The effect of high-intensity interval training (HIIT) on the level of mitochondrial dynamic and mitophagy proteins (FUNDC1 and NIX) in soleus muscle of male Wistar rats

Mohammad SharifBigdeli[1], Neda Aghaei Bahmanbeglou[1*], Reza Rezaee Shirazi[1], Mozhgan Ahmadi[2]

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: Nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir**

Abstract

Background and Objective: The function and quality of mitochondria is very important for human life. Many pathways are involved in mitochondrial quality regulation such as mitophagy. Exercise as a physical stress can affect mitophagy; Therefore, the aim of this research was the effect of high-intensity interval training (HIIT) on the amount of mitochondrial dynamic and mitophagy proteins (FUNDC1 and NIX) in soleus muscle of male Wistar rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 12 Wistar rats with an average weight of 280±30 were randomly divided into two groups:1.Control group, 2.HIIT (6 rats per group). The rats in the HIIT group were trained for 8 weeks, with five sessions per week, and each session consisted of 10 high-intensity intervals for 3 minutes with 2-minute rest intervals. Skeletal muscle tissue was harvested from the animals 48 hours after the last training session. The contents of the variables were measured by western blotting. Data were analysed through independent t-test in SPSS version 27 and GraphPad Prism version 10.2 software. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered.

Results: The intracellular content of FUNDC1 protein showed a significant decrease in the HIIT group compared to the control group (P=0.0001); But this difference in NIX protein content was not significant (P=0.69).

Conclusion: The cellular regulation of these factors can mean the optimal regulation of mitophagy through exercise training such as HIIT. To clarify the effectiveness of training exercises, more studies are needed in this field.

Keywords: High Intensity Interval Training, Mitophagy, Soleus Muscle

Received: Jan 22, 2024 **Revised:** Mar 11, 2024 **Accepted:** Apr 27, 2024

How to cite this article: SharifBigdeli M, Aghaei Bahmanbeglou N, Rezaee Shirazi R, Ahmadi M. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on the amount of mitochondrial dynamic and mitophagy proteins (FUNDC1 and NIX) in soleus muscle of male Wistar rats. Daneshvar Medicine 2024; 32(1):70-80. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.18732.1448

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان پروتئین‌های داینامیک میتوکندری و میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضله نعلی موش‌های صحرایی

محمد شریف‌بیگدلی[۱]، ندا آقایی بهمن‌بگلو[۱*]، رضا رضایی‌شیرازی[۱]، مژگان احمدی[۲]

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران
۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: ندا آقایی **Email:** Nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: عملکرد و کیفیت میتوکندری برای زندگی انسان بسیار حائز اهمیت است. مسیرهای بسیاری در تنظیم کیفیت میتوکندری مانند میتوفاژی دخیل هستند. فعالیت‌های ورزشی به عنوان یک استرس فیزیکی می‌تواند روی میتوفاژی تاثیر بگذارد؛ بنابراین، هدف از انجام تحقیق حاضر، تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان پروتئین‌های داینامیک میتوکندری و میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌باشد.

مواد و روش ها: در این پژوهش تجربی، تعداد ۱۲ سر موش صحرایی از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰±۲۸۰، به صورت تصادفی به دو گروه: ۱. گروه کنترل، ۲. HIIT (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند. موش های صحرایی گروه HIIT به مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ جلسه و هر جلسه شامل ۱۰ تناوب با شدت بالا به مدت ۳ دقیقه با تناوب های استراحتی ۲ دقیقه ای تمرین کردند. ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین بافت عضله اسکلتی نعلی از بدن حیوان جدا شد. محتوای متغیرها از طریق روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. داده‌ها از طریق آزمون t-مستقل در نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و گراف‌پد پریسم نسخه ۱۰/۲ تجزیه و تحلیل شد. سطح معناداری p≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: محتوای درون سلولی پروتئین FUNDC1 کاهش معنی‌داری را در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل نشان داد (P=۰/۰۰۰۱)؛ اما این تفاوت در محتوای پروتئین NIX معنی‌دار نبود (P=۰/٦۹).

نتیجه‌گیری: تنظیم سلولی این عوامل می‌تواند به معنی تنظیم بهینه میتوفاژی از طریق تمرین‌های ورزشی مانند HIIT باشد. برای روشن شدن تاثیرگذاری تمرین‌های ورزشی نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

واژه های کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، میتوفاژی، عضله نعلی

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۰۲
اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۲/۱۲/۲۱
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸

مقدمه

میتوکندری‌ها محفظه‌های درون سلولی دو غشایی هستند که در فرآیندهای اساسی مانند تولید ATP، بیوسنتز فسفولیپید یا حمل و نقل آن‌ها، سیگنالینگ کلسیم و هموستاز آهن عمل می‌کنند (۳-۱). این اندامک‌ها به عنوان بسترهای متفاوت برای رویدادهای مختلف از جمله آپوپتوز، اتوفاژی، پاسخ ایمنی ذاتی و تمایز سلول عمل می‌کنند (٦-٤). مکانیسم میتوفاژی برای از بین بردن میتوکندری نقش مهمی در بسیاری از فرآیندها از جمله رشد جنین، تمایز سلول، التهاب و آپوپتوز ایفا می‌کند. پیشرفت‌های اخیر در تجزیه و تحلیل میتوفاژی در داخل بدن همچنین میزان بالایی از تنظیم دینامیک میتوکندری در حالت پایدار در انواع سلول‌های متنوع را نشان می‌دهد و نقش داخل سلولی میتوفاژی را برجسته می‌کند. نقص در تنظیم مسیر میتوفاژی با شرایط پاتولوژیک مختلفی از جمله اختلالات عصبی، نارسایی قلبی، سرطان و پیری همراه است و بیشتر بر اهمیت بیولوژیکی تأکید می‌کند (۷).

مسیرهای درگیر در تنظیم میتوفاژی را می‌توان با سه مسیر مستقل زیر تنظیم کرد: ۱) میتوفاژی با واسطه پینک-۱/پارکین، میتوفاژی با واسطه FUNDC1 و میتوفاژی با واسطه NIX (۸). میتوکندری‌ها اندامک‌های پویایی هستند که دائماً تحت شکافت، همجوشی و میتوفاژی قرار می‌گیرند تا هموستاز و عملکرد خود را حفظ کنند. در صورت تنظیم نشدن دینامیک میتوکندری، میتوفاژی منجر به کاهش تولید ATP و جهش DNA آنها می‌شود، که در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود.

شواهد در حال افزایش نشان داده است که پروتئین FUNDC1، یک گیرنده میتوفاژی جدید، در فرآیند دینامیک میتوکندری و میتوفاژی است که نقش مهمی در بیماری‌های مختلف انسانی دارد (۹). FUNDC1 یک پروتئین با سه دامنه ترانس غشای مارپیچ α است که در غشای بیرونی میتوکندری واقع است و خصوصیاتی مشابه با سایر گیرنده‌های میتوفاژی دارد (۱۰). از طرفی دیگر در راستای عملکردهای FUNDC1 و پروتئین‌های درگیر در میتوفاژی پروتئین NIX می‌باشد؛ پروتئین NIX که همچنین به عنوان BNIP3L شناخته می‌شود یک پروتئین مرتبط با میتوکندری است که در غشای بیرونی میتوکندری قرار دارد و متعلق به پروتئین BH3 و از خانواده BCL2 است. پروتئین NIX در ابتدا به عنوان یک پروتئین پروپوپتوز با اثر خفیف‌تر در القاء آپوپتوز در مقایسه با سایر پروتئین‌های این خانواده شناخته شد (۱۱). به تازگی مشخص شده است که پروتئین NIX به عنوان یک گیرنده میتوفاژی نقشی اساسی دارد (۱۲).

فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی با فعال‌سازی عوامل سلولی منجر به سازگاری‌های میتوکندریایی شامل افزایش بیوژنز، بیوانرژی، دینامیک و ظرفیت اکسیداتیو عضلات اسکلتی می‌شوند. فعالیت‌های ورزشی با تحریک بیوژنز منجر به افزایش محتوا و کیفیت میتوکندری و در نهایت رمودولینگ میتوکندریایی می‌شوند. شدت تمرین‌های ورزشی از مهم‌ترین مولفه‌های تمرین‌ها برای فعال‌سازی مسیرهای سلولی در عضلات اسکلتی هستند (۱۳). تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)[1] نوع دیگری از تمرین‌های ورزشی است که شامل دوره‌های تمرین تناوبی همراه با دوره‌های استراحت یا ریکآوری است. HIIT، عموماً به وهله‌های تکراری با فعالیت‌های تناوبی نسبتاً کوتاه با شدت بالا همراه با وهله‌های استراحت گفته می‌شود (١٤). تمرین‌های با شدت‌های متفاوت سبب افزایش ظرفیت سوخت‌وسازی، بهبود دستگاه‌های هوازی، بی‌هوازی و همچنین افزایش عملکردهای ورزشی و متابولیسم انرژی می‌شود. این تمرین‌ها منجر به سازگاری‌های سوخت‌وسازی سودمندی در عضلات می‌شوند و با افزایش بیوژنز میتوکندری از طریق افزایش تعداد و بهبود عملکرد میتوکندری‌ها سبب افزایش کارایی آن‌ها در بدن می‌شوند (۱۵). در ارتباط با پروتئین‌های مسئول میتوفاژی از طریق بررسی‌های

[1] High-Intensity Interval Training

انجام‌شده توسط 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 بر 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 بر روی تردمیل با سرعت ۳۵ متر در دقیقه، ۲۰ دقیقه در هر جلسه و ۶ روز در هفته انجام دادند. نتایج نشان دادند که محتوای پروتئین FUNDC1 افزایش یافته است. این محققان بیان کردند که تمرین‌های ورزشی می‌تواند باعث اتوفاژی میتوکندری در عضلات اسکلتی شود و فعالیت اتوفاژی مربوط به مدت زمان و شدت تمرین‌های ورزشی است. مکانیسم القایی تمرین ورزشی ممکن است شامل واسطه بیان FUNDC1 از طریق مسیر AMPK-ULK1 باشد (۱۶). در تحقیقی دیگر ژاهو و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر مسیرهای مسئول میتوفاژی و پویایی میتوکندری در عضله قلبی پرداختند. تمرین ورزشی شامل ۱۰ هفته افزایش تمرین شنا و ۵ روز در هفته بود. مدت زمان در هفته اول ۲۰ دقیقه و سپس ۱۰ دقیقه در هفته افزایش می‌یافت. نتایج نشان داد که محتوای پروتئین NIX کاهش می‌یابد (۱۷). بعد از بررسی‌های انجام شده مشخص می‌شود که فرآیندهای بسیار مهمی مانند میتوفاژی و پویایی میتوکندری در کیفیت عملکرد میتوکندری‌ها، مهم هستند. این پژوهش در راستای بررسی مسیرهای سلولی و ملکولی مرتبط به میتوفاژی انجام می‌شود. در این پژوهش محتوای درون سلولی پروتئین‌های بسیار مهمی مانند FUNDC1 و NIX در بحث میتوفاژی بررسی می‌شود. پویایی میتوکندری و میتوفاژی از نزدیک با هموستاز عضلانی اسکلتی ارتباط دارند، بنابراین هدف دیگر اندازه‌گیری این پروتئین‌های مهم در عضله اسکلتی نعلی (یک عضله کند انقباض و غنی از میتوکندری) می‌باشد. علاوه بر این ارتباط مسیر اتوفاژی از طریق تمرین HIIT مورد بررسی قرار می‌گیرد. با توجه به توضیحات ارائه شده هدف از تحقیق حاضر، تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان پروتئین‌های دینامیک میتوکندری و میتوفاژی (FUNDC1 و NIX) در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از نوع تجربی و بر اساس بنیادی-توسعه‌ای بود. تعداد ۱۲ سر موش صحرایی از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰±۲۸۰ گرم خریداری و تهیه شد. هر ۳ سر موش صحرایی در قفس‌های پلی‌کربنات نگه‌داری شدند. دمای محیط آزمایشگاه ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی و تاریکی به صورت ۱۲ به ۱۲ و رطوبت حدود ۵۵ تا ۶۰ درصد بود. برای تمامی موش‌های صحرایی آب و غذای استاندارد ویژه موش صحرایی به صورت آزاد در دسترس بود. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی با شناسه ثبت شده در سامانه ملی کد اخلاق IR.US.PSYEDU.REC.1402.067 مورد توجه قرار گرفت.

برنامه تمرینی تناوبی با شدت بالا (HIIT)

جهت از بین بردن تاثیر یک هفته تمرین ورزشی برای تمامی موش‌های صحرایی، همه موش‌های صحرایی به مدت یک هفته با سرعت حدود ۱۰ تا ۱۵ متر بر دقیقه با تردمیل مخصوص جوندگان آشنا شدند. سپس موش‌های صحرایی به دو گروه: ۱-گروه کنترل (۶ سر)، ۲- HIIT (۶ سر) به صورت تصادفی تقسیم شدند. موش‌های صحرایی گروه HIIT بر اساس برنامه تمرینی، شامل ۸ هفته و هر هفته شامل ۵ جلسه بود. هر جلسه شامل ۱۰ تناوب با شدت بالا به مدت ۳ دقیقه که تناوب‌های استراحتی ۲ دقیقه‌ای از هم جدا شد. میانگین سرعت در هفته اول ۳۶ متر بر دقیقه بود که در هفته آخر میانگین سرعت به ۴۹ متر بر دقیقه رسید. شیب تردمیل در تمام ۸ هفته صفر بود (۱۸) (جدول ۱).

جدول ۱. برنامه تمرین تناوبی با شدت بالا

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	۳۶	۳۰	۴۷
سوم – چهارم	۱۰	۳	۲	۵	۴۲	۳۸	۴۹
پنجم – ششم	۱۰	۳	۲	۵	۴۷	۴۰	۵۱
هفتم – هشتم	۱۰	۳	۲	۵	۴۹	۴۰	۵۵

روش بافت‌برداری

گروه کنترل در مدت ۸ هفته هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. در انتهای برنامه تمرینی (۸ هفته) برای از بین بردن آثار متغیرهای غیرقابل کنترل مانند استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی 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 عضله اسکلتی نعلی (سولئوس) از بدن حیوان شد و بعد از شستشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شدند. سپس بافت‌های عضله اسکلتی نعلی منجمد شده 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. از هر گروه بافت عضله نعلی ۵ سر موش صحرایی برای وارد فرآیند اندازه‌گیری روش وسترن‌بلات شدند. برای استخراج پروتئین‌های بافت عضله نعلی از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین کننده‌ی پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگه‌داری شد، سپس هموژن به‌دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه‌ی لودینگ بافر (mM50 تریس‌کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتامرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۵ 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. غشاء به‌مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۵۰۰:۱) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ٤ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های اولیه anti-FUNDC1 (H-22) (sc-133597) و anti-NIX (H-8) (Sc-166332) و آنتی‌بادی‌های ثانویه m-IgGκ BP-HRP: sc-516102 و anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357 شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند.

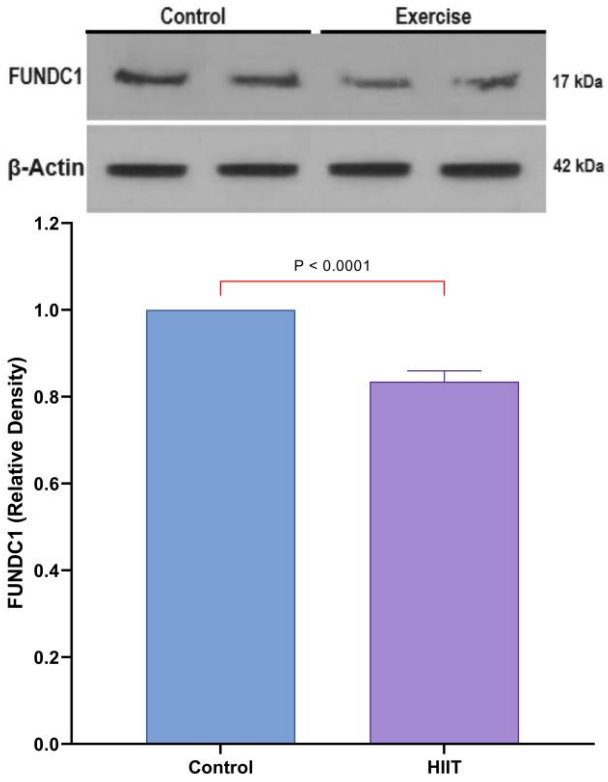
تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو- ویلک بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها از آزمون t- مستقل برای تجزیه و تحلیل میانگین بین گروه‌ها در نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و گراف‌پد پریسم نسخه ۱۰/۲ استفاده شد. برای طراحی شکل از نرم‌افزار گراف‌پد پریسم نسخه ۱۰/۲ استفاده شد. سطح معناداری p≤۰/۰۵ بود.

نتایج

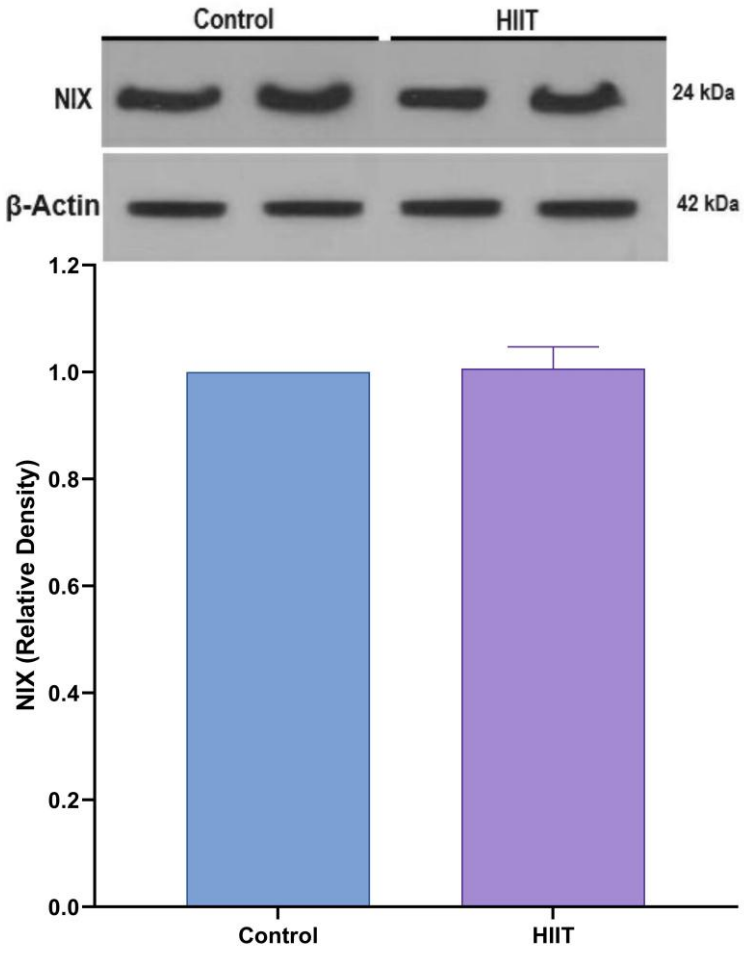
تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون آزمون t-مستقل نشان داد، مقدار t برای محتوای درون سلولی پروتئین FUNDC1، ۱۶/۰۰ است؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۱). این نشان می‌دهد هشت هفته تمرین HIIT بر میزان پروتئین FUNDC1 در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تاثیر معنی‌داری دارد و این تاثیر به صورت کاهش در محتوای گروه HIIT نسبت به کنترل است.

همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، مقدار t برای محتوای درون سلولی پروتئین NIX، ۰/۳۹ است؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد (P=۰/۶۹) (شکل ۲). این نشان می‌دهد هشت هفته تمرین HIIT بر میزان پروتئین NIX در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تاثیر معنی‌داری ندارد.



شکل ۱. میانگین و انحراف استاندارد میزان پروتئین FUNDC1 در گروه‌های مختلف

(در شکل معنی‌داری بین گروه‌ها مشخص شده است)



شکل ۲. میانگین و انحراف استاندارد میزان پروتئین NIX در گروه‌های مختلف
(در شکل معنی‌داری بین گروه‌ها مشخص شده است)

بحث

نتایج تحقیق حاضر کاهش معنی‌داری را در محتوای درون سلولی پروتئین **FUNDC1** در گروه **HIIT** نسبت به گروه کنترل نشان داد؛ اما تفاوت معنی‌داری در محتوای درون سلولی پروتئین **NIX** در گروه **HIIT** نسبت به گروه کنترل نشان داده نشد.

فعالیت ورزشی مناسب می‌تواند عملکرد میتوکندری را بهبود بخشد و از مرگ سلول‌های عضلانی اسکلتی با ترویج میتوفاژی برای حذف پروتئین‌های تاشده ناقص و اندامک‌های آسیب‌دیده جلوگیری کند. با این حال، فعالیت‌های ورزشی با شدت بالا می‌تواند به سلول‌های عضلانی اسکلتی آسیب برساند، منجر به خستگی شود و حتی پاسخ‌های ایمنی را تضعیف کند و باعث مرگ سلولی اتوفاژیک شود (۲۱-۱۹).

اگرچه نقش **FUNDC1** در فعالیت‌های ورزشی به طور کامل بررسی نشده است؛ با این حال مطالعات نشان داده‌اند که تحریک پالس الکتریکی باعث افزایش سطوح **FUNDC1** می‌شود. این در حالی است که مهار عوامل بالادستی **FUNDC1** سطوح آن را کاهش و در نتیجه باعث کاهش کلوکالیزه‌شدن **FUNDC1** می‌شود، که نشان می‌دهد **FUNDC1** واسطه میتوفاژی ناشی از فعالیت ورزشی است (۲۲). همچنین نشان داده‌شده است که تمرینات هوازی (استقامتی) محلی‌سازی میتوکندریایی را از طریق بیان **BNIP3** و **NIX** و شار میتوفاژی در عضله اسکلتی افزایش می‌دهد (۲۷-۲۳). جالب توجه است که شش هفته دویدن

داوطلبانه میتوفاژی پایه در عضلات موش را کاهش می‌دهد و پاسخ میتوفاژی آنها به ورزش حاد را ضعیف می‌کند، که نشان می‌دهد افزایش کیفیت اندامک ناشی از تمرین مزمن منجر به سازگاری با فعالیت ورزشی می‌شود که نیاز به تخریب میتوکندری آسیب‌دیده را کاهش می‌دهد (۲۷،۲۸). با توجه به نتایج تحقیق حاضر و مقالات مرتبط که در بالا گزارش شد نتایج حاضر نشان داد که **HIIT** باعث کاهش محتوای درون سلولی پروتئین میتوفاژی **FUNDC1** و عدم معنی‌داری در محتوای پروتئین **NIX** در عضله نعلی می‌شود. این یافته با مطالعات قبلی که نشان دادند **FUNDC1** واسطه میتوفاژی ناشی از فعالیت ورزشی است، همخوانی دارد. همچنین، این یافته با مطالعات دیگر که نشان دادند تمرینات هوازی (استقامتی) محلی‌سازی میتوکندریایی را از طریق بیان **BNIP3** و **NIX** و شار میتوفاژی در عضله اسکلتی افزایش می‌دهند، در تضاد است. این تفاوت ممکن است به دلیل نوع تمرین باشد. تمرین‌های هوازی مانند **HIIT** یک نوع تمرین با شدت بالا و زمان کوتاه است که باعث افزایش فشار اکسیداتیو در عضلات می‌شود. این عامل ممکن است سبب کاهش فعال‌سازی عوامل بالادست **FUNDC1** و **NIX** شده و در نتیجه سطح آن‌ها را کاهش دهند (۱۷ و ۳۰-۲۹). در حالی که تمرینات هوازی یک نوع تمرین با شدت پایین و زمان طولانی است که باعث افزایش سطح **AMP/ATP** و فعال‌سازی **AMPK** در عضلات می‌شود. این فاکتورها ممکن است سبب افزایش فعال‌سازی عوامل بالادست **FUNDC1** و **NIX** شده و در نتیجه سطح آن‌ها را افزایش دهند (۳۱،۱۶).

همچنین تمرین‌های ورزشی مانند **HIIT** می‌تواند باعث افزایش سطوح گلوکز خون و گیرنده‌های انسولین در عضلات می‌شود. این فاکتورها ممکن است سبب افزایش سطح **mTORC1** و کاهش سطح **ULK1** در عضلات شده و در نتیجه فرآیند اتوفاژی/میتوفاژی را کاهش دهد (۲۹ و ۳۳-۳۲). در یک سری آزمایش‌های افزایش عملکرد و از دست دادن عملکرد در میوتوب‌های جوندگان و انسان، محققان نشان دادند که تجمع **NIX** باعث دپلاریزاسیون میتوکندری، فعال‌سازی وابسته به کلسیم و میتوفاژی می‌شود. علاوه بر این، **NIX** می‌تواند سیگنالینگ انسولین را از طریق فعال‌سازی مهاری محور انسولین فعال کند و این می‌تواند میتوفاژی را القاء کند. میتوفاژی ناشی از **NIX** و جذب گلوکز مختل‌شده را می‌توان با فسفوریلاسیون مستقیم **NIX** توسط **PRKA/PKA** معکوس کرد که منجر به انتقال **NIX** از میتوکندری و شبکه سارکوپلاسمی به سیتوزول می‌شود (۲۹)؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که **HIIT** می‌تواند با تغییر سطح پروتئین‌های میتوفاژی **FUNDC1** و **NIX** تاثیر منفی بر کیفیت میتوکندریایی در عضله اسکلتی داشته باشد. این موضوع ممکن است به عملکرد عضلانی و سلامت کلی بدن تاثیر بگذارد؛ بنابراین، لازم است در انتخاب نوع و شدت تمرینات ورزشی، به این جنبه‌ها توجه شود.

در تضاد با عدم معنی‌داری محتوای پروتئین **NIX** از طریق **HIIT**، در تحقیقی اثر هشت هفته **HIIT** بر روی سطح پروتئین‌های میتوفاژی **BNIP3** و **NIX** در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بررسی شد. نتایج نشان داده‌اند که این نوع تمرین باعث کاهش قابل توجه این پروتئین‌ها می‌شود. این محققان بر اساس نتایج خود بیان کردند هر چند، اعمال **HIIT** سبب ممانعت از افزایش بیش از حد و کاهش در این پروتئین‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. از این‌رو، به‌نظر می‌رسد انجام فعالیت‌های بدنی مداخلهٔ مناسبی برای برقراری تعادل در مسیر میتوفاژی ناشی از ابتلاء به دیابت در بافت کبدی موش‌های صحرایی باشد. البته اظهار نظر قطعی در رابطه با این شاخص‌ها و نحوهٔ تأثیرپذیری آن‌ها از شرایط مختلف منوط به انجام تحقیقات بیشتری می‌باشد (۳۳).

نتایج تحقیقات حاضر نشان می‌دهند که هشت هفته **HIIT** باعث کاهش معنی‌دار سطح پروتئین‌های میتوفاژی **FUNDC1** وعدم معنی‌داری پروتئین **NIX** در عضله نعلی شده است. این یافته با نتایج مقاله گزارش شده در بالا که بر روی بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ انجام شده است، ناهمسو است. در هر مقاله حاضر میزان **NIX** تفاوت معنی داری را نشان نداد و این در حالی است که در تحقیق گزارش شده (۳۳) کاهش یافته بود؛ این یافته‌ها حاکی از این است که **HIIT** می‌تواند یک تمرینی ورزشی برای تنظیم بهبود عملکرد میتوکندری در بافت‌های مختلف بدن است. فعالیت‌های ورزشی هوازی می‌تواند با افزایش

فعالیت **AMPK** و **PGC-1**α سبب افزایش بیوژنز میتوکندریایی و بهبود سلامت سلول‌های عضلانی و کبد شود (۳٤،۳۵). بنابراین، **HIIT** ممکن است برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های مربوط به اختلال در عملکرد میتوکندری، مانند چاقی، سرطان و دیابت نوع ۲، مناسب باشد.

یکی از مکانیسم‌های مهم میتوفاژی ناشی از فعالیت‌های ورزشی که می‌تواند منجر به فعال‌شدن پروتئین‌های **FUNDC1** و **NIX** شود تنظیم محور سیگنالینگ **AMPK-ULK1** می‌باشد. فعال‌سازی **AMPK** از طریق فسفوریلاسیون در ترئونین ۱۷۲ برای فسفوریلاسیون **ULK1** در سرین ۵۵۵ ناشی از فعالیت‌های ورزشی و بیوژنز لیزوزومی در عضله اسکلتی مورد نیاز است. به طور همزمان، فعالیت‌های ورزشی شکافت میتوکندری را آغاز می‌کند که به فعال‌سازی **AMPK** وابسته نیست. نشان داده شده است که ULK1 برای هدف‌گیری لیزوزوم به نقطه آسیب/ناکارآمد میتوکندری برای تخریب بعدی حیاتی است (۳۲). همه این موارد همراه با پروتئین‌های پایین‌دست یعنی پروتئین‌های **FUNDC1** و **NIX** می‌تواند سبب شروع میتوفاژی و اتمام آن شود.

این پژوهش چند محدودیت داشت که باید در نظر داشته باشیم. آزمودنی‌های این تحقیق سالم بودند و مطلوب است بیماری‌هایی که بیشتر مسیر میتوفاژی را تحت تاثیر قرار می‌دهند را در آزمودنی‌ها القاء کرد. علاوه بر این، در این تحقیق فقط چند پارامتر سلولی و مولکولی سنجیده شد. همچنین بهتر است زمان‌های مختلف از تمرین **HIIT** مورد بررسی قرار گیرند و اثرات کوتاه مدت و طولانی مدت آن شفاف شود.

نتیجه‌گیری

در پایان با توجه به نتایج حاصل شده نشان داد تمرین **HIIT** باعث کاهش قابل توجه محتوای پروتئین **FUNDC1** و عدم معنی‌داری در محتوای پروتئین **NIX** در گروه HIIT در مقابل گروه کنترل شد. این یافته‌ها نشان می‌دهند که تمرین **HIIT** می‌تواند فرآیند میتوفاژی را در عضلات اسکلتی کاهش دهد و به حفظ سلامت میتوکندری از طریق مسیرهای وابسته کمک کند. از آنجا که میتوفاژی یک راه حل سلولی برای حذف میتوکندری‌های معیوب و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد است، تمرین **HIIT** ممکن است نقش متفاوتی برای تنظیم این مسیر در برابر بسیاری از بیماری‌های عضلانی و متابولیک داشته باشد. البته، برای تأیید نیاز به انجام پژوهش‌های بالینی و فیزیولوژیکی مکانیسم‌شناسانه بیشتر است.

ملاحظات اخلاقی

مقاله فوق دارای تاییدیه کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی در دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی دانشگاه شیراز با کد **IR.US.PSYEDU.REC.1402.067** است.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

منابع

1. Raffaello A, Mammucari C, Gherardi G, Rizzuto R. Calcium at the center of cell signaling: interplay between endoplasmic reticulum, mitochondria, and lysosomes. Trends in Biochemical Sciences 2016;41(12):1035-1049.
2. Tamura Y, Endo T. Role of intra-and inter-mitochondrial membrane contact sites in yeast phospholipid biogenesis. Organelle Contact Sites: From Molecular Mechanism to Disease 2017:121-133.
3. Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. Nature cell Biology 2018;20(7):745-754.
4. Mehta MM, Weinberg SE, Chandel NS. Mitochondrial control of immunity: beyond ATP. Nature Reviews Immunology 2017;17(10):608-620.
5. Kalkavan H, Green DR. MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business. Cell Death & Differentiation 2018;25(1):46-55.
6. Lisowski P, Kannan P, Mlody B, Prigione A. Mitochondria and the dynamic control of stem cell homeostasis. EMBO Reports 2018;19(5):e45432.

7. Onishi M, Yamano K, Sato M, Matsuda N, Okamoto K. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy. The EMBO Journal 2021;40(3):e104705.
8. Liu L, Li Y, Chen Q. The emerging role of FUNDC1-mediated mitophagy in cardiovascular diseases. Frontiers in Physiology 2021;12:807654.
9. Liu H, Zang C, Yuan F, Ju C, Shang M, Ning J, et al. The role of FUNDC1 in mitophagy, mitochondrial dynamics and human diseases. Biochemical Pharmacology 2022;197:114891.
10. Kuang Y, Ma K, Zhou C, Ding P, Zhu Y, Chen Q, et al. Structural basis for the phosphorylation of FUNDC1 LIR as a molecular switch of mitophagy. Autophagy 2016;12(12):2363-2373.
11. Li Y, Zheng W, Lu Y, Zheng Y, Pan L, Wu X, et al. BNIP3L/NIX-mediated mitophagy: molecular mechanisms and implications for human disease. Cell Death & Disease 2021;13(1):14.
12. Turkieh A, El Masri Y, Pinet F, Dubois-Deruy E. Mitophagy regulation following myocardial infarction. Cells 2022;11(2):199.
13. Tabari E, Mohebbi H, Karimi P, Moghaddami K, Khalafi M. The effects of interval training intensity on skeletal muscle pgc-1 α in type2 diabetic male rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2019;18(4):179-188.
14. Türk Y, Theel W, Kasteleyn M, Franssen F, Hiemstra P, Rudolphus A, et al. High intensity training in obesity: a Meta-analysis. Obesity science & practice. 2017;3(3):258-271.
15. Bakhtiyari A, Gaeni A, Chobineh S, Kordi MR, Hedayati M. Effect of 12-weeks high-intensity interval training on SIRT1, PGC-1 α and ERR α protein expression in aged rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology 2018;5(2):95-102.
16. 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):631-642.
17. 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):657-666.
18. 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):326-333.
19. Jewell JL, Russell RC, Guan K-L. Amino acid signalling upstream of mTOR. Nature reviews Molecular Cell Biology 2013;14(3):133-139.
20. Feng Z, Bai L, Yan J, Li Y, Shen W, Wang Y, et al. Mitochondrial dynamic remodeling in strenuous exercise-induced muscle and mitochondrial dysfunction: regulatory effects of hydroxytyrosol. Free Radical Biology and Medicine 2011;50(10):1437-1446.
21. Golbidi S, Laher I. Molecular mechanisms in exercise-induced cardioprotection. Cardiology Research and Practice 2011; https://doi.org/10.4061/2011/972807.
22. 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.
23. 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):511-515.
24. 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):1883-1894.
25. 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.
26. Vainshtein A, Desjardins E, Armani A, Sandri M, Hood DA. PGC-1 α modulates denervation-induced mitophagy in skeletal muscle. Skeletal Muscle 2015;5(1):1-17.
27. 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.

28. Chen CCW, Erlich AT, Hood DA. Role of Parkin and endurance training on mitochondrial turnover in skeletal muscle. Skeletal Muscle 2018;8:1-14.
29. da Silva Rosa SC, Martens MD, Field JT, Nguyen L, Kereliuk SM, Hai Y, et al. BNIP3L/Nix-induced mitochondrial fission, mitophagy, and impaired myocyte glucose uptake are abrogated by PRKA/PKA phosphorylation. Autophagy 2021;17(9):2257-2272.
30. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death & Differentiation 2018;25(3):486-541.
31. Tarpey MD, Davy KP, McMillan RP, Bowser SM, Halliday TM, Boutagy NE, et al. Skeletal muscle autophagy and mitophagy in endurance-trained runners before and after a high-fat meal. Molecular Metabolism 2017;6(12):1597-1609.
32. Laker RC, Drake JC, Wilson RJ, Lira VA, Lewellen BM, Ryall KA, et al. Ampk phosphorylation of Ulk1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy. Nature Communications 2017;8(1):548.
33. Farajpour Khazaei S, Vakili J, Sari Sarraf V. Effect of eight weeks of high-intensity interval training on some indices of liver mitophagy in type 2 diabetic rats. Scientific Magazine Yafte 2023;25(1):15-26.
34. Kong S, Cai B, Nie Q. PGC-1α affects skeletal muscle and adipose tissue development by regulating mitochondrial biogenesis. Molecular Genetics and Genomics 2022;297(3):621-633.
35. Xiao L, Liu J, Sun Z, Yin Y, Mao Y, Xu D, et al. AMPK-dependent and-independent coordination of mitochondrial function and muscle fiber type by FNIP1. PLoS Genetics 2021;17(3):e1009488.