Hakim Sabzevari University

Journal of Sport in Biomotor Sciences

Homepage:http://sbs.hsu.ac.ir

P- ISSN: 2228-723X
E- ISSN: 3041-959X

Sport and Biomotor Sciences ورزش و علوم زیست حرکتی

The effect of 4 weeks of continuous aerobic training with different volumes and starvation on the expression of some genes involved in liver mitophagy in healthy male Wistar rats

Hamzeh Bayani[1], *Habib Asgharpour*[2]*, *Asra Askari*[3], *Reza Rezaeeshirazi*[4]

1. Ph.D Candidate of Department of Exercise physiology, Department of Physical Education & Sports sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran. hamzeh_bayani@yahoo.com
2. Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Physical Education & Sports sciences, Aliabad katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad katoul, Iran. habibasgharpour@gmail.com
3. Assistant Professor, Department of Physical Education, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran. askari.asra@gmail.com Assistant Professor, Department of Physical Education & Sports sciences, Aliabad katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad katoul, Iran. rezaii725@yahoo.com

Article Information

Article type: Research Article

Vol: 16
No: 32
P: 122-134
Received: 2024-06-04
Revised: 2024-11-27
Accepted: 2024-12-09

Cite this Article:

Hamzeh Bayani, Habib Asgharpour, Asra Askari, Reza Rezaeeshirazi. The effect of 4 weeks of continuous aerobic training with different volumes and starvation on the expression of some genes involved in liver mitophagy in healthy male Wistar rats. *Journal of Sport and Biomotor Sciences*. 2024-2025; 16(32): 122-134.
doi: 10.22034/sbs.2024.460475.1102

Publisher: Hakim Sabzevari University

© The Author(s)

10.22034/sbs.2024.460475.1102

Abstract

Introduction and Purpose: An increase in the number of defective mitochondria and their persistence can lead to apoptosis and necrosis of cells. Regular physical exercise along with time-restricted eating (TRE) can play an important role in improving mitochondrial damage and function. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of 4 weeks of continuous aerobic exercise and fasting on the expression of some genes involved in mitophagy, including PINK1 and BNIP3, and some factors influencing liver health such as liver enzymes ALT and AST, and the lipid profile in healthy rats.

Materials and methods: his was an experimental study. Thirty healthy male Wistar rats, 18–20 weeks old, with an average body weight of 330.40 ± 25.34 grams, purchased from the Pasteur Institute of Iran, were randomly assigned to six groups of five: Control, Fasting, 3 days of exercise, 5 days of exercise, Fasting + 3 days of exercise, Fasting + 5 days of exercise. The exercise program was performed on a treadmill for 4 weeks, 3 or 5 days per week, for 45–60 minutes per session. Tissue sampling was conducted 24 hours after the last exercise session following a 14-hour fasting period, and blood samples were collected directly from the heart. One-way ANOVA and LSD post-hoc tests were used for data analysis.

Results: Weight, cholesterol, and ALT levels significantly decreased in all experimental groups compared to the control group ($P \leq 0.05$). The groups "fasting + 3 days of exercise" and "fasting + 5 days of exercise" showed greater reductions in these indices compared to other groups, but there was no significant difference between the two. Triglyceride levels also significantly decreased in all groups compared to the control group, with no significant differences observed among the other groups. AST levels significantly decreased in all groups compared to the control group ($P \leq 0.05$), with greater reductions observed in the "3 days of exercise," "5 days of exercise," "fasting + 3 days of exercise," and "fasting + 5 days of exercise" groups. Again, no significant difference was found among these groups.

The PINK1 marker significantly decreased in the "5 days of exercise," "fasting + 3 days," and "fasting + 5 days of exercise" groups compared to the control and fasting groups ($P \leq 0.05$), with no significant difference among the remaining groups. The BNIP3 marker showed a significant increase in the "3 days of exercise," "5 days of exercise," and "fasting + 3 days of exercise" groups compared to the control group ($P \leq 0.05$). The "5 days of exercise" group had a greater increase compared to the "fasting + 3 days of exercise" group. No significant differences were observed between the fasting and fasting + 5 days of exercise groups compared to the control.

Discussion and Conclusion: Four weeks of continuous aerobic exercise combined with fasting can positively impact liver health under normal mitophagy conditions by lowering lipid profile markers and increasing BNIP3 gene expression.

Key Words: Food deprivation, Continuous aerobic exercise, PINK1, BNIP3, Mitophagy

Extended Abstract

1. Introduction and Purpose

The increase in the number of defective mitochondria and their persistence can lead to apoptosis and necrosis of cells. Regular exercise training, combined with calorie restriction (TRE), can play a crucial role in improving mitochondrial damage and function. Therefore, the aim of this study is to investigate the effects of 4 weeks of continuous aerobic training and starvation on the expression of genes involved in mitophagy, including PINK1 and BNIP3, as well as factors affecting liver health, such as liver enzymes ALT and AST, and the lipid profile.

2. Materials and Methods

This study is experimental in nature. Thirty healthy male Wistar rats, aged 18-20 weeks with an average body weight of 330.40 ± 25.34 g, were purchased from the Pasteur Institute of Iran. The rats were randomly divided into six groups of five: control, starvation, 3 days of training, 5 days of training, starvation + 3 days of training, and starvation + 5 days of training. They were housed in specialized polycarbonate cages at an average temperature of 22 ± 1.4 °C, humidity of 55 ± 4%, and a light-dark cycle of 12:12 hours at the Animal Science Center of Gorgan University of Medical Sciences. All rats had free access to water and standard pellet food from Behparvarjondgan Company (10 g of food per 100 g of rat body weight). Exercise training was conducted on a treadmill for 4 weeks, 3 to 5 days a week, for 45-60 minutes each session. Tissue sampling was performed 24 hours after the last training session, following 14 hours of fasting, and blood was collected immediately from the heart. One-way analysis of variance and the LSD post hoc test were used to compare the data.

3. Results

Weight, cholesterol, and ALT indices showed a significant decrease in all groups compared to the control group ($p \leq 0.05$). The starvation + 3 days of training and starvation + 5 days of training groups exhibited a greater decrease in these indices compared to the other groups, though no significant difference was observed between them. The triglyceride index also decreased significantly in all groups compared to the control group, with no significant differences noted among the other groups. The AST index decreased significantly across all groups compared to the control group. The 3-day and 5-day training groups, as well as the starvation + 3 days of training and starvation + 5 days of training groups, demonstrated a greater decrease compared to the other groups, with no significant differences observed among these groups. The PINK1 index significantly decreased in the 5-day training, starvation + 3 days of training, and starvation + 5 days of training groups compared to the control and starvation groups; no significant differences were found among the other groups. The BNIP3 index showed a significant increase in the 3-day training, 5-day training, and starvation + 3 days of training groups compared to the control group, with the 5-day training group showing a greater increase than the starvation + 3 days of training group. No significant differences were observed between the fasting and fasting + 5 days of training groups compared to the control group.

4. Conclusions

Four weeks of continuous aerobic training combined with fasting can positively affect liver health by normalizing mitophagy status, downregulating the lipid profile, and increasing BNIP3 gene expression.

5. Acknowledgment & Funding

The authors would like to thank all those who provided scientific advice in preparing this article. This article was written at their own expense and received no financial support.

6. Ethical Consideration

This study was approved by the Ethics Committee of Ali Abad Azad University, in compliance with ethical standards and with the ethical code: ID: IR.IAU.AK.REC.1399.026.

7. Contribution of authors

All authors contributed to the article. All authors have read and approved the final article.

8. Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ورزش و علوم زیست حرکتی

Sport and Biomotor Sciences ورزش و علوم زیست حرکتی

دانشگاه حکیم سبزواری

تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تداومی باحجم‌های مختلف وگرسنگی بر بیان برخی ژن‌های دخیل در میتوفاژی کبد رت‌های سالم نر نژاد ویستار

حمزه بیانی[۱]، حبیب اصغرپور[۲*]، اسرا عسکری[۳]، رضا رضایی شیرازی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران. hamzeh_bayani@yahoo.com
۲. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران. Habibasgharpour@gmail.com
۳. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. askari.asra@gmail.com
۴. استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران. rezaii725@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی
دوره: ۱۶
شماره: ۳۲
صفحه: ۱۳۴-۱۲۲
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۹/۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۱۹

نحوه ارجاع به این مقاله:
حمزه بیانی، حبیب اصغرپور، اسرا عسکری، رضا رضایی شیرازی. تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی تداومی باحجم‌های مختلف وگرسنگی بر بیان برخی ژن‌های دخیل در میتوفاژی کبد رت‌های سالم نر نژاد ویستار. نشریه ورزش و علوم زیست حرکتی. ۱۴۰۳؛ ۱۶(۳۲): ۱۲۲-۱۳۴.
Doi: 10.22034/sbs.2024.460475.1102

ناشر: دانشگاه حکیم سبزواری

© نویسنده(گان).

10.22034/sbs.2024.460475.1102

چکیده

مقدمه و هدف: افزایش تعداد میتوکندری‌های معیوب و تداوم آن می‌تواند موجب آپوپتوز و نکروز سلول‌ها گردد. تمرینات ورزشی منظم به همراه محدودیت زمان مصرف کالری دریافتی (TRE) می‌تواند در بهبود آسیب و عملکرد میتوکندری نقش مهمی داشته باشد. لذا هدف این مطالعه بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین هوازی تداومی وگرسنگی بر بیان برخی از ژن‌های دخیل در میتوفاژی شامل PINK1 وBNIP3 و برخی از عوامل موثر برعملکرد سلامت کبد از جمله آنزیم‌های کبدی ALT و AST و نیمرخ لیپیدی رت های سالم می‌باشد.
مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع تجربی می باشد. ۳۰ سر رت نر سالم نژاد ویستار۲۰-۱۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۲۵/۳۴ ± ۳۳۰/۴۰ گرم که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند به عنوان نمونه تحقیق انتخاب و به طور تصادفی ساده در ۶ گروه ۵ تایی: کنترل، گرسنگی، ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین، گرسنگی + ۳ روز تمرین، گرسنگی + ۵ روز تمرین تقسیم شدند. تمرین ورزشی در مدت ۴ هفته به تعداد ۳ و ۵ روز در هفته به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه روی تردمیل انجام شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۴ ساعت ناشتایی بافت‌برداری انجام و خون‌گیری بلافاصله از قلب صورت گرفت. روش آماری تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی LSD نیز برای مقایسه داده ها استفاده گردید.
یافته ها: شاخص های وزن، کلسترول و ALT در همه گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری نشان داد (P≤۰/۰۵). همچنین، دو گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین وگرسنگی + ۵ روز تمرین در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش بیشتری در این شاخص‌ها ایجاد کردند، اما بین آنها تفاوت معناداری مشاهده نشد. شاخص تری‌گلیسرید در همه گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری یافت. بین سایر گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. شاخص AST در همه گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری داشت (P≤۰/۰۵). گروه‌های ۳ و ۵ روز تمرین، گرسنگی + ۳ روز تمرین و گرسنگی+ ۵ روز تمرین در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش بیشتری را نشان دادند و بین این گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد. شاخص PINK1 در گروه‌های ۵ روز تمرین، گرسنگی + ۳ و ۵ روز تمرین در مقایسه با گروه کنترل و گروه گرسنگی کاهش معناداری یافت (P≤۰/۰۵). بین سایر گروه‌ها تفاوت معناداری مشاهد نشد. شاخص BNIP3 درگروه‌های ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین و گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (P≤۰/۰۵). گروه ۵ روز تمرین افزایش بیشتری را در مقایسه با گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین ایجاد کرد. بین گروه‌های گرسنگی و گرسنگی + ۵ روز تمرین در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد.
نتیجه گیری: چهار هفته تمرین هوازی تداومی و گرسنگی توام با ورزش، با تنظیم کاهشی وضعیت نیمرخ لیپیدی و افزایش بیان ژن BNIP3 می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت کبد با وضعیت میتوفاژی نرمال داشته باشد.

واژه های کلیدی: محرومیت غذایی، تمرین تداومی هوازی، PINK1، BNIP3، میتوفاژی

مقدمه

کبد مسئول اعمال حیاتی بدن می‌باشد، بیماری و اختلال در عملکرد کبد آسیب جدی به بدن وارد می‌کند و در صورت مزمن شدن بیماری و عدم رسیدگی، می‌تواند منجر به مرگ شود. اختلالات کبدی در اکثر مواقع دارای علائم مشابهی با سایر بیماری ها می باشد و همین عامل (سندرم متابولیک، دیابت و...) موجب سخت شدن و تشخیص دیرهنگام بیماری‌های کبدی می شود (۱). کبد بزرگ‌ترین غده بدن است و نقش مهمی در متابولیسم بدن و سم زدایی مواد مختلف دارد؛ بنابراین سلامت این ارگان حائز اهمیت است (۲) و به دلیل داشتن آنزیم‌هایی مانند آلانین آمینوترانسفراز[1](ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز[2](AST)، آلکالین فسفاتاز[3](ALP)، گاما آمینوبوتیرات[4](GAB) در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی ها و پروتئین ها نقش اساسی را ایفا می‌کند.

بسیاری از آنزیم‌های کبدی به‌عنوان شاخصی برای تشخیص بیماری کبدی به کار می روند که از آن جمله به آنزیم های ALT و AST می توان اشاره کرد (۳). کبد از چندین نوع سلول (شامل سلول‌های اندوتلیال و اپیتلیال، سلول‌های کوپفر، سلول‌های ستاره‌ای و حفره‌ای) تشکیل شده است که در این میان هپاتوسیت‌ها ۷۰ تا ۸۵ درصد از جرم این اندام را تشکیل می‌دهند و بیشترین صدمه و ریسک را در مقابل آسیب های سلولی، ازخود نشان می دهند (۴). کبد نسبت به سایر اندام های بدن در برابر شرایط اکسیداتیو آسیب پذیرتر است (۵). در داخل هپاتوسیت ها، میتوکندری‌ها، اندامک‌های مهمی هستند که می‌توانند به عنوان یک مرکز متابولیک برای تنظیم هموستاز هپاتوسیت‌ها در نظر گرفته شوند. در واقع، میتوکندری کبدی برای متابولیسم گلوکز، لیپید و پروتئین و تولید انرژی مورد نیاز است و چندین مسیر سیگنالینگ را تنظیم می‌کند. علاوه بر این، میتوکندری های کبدی، حسگرهای مواد مغذی هستند و بیوژنز و تعامل آنها با سایر اندامک ها به صورت دینامیکی تنظیم می شود تا متابولیسم کبدی را تطبیق دهد. تغییرات در همه این فرآیندها ممکن است به بیماری های متابولیک کبدی منجر شود. اکنون واضح است که اختلال عملکرد میتوکندری نقش کلیدی در پاتوژنز و پیشرفت بیماری‌های متابولیک کبدی، ازجمله: چاقی، دیابت نوع دو (T2D)[5] تا بیماری‌های کبدچرب غیرالکلی[6](NAFLD)، هپاتیت غیرالکلی[7](NASH) وکارسینوم هپاتوسولار یاکارسینوم سلول‌های کبدی[8](HCC) دارد. بنابراین، بررسی مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با اختلال عملکرد میتوکندری در بیماری‌های متابولیک کبدی ممکن است راه را برای روش های جدید درمانی هموار کند. حتی اگر اصلاح شیوه زندگی بهترین راه برای بهبود عملکرد میتوکندری باشد، چندین عامل درمانی میتوکندری‌ها را هدف قرار می دهند که می‌تواند بسیار امیدوارکننده باشد (۶).

میتوکندری‌های آسیب‌دیده، گونه‌های فعال اکسیژن[9](ROS) و سایر اکسیدان‌های مضر مانند پراکسید هیدروژن[10](H2O2) و پراکسی نیتریت را در سیتوپلاسم آزاد می‌کنند و باعث آسیب به پروتئین‌ها، نوکلئیک اسید و غشاها می‌شوند (۷). بدتر از آن، تحت آسیب شدید میتوکندری، سیتوکروم c، یک پروتئین فضای بین غشایی میتوکندری، آزاد می شود، که باعث ایجاد آبشار کاسپاز و در نهایت آپوپتوز می شود (۸). بنابراین، جای تعجب نیست که تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد با بیماری‌های مختلفی مانند بیماری‌های قلبی عروقی، بیماری‌های ریوی و اختلالات متابولیک مرتبط باشد (۱۰، ۹). بنابراین، تخریب سریع میتوکندری آسیب دیده برای بقای سلول ضروری است. میتوفاژی فرآیندی است که طی آن میتوکندری های آسیب دیده یا پیر به طور انتخابی توسط فاگوفورها شناسایی واحاطه می‌شوند. و برای حفظ هموستاز سلولی و جلوگیری از آپوپتوز سلولی تحت تخریب لیزوزومی قرار می‌گیرند. میتوفاژی با تشکیل فاگوفور، یک ساختار غشایی جدا شده از شبکه آندوپلاسمی، شروع می‌شود، سپس فاگوفور میتوکندری‌های آسیب‌دیده را از طریق آداپتورهای پروتئین ۱ زنجیره سبک ۳ مرتبط با میکروتوبول[11](LC3) یا گیرنده های LC3 شناسایی می کند و میتوکندری‌های آسیب دیده را برای تخریب اتوزومی می بلعد. در حال حاضر، مسیرهای میتوفاژی از دو نوع اصلی تشکیل شده است: مسیر با واسطه یوبیکوئیتین و مسیر با واسطه گیرنده میتوفاژی (۱۱). بنابراین تولید ROS از میتوکندری‌ها کاهش می‌یابد (۱۲) و از سلول‌ها در برابر شرایط نامطلوب محافظت می‌کند (۱۳).

مسیر یوبی کوئیتیناسیون[12](Parkin) با واسطه پروتئین کیناز۱ [13](PINK1)، ناشی از[14](PTEN) از جمله مکانیسم‌های میتوفاژی هستند که به خوبی شناخته شده اند. در میتوکندری‌های سالم، PINK1، یک سرین/ترئونین کیناز، به‌طور مداوم از سیتوپلاسم وارد می‌شود و توسط پروتئازهای میتوکندریایی پپتیداز پردازش‌کننده میتوکندری[15](MPP) و رومبوئید مرتبط با پرسنیلین[16](PARL) تجزیه می‌شود (۱۴). در شرایط استرس،

1. Alanine amino transferase
2. Aspartate amino transferase
3. Alkaline phosphatase
4. Gamma amino butyrate
5. Type 2 diabetes
6. Non-alcoholic fatty liver disease
7. Nonalcoholic steatohepatitis
8. Hepatocellular carcinoma
9. Reactive oxygen species
10. Hydrogen peroxide
11. B_light chain3
12. E3 ubicoitin protein ligase
13. Protein kinase 1
14. Phosphatase and tensin homolog
15. Mitochondrial processing peptidase
16. presenilin associated rhomboid like

غشای میتوکندری دپلاریزه می‌شود که از ورود PINK1 جلوگیری می‌کند و منجر به تجمع PINK1 روی غشای میتوکندری می‌شود. در نتیجه، فعالیت کیناز PINK1، باعث فسفوریلاسیون پارکین لیگاز E3 شده که عملکرد آنزیمی پارکین را فعال می‌کند و منجر به یوبی کوئیتیناسیون چندین پروتئین میتوکندری می‌شود (۱۵). در همین حال، PINK1 یوبیکوئیتین را فسفریله می‌کند و منجر به اتصال یوبیکوئیتین فسفریله و پارکین می‌شود که در آن فعالیت لیگاز بیشتر بهبود می‌یابد (۱۶، ۱۵).

پارکین می‌تواند پروتئین های میتوکندری یوبی کوئیتین شده مانند پروتئین میتوفیوژن[1](Mfn1)، کانال آنیونی وابسته به ولتاژ یا پورین [2](VDAC)، ترانسلوکاز غشای خارجی [3](TOMs)، پروتئین شکافت میتوکندری[4](Fis1) و میتوکندریال rho [5](Miro) را در همه جا جمع‌آوری کند و باعث میتوفاژی شود (۱۷). میتوفاژی کنترل شده ممکن است با بیوژنز میتوکندری برای حفظ بقا و عملکرد سلول هماهنگ شود (۱۸). مسیر دوم میتوفاژی از طریق سیگنال‌دهی گیرنده میتوفاژی است. گیرنده‌های میتوفاژی متعدد در حال حاضر در سلول‌های پستانداران شناسایی شده‌اند (۱۹). یک گیرنده حیاتی در این زمینه، [6](BCL2/ آدنوویروس ۱۹ کیلو دالتونی E1B پروتئین برهمکنش ۳(BNIP3)) و شبه BNIP3 یا پروتئین X شبه Nip، BNIP3L یا Nix، به عنوان گیرنده های میتوفاژی، پروتئین‌های موضعی میتوکندری هستندوبا LC3 از طریق منطقه برهمکنش LC3 خود تعامل دارند، بنابراین پاکسازی میتوکندری را افزایش می‌دهد (۲۰). با این حال میتوفاژی به واسطه BNIP3/NIX متفاوت از مسیر PINK/Parkin است. از این‌رو پروتئین‌های PINK1 و Parkin نمی‌توانند مستقیم به مرحله گیرنده‌های اتوفاگوزوم متصل شوند. در حالی که گیرنده های BNIP3 و NIX به طور مستقیم اتوفاژی را پیوند داده و محتوای سیستم اتوفاژی اند (۲۱). در برخی از تحقیقات مشخص شده است که ورزش منظم با افزایش بازسازی میتوکندری سالم عملکرد میتوکندری را افزایش می دهد، اما مکانیسم‌های زمینه ای کاملاً درک نشده است. یک فرضیه در حال ظهور نشان می‌دهد که علاوه بر رویدادهای آنابولیک مانند بیوژنز میتوکندری، تخریب انتخابی میتوکندری‌های ناکارآمد (یعنی میتوفاژی) نیز جزء کلیدی سازگاری با واسطه ورزش در عضلات مخطط است که در نهایت منجر به عملکرد بهتر میتوکندری می‌شود (۲۲).

مشاهده شده است کـه محـدودیت کالری و مداخله هایی (مانند فعالیت ورزشی) که بتوانند شرایط محدودیت کالریک را فراهم کنند اثرات ضدپیری دارند، به عبارت دیگر این عوامل م‌توانند مسیرهای متابولیکی کلیدی را تعدیل و منجر به حفظ سلامت و افزایش طول عمر شوند (۲۳). مطالعات گزارش دادند که گرسنگی باعث کاهش مواد مغذی داخل سلول و احساس آن توسط مسیرهای پیام‌رسانی حس‌کننده مواد مغذی مانند مسیرهای [7](mTOR) و [8](AMPK) می‌شود، که در نهایت باعث تحریک اتوفاژی می‌گردد (۲۴،۲۵). در حال حاضر، به خوبی ثابت شده است که کمبود مواد مغذی می تواند اتوفاژی را در بافت‌های مختلف افزایش دهد (۲۶). ورزش همچنین باعث افزایش اتوفاژی در عضلات اسکلتی می‌شود که توسط روچی و همکارانش (۲۰۱۷) مورد بررسی قرار گرفت (۲۷)، اما بر خلاف مطالعات مروری، مطالعات تحقیقی بر روی ورزش و میتوفاژی کبد کمتر انجام شده است (۲۸). ورزش یکی از موثرترین روش ها برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های مزمن است. بسیاری از مزایای ناشی از ورزش به دلیل سازگاری و بهبود عملکرد میتوکندری کبد یکی از مهم‌ترین سازگاری‌های سلولی ناشی از تمرینات استقامتی است، که در آن میتوکندری‌ها برای دستیابی به عملکرد مطلوب از طریق مجموعه‌ای از فرآیندهایی که به عنوان کنترل کیفیت میتوکندری نامیده می‌شوند، بازسازی می‌گردند. در این پژوهش به دنبال آن هستیم که آیا تمرین ورزشی و گرسنگی می‌تواند میتوفاژی کبد را تنظیم کند؟ بنابراین، ما با تمرکز برمیزان تغییر بیان ژن PINK1 و BNIP3 در صدد بررسی اثرات تمرینات ورزشی و گرسنگی بر روی میتوفاژی بافت کبد برآمدیم که به طور بالقوه می‌تواند بینشی در مورد استراتژی‌های حفظ سلامت کبد ارائه نماید.

روش‌شناسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی می‌باشد که در آن ۳۰ سر رت نر سالم نژاد ویستار ۲۰–۱۸ هفته‌ای با میانگین وزن بدن ۲۵/۳۴ ±۳۳۰/۴۰ گرم که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند به عنوان نمونه تحقیق انتخاب شدند. موش‌ها بزرگسال بودند و چاق محسوب نمی‌شدند و سندرم متابولیک هم نداشتند و وزن‌گیری آنهابه طور طبیعی باغذای استاندارد (۱۰ گرم غذا به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن رت) روزانه صورت می‌گرفت. حیوانات پس از یک هفته آشناسازی با محیط آزمایشگاه و یک هفته آشنایی با تمرین روی نوارگردان به طور تصادفی ساده در ۶ گروه ۵ تایی کنترل، گرسنگی، ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین، گرسنگی و ۳ روز تمرین، گرسنگی و ۵ روز تمرین تقسیم شدند و در محیطی با میانگین دمای ۱/۴±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت

1. Mitofusin 1
2. voltage-dependent anion channels
3. translocase of the outer membrane
4. Mitochondrial fission 1 protein
5. Mitochondrial Rho
6. BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3
7. The mammalian target of rapamycin
8. Mitogen-activated protein kinase

۵۵±۴ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت در قفس‌های مخصوص از جنس پلی کربنات به ارتفاع ۴۳ و طول ۲۷ و عرض ۲۵ سانتی‌متر و به تعداد ۳-۲ سر رت در هر قفس در مرکز علوم حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گرگان نگهداری شدند. تمامی رت‌ها به آب وغذای پلت استاندارد شرکت بهپرورجوندگان (۱۰ گرم غذا به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن رت) دسترسی آزاد داشتند. تمام مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس دستورالعمل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی با کد اخلاق به شناسه IR.IAU.AK.REC.1399.026 به تصویب دانشگاه آزاد واحد علی آباد رسیده است.

پروتکل تمرین: کل دوره تمرین شامل دو مرحله آشنایی و تمرین اصلی بود. هدف از مرحله آشنایی، سازگاری با محیط پژوهش و نوار گردان ساخت ایران مدل (T.S9000) می‌باشد. بدین منظور و در مدت یک هفته، حیوانات تحت شرایط تمرین آزمایشی به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و تمرین ورزشی را در مدت ۴ هفته به تعداد ۳ و ۵ روز در هفته به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه روی تردمیل انجام دادند. برنامه تمرین اصلی در این مطالعه در جدول ۱ آمده است. تمرین رت ها روی تردمیل با شیب صفر درجه با سرعت ۱۴ متر در دقیقه صورت می گرفت. بعد از طی جلسات تمرین، سرعت تردمیل به ۱۶ الی ۲۰ متر در دقیقه با شیب صفر درجه می رسید (۲۹).

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی تداومی (مراحل، مدت و سرعت)

هفته	مرحله۱	مرحله ۲	مرحله۳	مرحله ٤	مرحله ٥	مرحله٦
	سرعت–مدت	سرعت -مدت	سرعت-مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت	سرعت -مدت
هفته اول سازگاری با محیط	بدون تمرین	بدون تمرین	بدون تمرین	بدون تمرین	بدون تمرین	بدون تمرین
هفته دوم آشنایی با تمرین	۴-۸	۸-۱۰	۳-۵	-	-	-
هفته اول تمرین اصلی	۵-۷	۵-۱۰	۲۰-۱۴	۱۰-۷	۵-۴	-
هفته دوم تمرین اصلی	۷-۸	۷-۱۴	۲۵-۱۶	۱۰-۱۲	۶-۶	-
هفته سوم تمرین اصلی	۵-۸	۱۰-۱۴	۲۰-۱۸	۱۰-۱۴	۱۰-۱۰	۵-۵
هفته چهارم تمرین اصلی	۵-۸	۱۰-۱۴	۲۰-۲۰	۱۰-۱۴	۱۰-۱۰	۵-۵

پروتکل ایجاد گرسنگی: پروتکل گرسنگی به مدت ۴ هفته، هر روز از ساعت ۱۷:۳۰ الی ۷:۳۰ به مدت ۱۴ ساعت در زمان چرخه بیداری رت ها اعمال گردید. جهت القای گرسنگی، رت های گروه گرسنگی، همان مقدار معمول (۱۰ گرم به ازای ۱۰۰ گرم وزن رت) مواد غذایی که ما بقی گروه‌ها درطی ۲۴ ساعت دریافت می‌کردند را در طی ۱۰ساعت دریافت می‌کردند(۳۰).

روش بافت‌برداری و نمونه‌گیری خونی: پس از ۴ هفته تمرین و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۴ ساعت ناشتایی بافت‌برداری انجام شد. حیوانات با گاز co2 قربانی وکشتار شدند و خون‌گیری بلافاصله از قلب انجام شد. نمونه بافت کبد هر حیوان بلافاصله با سالین شستشو داده و در تیوب استریل کرایو قرارگرفته و در محلول نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه ها تا زمان انجام آزمایشات ارزیابی مقدار تغییرات بیان ژن در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

روش سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی و ژن: فاکتورهای بیوشیمیایی شامل پروفایل لیپیدی (تری‌گلیسیرید، کلسترول تام) به روش کالریمتری اندازه‌گیری شدند. جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده یکتا تجهیز آزما (تهران، ایران؛ سریال نامبر: FABRK001) انجام گرفت. سپس میزان کیفیت، کمیت حاصل از RNA با دستگاه نانو دراپ دانشگاه علوم پزشکی گلستان مورد اندازه‌گیری قرارگرفت و به سنتز cdna شرکت پارس توس مشهد (parstous.lot:2156,REF:A101161) پرداخته شد. اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های PINK1 و BNIP3 از روش کمی مراحل Real time انجام شد. پرایمرها به روش سایبر گرین qpcr (cat.No: YT2552, lot.P2003) و سفارش پرایمرها توسط شرکت پیشگام بیو تک (سنتز آلمان) انجام شد. ژن گلیسرآلدهید - ۳- فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده گردید و میزان بیان ژن مورد نظر با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد. به این صورت که ابتدا سیکل آستانه ژن مورد نظر هرنمونه از سیکل آستانه ژن خانه گردان همان نمونه کم شد.

(ΔCt= Ct Target-Ct Housekeeping) در مرحله بعد، عدد به دست آمده از دلتا سی تی هر نمونه را از نمونه هایی که نسبت به آن نیاز بود مقایسه شود کم کرده و منفی عدد به دست آمده را به توان دو رسانده و بیان نسبی ژن PINK1 و BNIP3 را به دست می‌آوریم. (ΔΔCt=ΔCt Target-ΔCt Reference) ΔΔCt- E= 2 توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲، گزارش شده است (۳۱).

جدول ۲. توالی پرایمرهای ژن PINK1 و BNIP3

Genes	Primer sequence
PINK1	′- GGAGGAGTATCTGATAGGGCAG -3′For: 5 ′- AACCCGGTGCTCTTTGTCAC -3′Rev: 5
BNIP3	′- CAGGGCTCCTGGGTAGAACT-3′For: 5 ′- CTACTCCGTCCAGACTCATGC -3′Rev: 5
GAPDH	′- CACTGAGCATCTCCCTC ACAA-3′For: 5 ′- TGGTATTCGAGAGA AGGGAGG -3′Rev: 5

روش‌های آماری

داده‌های بدست آمده از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل و به صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شدند. در ابتدا به منظور تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو–ویلک و برابری واریانس‌ها از آزمون لون (leven) استفاده شد. تفاوت‌های آماری تغییرات متغیرهای وابسته در بین گروه‌های تحقیق با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA)، و آزمون تعقیبی LSD برآورد شد. مقادیر P≤۰/۰۵ به عنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج جدول ۳ میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای وزن نهایی، تری‌گلیسیرید، کلسترول و آنزیم‌های کبدی و بیان ژن‌های PINK1 و BNIP3 را نشان می‌دهد. همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه جدول ۴ در متغیرهای وزن نهایی، تری گلیسیرید، کلسترول و آنزیم‌های کبدی و بیان ژن‌های PINK1 وBNIP3 تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحقیق نشان داد.

طبق نتایج جدول ۵ آزمون تعقیبی LSD، مقادیر بیان ژن BNIP3 در گروه گرسنگی (P=۰/۰۸) و گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۹۲)، در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی دار نداشت، اما در گروه ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین و گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (به‌ترتیب P=۰/۰۰۸، P=۰/۰۰۱ و P=۰/۰۴). همچنین، در گروه ۳ روز تمرین (P=۰/۲۸) و گروه‌های گرسنگی+ ۳ روز تمرین (P=۰/۷۸) وگ روه گرسنگی+ ۵ روز تمرین (P=۰/۰۶) نسبت به گروه گرسنگی تفاوت معنی دار نداشت اما درگروه ۵ روز تمرین (P=۰/۰۲) در مقایسه با گروه گرسنگی افزایش معنادار نشان داد، گروه ۳ روز تمرین، در مقایسه با گروه‌های ۵ روز تمرین (P=۰/۱۹)، گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۴۲) تفاوت معنی‌داری نداشت ولی با گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۰۶) افزایش معنادار نشان داد، گروه ۵ روز تمرین با گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۴)، گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۰۱)، و گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین با گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۳) نیز، تفاوت معنی دار نشان داد.

شاخص PINK1 در گروه‌های ۵ روز تمرین، گرسنگی + ۳ روز تمرین و گرسنگی + ۵ روز تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب P=۰/۰۱۳، P=۰/۰۱۰ و P=۰/۰۱۳)، اما در گروه‌های ۳ روز تمرین (P=۰/۰۵۶) و گرسنگی به تنهایی (P=۰/۹۷) در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد. گروه گرسنگی، در مقایسه با گروه ۳ روز تمرین (P=۰/۰۵۹) تفاوت معنی‌داری نداشت ولی درگروه‌های ۵ روز تمرین (P=۰/۰۱۴)، گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۱۰) و گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۱۳) تفاوت معنی‌دار نشان داد این شاخص در گروه‌های ۳ روز تمرین و ۵ روز تمرین و گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین، در مقایسه با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج آزمون تعقیبی LSD در مقادیر آنزیم‌های کبدی، تری‌گلیسرید، کلسترول و وزن نهایی در همه گروه‌ها کاهش معنی‌داری نسبت به کنترل نشان داد (P=۰/۰۰۱).

فاکتور وزن در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل، گروه گرسنگی و گروه ۵ روز تمرین کاهش معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۱) و در گروه ۳ روز تمرین نسبت با گروه ۵ روز تمرین (P=۰/۰۵) تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۰۱) کاهش معنی‌داری نشان داد. همین فاکتور در گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین نسبت به گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۷۴) ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این تفاوت در تری‌گلیسرید در همه گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل کاهشی معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۱)، ولی در گروه‌های گرسنگی، ۳ روز تمرین، ۵ روز تمرین و گرسنگی + ۳ روز تمرین در مقایسه با سایر گروه‌ها از نظر آماری معنی دار نبود.

کلسترول درهمه گروه‌ها کاهش معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱) و ۵ روز تمرین(P=۰/۰۱) نشان داد ولی نسبت به گروه‌های گرسنگی و گرسنگی + ۳ روز تمرین،

درمقایسه با گروه‌های دیگر تفاوت معنی‌داری نشان نداد، همین شاخص درگروه ۵ روز تمرین (P=۰/۸۰) نسبت به گروه ۳ روز تمرین تفاوت معنی‌داری نشان نداد ولی در مقایسه با گروه‌های گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۲) و گرسنگی+ ۵ روز تمرین (P=۰/۰۲)، کاهش معنی‌داری نشان داد.

شاخص AST درمقایسه با گروه کنترل، کاهشی معنادار نشان داد (P=۰/۰۰۱) و (P=۰/۰۰۵)، اما در گروه گرسنگی در مقایسه با ۳ روز تمرین (P=۰/۱۲) تفاوت معنی‌داری دیده نشد ولی نسبت به گروه‌های ۵ روز تمرین (P=۰/۰۰۵)، گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۰۱) و گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۰۸) تفاوت معنی‌داری نشان داد، این شاخص در گروه ۳ روز تمرین در مقایسه با گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۰۱) تفاوت معنی‌دار نشان داد ولی درمقایسه با گروه‌های ۵ روز تمرین (P=۰/۱۳) و گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۲۰)، تفاوت معنی‌داری دیده نشد، همچنین در گروه ۵ روز تمرین درمقایسه با گروه گرسنگی +۳ روز تمرین (P=۰/۳۳) و گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۸۲)، تفاوت معنی‌داری دیده نشد، این مقایسه در گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین با گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۲۴) نیز در شاخص AST، تفاوت معنی‌داری نداشت.

شاخص ALT در همه گروه‌ها، نسبت به گروه کنترل و گروه ۵ روز تمرین، کاهشی معنی دار نشان داد (P=۰/۰۰۱)، در گروه گرسنگی در مقایسه با گروه‌های ۳ و ۵ روز تمرین نیز کاهش معنی‌دار داشته (P=۰/۰۰۱)، ولی در مقایسه با گروه گرسنگی + ۳ روز تمرین (P=۰/۲۲) و گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۰۶)، تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در گروه ۳ روز تمرین در مقایسه با گروه ۵ روز تمرین (P=۰/۴۶)، از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی در مقایسه با گروه‌های گرسنگی + ۳ روز تمرین و گرسنگی + ۵ روز تمرین کاهش معنی دار نشان داد (P=۰/۰۰۱)، این تفاوت در گروه گرسنگی+ ۳ روز تمرین در مقایسه با گروه گرسنگی + ۵ روز تمرین (P=۰/۴۸)، از نظرآماری معنی دار نبود.

جدول ۳. میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای پژوهش

متغیرها	کنترل	گرسنگی	۳ روز تمرین	۵ روز تمرین	گرسنگی + ۳ روز تمرین	گرسنگی + ۵ روز تمرین
وزن نهایی (گرم)	۳۶۱/۴۰±۳۵/۶۲	۳۰۹/۲۰±۸/۴۹	۲۱۴/۲۰۰±۷۳/۸۴	۱۶۷/۸۰±۳۰/۶۵	۷۸/۸۰±۸/۶۱	۷۱/۲۰±۱۹/۱۷
تری گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۴۱/۸۰±۴۰/۶۹	۶۸/۴۰±۱۹/۴۳	۷۰/۴۰±۱۸/۴۳	۵۹/۲۰±۲۴/۸۸	۴۸/۶۰±۱۰/۴۳۰	۴۷/۴۰±۱۲/۰۹
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱۳۷/۴۰±۳۵/۷۶	۵۷/۸۰±۷/۲۹	۷۲/۴۰±۱۰/۰۶۴	۷۵/۴۰±۲۲/۵۶	۴۳/۴۰±۹/۵۲	۴۲/۰۰±۱۳/۷۸
AST (واحد/لیتر)	۲۵۷/۴۴±۴۱/۹	۱۷۴/۷۴±۴۳/۴۵	۱۳۲/۵۴±۴۹/۱۳	۹۱/۷۶±۳۵/۰۳	۶۵/۷۸۰±۴۳/۷۹	۹۷/۷۰±۳۶/۸۱
ALT (واحد/لیتر)	۱۷۷/۰۶±۱۰/۲	۷۴/۷۶±۱۹/۲۶	۱۲۰/۲۸±۱۷/۱۶	۱۲۸/۰۶±۹/۵۵	۶۱/۶۸±۱۸/۰۳	۵۴/۳۰±۲۱/۴۴
PINK1 (نانوگرم/مول)	۱/۰۰±۰/۰۰	۰/۹۹۱±۱/۲۶	۰/۳۱۶±۰/۳۶	۰/۰۸۵±۰/۰۳	۰/۰۴۰±۰/۰۲	۰/۰۸۰±۰/۱۱
BNIP3 (نانوگرم/مول)	۱/۰۰±۰/۰۰	۴/۳۳۳±۳/۲۴	۶/۳۱۲±۳/۶۱	۸/۷۵±۴/۵۱	۴/۸۴۴±۲/۲۹۳	۰/۸۳۵±۰/۸۳۴

جدول ٤. نتایج تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه معنی‌داری متغیرها

متغیرها		مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F	P
وزن نهایی (گرم)	بین‌گروهی	۳۵۲۴۵۴/۱۶۷	۷۰۴۹۰/۸۳۳	۵	۵۱/۷۳۱	*۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۳۲۷۰۳/۲۰	۱۳۶۲/۶۳۳	۲۴		
تری گلیسیرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	بین‌گروهی	۳۱۰۰۸/۵۶۷	۶۲۰۱/۷۱۳	۵	۱۱/۴۵۸	*۰/۰۰۰۱
	درون‌گروهی	۱۲۹۹۰/۴۰	۵۴۱/۲۶۷	۲۴		
کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	بین‌گروهی	۳۱۰۳۱/۶۰۰	۶۲۰۶/۳۲۰	۵	۱۶/۷۴	*۰/۰۰
	درون‌گروهی	۸۸۹۵/۶۰	۳۷۰/۶۵۰	۲۴		
AST (واحد/لیتر)	بین‌گروهی	۱۲۳۰۴۹/۵۰۲	۲۴۶۹/۹۰	۵	۱۳/۹۸	*۰/۰۰
	درون‌گروهی	۴۲۲۴۴/۶۴	۱۷۶۰/۱۹	۲۴		
ALT (واحد/لیتر)	بین‌گروهی	۵۶۴۳۷/۱۹۵	۱۱۲۸۷/۴۳	۵	۴۱/۱۱۵	*۰/۰۰
	درون‌گروهی	۶۵۸۸/۷۳۲	۲۷۴/۵۳۰	۲۴		
PINK1 (نانوگرم/مول)	بین‌گروهی	۵/۲۲۲	۱/۰۴۵	۵	۳/۵۹۲	*۰/۰۱۴
	درون‌گروهی	۶/۹۸	۰/۲۹۱	۲۴		
BNIP3 (نانوگرم/مول)	بین‌گروهی	۲۳۵/۱۳	۴۷/۰۲۶	۵	۵/۶۵۲	*۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۱۹۹/۶۹	۸/۳۲۱	۲۴		

* معنی‌داری در سطح P≤۰/۰۵

جدول۵. نتایج آزمون تعقیبی LSD در گروه‌های پژوهش

گروه ها		وزن		تری گلیسیرید		کلسترول		AST		ALT		PINK1		BNIP3	
گروه	گروه	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P	اختلاف میانگین	P
کنترل	گرسنگی	۵۲/۲۰۰	*۰/۰۳	۷۳/۴۰	*۰/۰۰۱	۷۹/۶۰	*۰/۰۰۱	۸۲/۷۰	*۰/۰۰۵	۱۰۲/۳۰	*۰/۰۰۱	−۰/۰۰۹	۰/۹۷	−۳/۳۳	۰/۰۸
	۳ روز تمرین	۱۴۷/۲۰	*۰/۰۰۱	۷۱/۴۰	*۰/۰۰۱	۶۵/۰	*۰/۰۰۱	۱۲۴/۹۰	*۰/۰۰۱	۵۶/۷۸	*۰/۰۰۱	۰/۶۴۸	۰/۰۵۶	−۵/۳۱	*۰/۰۰۸
	۵ روز تمرین	۱۹۳/۶۰	*۰/۰۰۱	۸۲/۶۰	*۰/۰۰۱	۶۲/۰	*۰/۰۰۱	۱۶۵/۶۸	*۰/۰۰۱	۴۹/۰	*۰/۰۰۱	۰/۹۱۵	*۰/۰۱۳	−۷/۷۵	*۰/۰۰۱
	گرسنگی+ ۳ روز تمرین	۲۹۰/۶۰	*۰/۰۰۱	۹۳/۲۰	*۰/۰۰۱	۹۴/۰	*۰/۰۰۱	۱۹۱/۶۴	*۰/۰۰۱	۱۱۵/۳۸	*۰/۰۰۱	۰/۹۵۹	*۰/۰۱۰	−۳/۸۴	*۰/۰۴
	گرسنگی+ ۵ روز تمرین	۹۴/۴۰	*۰/۰۰۱	۹۴/۴۰	*۰/۰۰۱	۹۵/۴	*۰/۰۰۱	۱۵۹/۷۴	*۰/۰۰۱	۱۲۲/۸۶	*۰/۰۰۱	۰/۹۱۹	*۰/۰۱۳	۰/۱۶۴	۰/۹۲
گرسنگی	۳ روز تمرین	۹۵/۰۰	*۰/۰۰۱	−۲/۰۰	۰/۸۹	−۱۴/۶	۰/۲۴	۴۲/۲۰	۰/۱۲	−۴۵/۵۲	*۰/۰۰۱	۰/۶۷۵	۰/۰۵۹	−۱/۹۷	۰/۲۸
	۵ روز تمرین	۱۴۱/۴۰	*۰/۰۰۱	۹/۲۰	۰/۵۳	−۱۷/۶	۰/۱۶	۸۲/۹۸	*۰/۰۰۵	−۵۳/۳۰	*۰/۰۰۱	۰/۹۰۶	*۰/۰۱۴	−۴/۴۱	*۰/۰۲
	گرسنگی+ ۳ روز تمرین	۲۳۰/۴۰	*۰/۰۰۱	۱۹/۸۰	۰/۱۹	۱۴/۴	۰/۲۴	۱۰۸/۹۴	*۰/۰۰۱	۱۳/۰۸	۰/۲۲	۰/۹۵۰	*۰/۰۱۰	−۰/۵۱	۰/۷۸
	گرسنگی+ ۵ روز تمرین	۲۳۸/۰۰	*۰/۰۰۱	۲۱/۰۰	۰/۱۶	۱۵/۸	۰/۲۰	۷۷/۰۴	*۰/۰۰۸	۲۰/۴۶	۰/۰۶	۰/۹۱۰	*۰/۰۱۳	۳/۴۹	۰/۰۶
۳ روز تمرین	۵ روز تمرین	۴۶/۴۰	۰/۰۵	۱۱/۲۰	۰/۴۵	−۳/۰	۰/۸۰	۴۰/۷۸	۰/۱۳	−۷/۷۸	۰/۴۶	۰/۲۳۱	۰/۵۰	−۲/۴۳	۰/۱۹
	گرسنگی+ ۳ روز تمرین	۱۳۵/۴۰	*۰/۰۰۱	۲۱/۸۰	۰/۱۵	۲۹/۰	*۰/۰۲	۶۶/۷۴	*۰/۰۱	۵۸/۶۰	*۰/۰۰۱	۰/۲۵۷	۰/۴۲	۱/۴۶	۰/۴۲
	گرسنگی+ ۵ روز تمرین	۱۴۳/۰۰	*۰/۰۰۱	۲۳/۰۰	۰/۱۳	۳۰/۴	*۰/۰۲	۳۴/۸۴	۰/۲۰	۶۵/۹۸	*۰/۰۰۱	۰/۲۳۵	۰/۴۹	۵/۴۷	*۰/۰۰۶
۵ روز تمرین	گرسنگی+۳ روز تمرین	۸۹/۰۰	*۰/۰۰۱	۱۰/۶۰	۰/۴۷	۳۲/۰	*۰/۰۱	۲۵/۹۶	۰/۳۳	۶۶/۳۸	*۰/۰۰۱	۰/۰۴۴	۰/۸۹	۳/۹۰	*۰/۰۴
	گرسنگی+ ۵ روز تمرین	۹۶/۶۰	*۰/۰۰۱	۱۱/۸۰	۰/۴۳	۳۳/۴	*۰/۰۱	−۵/۹۴	۰/۸۲	۷۳/۷۶	*۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۹۹	۷/۹۱	*۰/۰۰۱
گرسنگی+ ۳ روز تمرین	گرسنگی+ ۵ روز تمرین	۷/۶۰	۰/۷۴	۱/۲۰	۰/۹۳	۱/۴۰	۰/۹۰	−۳۱/۹۰	۰/۲۴	۷/۳۸	۰/۴۸	−۰/۰۴۰	۰/۹۰	۴/۰۰	*۰/۰۳

* معنی‌داری در سطح P≤۰/۰۵

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد چهار هفته تمرین هوازی تداومی و گرسنگی توام با ورزش، با تنظیم کاهشی وضعیت نیمرخ لیپیدی و افزایش بیان ژن BNIP3 می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت کبد با وضعیت میتوفاژی نرمال داشته باشد. تاثیر مثبت فعالیت بدنی طولانی‌مدت بر نیمرخ لیپیدی کاملاً شناخته شده است (۳۲-۳۴). بیشتر محققان معتقدند که فعالیت بدنی از نوع هوازی با شدت متوسط، حتی اگر در حد کمی در هفته انجام گیرد، کاهش بتا لیپوپروتئین و تری گلیسیرید را در پی دارد (۳۵). بدون شک ارتباط بین مصرف انرژی با فعالیت‌های جسمانی و ورزشی یکی از قوی‌ترین دلایل سودمندی ورزش برای درمان بیماری کبد چرب است (۳۶). کاهش وزن می‌تواند به بهبود و کاهش میزان کلسترول تام و تری‌گلیسیرید کمک نماید (۳۷). سطح بالای تری-گلیسیرید به طور مثبت با ژن های مرتبط با میتوفاژی و به طور منفی با نشانگرهای محتوای میتوکندری ارتباط دارد. هم راستا با نتایج یافته های ما در چندین مطالعه ارتباط بین افزایش شاخص های لیپیدی و میتوفاژی مورد بررسی قرار گرفته است. بعنوان مثال ملا و همکاران (۲۰۲۲) در مطالعه خود اظهار داشتند هیپرتری گلیسریدمی باعث افزایش میتوفاژی در بافت چربی افراد چاق می شود که با افزایش بیان PARK2 و PINK، دو ژن مهم مرتبط با میتوفاژی، به ویژه PARK2 همراه بوده است (۳۸). علاوه بر این، هانگ و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که چگونه افزایش سطح تری گلیسرید از طریق یک رژیم غذایی پرچرب یا درمان سلولی با اسیدهای چرب بیان هر دو نشانگر را در یک مدل حیوانی افزایش داد که مجدد نتایج مطالعه ملا و همکارن را تأیید می‌کند (۳۹). یافته های تحقیق حاضر حاکی از روند کاهشی میزان بیان PINK1 در اکثر گروه های تحقیق است به گونه ای که این میزان به دنبال ۴هفته تمرینات هوازی (۵ روز/هفته)، گرسنگی+تمرینات هوازی (۳ روز/هفته) و گرسنگی + تمرینات هوازی (۵ روز/هفته) معنی دار بود. در حالیکه در مورد تغییرات بیان ژن BNIP3 گروه های تحقیق سناریوی متفاوت از PINK1 اتفاق افتاد به طوری که ما شاهد روند افزایشی در مقادیر BNIP3 دراکثر گروه‌های تجربی بودیم. همچنین یافته‌های تحقیق حاضر افزایش معنی‌دار BNIP3 را در گروه‌های (۳روز تمرین)، (۵روز تمرین) و (گرسنگی + ۳روز تمرین) نشان داد. که می‌توان به شدت ورزش بعنوان دلیل آن اشاره کرد. در این راستا یافته های لیانگ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که ورزش با شدت متوسط

باعث افزایش میتوفاژی شده و سطح بیانBNIP3 و LC3-II/LC3- افزایش می‌دهد (۴۰) که یافته‌های شریف بیگدلی و همکاران (۱۴۰۲) نیز آن‌را تایید می‌کند (۴۱). در حالیکه در گروه های ۳ روز تمرین و گرسنگی به تنهایی درمقایسه با گروه کنترل و گروه گرسنگی، در مقایسه با گروه ۳ روزتمرین تفاوت معنی‌داری نداشت. که در این راستا می توان به یافته های ژاو و همکاران (۲۰۱۸) اشاره کرد که نشان دادند در گروه تمرین، هر دو سطحmRNA و پروتئین PINK1 به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما بیانBnip ۳ و Nix به طور معنی‌داری کاهش یافت.همچنین محدودیت غذایی منجر به افزایش Drp1 و کاهش و Nix در گروه محدودیت غذایی شد.(۴۲) نا همسو با تحقیق حاضر، در مطالعه فرج پور و همکاران کـاهش غیرمعنـی دار BNIP و کـاهش معنی دار NIX در کبد رت‌های دیابتی تمرین کرده متعاقـب هشت هفته HIIT گزارش گردید که علت این نا همسویی را می توان به عوامل مختلف موضوعی(سالم یا بیمار، وضعیت پایه لیپید، وقوع و میزان کاهش وزن)، نوع و شدت تمرین ورزشی ازجمله برنامه، دفعات وحجم اشاره کرد (۴۳). ژاوو و همکـاران (۲۰۱۸) بیان کردند که ده هفته تمرین شنا به تنهایی و نیز همراه با محدودیت غذایی، باعـث کاهش بیان پروتئین‌های BNIP3 و NIX و افزایش بیان PINK1 در مـوش‌های سالم، می‌شود. در مقاله ذکر شده، هدف از این مطالعه بررسی اثرات تمرین ورزشی و محدودیت غذایی بر مسیرهای PINK1/Parkin و Bnip3/Nix قلبی درگیر در میتوفاژی می‌باشد. از طرفی محدودیت غذایی به تنهایی موجب روند کاهشی قابل توجهی در بیان BNIP3 و Nix شد، که نشان می‌دهد پاسخ میتوفاژی در گروه محدودیت غذایی ممکن است با مکانیسم‌های دیگر واسطه شود(۴۴). کالدول و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند، ۸ هفته فعالیت بدنی همراه با رژیم غذایی کم چرب که باعث کاهش وزن آزمودنی ها مبتلا به کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) نیز شده بود توانست ظرفیت میتوفاژی کبد را با واسطه BNIP3 و صرف نظر از مسیر PINK1/PARKIN افزایش دهد (۴۵). به علاوه یافته‌های ما با تحقیقات قبلی در ماهیچه‌های اسکلتی حیوانات ورزش‌کرده که نشانگرهای میتوفاژی را افزایش می‌دهند هم راستا است (۴۷، ۴۶، ۲۷). در مطالعه لیرا و همکاران (۲۰۱۳) نشان داده شد ۴ هفته دویدن داوطلبانه منجر به افزایش بیان BNIP3 به موازات افزایش بیوژنز میتوکندری در عضله پلانتاریس می‌شود. نکته قابل توجه در این مطالعه این است که نشان می دهد پروتئین‌های اتوفاژی BNIP3 افزایش قابل ملاحظه ای در عضله واستوس لترالیس تا عضله پلانتاریس و سپس عضله سولئوس در شرایط پایه داشته اند، که عضلات اکسایشی نسب به عضلات گلیکولیتیک دارای شار میتوفاژی بالاتری می باشد. علاوه بر این، محتوای پروتئین BNIP3 با تمرین ورزشی در عضله پلانتاریس افزایش یافت اما در عضله سولئوس خیر. روی هم رفته، نتایج این تحقیق نشان می دهد که BNIP3 به شدت در بافت اکسایشی بیشتر بیان می شود و ممکن است به تنظیم مثبت میتوفاژی پس از تمرین ورزشی کمکی نکند. به نظر می رسد که BNIP3 در بافت های مختلف پاسخ های متمایزی را در تمرینات ورزشی نشان می دهد (۴۷). به نظر می‌رسد وجود گزارشات و نتایج متفاوت در مطالعات فوق الذکر ممکن است ناشی از تفاوت در نوع آزمودنی‌ها (سالم یا بیمار)، نوع بافت، مدت و نوع پروتکل تمرینی و چگونگی رژیم غذایی باشد. اگرچه در پژوهش و مطالعه حاضر علت کاهش PINK1 به طوردقیق مشخص نشده اما همان طور که در بالا ذکر شد شاید با توجه به نوع ارتباطی که بین غلظت تری گلیسرید و PINK1 وجود دارد کاهش میزان بیان PINK1 در گروه های تجربی ناشی از کاهش غلظت تری گلیسرید در این گروه ها بوده باشد و یا اینکه این احتمال می‌رود میتوکندری از میتوفاژی PINK1/PARKIN به نفع میتوفاژی با واسطه BNIP3 صرف نظر کرده باشد.

یافته دیگر تحقیق حاضر، میزان پایین‌تر و معنی دار بیان ژن BNIP3 در گروه (گرسنگی + ۵ روز تمرین) در مقایسه با (گرسنگی + ۳ روز تمرین) بوده است که شاید به این خاطر باشد گرسنگی توام با ۵ روز ورزش هفتگی می‌تواند استرس و بار شدید طولانی مدت ایجاد کند و به این ترتیب از افزایش بیان BNIP3 جلوگیری کرده باشد. در این راستا یافته های ال مدیا و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که در اثر تمرین بیان mRNA PINK1 کاهش ۱,۷۸ برابری در گروه چاق نسبت به گروه لاغر دارای استرس اکسیداتیو نشان داد (۴۸). در مجموع به نظر می‌رسد چهار هفته تمرین هوازی مداوم و گرسنگی توام و به تنهایی توانسته است با کاهش معنی دار در وزن و وضعیت نیمرخ لیپیدی و افزایش بیان ژن BNIP3 اثرات مثبتی بر سلامت کبد و میتوفاژی داشته باشد که وجود مقادیر پایین‌تر آنزیم‌های کبدی ALT و AST به عنوان معیارهایی جهت ارزیابی سلامت بافت کبد در گروه های تجربی می‌تواند گواهی بر این امر باشد. براین اساس برای اثبات این موضوع به تحقیقات بیشتر و اندازه‌گیری سایر شاخص‌های موثر بر میتوفاژی کبد همراه با روش‌های آزمایشگاهی دقیق‌تر جهت بررسی وضعیت ساختار سلولی و اتوفاژی میتوکندریایی نیاز است. و اینکه آیا سایر مکانیسم‌های مولکولی برای تنظیم پاسخ میتوفاژی ناشی از ورزش و گرسنگی در کبد همکاری می‌کنند یا خیر؟ علاوه بر این، روش‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر اطلاعات محدودی را ارائه می‌کنند که نیاز است در کنار آن سیگنال‌دهی در مراحل اولیه و نهایی میتوفاژی، وضعیت استرس اکسایشی، ارزیابی عملکرد و محتوای میتوکندریایی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری کلی

حفظ هموستاز مواد مغذی و انرژی برای بقا و عملکرد سلول‌ها و ارگانیسم‌ها در پاسخ به استرس محیطی بسیار مهم است. سلول‌ها یک مسیر کاتابولیک ناشی از استرس به نام اتوفاژی ومیتوفاژی را برای سازگاری با شرایط استرس مانند گرسنگی و ورزش ایجاد کرده اند. در طی اتوفاژی، ساختارهای سلولی آسیب دیده یا غیر ضروری، ازطریق تخریب لیزوزومی حذف می شوند تا مواد مغذی و انرژی را برای حفظ هموستاز سلولی تامین کند. میتوکندری ها تحت چندین مسیر میتوفاژی قرار می گیرند که دو مسیر غالب شامل میتوفاژی با واسطه BNIP3 و با واسطه PINK1/PARKIN است. میتوفاژی BNIP3 عمدتاً در شرایط پاتولوژیک رخ می‌دهد، با میتوکندری های ناکارآمد که توسط BNIP3 برچسب‌گذاری شده به اتوفاگوزوم با برچسب LC3 منتقل می‌شوند. حذف BNIP3 منجر به استئاتوز در موش‌هایی می‌شود که با رژیم غذایی معمولی تغذیه می‌شوند، بنابراین نشان می‌دهد که میتوفاژی با واسطه BNIP3 یک عامل مهم در سلامت کبد است. به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ورزش و گرسنگی تاثیرات قابل توجه و مثبتی بر سلامت کبد دارد و می‌تواند ازطریق افزایش اتوفاژی عملکرد بهتری ازخود نشان دهد. البته به نظر می رسد انجام ۵ روز تمرین یا گرسنگی + ۳ و ۵ روز تمرین نسبت به دیگر روش‌های اعمال شده تاثیر بیشتری بر این شاخص‌ها داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب رساله دکتری در مرکز علوم حیوانات دانشگاه علوم پزشکی گرگان انجام شده است. بنابراین نویسندگان بر خود لازم می دانند که از تمامی عزیزانی که در اجرای این پژوهش ما را همراهی کردند کمال تشکر و قدر دانی را داشته باشند.

تعارض منافع

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

منابع

1. Vargas M, Toniasso SD, Riedel PG, Baldin CP, Dos Reis FL, Pereira RM & et al. Metabolic disease and the liver: A review. *World Journal of Hepatology*. 2024 Jan 1;16(1):33. doi: 10.4254/wjh.v16.i1.33
2. Mitrovic B, Gluvic ZM, Obradovic M, Radunovic M, Rizzo M, Banach M & et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: where do west and today?. *Archives of medical science: AMS*. 2023;19(4):884 https://doi.org/10.5114/aoms/150639
3. Mijač D, Krstić MN, Marković AP, Popović DD, Krstić JM, Milosavljević T. Abnormal Liver blood tests: *Primary care approach. Digestive Diseases*. 2022 Feb 28;40(2):215-22. https://doi.org/10.1159/000517016
4. Gong J, Tu W, Liu J, Tian D. Hepatocytes: a key role in liver inflammation. Frontiers in Immunology. 2023 Jan 18;13:1083780. https://doi.org/10.3389%2Ffimmu.2022.1083780
5. Sadasivam N, Kim YJ, Radhakrishnan K, Kim DK. Oxidative stress, genomic integrity, and liver diseases. Molecules. 2022 May 15;27(10):3159. https://doi.org/10.3390/molecules27103159
6. Morio B, Panthu B, Bassot A, Rieusset J. Role of mitochondria in liver metabolic health and diseases. Cell Calcium. 2021 Mar 1;94:102336 https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102336 https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102336
7. Jomova K, Raptova R, Alomar SY, Alwasel SH, Nepovimova E, Kuca K & et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. Archives of toxicology. 2023 Oct;97(10):2499-574. https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9
8. Zhang S, Rao S, Yang M, Ma C, Hong F, Yang S. Role of mitochondrial pathways in cell apoptosis during He-patic ischemia/reperfusion injury. *International journal of molecular sciences*. 2022 Feb 21;23(4):2357. https://doi.org/10.3390%2Fijms23042357
9. Wang Y, Tang B, Long L, Luo P, Xiang W, Li X & et al. Improvement of obesity-associated disorders by a small-molecule drug targeting mitochondria of adipose tissue macrophages. *Nature communications*. 2021 Jan 4;12(1):102. https://doi.org/10.1038/s41467-020-20315-9
10. Liu W, Ruiz-Velasco A, Wang S, Khan S, Zi M, Jungmann A & et al. Metabolic stress-induced cardiomyopathy is caused by mitochondrial dysfunction due to attenuated Erk5 signaling. *Nature communications*. 2017 Sep 8;8(1):494. https://doi.org/10.1038/s41467-017-00664-8
11. Shen L, Gan Q, Yang Y, Reis C, Zhang Z, Xu S & et al. Mitophagy in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injury. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2021 Jun 8;13:687246. https://doi.org/10.3389/ fnagi.2021.687246
12. Gómez J, Mota-Martorell N, Jové M, Pamplona R, Barja G. Mitochondrial ROS production, oxidative stress and aging within and between species: Evidences and recent advances on this aging effector. *Experimental Gerontology*. 2023 Apr 1;174:112134. https://doi.org/10.1016/j.exger.2023.112134
13. Lacombe A, Scorrano L. The interplay between mitochondrial dynamics and autophagy: From a key homeostatic mechanism to a driver of pathology. *InSeminars in Cell & Developmental Biology* 2024 Sep 1 (Vol. 161, pp. 1-19). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2024.02.001

14. Barazzuol L, Giamogante F, Brini M, Calì T. PINK1/parkin mediated mitophagy, Ca2+ signalling, and ER–mitochondria contacts in Parkinson's disease. *International journal molecular sciences*. 2020 Mar 5;21(5):1772. https://doi.org/10.3390 of /ijms21051772
15. Gonçalves FB, Morais VA. PINK1: a bridge between mitochondria and Parkinson's disease. Life. 2021 Apr 21;11(5):371 https://doi.org/10.3390/life11050371.
16. 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 Aug 16;8(1):304. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01503-7
17. Marchesan E, Nardin A, Mauri S, Bernardo G, Chander V, Di Paola S & et al. Activation of Ca2+ phosphatase Calcineurin regulates Parkin translocation to mitochondria and mitophagy in flies. *Cell Death & Differentiation*. 2024 Feb;31(2):217-38. https://doi.org/10.1038/s41418-023-01251-9
18. 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 May 9;13(5):444. https://doi.org/10.1038/s41419-022-04906-6
19. Ren J, Sowers JR, Zhang Y. Metabolic stress, autophagy, and cardiovascular aging: from pathophysiology to therapeutics. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2018 Oct 1;29(10):699-711. https://doi.org/10.1016/j.tem. 2018.08.001
20. Field JT, Gordon JW. BNIP3 and Nix: Atypical regulators of cell fate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2022 Oct 1;1869(10):119325. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2022.119325
21. Matsuda N. Phospho-ubiquitin: upending the PINK–Parkin–ubiquitin cascade. *The journal of biochemistry*. 2016 Apr 1;159(4):379-85. https://doi.org/10.1093/jb/mvv125
22. Guan Y, Drake JC, Yan Z. Exercise-induced mitophagy in skeletal muscle and heart. *Exercise and sport sciences reviews*. 2019 Jul 1;47(3):151-6. https://doi.org/10.1249/jes.0000000000000192
23. Thonusin C, Pantiya P, Kongkaew A, Nawara W, Arunsak B, Sriwichaiin S & et al. Exercise and Caloric Restriction Exert Different Benefits on Skeletal Muscle Metabolism in Aging Condition. *Nutrients*. 2023 Dec 3;15(23):5004. https://doi.org/10.3390/nu15235004
24. Im YR, Hunter H, de Gracia Hahn D, Duret A, Cheah Q, Dong J & et al. A systematic review of animal models of NAFLD finds high-fat, high-fructose diets most closely resemble human NAFLD. *Hepatology communications*. 2021 Oct;74(4):1884-901. https://doi.org/10.1002/hep.31897
25. Paik JM, Golabi P, Younossi Y, Srishord M, Mishra A, Younossi ZM. The growing burden of disability related to nonalcoholic fatty liver disease: data from the global burden of disease 2007-2017. *Hepatology communications*. 2020 Dec 1;4(12):1769-80. https://doi.org/10.1002/hep4.1599
26. Li, M., Macro, J., Huggins, B.J. et al. Extended lifespan in female Drosophila melanogaster through late-life calorie restriction. *GeroScience* 46, 4017–4035 (2024). https://doi.org/10.1007/s11357-024-01233-w
27. Rocchi A, He C. Regulation of exercise-induced autophagy in skeletal muscle. *Current pathobiology reports*. 2017 Jun; 5:177-86. https://doi.org/10.1007/s40139-017-0135-9
28. Rosa-Caldwell ME, Poole KE, Seija A, Harris MP, Greene NP, Wooten JS. Exercise during weight loss improves hepatic mitophagy. *Sports Medicine and Health Science*. 2022 Sep 1;4(3):183-9. https://doi.org/10.1016%2Fj.smhs.2022.04.003
29. Keating SE, Sabag A, Hallsworth K, Hickman IJ, Macdonald GA, Stine JG & et al. Exercise in the management of metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) in adults: A position statement from exercise and sport science Australia. *Sports Medicine*. 2023 Dec;53(12):2347-71. https://doi.org/10.1007/s40279-023-01918-w
30. Malinowski B, Zalewska K, Węsierska A, Sokołowska MM, Socha M, Liczner G & et al. Intermittent fasting in cardiovascular disorders—an overview. *Nutrients*. 2019 Mar 20;11(3):673. https://doi.org/10.3390/nu11030673
31. Asgharpour H, Rezaeeshirazi R. The Effect of four Weeks of Continuous Aerobic Training and Starvation on the Expression of Gene Pink1 and Bnibp3 in liver Tissue, liver Enzymes and lipid profile in Wistar Fatty Model Rats. *Jorjani Biomedicine Journal*. 2022 Oct 10;10(3):15-25. [In Persian]
32. Ambroży T, Rydzik Ł, Obmiński Z, Spieszny M, Szczepanik A, Ambroży D & et al. Effect of high-intensity strength and endurance training in the form of small circuits on changes in lipid levels in men aged 35–40 years. *Journal of clinical medicine*. 2022 Aug 31;11(17):5146. https://doi.org/10.3390%2Fjcm11175146
33. Franczyk B, Gluba-Brzózka A, Ciałkowska-Rysz A, Ławiński J, Rysz J. The impact of aerobic exercise on HDL quantity and quality: a narrative review. *International journal of molecular sciences*. 2023 Feb 28;24(5):4653. https://doi.org/10.3390/ijms24054653
34. Doewes RI, Gharibian G, Zaman BA, Akhavan-Sigari R. An updated systematic review on the effects of aerobic exercise on human blood lipid profile. Current problems in cardiology. 2023 May 1;48(5):101108. https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2022.101108
35. Norouzi F, Doulah A, Rafieirad M. Effects of four week consumption of lemon (Citrus limon L.) essential oil with swimming training on lipid profile and lipid peroxidation in adult male mice ." (2020): 20203074220. http://nsft.sbmu.ac.ir/article-1-2767-en.pdf. [In Persian]

36. Heinle JW, DiJoseph K, Sabag A, Oh S, Kimball SR, Keating S & et al. Exercise is medicine for nonalcoholic fatty liver disease: exploration of putative mechanisms. *Nutrients*. 2023 May 24;15(11):2452. https://doi.org/10.3390%2Fnu15112452
37. Higashi Y. Endothelial Function in dyslipidemia: roles of LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides. Cells. 2023 May 1;12(9):1293. https://doi.org/10.3390%2Fcells12091293
38. Mela V, Ruiz-Limón P, Balongo M, Motahari Rad H, Subiri-Verdugo A, Gonzalez-Jimenez A & et al. Mitochondrial homeostasis in obesity-related hypertriglyceridemia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2022 Aug 1;107(8):2203-15. https://doi.org/10.1210/clinem/dgac332
39. Hang W, Shu H, Wen Z, Liu J, Jin Z, Shi Z & et al. N-acetyl cysteine ameliorates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease and intracellular triglyceride accumulation by preserving mitochondrial function. *Frontiers in Pharmacology*. 2021 Sep 13;12:636204. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.636204
40. Yu Liang;Zhao Zeming;Zhao Binting;Li Lin;Liu Ziming;Wang Zhen;Wang Ruiyuan. Effects of different intensities of exercises on BNIP3-mediated mitophagy in skeletal muscle. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research / Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*, 2020؛ 24(5) :682, doi. 10.3969/j.issn.2095-4344.1920
41. Sharifbigdali, Mohammad, Aghaei Bahmanbegloo, Neda, Rezaei Shirazi, Reza, Ahmadi, Mojgan. 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 Sports Biosciences*, 1403; 16(1): 49-60. doi: 10.22059/jsb.2024.368627.1618
42. Zhao Y, Zhu Q, Song W, Gao B. Exercise training and dietary restriction affect PINK1/Parkin and Bnip3/Nix-mediated cardiac mitophagy in mice. *Gen Physiol Biophys*. 2018 Sep;37(6):657-666. doi: 10.4149/gpb_ 2018020. Epub 2018 Nov 15. PMID: 30431438.
43. Farajpour Khazaei S, Sari Sarraf V. Effect of eight weeks of high-intensity interval training on some indices of liver mitophagy in type 2 diabetic rats. Yafteh. 2023;25(1). http://eprints.lums.ac.ir/id/eprint/4329. [In Persian]
44. 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 Sep 1;37(6):657-66. https://doi.org/10.4149/gpb_2018020
45. Rosa-Caldwell ME, Poole KE, Seija A, Harris MP, Greene NP, Wooten JS. Exercise during weight loss improves hepatic mitophagy. Sports Medicine and Health Science. 2022 Sep 1;4(3):183-9. https://doi.org/10.1016/j.smhs.2022.04.003
46. Lira VA, Okutsu M, Zhang M, Greene NP, Laker RC, Breen DS & et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. *The FASEB Journal*. 2013 Oct;27(10):4184. https://doi.org/10.1096/fj.13-228486
47. Escobar KA, Welch AM, Wells A, Fennel Z, Nava R, Li Z & et al. Autophagy response to acute high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training is dissimilar in skeletal muscle and peripheral blood mononuclear cells and is influenced by sex. *Human Nutrition & Metabolism.* 2021 Mar 1;23:200118. https://doi.org/10.1016/j.hnm.2020.200118
48. Almeida EA, Mehndiratta M, Madhu SV, Kar R, Puri D. PINK1 and oxidative stress in lean and obese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2023 Aug;37(8):108542. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2023.108542. Epub 2023 Jun 17. PMID: 37354803.