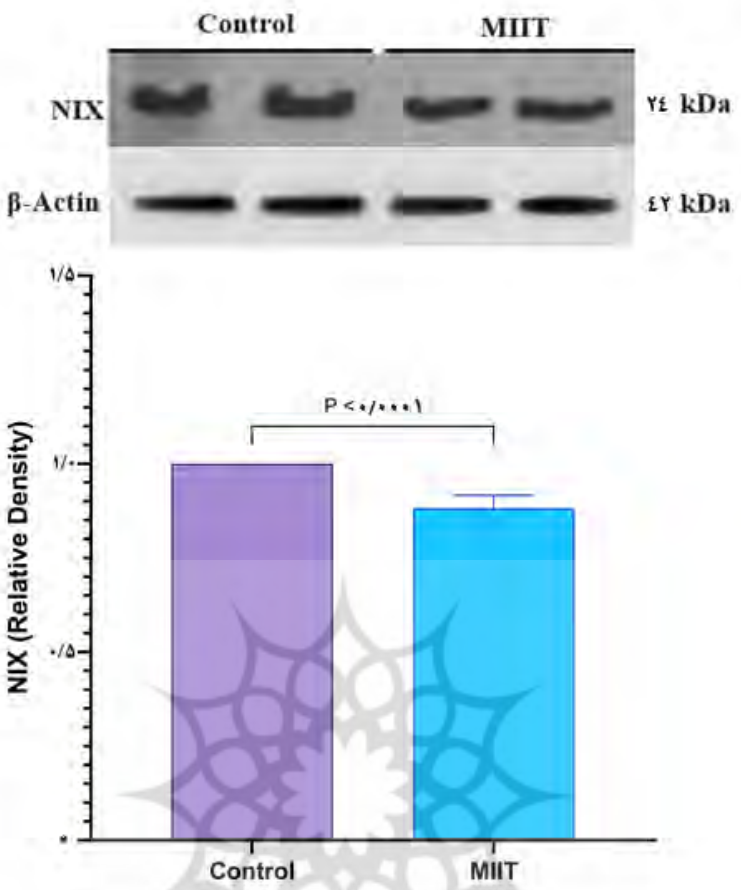
نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیروویلک بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها از آزمون t–مستقل برای بررسی میانگین بین گروه‌ها استفاده شد. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و طراحی شکل از نرم‌افزار گراف‌پد پریسم نسخهٔ ۹/۵ استفاده شد. سطح معناداری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## یافته‌های پژوهش

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها بر اساس آزمون t–مستقل نشان داد، مقدار t برای محتوای درون‌سلولی پروتئین FUNDC1، ۶/۵۱ است؛ بنابراین بر اساس نتایج به‌دست‌آمده تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱) (شکل ۱). این نشان می‌دهد هشت هفته تمرین MIIT بر مقدار پروتئین FUNDC1 در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار تأثیر معناداری دارد و این تأثیر به‌صورت کاهش در محتوای گروه MIIT نسبت به کنترل است. همچنین تجزیه‌وتحلیل داده‌ها نشان داد مقدار t برای محتوای درون‌سلولی پروتئین NIX، ۳/۷۹ است؛ بنابراین بر اساس نتایج تفاوت معناداری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱) (شکل ۲). این مسئله نشان می‌دهد هشت هفته تمرین MIIT بر مقدار پروتئین NIX در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار تأثیر معناداری دارد و این تأثیر به‌صورت کاهش در محتوای گروه MIIT نسبت به کنترل است.




**شکل ۱. تصاویر وسترن بلات، میانگین و انحراف استاندارد میزان پروتئین FUNDC1 در گروه‌های مختلف (در شکل معناداری بین گروه‌ها مشخص شده است)**




**شکل ۲. تصاویر وسترن بلات، میانگین و انحراف استاندارد میزان پروتئین NIX در گروه‌های مختلف (در شکل معناداری بین گروه‌ها مشخص شده است)**

## بحث

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین MIIT بر مقدار پروتئین‌های میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار بود که نتایج کاهش معناداری را در محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های FUNDC1 و NIX در گروه MIIT نسبت به گروه کنترل نشان داد.

فعالیت‌های ورزشی منظم با ارتقای بازسازی سالم میتوکندری، عملکرد میتوکندری را افزایش می‌دهد، اما سازوکارهای زیربنایی به‌طور کامل شناخته نشده است. یک فرضیهٔ در حال ظهور نشان می‌دهد که علاوه بر رویدادهای آنابولیک مانند بیوژنز میتوکندری، تخریب انتخابی میتوکندری ناکارامد (برای مثال میتوفاژی) نیز یک جزء کلیدی از سازگاری‌های تمرینی در عضلهٔ اسکلتی است که در نهایت به عملکرد بهتر میتوکندری منجر می‌شود [۲۳]؛ اما این عملکرد مهم و کلیدی میتوفاژی با افزایش بیش‌ازحد می‌تواند به اختلالات در عملکرد و همچنین کاهش در تعداد و حجم میتوکندری منجر شود [۲۴]. با این حال، در زمینهٔ پروتئین‌های مسئول میتوفاژی از طریق بررسی‌های انجام‌گرفته از طریق فعالیت‌های ورزشی، در تحقیقی یو و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین‌های ورزشی با مدت زمان و شدت‌های مختلف بر اتوفاژی میتوکندری و بیان FUNDC1 در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی پرداختند. گروه‌های ورزشی با شدت متوسط تمرین ورزشی را روی تردمیل، با سرعت ۱۶ متر در دقیقه، ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۶ روز در هفته انجام دادند. گروه‌های ورزشی با شدت

بالا تمرین ورزشی را با دویدن روی تردمیل با سرعت ۳۵ متر در دقیقه، ۲۰ دقیقه در هر جلسه و شش روز در هفته انجام دادند. نتایج نشان داد که محتوای پروتئین FUNDC1 افزایش یافته است. این محققان بیان کردند که تمرین‌های ورزشی می‌تواند موجب اتوفاژی میتوکندری در عضلات اسکلتی شود و فعالیت اتوفاژی مربوط به مدت زمان و شدت تمرین‌های ورزشی است. سازوکار القایی ورزش ممکن است شامل واسطهٔ بیان FUNDC1 از طریق مسیر AMPK-ULK1 باشد [۲۵]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد تمرین MIIT موجب کاهش محتوای پروتئین‌های میتوفاژی FUNDC1 و NIX در عضلات اسکلتی موش‌ها می‌شود، که با نتایج تحقیق یو و همکاران (۲۰۲۰) متفاوت است. در پژوهش یو و همکاران، تمرین‌های ورزشی با شدت متوسط و بالا موجب افزایش محتوای پروتئین FUNDC1 در عضلات اسکلتی شد. این تفاوت ممکن است به دلایل مختلفی نظیر شدت تمرین باشد، زیرا شدت بالاتر تمرین ممکن است موجب فعال‌سازی بیشتر مسیر AMPK-ULK1 و بالا رفتن بیان FUNDC1 شود. همچنین تفاوت در زمان تمرین عامل دیگر می‌تواند باشد. زمان طولانی‌تر تمرین ممکن است موجب افزایش سطح AMPK و القای FUNDC1 شود. بنابراین می‌توان گفت که تأثیر تمرین‌های ورزشی بر اتوفاژی میتوکندری و بیان FUNDC1 در عضلات اسکلتی به عوامل مختلف، از جمله گونهٔ حیوانات، شدت و زمان تمرین بستگی دارد. در کل تمرینات ورزشی با متغیرهای تمرینی متفاوت یکی از عواملی‌اند که می‌توانند موجب میتوفاژی در عضلهٔ اسکلتی شوند، زیرا موجب تحریک تخریب اندامک‌های معیوب می‌شوند. این مسئله می‌تواند برای سلامت عضلات مفید باشد، زیرا از تجمع اختلال عملکرد میتوکندری جلوگیری و بیوژنز میتوکندری را تقویت می‌کند که برای ایجاد میتوکندری‌های جدید ضروری است. بیوژنز میتوکندری و میتوفاژی برای تنظیم گردش میتوکندری و هموستاز در عضلات اسکلتی با هم کار می‌کنند و هر دو فرایند با فعالیت ورزشی بهبود می‌یابند [۲۶]؛ بنابراین افزایش میتوفاژی در عضلهٔ اسکلتی در پی فعالیت ورزشی می‌تواند خوب باشد، زیرا به حفظ یک مخزن سالم از میتوکندری کمک می‌کند که می‌تواند عملکرد و سازگاری عضلات را پشتیبانی کند؛ با این حال، میتوفاژی بیش‌ازحد یا مزمن ممکن است تأثیرات منفی داشته باشد، مانند کاهش محتوای میتوکندری و اختلال در عملکرد عضلانی. بنابراین، تعادل بین میتوفاژی و بیوژنز میتوکندری برای سلامت بهینهٔ عضلات ضروری است [۲۴, ۲۷].

در تحقیقی دیگر ژاهو و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر مسیرهای مسئول میتوفاژی و پویایی میتوکندری در عضلهٔ قلبی پرداختند. تمرین ورزشی شامل ۱۰ هفته تمرین شنا و پنج روز در هفته بود و مدت زمان در هفتهٔ اول ۲۰ دقیقه و سپس ۱۰ دقیقه در هفته افزایش می‌یافت. نتایج نشان داد که محتوای پروتئین NIX کاهش می‌یابد [۲۸]. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و تحقیق ژاهو و همکاران، نتایج هر دو تحقیق نشان داد که تمرین ورزشی تأثیرات همسویی بر پروتئین‌های درگیر در مسیرهای مسئول میتوفاژی و پویایی میتوکندری در عضلات اسکلتی و قلبی دارد. در تحقیق حاضر، محتوای پروتئین NIX کاهش یافته است و این همراستا با نتایج تحقیق ژاهو و همکاران است. در تحقیق حاضر علاوه بر پروتئین NIX، محتوای پروتئین FUNDC1 نیز اندازه‌گیری شده است که محتوای آن کاهش یافته بود، درحالی‌که در تحقیق ژاهو و همکاران محتوای این پروتئین بررسی نشده بود. نوع تمرین ورزشی به‌عنوان عامل تجربی در هر دو متفاوت بوده است؛ همچنین شدت و زمان تمرین نیز متفاوت بوده‌اند. تحقیق حاضر از تمرین MIIT روی تردمیل استفاده کرده‌اند، درحالی‌که تحقیق ژاهو و همکاران از تمرین شنا استفاده کرده‌اند. همچنین بافت موردنظر در هر دو تحقیق متفاوت بوده است. در تحقیق حاضر روی بافت عضلات اسکلتی نعلی (سولئوس) و در تحقیق ژاهو و همکاران عضلهٔ قلبی نمونه‌برداری شده است. بنابراین می‌توان گفت که نتایج دو تحقیق با هم همراستا نیست و این حاکی از پیچیدگی فرایندهای سلولی مربوط به میتوفاژی و پویایی میتوکندری در عضلات است. علاوه بر عامل تجربی (تمرین ورزشی)، عوامل دیگری مثل نژاد حیوانات، جنس، تعداد، نوع و شدت تمرین، زمان تمرین، نوع بافت عضلانی و نوع پروتئین مورد بررسی می‌توانند بر نتایج تحقیقات تأثیرگذار باشند. برای رسیدن به دیدگاه کلی و جامع در این زمینه، لازم است پژوهش‌های بیشتر و با روش‌های متنوع انجام گیرد.

برخی از سازوکارهای سلولی می‌توانند در اتوفاژی میتوکندریایی دخیل باشند؛ فعال شدن حسگرهای محرومیت از انرژی، مانند سیرتوئین-۱ (SIRT1) و پروتئین AMPK که می‌تواند اتوفاژی را تحریک و بیوژنز و عملکرد میتوکندری را تنظیم کند [۲۹]. همچنین تعدیل سطوح پیام‌رسان، مانند یون‌های کلسیم، cAMP و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، می‌تواند بر پتانسیل غشای میتوکندری، استرس

اکسیداتیو و آپوپتوز تأثیر بگذارد [۳۰]. از طرفی بیان پروتئین‌های خاص مانند FUNDC1، NIX، BCL2، BNIP3 و پارکین، می‌توانند در شناسایی و جذب میتوکندری‌های آسیب‌دیده به اتوفاگوزوم‌ها میانجیگری کنند [۳۱, ۳۲]. همچنین دخالت اجزای اسکلت سلولی و پروتئین‌های حرکتی مرتبط (مانند RAB GTPases) و پروتئین وابسته با همجوشی بیولوژیکی غشا (SNARE)، می‌تواند ادغام اتوفاگوزوم‌ها و لیزوزوم‌ها را تسهیل کند [۳۳]. همهٔ این مسیرها از طریق فعالیت‌های ورزشی با شرایط مختلف تحت تأثیر قرار می‌گیرند که می‌توانند بر کیفیت و عملکرد میتوکندری تأثیرگذار باشند.

پژوهش حاضر چندین محدودیت داشت که باید در نظر گرفته شود. نمونه‌های تحقیق حاضر سالم بودند و بهتر است بیماری‌هایی همراه با درگیری بیشتر مسیر میتوفاژی بررسی شود. همچنین در تحقیق حاضر فقط چند عامل سلولی و مولکولی اندازه‌گیری شده است، به‌طوری‌که پیشنهاد می‌شود سایر عوامل سلولی و مولکولی مسیرهای میتوفاژی بررسی شود. از طرفی بهتر است زمان‌های متفاوتی از تمرین MIIT بررسی و تأثیرات طولانی‌مدت و کوتاه‌مدت آن روشن شود.

## نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تمرین MIIT موجب کاهش معنادار محتوای پروتئین‌های FUNDC1 و NIX در گروه MIIT نسبت به گروه کنترل شده است. این یافته‌ها حاکی از این است که تمرین MIIT می‌تواند فرایند میتوفاژی را در عضلات اسکلتی تنظیم و به حفظ سلامت میتوکندری از طریق مسیرهای مرتبط کمک کند. از آنجا که میتوفاژی یک راه‌حل سلولی برای حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد است، تمرین MIIT ممکن است نقش محافظتی در برابر بسیاری از بیماری‌های عضلانی و متابولیک داشته باشد. البته برای تأیید این فرض، به انجام پژوهش‌های بالینی و فیزیولوژیکی به‌منظور شناسایی سازوکارهای بیشتر نیاز است.

## تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل تلاش نویسندگان تحقیق حاضر است که به‌صورت رسالهٔ دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول انجام شده است. از تمامی افرادی که در این تحقیق ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

## References

[1] Wu H, Chen Q. Hypoxia activation of mitophagy and its role in disease pathogenesis. Antioxidants & redox signaling. 2015;22(12):1032-46.https://doi.org/10.1089/ars.2014.6204

[2] Pickles S, Vigié P, Youle RJ. Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. Current Biology. 2018;28(4):170-85.https://doi.org/10.1089/ars.2014.6204

[3] Zhang Y, Oliveira AN, Hood DA. The intersection of exercise and aging on mitochondrial protein quality control. Experimental Gerontology. 2020;131:110824.https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110824

[4] Li J, Zhang Z, Bo H, Zhang Y. Exercise couples mitochondrial function with skeletal muscle fiber type via ROS-mediated epigenetic modification. Free Radical Biology and Medicine. 2024;213:409-25.https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2024.01.036

[5] Zhang W. The mitophagy receptor FUN14 domain-containing 1 (FUNDC1): a promising biomarker and potential therapeutic target of human diseases. Genes & diseases. 2021;8(5):640-54.https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.08.011

[6] Lv M, Wang C, Li F, Peng J, Wen B, Gong Q, et al. Structural insights into the recognition of

phosphorylated FUNDC1 by LC3B in mitophagy. Protein & cell. 2017;8(1):25-38.https://doi.org/10.1007/s13238-016-0328-8

[7] Wang S, Long H, Hou L, Feng B, Ma Z, Wu Y, et al. The mitophagy pathway and its implications in human diseases. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2023;8(1):1-28.https://doi.org/10.1038/s41392-023-01503-7

[8] Marinković M, Šprung M, Novak I. Dimerization of mitophagy receptor BNIP3L/NIX is essential for recruitment of autophagic machinery. Autophagy. 2021;17(5):1232-43.https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1755120

[9] Rogov VV, Suzuki H, Marinković M, Lang V, Kato R, Kawa. ki M, et al. Phosphorylation of the mitochondrial autophagy receptor Nix enhances its interaction with LC3 proteins. Scientific reports. 2017;7(1):1-12.https://doi.org/10.1038/s41598-017-01258-6

[10] Esteban-Martínez L, Boya P. BNIP3L/NIX-dependent mitophagy regulates cell differentiation via metabolic reprogramming. Autophagy. 2018;14(5):915-7.https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1332567

[11] Alizadeh Pahlavani H, Laher I, Knechtle B, Zouhal H. Exercise and mitochondrial mechanisms in patients with sarcopenia. Frontiers in Physiology. 2022;13:1040381.https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1040381

[12] Wang Y, Li J, Zhang Z, Wang R, Bo H, Zhang Y. Exercise Improves the Coordination of the Mitochondrial Unfolded Protein Response and Mitophagy in Aging Skeletal Muscle. Life. 2023;13(4):1006.https://doi.org/10.3390/life13041006

[13] Coswig VS, Barbalho M, Raiol R, Del Vecchio FB, Ramirez-Campillo R, Gentil P. Effects of high vs moderate-intensity intermittent training on functionality, resting heart rate and blood pressure of elderly women. Journal of translational medicine. 2020;18:1-11.https://doi.org/10.1186/s12967-020-02261-8

[14] Gao J, Yu L, Wang Z, Wang R, Liu X. Induction of mitophagy in C2C12 cells by electrical pulse stimulation involves increasing the level of the mitochondrial receptor FUNDC1 through the AMPK-ULK1 pathway. American Journal of Translational Research. 2020;12(10):6879.PMID: 33194079; PMCID: PMC7653589.

[15] He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, et al. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. Nature. 2012;481(7382):511-5.https://doi.org/10.1038/nature10758

[16] Lo Verso F, Carnio S, Vainshtein A, Sandri M. Autophagy is not required to sustain exercise and PRKAA1/AMPK activity but is important to prevent mitochondrial damage during physical activity. Autophagy. 2014;10(11):1883-94.https://doi.org/10.4161/auto.32154

[17] Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. Physiological reports. 2018;6(7):e13651.https://doi.org/10.14814/phy2.13651

[18] Vainshtein A, Desjardins E, Armani A, Sandri M, Hood DA. PGC-1α modulates denervation-induced mitophagy in skeletal muscle. Skeletal muscle. 2015;5(1):1-17.https://doi.org/10.1186/s13395-015-0033-y

[19] Chen CCW, Erlich AT, Hood DA. Role of Parkin and endurance training on mitochondrial turnover in skeletal muscle. Skeletal muscle. 2018;8:1-14.https://doi.org/10.1186/s13395-018-0157-y

[20] Ma L, Li K, Wei W, Zhou J, Li Z, Zhang T, et al. Exercise protects aged mice against coronary endothelial senescence via FUNDC1-dependent mitophagy. Redox Biology. 2023;62:102693.https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102693

[21] Bai X, Zhang Z, Li X, Yang Y, Ding S. FUNDC1: An Emerging Mitochondrial and MAMs Protein for Mitochondrial Quality Control in Heart Diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(11):9151.https://doi.org/10.3390/ijms24119151

[22] Hoshino D, Yoshida Y, Kitaoka Y, Hatta H, Bonen A. High-intensity interval training increases intrinsic rates of mitochondrial fatty acid oxidation in rat red and white skeletal muscle. Applied physiology, nutrition, and metabolism. 2013;38(3):326-33.https://doi.org/10.1139/apnm-2012-0257

[23] Guan Y, Drake JC, Yan Z. Exercise-Induced Mitophagy in Skeletal Muscle and Heart. Exerc Sport Sci Rev. 2019;47(3):151-6.https://doi.org/10.1249/jes.0000000000000192

[24] Ju J-s, Jeon S-i, Park J-y, Lee J-y, Lee S-c, Cho K-j, Jeong J-m. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. The Journal of Physiological Sciences. 2016;66:417-30.https://doi.org/10.1007/s12576-016-0440-9

[25] Yu L, Shi X-Y, Liu Z-M, Wang Z, Li L, Gao J-X, et al. Effects of exercises with different durations and intensities on mitochondrial autophagy and FUNDC1 expression in rat skeletal muscles. Sheng li xue bao:[Acta Physiologica Sinica]. 2020;72(5):631-42.PMID: 33106833

[26] Erlich AT, Hood DA. Mitophagy regulation in skeletal muscle: Effect of endurance exercise and age. Journal of Science in Sport and Exercise. 2019;1:228-36.https://doi.org/10.1007/s42978-019-00041-5

[27] Chatzinikita E, Maridaki M, Palikaras K, Koutsilieris M, Philippou A. The Role of Mitophagy in Skeletal Muscle Damage and Regeneration. Cells. 2023;12(5):716.https://doi.org/10.3390/cells12050716

[28] Zhao Y, Zhu Q, Song W, Gao B. Exercise training and dietary restriction affect PINK1/Parkin and Bnip3/Nix-mediated cardiac mitophagy in mice. General physiology and biophysics. 2018;37(6):657-66.PMID: 30431438

[29] Packer M. Autophagy-dependent and -independent modulation of oxidative and organellar stress in the diabetic heart by glucose-lowering drugs. Cardiovascular Diabetology. 2020;19(1):62.https://doi.org/10.1186/s12933-020-01041-4

[30] Li A, Gao M, Liu B, Qin Y, Chen L, Liu H, et al. Mitochondrial autophagy: Molecular mechanisms and implications for cardiovascular disease. Cell death & disease. 2022;13(5):444.https://doi.org/10.1038/s41419-022-04906-6

[31] Lei L, Yang S, Lu X, Zhang Y, Li T. Research Progress on the Mechanism of Mitochondrial Autophagy in Cerebral Stroke. Frontiers in Aging Neuroscience. 2021;13.https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.698601

[32] Wang X-L, Feng S-T, Wang Y-T, Yuan Y-H, Li Z-P, Chen N-H, et al. Mitophagy, a Form of Selective Autophagy, Plays an Essential Role in Mitochondrial Dynamics of Parkinson's Disease. Cellular and Molecular Neurobiology. 2022;42(5):1321-39.https://doi.org/10.1007/s10571-021-01039-w

[33] Roca-Agujetas V, de Dios C, Lestón L, Marí M, Morales A, Colell A. Recent Insights into the Mitochondrial Role in Autophagy and Its Regulation by Oxidative Stress. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019;2019:3809308.https://doi.org/10.1155/2019/3809308