

The effect of eight weeks of moderate-intensity interval training on gene expression of indicators involved in mitochondrial fission and fusion in the liver tissue of male Wistar rats

Mehdi Ramezanpoor¹, Amir Hossein Haghighi^{1*}, Keyvan Hejazi¹, Mohammad Reza Bandali¹, Hadi Shahrabadi¹

Receive 2025 May 05; Accepted 2025 October 04

Abstract

Aim: Mitochondria are dynamic organelles that are constantly undergoing fission and fusion. The purpose of this study was to investigate the effect of eight weeks of moderate-intensity interval training on gene expression of indicators involved in mitochondrial fission and fusion in the liver tissue of male Wistar rats. **Methods:** In an experimental study, 12 male rats with an average weight of 180 ± 20 g were purchased and included in the study. Then they were placed in two groups of moderate-intensity interval training ($n=6$) and control ($n=6$) with the help of simple random method. The moderate intensity interval training was performed for 8 weeks and 5 sessions per week. In the present study, rat liver tissue was used to investigate the genes expression of MFN1, MFN2, OPA1, DRP1, FIS1, PGC-1 α and OXR1. Independent t-test and Mann-Whitney were used to compare between groups. Data were analyzed using SPSS version 23 software at a significance level of $p<0.05$. **Results:** The results showed that 8 weeks of moderate-intensity interval training did not cause significant changes in body weight, genes expression of MFN1, MFN2, OPA1, DRP1, FIS1, PGC-1 α and OXR1 and OPA1/FIS1 ratio in the liver cells of male Wistar rats ($p>0.05$). **Conclusion:** It does not seem that moderate-intensity interval training alters the processes of mitochondrial fusion and fission in the liver cells of healthy male Wistar rats.

Keywords: Interval Training, Fission, Fusion, Mitochondria, Liver

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

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

*(corresponding author)
(ah.haghighi@hsu.ac.ir)

Cite as: Ramezanpoor, Mehdi. Haghighi, Amir Hossein. Hejazi, Keyvan. Bandali, Mohammad Reza. Shahrabadi, Hadi. The effect of eight weeks of moderate-intensity interval training on gene expression of indicators involved in mitochondrial fission and fusion in the liver tissue of male Wistar rats. Applied Health Studies in Sport Physiology. ????; ?(In press): ?-??.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/jahssp.2025.30593.1746

:

Extended abstract

Background

In addition to their critical role in energy production, mitochondria can adapt in response to environmental and intracellular changes such as nutrient availability, energy demand, ATP production, excessive stress, cellular damage, and reactive oxygen species through processes including fission, fusion, biogenesis, and mitophagy. It has been proposed that exercise enhances mitochondrial quantity via mitochondrial biogenesis and improves mitochondrial quality through a combination of biogenesis, dynamics, and mitophagy. Previous studies have demonstrated that exercise induces molecular and morphological adaptations in muscle mitochondria, however, the significance of liver cell mitochondria in response to exercise should not be overlooked. The liver is crucial for regulating glucose and lipid metabolism, and liver mitochondria are essential for providing the energy required for these biochemical processes. Understanding the pathways of mitochondrial dynamics in liver cells and the alterations in mitochondrial fission and fusion resulting from moderate-intensity interval training is crucial for promoting health and enhancing athletic performance. Therefore, the purpose of this study is to investigate the effect of eight weeks of moderate-intensity interval training on gene expression of indicators involved in mitochondrial fission and fusion in the liver tissue of male Wistar rats.

Materials and Methods

Experimental design and animals

The animal study protocol was approved by the Institutional Review Board of Hakim Sabzevari University (Protocol Code: IR.HSU.AEC.1401.017). The present study was an experimental investigation employing a randomized design with a control group. Twelve male Wistar rats were randomly assigned to two groups, control (n = 6) and moderate-intensity interval training (n = 6). The intervention protocol for the control group consisted of one week of adaptation to the new environment and exercise, followed by eight weeks without exercise intervention, and concluded with sacrifice. For the moderate-intensity interval training group, the protocol included one week of adaptation to the new environment and exercise, eight weeks of moderate-intensity interval exercise, and ended with sacrifice.

Determination of maximum speed of rats: Following the final familiarization session, rats underwent a maximal incremental treadmill test, beginning at a speed of 10 m/min and increasing by 5 m/min every three minutes until the animals could no longer continue. The average maximum speed achieved by the rats was then used to design the training protocol.

Moderate-intensity interval training protocol: Moderate-intensity interval training was conducted for eight weeks, five days per week, at 60-65% of the maximum speed on a rodent treadmill with no incline. Each session lasted 48 minutes, including a six-minute warm-up at 20% of maximum speed, a six-minute cool-down at 20% of maximum speed, and the main training program.

Extraction of laboratory animal tissue: Forty-eight hours after the final training session, rats in the control and moderate-intensity interval training groups were euthanized under anesthesia (ketamine and xylazine), and liver tissue was carefully excised. The samples were placed in microtubes, flash-frozen in liquid nitrogen for genetic analyses, and stored at -80°C to assess the genes expression of MFN1, MFN2, OPA1, DRP1, FIS1, PGC-1 α , and OXR1.

Assessment of studied factors: Total RNA was extracted from 50 mg of liver tissue using Trizol reagent following the manufacturer's instructions. cDNA synthesis was carried out following the instructions provided in the cDNA synthesis kit. Gene expression levels were quantified using real-time PCR. RealQ 2x Master Mix Green Dye, cDNA, and specific forward and reverse primers for each gene were employed for this procedure. The 2^{- $\Delta\Delta$ CT} method was employed to calculate relative gene expression.

Statistical analysis

The independent t-test and the Mann-Whitney test were employed to compare differences between groups. Data analysis was performed using SPSS version 23, with a significance level set at $p < 0.05$.

Results

The results indicated that eight weeks of moderate-intensity interval training did not lead to significant changes in the expression levels of MFN1 ($p=0.127$), MFN2 ($p=1.000$), OPA1 ($p=0.472$), DRP1 ($p=0.132$), FIS1 ($p=0.107$), PGC-1 α ($p=0.261$), OXR1 ($p=0.109$), and in the OPA1/FIS1 ratio ($p=0.194$) in the liver cells of rats.

Discussion



The findings of this study indicated that eight weeks of moderate-intensity interval training did not produce specific alterations in the indices associated with the molecular pathways of mitochondrial dynamics. A review of the literature revealed no studies examining the effects of moderate-intensity interval training on the genes expression of mitochondrial fission and fusion in the liver cells of healthy rats, and most existing research has focused on skeletal and cardiac muscle, patients, or elderly populations. Several factors might have contributed to the absence of changes in liver tissue mitochondrial dynamics following moderate-intensity interval training in the current study. One possible factor is the specific type of experimental model used. In the present study, the subjects were healthy, and it is likely that the processes of mitochondrial fusion and fission were already balanced prior to the training protocol, therefore, moderate-intensity training did not alter either the overall level of mitochondrial dynamics or the equilibrium between fusion and fission processes. The second contributing factor is the type of tissue. Although liver mitochondria play an essential role in energy production, during exercise blood flow is redirected toward active tissues such as skeletal and cardiac muscle, resulting in reduced blood flow of the liver. It is likely that the greater involvement of skeletal and cardiac muscle mitochondria in ATP production via oxidative phosphorylation has altered mitochondrial dynamics in these tissues. The third factor is training intensity. It has been demonstrated that mitochondria, as dynamic organelles, adjust their morphology in response to stress and energy demands through fission and fusion processes. Studies show that FIS1 gene expression and MFN2 protein levels are greater after intense training than after moderate training. In the present study, the exercise intensity was moderate, which may explain the absence of changes in mitochondrial dynamics within the liver tissue.

Article message

Eight weeks of moderate-intensity interval training appear to have no significant effect on the genes expression of MFN1, MFN2, OPA1, DRP1, FIS1, PGC-1 α , and OXR1, as well as the OPA1/FIS1 ratio, in the liver cells of healthy male Wistar rats. Nevertheless, further studies are required to clarify the molecular mechanisms of mitochondria in response to moderate-intensity interval training.

Impress

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال ؟، شماره ؟

؟ و ؟؟؟؟؟ صفحات ؟-؟؟

Open Access

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن شاخص‌های درگیر در تقسیم و ادغام میتوکندری در بافت کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

مهدی رمضان پور^۱، امیرحسین حقیقی^{۱*}، کیوان حجازی^۱، محمد رضا بندلی^۱، هادی شهرآبادی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲

چکیده

هدف: میتوکندری اندامک‌های بویایی هستند که دائماً در معرض تقسیم و ادغام هستند. هدف این پژوهش، بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن شاخص‌های درگیر در تقسیم و ادغام میتوکندری در بافت کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. **روش پژوهش:** در یک مطالعه تجربی ۱۲ سر موش صحرایی نر با میانگین وزنی 20 ± 180 گرم خریداری و وارد مطالعه شدند. سپس به روش تصادفی ساده در دو گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط (۶ سر) و کنترل (۶ سر) قرار گرفتند. تمرین تناوبی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام شد. در مطالعه حاضر بافت کبد موش‌های صحرایی برای بررسی میزان بیان ژن‌های MFN1، MFN2، OPA1، DRP1، FIS1، PGC-1 α و OXR1 مورد استفاده قرار گرفت. از آزمون t مستقل و من ویتنی جهت مقایسه بین گروهی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ در سطح معناداری $p < 0.05$ تجزیه و تحلیل شد. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط باعث تغییر معنی‌داری در وزن بدن، میزان بیان ژن‌های MFN1، MFN2، OPA1، DRP1، FIS1، PGC-1 α و OXR1 و نسبت OPA1/FIS1 در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار نمی‌شود ($p > 0.05$). **نتیجه‌گیری:** به نظر نمی‌رسد که تمرین تناوبی با شدت متوسط باعث تغییر فرایندهای ادغام و تقسیم میتوکندری در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار سالم شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی، تقسیم، ادغام، میتوکندری، کبد.

نحوه ارجاع: رمضان پور، مهدی، حقیقی، امیرحسین، حجازی، کیوان، بندلی، محمد رضا، شهرآبادی، هادی. "تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن شاخص‌های درگیر در تقسیم و ادغام میتوکندری در بافت کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ؟؟؟؟؟؟ : ؟(؟)-؟؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/jahssp.2025.30593.1746



مقدمه

میتوکندری‌ها علاوه بر نقش مهم در تولید انرژی، می‌توانند در پاسخ به تغییرات محیطی و درون سلولی مانند در دسترس بودن مواد مغذی، تقاضای انرژی و تولید ATP، استرس بیش از حد، آسیب سلول و تولید گونه‌های فعال اکسیژن از طریق تقسیم^۱، ادغام^۲، بیوژنز^۳ و میتوفاژی^۴ تحت بازسازی قرار گیرند (۱،۲). ادغام و تقسیم میتوکندری، فرآیندهای فعالی هستند که به‌طور پیوسته و همزمان به‌واسطه پروتئین‌های رمزگذاری شده با nDNA^۵ که بر روی غشاهای میتوکندری عمل می‌کنند، اتفاق می‌افتند (۳).

ادغام میتوکندری یک فرآیند دو مرحله‌ای است که شامل ادغام همزمان غشای داخلی و خارجی میتوکندری است که توسط سه GTPase^۶ مرتبط با دینامین^۷ انجام می‌شود که شامل MFN1، MFN2 و OPA1^۸ می‌باشد (۴). ادغام غشای خارجی میتوکندری از طریق پروتئین‌های MFN1 و MFN2 صورت می‌گیرد، در حالی که ادغام غشای داخلی میتوکندری با واسطه پروتئین OPA1 انجام می‌پذیرد (۵). از سوی دیگر نتیجه فرآیند تقسیم میتوکندری، تقسیم یک میتوکندری به دو اندامک کوچکتر است. عامل اصلی این واکنش یک آنزیم هیدرولیز کننده GTP به نام DRP1^۹ است. DRP1 عضوی از GTPase مرتبط با دینامین است و به‌طور مشابه با دینامین‌های دیگر عمدتاً از طریق الیگومریزاسیون^{۱۰} و تغییرات ساختاری^{۱۱} در بازسازی غشاء عمل می‌کند (۶). یکی از گیرنده‌هایی که در به‌کارگیری DRP1 در سطح میتوکندری کشف شده است، FIS1^{۱۲} می‌باشد (۲). در واقع گزارش شده است که FIS1 به DRP1 متصل می‌شود و در تقسیم میتوکندری وابسته به DRP1 شرکت می‌کند. اخیراً گزارش شده است که Fis1 به شکل ضعیف به Drp1 متصل می‌شود، در حالی که به شکل قوی با MFN1، MFN2 و OPA1 تعامل دارد، به‌طوری که فعالیت GTPase این پروتئین‌ها را که برای ادغام میتوکندری ضروری هستند، مهار می‌کند (۷).

پیشنهاد شده است که PGC-1α^{۱۳} (۸) و گونه‌های فعال اکسیژن (۹) نقش مهمی را در پویایی میتوکندری ایفا می‌کنند. PGC-1α به‌عنوان یک فعال کننده رونویسی شناخته می‌شود که می‌تواند در حفظ کنترل کیفیت میتوکندری از طریق تنظیم بیوژنز، پویایی میتوکندری و میتوفاژی نقش داشته باشد (۱۰). در سلول‌های عضلانی تنظیم مثبت بیان MFN1 و MFN2 با PGC-1α مرتبط است. PGC-1α فعالیت رونویسی پروموتور^{۱۴} MFN2 که توسط ERRα^{۱۵} درون‌زا واسطه می‌شود را تحریک می‌کند،

بنابراین این مسئله نشان می‌دهد که PGC-1α و ERRα نقش هم‌افزایی در افزایش mRNA MFN2 دارند (۱۱). شواهد نشان می‌دهد که PGC-1α به‌طور مستقیم با پروموتور ژن DRP1 برای تنظیم سطوح DRP1 تعامل دارد (۱۲). مطالعه اخیر نشان می‌دهد که تنظیم مثبت PGC-1α می‌تواند بیان MFN2 و OPA1 را افزایش دهد و بیان DRP1 و FIS1 را کاهش دهد (۱۳). PGC-1α توسط گونه‌های فعال اکسیژن فعال می‌شود و بیوژنز میتوکندری را تنظیم می‌کند (۱۴). همچنین مشخص شده است که گونه‌های فعال اکسیژن در تقسیم میتوکندری که از طریق پروتئین DRP1 فعال می‌شود، درگیر هستند (۹). اخیراً مشخص شده است که OXR1^{۱۶} یک شرکت کننده حیاتی برای پاسخ به استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شده است. این شاخص در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن شرکت می‌کند و نقش مهمی در محافظت از سلول‌های مختلف در برابر آسیب اکسیداتیو دارد، اگرچه مکانیسم کامل آن مشخص نیست (۱۵).

پیشنهاد شده است که تمرین ورزشی کمیت میتوکندری را از طریق بیوژنز میتوکندری و کیفیت میتوکندری را از طریق ترکیبی از بیوژنز، پویایی و میتوفاژی میتوکندری بهبود می‌بخشد (۱۶). نقش درمانی تمرینات هوازی با شدت متوسط بر تعدیل فرایند تقسیم و ادغام میتوکندری در بیماران توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است، به‌طوری که در اثر این گونه تمرینات، افزایش بیان PGC-1α، MFN2 و کاهش بیان DRP1 در موش‌های مدل انفارکتوس میوکارد (۱۷) و کاهش بیان DRP1 در موش‌های مدل گاردیومیوپاتی دیابتی (۱۸) گزارش شد. با بررسی مطالعات پیشین در مورد نقش تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان پروتئین‌های درگیر در پویایی میتوکندری سلول‌های کبدی به‌خصوص در مدل‌های سالم تحقیقی پیدا نشد. بیشتر مطالعات بر روی عضلات اسکلتی انجام شده است به‌طوری که در اثر این گونه تمرینات افزایشی در محتوای پروتئین MFN2 در میتوکندری عضله اسکلتی مردان جوان فعال سالم مشاهده شد (۱۹). همچنین افزایشی در بیان MFN2، OPA1 و DRP1 و کاهش در بیان FIS1 در عضله کبد انقباض موش‌های صحرایی سالم گزارش شد (۲۰).

با توجه به مطالعات پیشین ثابت شده است که سازگاری‌های مولکولی و ریخت‌شناسی در میتوکندری عضلانی در اثر تمرین ورزشی ایجاد شده است اما اهمیت میتوکندری سلول‌های کبدی در اثر تمرین ورزشی را نمی‌شود نادیده گرفت. کبد نقش بسیار مهمی در حفظ متابولیسم گلوکز و لیپید دارد و میتوکندری‌های کبد برای تولید انرژی این فرآیندهای

10. Optic atrophy 1

11. Dynamin related protein 1

12. Oligomerization

13. Conformational changes

14. Fission protein 1

15. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α

16. Promoter

17. Estrogen-related receptor α

18. Oxidation resistance 1

1. Fission

2. Fusion

3. Biogenesis

4. Mitophagy

5. Nuclear DNA

6. Guanosine triphosphatases

7. Dynamin

8. Mitofusin 1

9. Mitofusin 2

پروتکل تمرین

موش‌های صحرایی گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط بعد از یک هفته سازگاری با استرس تمرین، پروتکل تمرین تناوبی با شدت متوسط را آغاز کردند. قبل از شروع تمرین اصلی، موش‌های صحرایی آزمون ورزشی فزاینده‌ای را انجام دادند که با سرعت ده متر در دقیقه شروع می‌شد و به ازای هر سه دقیقه، پنج متر بر دقیقه بر سرعت آن افزوده می‌شد و سپس میانگین سرعت پیشینه برای طراحی برنامه تمرین در نظر گرفته شد (۲۲). تمرین تناوبی با شدت متوسط به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته روی نوارگردان جوندگان (مدل A1400Y10، شرکت پیشرو اندیشه صنعت، ساخت ایران) با شیب صفر درجه اجرا شد. مدت زمان تمرین در هر جلسه ۴۸ دقیقه بود که متشکل از ۶ دقیقه گرم کردن با شدت‌های ۲۰ درصد سرعت پیشینه و ۶ دقیقه سرد کردن با شدت ۲۰ درصد سرعت پیشینه بود. برنامه اصلی با شدت ۶۵-۶۰ درصد سرعت پیشینه بود که اطلاعات آن در جدول ۱ گزارش شد. شرایط زیستی موش‌های صحرایی در گروه کنترل به‌جز انجام تمرینات روزانه، در سایر اوقات همانند گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط بود. همچنین سعی شد در طول اجرای تمرینات روی نوارگردان از شوک الکتریکی استفاده نشود. گروه کنترل پیاده‌روی بر روی نوارگردان را به مدت ۱۵ دقیقه تجربه کردند تا از لحاظ شرایط استرس مشابه گروه تمرین باشند.

اندازه‌گیری بیان ژن

استخراج بافت

موش‌های صحرایی دو گروه کنترل و تمرین تناوبی با شدت متوسط بعد از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرینی از طریق تزریق کتامین و زایلازین بیهوش و سپس کشته شدند. پس از کشته شدن، بلافاصله کالبد شکافی انجام شد و بافت کبد به‌دقت برداشته شد. نمونه بافت کبد جهت انجام آزمایش‌های ژنتیکی در میکروتهوب منتقل و در نیتروژن مایع منجمد شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی میزان بیان ژن‌های MFN1، MFN2، OPA1، DRP1، FIS1، PGC-1α و OXR1 نگهداری شد.

طراحی و سنتز پرایمر

توالی پرایمرهای ژن‌های MFN1، MFN2، OPA1، DRP1، FIS1، PGC-1α و OXR1 و β-Actin (ژن رفرنس) مورد استفاده در این تحقیق توسط نرم افزار Allele ID نسخه ۶ طراحی (جدول ۲) و سپس این پرایمرها توسط شرکت سیناکلون ایران سنتز شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA

بیوشیمی مهم هستند. در نتیجه تمرین ورزشی به خودی خود مسیرهای سیگنالینگ را فعال می‌کند که عملکرد، ساختار و بیوانرژیک میتوکندری سلول‌های کبدی را تنظیم می‌کند (۲۱). با توجه به آنچه بیان شد، شناسایی مسیرهای پویایی میتوکندری سلول‌های کبدی و تغییرات ایجاد شده در مسیرهای تقسیم و ادغام میتوکندری در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط برای بهبود سلامت و توسعه عملکرد ورزشی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. همچنین در حوزه علوم ورزشی، به‌ندرت تحقیقی به بررسی نقش پروتئین OXR1 به‌عنوان یک نشانگر وجود استرس اکسیداتیو در سلول پرداخته است، در نتیجه یکی از اهداف مهم این تحقیق این است که با انجام این مطالعه تا حدودی نیاز علمی محققین در این حوزه را رفع نماید و زمینه را برای انجام تحقیقات بیشتر و همه‌جانبه در آینده هموار سازد. با توجه به این موارد، این مطالعه قصد دارد به بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن شاخص‌های درگیر در تقسیم و ادغام میتوکندری در بافت کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بپردازد.

روش پژوهش

حیوانات

در این مطالعه ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با میانگین وزنی 20 ± 180 گرم که از مزرعه حیوانات انستیتو پاستور بابل خریداری شدند، مورد ارزیابی قرار گرفتند.

طراحی تمرین و اندازه‌گیری‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی است. بعد از خریداری موش‌های صحرایی، آن‌ها به آزمایشگاه گروه علوم ورزشی دانشگاه دامغان منتقل شدند. ۱۲ سر موش صحرایی به‌کمک روش تصادفی ساده در گروه‌های کنترل (۶ سر) و تمرین تناوبی با شدت متوسط (۶ سر) قرار گرفتند. برنامه مداخلات برای گروه کنترل به‌ترتیب یک هفته سازگاری با محیط جدید و تمرین، هشت هفته بدون مداخله تمرین و در نهایت کالبدشکافی بود و برای گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط به‌ترتیب یک هفته سازگاری با محیط جدید و تمرین، هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط و در نهایت کالبدشکافی بود. موش‌های صحرایی تحت آزمایش در مطالعه حاضر در اتاقی با دمای 23 ± 22 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰-۴۰ درصد و چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری در قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. کلیه موارد و اصول اخلاقی بر طبق راهنمای به‌کارگیری و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. همچنین موش‌های صحرایی دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد (پلت) در طول مطالعه داشتند. این مطالعه دارای تأییدیه اخلاقی به شماره IR.HSU.AEC.1401.017 از دانشگاه حکیم سبزواری می‌باشد.

روش آماری

در این مطالعه از شاخص‌های میانگین، میانه، انحراف استاندارد و دامنه بین چارکی در بخش آمار توصیفی استفاده شد. در بخش آمار استنباطی یافته‌ها، ابتدا پذیره‌های آزمون t مستقل از جمله نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک و همسان بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون لوین بررسی شدند. در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون t مستقل و در صورت نرمال نبودن توزیع داده‌ها از آزمون من ویتنی استفاده شد. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد و سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن موش‌های صحرایی در شکل ۱ آورده شد. یافته‌ها نشان داد که بعد از هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط، میزان وزن بدن در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل ($t=2/204$, $df=10$, $p=0/052$) کاهش غیرمعنی‌داری دارد. میزان بیان ژن‌های مرتبط با تقسیم و ادغام میتوکندری بافت کبدی موش‌های صحرایی در جدول ۳ آورده شد. نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط باعث تغییر معنی‌داری در میزان بیان ژن‌های MFN1 ($z=-1/527$, $p=0/127$), MFN2 ($z=0/000$, $p=1/000$), OPA1 ($t=-0/778$, $df=5/05$, $p=0/472$), DRP1 ($t=1/940$, $df=5/301$, $p=0/107$), FIS1 ($t=-1/800$, $df=5/001$, $p=0/261$), PGC-1 α ($z=-1/123$, $p=0/261$) و OXR1 ($z=-1/501$, $df=5/003$, $p=0/194$) OPA1/ FIS1 نسبت ($t=1/931$) در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار نمی‌شود.

استخراج RNA^{۱۹} براساس دستورالعمل کیت استخراج YTzol pure RNA سفارش و ساخت کشور آلمان طبق پروتکل شرکت سازنده برای همه نمونه‌ها انجام شد. بدین منظور ابتدا ۵۰ میلی گرم بافت کبد به کمک Buffer RB لیز و سپس با دستگاه همگن کننده هموژن شد و همچنین برای شستشوی آن از اتانول ۷۰ درصد استفاده گردید. جهت بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر با طول موج ۲۶۰nm استفاده شد. سنتز cDNA^{۲۰} طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1622) ساخت آمریکا تهیه گردید. RNA استخراج شده بعد از پاک‌سازی از آلودگی‌های DNA ژنومی برای انجام واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم RevertAidTM-MuLV Reverse transcriptase مورد استفاده قرار گرفت. بعد از پایان مراحل فوق cDNA تا زمان به کارگیری در واکنش‌های Real Time-PCR در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

Real-time PCR

برای اندازه‌گیری سطح بیان ژن‌های DRP1, OPA1, MFN2, MFN1, FIS1, PGC-1 α و OXR1 از دستگاه real-time PCR استفاده شد. در این مرحله از کیت RealQ 2x Master mix Green Dye ساخت آمریکا، cDNA ساخته شده و پرایمرهای سنتز شده (رفت و برگشت) استفاده گردید. بعد از آماده کردن نمونه‌ها، برنامه دستگاه real-time PCR به صورت ۳ مرحله‌ای شامل مرحله Holding (در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه)، Cycling (در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه در ۴۰ چرخه) و Melt curve (در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۹۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه) تنظیم گردید. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن رفرنس β -Actin مربوطه نرمالیزه شد. همچنین از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به منظور تعیین میزان بیان ژن‌های این مطالعه استفاده شد.

²⁰. Complementary DNA¹⁹. Ribonucleic acid

جدول ۱. برنامه تمرین اینتروال

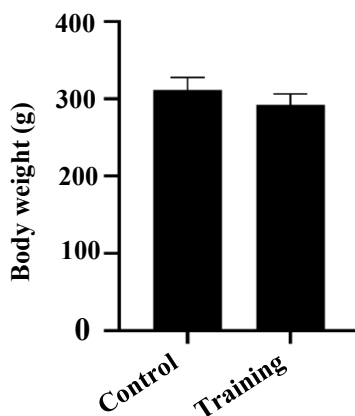
Table 1. Interval training program

هفته هشتم Eighth week	هفته هفتم Seventh week	هفته ششم Sixth week	هفته پنجم Fifth week	هفته چهارم Fourth week	هفته سوم Third week	هفته دوم Second week	هفته اول First week	روش‌های تمرین Exercise procedures	
6	6	6	6	6	6	6	6	تعداد تناوب Number of intervals	تناوب با شدت متوسط Moderate interval
4	4	4	4	4	4	4	4	زمان هر تناوب (دقیقه) Time of each interval (min)	
30	30	25	25	20	20	15	15	سرعت هر تناوب (متر بر دقیقه) Speed of each interval (m/min)	
6	6	6	6	6	6	6	6	تعداد تناوب Number of intervals	بازیافت فعال Active recovery
2	2	2	2	2	2	2	2	زمان هر تناوب (دقیقه) Time of each interval (min)	
15	15	15	15	10	10	10	10	سرعت هر تناوب (متر بر دقیقه) Speed of each interval (m/min)	

جدول ۲. توالی پرایمرها

Table 2. Sequence of primers

پرایمر برگشت Reverse primer	پرایمر رفت Forward primer	نام ژن Gene name
AAGCAAACAGGGCCAATGTC	CTAGAGGATGGCTGCACTAAACAC	MFN1
CAATGACCCACTGTGAGATGA	ATGTCGTGTGTCACCTCC	MFN2
GTCTTCTGAACCTGGGAAGGG	GGATCTGCTGTTGGAGGTGG	OPA1
TCTGCAGATTGGGGCAAC	CGGCCTAGCTCAGGGTTTAA	DRP1
TTGTTCTGGGGCTCAGTCTGT	CATCGTGCTGCTGGAGGA	FIS1
GGTGACTCTGGGGTCAGAG	CACCAAAACCCACAGAGAACAG	PGC-1 α
AACCATATAAGCCGTCCGGATC	AAGGACCAGTGGTCAGTAAAG	OXR1
CACCAATGTCCAGTCCAAGA	ACAAGCCACAGGATTACAAGAA	β -Actin



شکل ۱. میانگین و انحراف استاندارد وزن بدن موش‌های صحرایی

Figure 1. Mean and standard deviation of rats' body weight

جدول ۳. میزان بیان ژن‌های مرتبط با تقسیم و ادغام میتوکندری در دو گروه کنترل و تمرین

Table 3. Level of genes expression related to mitochondrial fission and fusion in two control and training groups

متغیرها Variables	گروه‌ها Groups	میانگین Mean	انحراف استاندارد Standard deviation
OPA1	Control	0.98	0.08
	Training	1.35	1.15
DRP1	Control	0.98	0.08
	Training	6.42	7.39
FIS1	Control	0.98	0.08
	Training	0.61	0.47
OXR1	Control	0.98	0.08
	Training	0.54	0.56
OPA1/ FIS1 ratio	Control	0.98	0.08
	Training	3.48	4.09
متغیرها Variables	گروه‌ها Groups	میانه Median	دامنه بین چارکی Interquartile range
MFN1	Control	0.97	0.16
	Training	0.35	1.21
MFN2	Control	0.97	0.16
	Training	1.25	6.15
PGC-1 α	Control	0.97	0.16
	Training	0.71	2.73

بحث

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن شاخص‌های درگیر در تقسیم و ادغام میتوکندری در بافت کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود. نتایج این مطالعه نشان داد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط تغییر خاصی در شاخص‌های درگیر در مسیرهای پویایی میتوکندری ایجاد نمی‌کند.

با بررسی تحقیقات پیشین، در زمینه نقش تمرین تناوبی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های این مطالعه در بافت کبدی موش‌های سالم مطالعه‌ای پیدا نشد و بیشتر مطالعات بر روی عضله اسکلتی، قلب، بیماران یا گروه سالمندان انجام شده بود. پژوهشگران در مطالعات پیشین نتایج ضد و نقیضی در مورد اثر تمرین استقامتی بر عملکرد میتوکندری گزارش کردند. عبادی و دمیرچی (۱۷) ادعان کردند که بیان ژن **MFN2** و **DRP1** در موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس میوکارد در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط به ترتیب دچار افزایش و کاهش می‌شود و این نشان از ارزش نقش تمرین بر ترمیم سلول‌های کبدی می‌باشد. این پژوهشگران همچنین نشان دادند که تمرین با شدت متوسط نسبت به تمرینات با شدت پایین و شدید اثر بیشتری در درمان و تعدیل پویایی میتوکندری دارد. در همین راستا ویرانکی و همکاران (۱۸) نشان دادند که تمرین استقامتی با شدت متوسط باعث کاهش محتوای پروتئین **DRP1** در موش‌های کاردیومیوپاتی دیابتی می‌شود. این در حالی بود که محتوای پروتئین **MFN2** بدون تغییر گزارش شد. زنگ و همکاران (۲۳) در یک مطالعه نشان دادند که در اثر ۱۲ هفته تمرین استقامتی چه به صورت اختیاری یا اجباری پویایی میتوکندری از طریق افزایش محتوای پروتئین **MFN2** و **DRP1** در موش‌های صحرایی سالمند افزایش می‌یابد. مک اینیس و همکاران (۱۹) بیان کردند که شدت تمرین نقش مهمی در پویایی میتوکندری مدل‌های سالم دارد، به طوری که آن‌ها نشان دادند تمرین تناوبی با شدت بالا در مقایسه با تمرین تداومی با شدت متوسط باعث افزایش محتوای پروتئین **MFN2** در میتوکندری عضله اسکلتی می‌شود. پنگام و همکاران (۲۰) نشان دادند که در اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط پویایی میتوکندری تارهای کند انقباض مدل‌های سالم دچار تغییر می‌شود، به طوری که در اثر این گونه تمرینات، میزان بیان ژن‌های **MFN2**، **OPA1** و **DRP1** افزایش و برعکس **FIS1** کاهش می‌یابد. از سوی دیگر ژائو و همکاران (۲۴) ادعان کردند که تمرین شنا باعث تغییر معنی‌داری در بیان ژن‌های **MFN2** و **DRP1** میتوکندری بافت قلب نمی‌شود.

عوامل زیادی ممکن است در عدم تغییر پویایی میتوکندری بافت کبد مطالعه حاضر در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط وجود داشته باشد. یکی از این عوامل نوع مدل تجربی است. در مطالعه حاضر نمونه‌های تحت پژوهش سالم بودند و احتمالاً فرایندهای ادغام و تقسیم میتوکندری قبل از شروع پروتکل تمرینی متعادل بودند و تمرین با شدت متوسط نه میزان پویایی میتوکندری و نه تعادل فرایندهای ادغام و تقسیم میتوکندری را تغییر نداده است. دومین عامل نوع بافت است. اگر چه نقش میتوکندری-های کبد برای تولید انرژی در فرآیندهای انرژی زا ضروری هستند (۲۱)، با وجود این در طی انجام تمرین میزان جریان خون بافت‌های فعال از جمله عضلات اسکلتی و قلب افزایش می‌یابد و جریان خون کبد کاهش می‌یابد (۲۵). احتمالاً درگیری بیشتر میتوکندری عضلات اسکلتی و قلب برای تولید **ATP** از طریق فسفوریلاسیون اکسیداتیو باعث تغییر پویایی میتوکندری در این بافت‌ها شده است. سومین عامل شدت تمرین است. اثبات شده است که میتوکندری‌ها به عنوان اندامک‌های پویا از طریق فرایندهای تقسیم و ادغام، با توجه به سطح استرس و تقاضای انرژی تغییر شکل می‌دهند (۲۶). در این راستا، پنگام و همکاران (۲۰) نشان دادند که میزان بیان ژن **FIS1** در تمرینات شدید نسبت به تمرین با شدت متوسط بیشتر است. همچنین مک اینیس و همکاران (۱۹) بیان کردند که تمرین شدید در برابر تمرین با شدت متوسط باعث افزایش محتوای پروتئین **MFN2** در میتوکندری عضله اسکلتی می‌شود. در مطالعه حاضر شدت تمرین از نوع متوسط بود و این می‌تواند دلیلی برای عدم تغییر پویایی میتوکندری در بافت کبد باشد.

تقسیم میتوکندری با افزایش کیفیت این اندامک با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده در اثر استرس اکسیداتیو است (۲،۲۷)، در حالی که ادغام میتوکندری براساس نیازهای انرژی تحریک می‌شود (۲۸) که همراه با ترکیب و تبادل محتویات داخل میتوکندری در بین میتوکندری‌ها جهت حفظ عملکرد میتوکندری می‌باشد (۲،۲۷). احتمالاً یک رابطه بین شدت تمرین و پویایی میتوکندری وجود دارد، به طوری که تمرین استقامتی در شدت‌های بالا همراه با افزایش تقاضای انرژی (۲۹) و استرس اکسیداتیو است (۳۰) که این ممکن است بر عملکرد و فرایندهای ادغام و تقسیم میتوکندری تأثیر بگذارد.

در مطالعه حاضر **OXR1** به عنوان پروتئینی که در طی استرس اکسیداتیو در میتوکندری فعال می‌شود و می‌تواند از بروز آسیب اکسیداتیو به **DNA** جلوگیری کند (۳۱)، بدون تغییر بود. این نشان می‌دهد که تمرین با شدت متوسط احتمالاً باعث افزایش شدید استرس اکسیداتیو در بافت کبد نشده است که نیاز باشد مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی از جمله افزایش بیان ژن

اکثر مطالعات فوق الذکر نشان دادند که بیوژنر میتوکندری در اثر تمرین استقامتی با شدت متوسط افزایش یافته است. بیشتر این مطالعات بر روی میتوکندری عضلات اسکلتی و قلب انجام شده است که در طی تمرین ورزشی فعالیت زیادی دارند (۲۵)، اما در مورد بافت کبد مطالعات نادر است. در همین راستا حیات و همکاران (۳۴) تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا را بر بیوژنر میتوکندری بافت کبد در موش‌های صحرایی سالم بررسی نمودند. تمرینات تناوبی با شدت بالا در مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته انجام شد. نتایج نشان داد که این گونه تمرینات باعث تغییر معنی‌داری در سطوح **PGC-1 α** نمی‌شود که موافق با نتایج مطالعه حاضر است. پژوهشگران پیشنهاد دادند که **PGC-1 α** مسیر تقسیم میتوکندری را از طریق تنظیم منفی **DRP1** آهسته (۸) و در مقابل فرایند ادغام را از طریق افزایش رونویسی و ترجمه **MFN1** (۳۵) و **MFN2** (۳۶) تسریع می‌نماید. احتمالاً یکی از عواملی که باعث عدم تغییر فرایندهای ادغام و تقسیم میتوکندری در مطالعه حاضر شده است، عدم تغییر **PGC-1 α** در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط است. شاخص‌های دیگری از جمله **AMPK**، **mTOR**، **SIRT**، **ERK1/2**، **JNK** نیز ممکن است در مسیرهای سیگنالینگ تقسیم و ادغام میتوکندری درگیر باشند (۲۷) که پژوهشگران مطالعه حاضر آن‌ها را نستجیده‌اند. در نتیجه جهت برطرف کردن این محدودیت تحقیق، نیاز است پژوهشگران در آینده به بررسی آن‌ها بپردازند.

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت متوسط باعث تغییر معنی‌داری در مقادیر بیان ژن‌های **OPA1**، **MFN2**، **MFN1**، **DRP1**، **FIS1**، **PGC-1 α** و **OXR1** و نسبت **OPA1/FIS1** در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار سالم نمی‌شود. با این حال برای مشخص شدن مکانیسم‌های مولکولی میتوکندری در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط به تحقیقات بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمام کسانی که در اجرای این مطالعه همکاری داشتند، کمال تشکر را دارند.

تضاد منافع

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

OXR1 فعال شود. در یک مطالعه نشان داده شد که تمرین هوازی با شدت ۸۰ درصد حداکثر سرعت بیشینه در موش‌های دارای سبک زندگی فعال باعث افزایش محتوای پروتئین **OXR1** بافت کبد می‌شود (۳۲).

مشخص شده است که گونه‌های فعال اکسیژن نقش بسیار مهمی در تقسیم میتوکندری با میانجی **DRP1** دارد. تقسیم میتوکندری در شرایط غیرطبیعی احتمالاً به دلیل اختلال عملکرد میتوکندری و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است (۹). در نتیجه در مطالعه حاضر احتمالاً تولید گونه‌های فعال اکسیژن بافت کبدی در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط در حد بالایی نبود که بتواند میزان بیان ژن **DRP1** را افزایش دهد. با این وجود مکانیسم‌های درگیر بر پویایی میتوکندری در اثر تمرین ورزشی به خوبی مشخص نیست که برای روشن شدن این موضوع نیاز به مطالعات بیشتری در آینده است.

سطح بیان ژن **PGC-1 α** در سلول‌های کبدی در اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط بدون تغییر بود. در این باره زولادز و همکاران (۳۳) به بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیوژنر میتوکندری عضله اسکلتی پرداختند. نتایج نشان داد که تمرین استقامتی باعث افزایش بیان **PGC-1 α** در میتوکندری عضله اسکلتی می‌شود. همچنین عبادی و دمیرچی (۱۷) اثر تمرین تناوبی با شدت متوسط بر پویایی میتوکندری موش‌های صحرایی دچار انفارکتوس میوکارد را بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که تمرین تناوبی با شدت متوسط می‌تواند باعث افزایش بیان **PGC-1 α** در سلول‌های قلب موش‌های مدل انفارکتوس میوکارد شود. زنگ و همکاران (۲۳) در یک مطالعه اثر ۱۲ هفته تمرین استقامتی بر روی عضله نعلی موش‌های صحرایی مبتلا به سارکوپنی را بررسی کردند. در این مطالعه موش‌های صحرایی مسن در ۵ گروه، کنترل، تمرین تردمیل، تمرین مقاومتی، تمرین تردمیل-مقاومتی و تمرین دوییدن اختیاری روی چرخ دوار قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تمرینات استقامتی چه به‌صورت اختیاری یا اجباری باعث افزایش بیوژنر میتوکندری در موش‌های صحرایی سالمند می‌شود. پنگام و همکاران (۲۰) در تحقیق‌شان پاسخ‌های متابولیک عضلات اسکلتی کند و تند انقباض موش‌های صحرایی سالم را در اثر تمرین تداومی با شدت متوسط بررسی کردند. نتایج نشان داد که تمرین تداومی با شدت متوسط بیان **PGC-1 α** در عضله تند انقباض را افزایش می‌دهد، در حالی که در عضله کند انقباض بدون تغییر است.

Reference

1. Zhang L, Zhang Y, Chang X, Zhang X. Imbalance in mitochondrial dynamics induced by low PGC-1 α expression contributes to hepatocyte EMT and liver fibrosis. *Cell Death Dis*

2020;11:226. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2429-9>.

2. Vezza T, Díaz-Pozo P, Canet F, de Maraño AM, Abad-Jiménez Z, García-Gargallo C, et al. The Role of Mitochondrial Dynamic Dysfunction in Age-Associated Type 2 Diabetes.



10. Zhang Q, Lei Y-H, Zhou J-P, Hou Y-Y, Wan Z, Wang H-L, et al. Role of PGC-1 α in Mitochondrial Quality Control in Neurodegenerative Diseases. *Neurochem Res* 2019;44:2031–43. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02858-6>.
11. Soriano FX, Liesa M, Bach D, Chan DC, Palacín M, Zorzano A. Evidence for a mitochondrial regulatory pathway defined by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha, estrogen-related receptor-alpha, and mitofusin 2. *Diabetes* 2006;55:1783–91. <https://doi.org/10.2337/db05-0509>.
12. Ding M, Feng N, Tang D, Feng J, Li Z, Jia M, et al. Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1 α pathway. *J Pineal Res* 2018;65:e12491. <https://doi.org/10.1111/jpi.12491>.
13. Sui Y-B, Xiu J, Wei J-X, Pan P-P, Sun B-H, Liu L. Shen Qi Li Xin formula improves chronic heart failure through balancing mitochondrial fission and fusion via upregulation of PGC-1 α . *J Physiol Sci* 2021;71:32. <https://doi.org/10.1186/s12576-021-00816-y>.
14. Sinenko SA, Starkova TY, Kuzmin AA, Tomilin AN. Physiological Signaling Functions of Reactive Oxygen Species in Stem Cells: From Flies to Man. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:714370. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.714370>.
15. Svistunova DM, Simon JN, Rembeza E, Crabtree M, Yue WW, Oliver PL, et al. Oxidation resistance 1 regulates post-translational modifications of peroxiredoxin 2 in the cerebellum. *Free Radic Biol Med* 2019;130:151–62. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.447>.
16. Drake JC, Wilson RJ, Yan Z. Molecular mechanisms for mitochondrial adaptation to exercise training in skeletal muscle. *FASEB J* 2022;40:399–411. <https://doi.org/10.5534/wjmh.210146>.
3. Scott I, Youle RJ. Mitochondrial fission and fusion. *Essays Biochem* 2010;47:85–98. <https://doi.org/10.1042/bse0470085>.
4. Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 2003;160:189–200. <https://doi.org/10.1083/jcb.200211046>.
5. Song Z, Ghochani M, McCaffery JM, Frey TG, Chan DC. Mitofusins and OPA1 mediate sequential steps in mitochondrial membrane fusion. *Mol Biol Cell* 2009;20:3525–32. <https://doi.org/10.1091/mbc.e09-03-0252>.
6. Di Nottia M, Verrigni D, Torraco A, Rizza T, Bertini E, Carozzo R. Mitochondrial Dynamics: Molecular Mechanisms, Related Primary Mitochondrial Disorders and Therapeutic Approaches. *Genes (Basel)* 2021;12:247. <https://doi.org/10.3390/genes12020247>.
7. Yu R, Jin S-B, Lendahl U, Nistér M, Zhao J. Human Fis1 regulates mitochondrial dynamics through inhibition of the fusion machinery. *EMBO J* 2019;38:e99748. <https://doi.org/10.15252/embj.201899748>.
8. Dabrowska A, Venero JL, Iwasawa R, Hankir M-K, Rahman S, Boobis A, et al. PGC-1 α controls mitochondrial biogenesis and dynamics in lead-induced neurotoxicity. *Aging (Albany NY)* 2015;7:629–47. <https://doi.org/10.18632/aging.100790>.
9. Cid-Castro C, Morán J. Differential ROS-Mediated Phosphorylation of Drp1 in Mitochondrial Fragmentation Induced by Distinct Cell Death Conditions in Cerebellar Granule Neurons. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021:8832863. <https://doi.org/10.1155/2021/8832863>.

23. Zeng Z, Liang J, Wu L, Zhang H, Lv J, Chen N. Exercise-Induced Autophagy Suppresses Sarcopenia Through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a Signal Pathways and AMPK-Mediated Mitochondrial Quality Control. *Front Physiol* 2020;11:583478. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.583478>.
24. 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;37:657–66. https://doi.org/10.4149/gpb_2018020.
25. Heinonen I, Kalliokoski KK, Hannukainen JC, Duncker DJ, Nuutila P, Knuuti J. Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. *Physiology (Bethesda, Md)* 2014;29. <https://doi.org/10.1152/physiol.00067.2013>.
26. Nasrallah CM, Horvath TL. Mitochondrial dynamics in the central regulation of metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:650–8. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.160>.
27. Chen W, Zhao H, Li Y. Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8:333. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01547-9>.
28. Guo R, Gu J, Zong S, Wu M, Yang M. Structure and mechanism of mitochondrial electron transport chain. *Biomed J* 2018;41:9–20. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.12.001>.
29. Rabinowitz JD, Enerbäck S. Lactate: the ugly duckling of energy metabolism. *Nat Metab* 2020;2:566–71. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0243-4>.
30. Takami M, Aoi W, Ando C, Kato Y, Kobayashi Y, Kuwahata M. High-intensity exercise training induces the oxidative modification of malate dehydrogenase 2 in skeletal muscles. *Advances in Redox Research* 2023;9:100076.
- 2016;30:13–22. <https://doi.org/10.1096/fj.15-276337>.
17. Ebadi B, Damirchi A. Effect of exercise training intensity on mitochondrial dynamics and mitophagy in post myocardial infarction rats. *International Journal of Applied Exercise Physiology* 2018;7:46–53.
18. Veeranki S, Givvimani S, Kundu S, Metreveli N, Pushpakumar S, Tyagi SC. Moderate intensity exercise prevents diabetic cardiomyopathy associated contractile dysfunction through restoration of mitochondrial function and connexin 43 levels in db/db mice. *J Mol Cell Cardiol* 2016;92:163–73. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.01.023>.
19. MacInnis MJ, Zacharewicz E, Martin BJ, Haikalis ME, Skelly LE, Tarnopolsky MA, et al. Superior mitochondrial adaptations in human skeletal muscle after interval compared to continuous single-leg cycling matched for total work. *J Physiol* 2017;595:2955–68. <https://doi.org/10.1113/JP272570>.
20. Pengam M, Goanvec C, Moisan C, Simon B, Albacète G, Féray A, et al. Moderate intensity continuous versus high intensity interval training: Metabolic responses of slow and fast skeletal muscles in rat. *PLoS One* 2023;18:e0292225. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292225>.
21. Stevanović J, Beleza J, Coxito P, Ascensão A, Magalhães J. Physical exercise and liver “fitness”: Role of mitochondrial function and epigenetics-related mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Metab* 2020;32:1–14. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.11.015>.
22. Zhou L, Mozaffaritarab S, Kolonics A, Kawamura T, Koike A, Kéringier J, et al. Long-term iron supplementation combined with vitamin B6 enhances maximal oxygen uptake and promotes skeletal muscle-specific mitochondrial biogenesis in rats. *Front Nutr* 2023;10:1335187. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1335187>.

31. Elliott NA, Volkert MR. Stress induction and mitochondrial localization of Oxr1 proteins in yeast and humans. *Mol Cell Biol* 2004;24:3180–7.
<https://doi.org/10.1128/MCB.24.8.3180-3187.2004>.
32. Scariot PPM, Manchado-Gobatto FB, Van Ginkel PR, Prolla TA, Gobatto CA. Aerobic training associated with an active lifestyle exerts a protective effect against oxidative damage in hypothalamus and liver: The involvement of energy metabolism. *Brain Res Bull* 2021;175:116–29.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.07.018>.
33. Zoladz JA, Koziel A, Woyda-Ploszczyca A, Celichowski J, Jarmuszkiewicz W. Endurance training increases the efficiency of rat skeletal muscle mitochondria. *Pflugers Arch* 2016;468:1709–24.
<https://doi.org/10.1007/s00424-016-1867-9>.
34. Heiat F, Heiat M, Shojaeifard M. Changes in mitochondrial biogenesis and fatty liver indicators in rat following continuous and high intensity interval training. *J Sports Med Phys Fitness* 2021;61:1416–22.
<https://doi.org/10.23736/S0022-4707.20.11693-1>.
35. Martin OJ, Lai L, Soundarapandian MM, Leone TC, Zorzano A, Keller MP, et al. A role for peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 in the control of mitochondrial dynamics during postnatal cardiac growth. *Circ Res* 2014;114:626–36.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302562>.
36. Emery JM, Ortiz RM. Mitofusin 2: A link between mitochondrial function and substrate metabolism? *Mitochondrion* 2021;61:125–37.
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2021.09.003>.