



The effect of eight weeks of soccer preparation program and beta vulgaris supplementation on the content of OPA1 and MFN1 proteins in soccer players

Mohammad Mahdi Manshi^{1*}, Mehrdad Fathei², Seyed Reza Attarzadeh Hosseini³, Mohammad Mosaferi Ziaaldini⁴

1. PhD in Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3. Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

4. Assistant Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

Abstract

Introduction and Aim: It is well-documented that physical fatigue from sports activities can negatively affect the immune system's structure and function. Nutritional measures are suggested to delay fatigue and prevent the decline of immune system performance. The study aimed to investigate the impact of an eight-week soccer preparation program and beta vulgaris supplement consumption on the content of OPA1 and MFN1 proteins in peripheral blood mononuclear immune cells of young male soccer players. **Materials and Methods:** The study involved thirty male soccer players with an average age of 20.1 ± 1.72 y. who had regularly participated in training and competitions in Shiraz in the two years prior to the study. The participants were divided into two groups, with one group consuming beta vulgaris supplementation ($n=15$) and the other group receiving a placebo ($n=15$). The training program consisted of eight weeks of soccer preparation training, with three sessions per week. Before each training session, the players in the beta vulgaris group consumed 50 g of beta vulgaris supplement, which contained 6.13 mmol of nitrate dissolved in half a liter of water. The content of OPA1 and MFN1 proteins of mononuclear immune cells was measured before and after the intervention using the ELISA method. The data were analyzed using repeated measures of ANOVA test at $p < 0.05$. **Results:** A study found that there was a significant increase in the MFN1 protein in both the exercise-supplement group ($p=0.001$) and the exercise-placebo group ($p=0.009$). Additionally, there was a significant increase in the OPA1 protein only in the exercise-supplement group ($p=0.001$), but not in the exercise-placebo group ($p=0.72$). **Conclusion:** The study concluded that soccer training and beta vulgaris supplement can prevent disruption of the mitochondrial biogenesis process by increasing the content of MFN1 and OPA1 proteins.

Keywords: Soccer players, Beta vulgaris supplement, OPA1 protein, MFN1 protein.

Cite this article:

Manshi, M.M., Fathei, M., Attarzadeh Hosseini, S.R., & Mosaferi Ziaaldini, M. (2023). The effect of eight weeks of soccer preparation program and beta vulgaris supplementation on the content of OPA1 and MFN1 proteins in soccer players. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 11(28), 76-87.

*Corresponding Author, Address: Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad;

Email; m18mmaneshi@gmail.com

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2022.5545.1742>





تاثیر هشت هفته برنامه آماده‌سازی فوتبال و مصرف مکمل بتاولگاریس بر محتوای پروتئین‌های OPA1 و MFN1 بازیکنان فوتبال

محمد مهدی منشی^{۱*}، مهرداد فتحی^۲، سیدرضا عطارزاده حسینی^۳، محمد مسافری ضیاءالدینی^۴

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
۳. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.
۴. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: از آنجا که خستگی جسمی ناشی از انجام فعالیت ورزشی طاقت فرسا، بر ساختار و عملکرد سیستم ایمنی تاثیر منفی می‌گذارد؛ اتخاذ تدابیر تغذیه‌ای برای تعویق خستگی و ممانعت از افت عملکرد سیستم ایمنی، پیشنهاد می‌شود. به همین منظور در این پژوهش؛ اثر هشت هفته برنامه آماده‌سازی فوتبال و مصرف مکمل بتاولگاریس بر محتوای پروتئین‌های OPA1 و MFN1 سلول‌های ایمنی تک هسته‌ای محیطی خون بازیکنان فوتبال مرد جوان، مورد مطالعه قرار گرفت. **روش تحقیق:** تعداد ۳۰ بازیکن فوتبال مرد با میانگین سن $20/1 \pm 1/72$ سال که در دو سال قبل از مطالعه به طور منظم در تمرینات و مسابقات شهرستان شیراز شرکت داشتند، به دو گروه تمرینی همراه با مصرف مکمل بتاولگاریس (۱۵ نفر) و گروه تمرینی همراه با مصرف دارونما (۱۵ نفر) تقسیم شدند و یک برنامه تمرین آماده‌سازی فوتبال هشت هفته با تکرار سه جلسه در هفته شامل: تمرینات تناوبی، مقاومتی، سرعتی، پلايومتریک و بازی در گروه‌های کوچک را اجرا کردند. قبل از هر جلسه تمرین، ۵۰ گرم مکمل بتا و لگاریس حاوی ۶/۱۳ میلی مول نیترات حل شده در نیم لیتر آب، به هر بازیکن داده شد. قبل و بعد از مداخله، محتوای پروتئین‌های OPA1 و MFN1 سلول‌های ایمنی تک هسته‌ای با روش الیزا اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته‌ها:** مقادیر پروتئین MFN1 در گروه تمرین-مکمل ($p=0/001$) و تمرین-دارونما ($p=0/009$) افزایش معنی‌داری داشت. مقادیر پروتئین OPA1 تنها در گروه تمرین-مکمل افزایش معنی‌دار داشت ($p=0/001$)، اما در گروه تمرین-دارونما معنی‌دار نبود ($p=0/72$). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات فوتبال و مصرف مکمل بتاولگاریس، هر کدام با مکانیزمی جداگانه، با افزایش محتوای پروتئین‌های OPA1 و MFN1 بتوانند از ایجاد اختلال در فرآیند بایوژنز میتوکندریایی جلوگیری کنند.

واژه‌های کلیدی: بازیکنان فوتبال، مکمل بتاولگاریس، پروتئین OPA1، پروتئین MFN1.

مقدمه

است. مقادیر متوسط شاخص های التهابی موجب توسعه بایوپژنزیس میتوکندریایی، بهبود ظرفیت های عملکردی و ترشح عوامل رشدی می شود؛ اما وقتی شاخص های ایمنولوژیک از سطح متوسط فراتر می رود، آثار تخریبی آن ها نمایان می گردد. تخریب میتوکندری ها نیز باعث ترشح فراتر از حد متوسط شاخص های ایمنولوژیک می شود که به صورت فیدبک مثبت، ایجاد التهاب بافتی را در پی دارد (فرارا و دیگران، ۲۰۲۱). از این رو، با تنظیم شدت و مدت فعالیت ورزشی و تجویز مکمل های کاهنده وضعیت التهاب، می توان کیفیت و شرایط فیزیولوژیک بدن ورزشکار را بهبود بخشید.

اعتقاد بر آن است که مکمل های مختلف همانند مکمل های گیاهی، می توانند برای کاهش آسیب میتوکندریایی ناشی از ورزش های شدید استفاده شوند (محمدخانی و دیگران، ۲۰۲۱). بتاولگاریس^{۱۴} یا چغندر قند، یک گیاه از خانواده برگ سبزه ها^{۱۵}، سرشار از فیبر، بتالین^{۱۶}، فلاونوئیدها، ویتامین ها (ویتامین B2، ویتامین B1، ویتامین C) و مواد معدنی است. مکمل بتاولگاریس ممکن است به عنوان یک استراتژی مفید برای تقویت دفاع آنتی اکسیدانی درون زا در حفاظت از اجزای سلولی در برابر آسیب های اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد. تحت شرایط متابولیسم طبیعی، محیط بیولوژیکی یک سلول در حالت تعادل ردوکس قرار می گیرد؛ به عبارت دیگر، تعادل بین عوامل آنتی اکسیدانی و پرو-اکسیدانی وجود دارد (بنجامیم^{۱۷} و دیگران، ۲۰۲۱؛ مامفورد^{۱۸} و دیگران، ۲۰۱۸؛ دی الیورا^{۱۹}، ۲۰۲۱). بتاولگاریس، منبع مهم نیتریک اکساید^{۲۰} (NO) می باشد و در مطالعات اخیر شواهد قانع کننده ای ارائه شده است مبنی بر آن که NO ممکن است به بهبود فشارخون، آترواسکلروز، دیابت نوع دو، زوال عقل و اثرات ارگوژنیک استقامت قلبی - عروقی منجر شود (وینک^{۲۱} و دیگران، ۲۰۰۱؛ شعبان^{۲۲} و دیگران، ۲۰۲۱؛ کلیفورد^{۲۳} و دیگران، ۲۰۱۷). از دیگر مزایای فیزیولوژیک اثبات شده NO حاصل از مصرف مکمل بتاولگاریس می توان به بهبود کارایی میتوکندری^{۲۴} و جذب گلوکز اشاره کرد. NO از طریق تحریک ترشح MFN1 و OPA1، باعث فعال شدن فرآیند همجوشی و شکافت در غشای خارجی و داخلی میتوکندری می شود و بدین ترتیب، بایوپژنزیس میتوکندریایی افزایش می یابد. با افزایش بایوپژنزیس میتوکندریایی، میزان

دستگاه ایمنی یکی از دستگاه های حیاتی است که عملکرد صحیح آن ضامن سلامت و ادامه حیات است. عوامل بی شماری می توانند در جهت تقویت و یا تضعیف سیستم ایمنی بدن عمل کنند (جاستین^۱ و دیگران، ۲۰۲۱). با شناخت این عوامل ایمنولوژیک، می توان به تقویت عملکرد دستگاه ایمنی بدن و افزایش سازگاری ها در برابر شرایط تنش زای بیرونی و درونی؛ کمک کرد (داسیلویرا^۲ و دیگران، ۲۰۲۱). فعالیت های ورزشی به طور مستقل، اجزاء زنجیره بایوپژنزیس میتوکندریایی (همجوشی^۳، شکافت^۴ و میتوفازی^۵) را تحت تأثیر قرار می دهند. پژوهش ها نشان داده اند که افزایش شدت تمرین بیش از ۵۰ تا ۶۰ درصد VO₂max می تواند این چرخه را دچار اختلال کند (فرارا^۶ و دیگران، ۲۰۲۱).

پروتئین های OPA1^۷ و MFN1^۸ دو عامل اصلی درگیر در بایوپژنزیس میتوکندریایی (غشای داخلی و خارجی میتوکندری) در سلول های تک هسته ای خون محیطی^۹ (PBMCs) هستند (برادشاو^{۱۰} و دیگران، ۲۰۲۱). پروتئین OPA1 که در غشای داخلی میتوکندری قرار دارد، چندین فرآیند مهم سلولی همچون پایداری شبکه میتوکندری، خروجی بیوانرژی میتوکندری و جداسازی مولکول های سیتوکروم c اکسیداز پرو - آپوپتوزیک^{۱۱} را در داخل فضای میتوکندری تنظیم می کند. در همین رابطه، پروتئین MFN1 نقش مهمی در همجوشی و حفظ یکپارچگی میتوکندری ایفا می کند؛ به طوری که اختلال همجوشی میتوکندری منجر به اختلال و کاهش کیفیت عملکرد میتوکندری می شود (وانگ^{۱۲} و دیگران، ۲۰۲۱).

امروزه مطالعه ساختارهای مرتبط با سلول های تک هسته ای خون محیطی با هدف بررسی ایمنی به هنگام ورزش به ویژه ورزش فوتبال، روش عملی مناسبی برای برآورد عملکرد فعالیت ورزشی محسوب می شود (لی^{۱۳} و دیگران، ۲۰۲۲). به طور کلی، فعالیت های ورزشی باعث ایجاد شرایط التهابی در بدن می شوند. در همین رابطه، فعالیت های ورزشی بسته به شدت و مدت، سیستم ایمنی، عوامل رشدی و تحریک کننده بایوپژنزیس میتوکندریایی را تحت تأثیر خود قرار می دهند. این شرایط به واسطه عوامل التهابی و پیش التهابی سیستم ایمنی قابل تشخیص

1. Jastin
2. DaSilvira
3. Fusion
4. Fission
5. Mitophagy
6. Ferrara
7. Optic atrophy-1
8. Mitofusion-1

9. Peripheral blood mononuclear cells
10. Bradshaw
11. Pro-apoptotic cytochrome c oxidase
12. Wong
13. Li
14. Beta vulgaris
15. Amaranthacea
16. Betalain

17. Benjamim
18. Mumford
19. De Oliveira
20. Nitric oxide
21. Wink
22. Shaban
23. Clifford
24. Mitochondrial efficiency

به روشنی مشخص نیست و همچنین در رابطه با تغییرات سیستم ایمنی و پروتئین های PBMCs، اطلاعات کمی وجود دارد؛ پژوهش حاضر به بررسی پاسخ این سوال می پردازد که آیا برنامه آماده سازی هشت هفته ای فوتبال و مصرف همزمان مکمل بتاولگاریس، بر بیان پروتئین های OPA1 و MFN1 بر PBMCs بازیکنان مرد جوان فوتبال، تأثیر دارد؟

روش تحقیق

این پژوهش از نوع نیمه تجربی، با طرح پیش آزمون- پس آزمون بود. جامعه آماری این پژوهش، بازیکنان فوتبال مرد جوان آماتور (۱۷ تا ۲۲ سال) شهرستان شیراز بودند که حداقل در طول دو سال قبل از اجرای طرح به طور منظم در تمرینات و مسابقات شرکت داشتند. در این مطالعه، بعد از فراخوان در سطح باشگاه های ورزشی شهرستان شیراز، از ۷۰ بازیکن داوطلب معرفی شده که تمایل به مشارکت داشتند؛ ثبت نام اولیه به عمل آمد و پس از اندازه گیری وزن، قد و تعیین شاخص توده بدن (BMI)؛ از آن ها خواسته شد پرسش نامه های اطلاعات فردی، فعالیت بدنی و تندرستی را تکمیل نمایند. پس از مطالعه و بررسی همه پرسش نامه های تکمیل شده؛ از میان ۷۰ نفر داوطلب، ۳۰ نفر از افرادی که شرایط شرکت و معیارهای ورود به پژوهش داشتند؛ انتخاب و بر اساس سن تقویمی و شاخص توده بدن، به دو گروه همگن شامل گروه تمرین- دارونما (۱۵ نفر)، و تمرین- مکمل (۱۵ نفر) تقسیم شدند. تعداد نمونه ها بر اساس مقالات مشابه داخلی و خارجی تعیین شد (داسیلویرا^۱ و دیگران، ۲۰۲۱؛ وینک و دیگران، ۲۰۰۱). داشتن سن ۱۷ تا ۲۲ سال، شاخص توده بدن ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم بر متر مربع، دارا بودن سطح آمادگی جسمانی مناسب، عدم ابتلاء به بیماری های ویروسی طی چهار ماه قبل از مطالعه، عدم مصرف مکمل غذایی و ورزشی طی شش ماه قبل از پژوهش، و داشتن حداقل دو سال سابقه منظم فعالیت ورزشی فوتبال؛ از معیارهای ورود به پژوهش بودند. همچنین مصرف دارو و مکمل طی مدت اجرای پژوهش و ابتلاء به بیماری و یا شرایطی که توانایی انجام پروتکل پژوهش را مختل کند، جزو معیارهای خروج از پژوهش در نظر گرفته شدند. توصیف ویژگی های فردی آزمودنی ها در گروه های پژوهش در جدول یک ارائه شده است.

پیش از آغاز پژوهش، همه آزمودنی ها توسط پزشک متخصص تحت ارزیابی و معاینه بالینی قرار گرفتند. به منظور رعایت ملاحظات اخلاقی، علیرغم اظهار تمایل اولیه

سوخت و ساز اکسیداتیو و به دنبال آن، ظرفیت عملکرد ورزشی بهبود پیدا می کند (وانگ و دیگران، ۲۰۲۱). در مطالعه ای دیگر، وینکلر^۱ و دیگران (۲۰۰۵) نشان دادند که عصاره بتاولگاریس می تواند با آبشارهای پیش التهابی در سلول های تک هسته ای خون محیطی مقابله کند. ویلی^۲ و دیگران (۲۰۱۴) هم نشان داده اند که پس از مصرف ۶۰ گرم بتاولگاریس، به مدت دو ماه، طی دو ساعت قبل از هر جلسه فعالیت؛ عملکرد بازیکنان تفریحی فعال در فعالیت تناوبی شدید، بهبود می یابد. این مشاهدات از اولین شواهد مزایای مکمل ارگانیک بودند که بازیکنان ورزشی (مانند بازیکنان فوتبال) می توانستند از نیترات استفاده کنند. یک مطالعه دیگر، اثرات بهبود عملکرد را پس از مصرف بالای نیترات (عنصر اصلی و اثرگذار بتاولگاریس) به میزان ۱۲۵ گرم طی ۳۰ ساعت قبل از آزمون دوی تناوبی با شدت بالا، نشان داده است (برودر^۳ و دیگران، ۲۰۲۱). در پژوهشی دیگر، تامسون^۴ و دیگران (۲۰۱۶) نتیجه گرفته اند که پروتکل مصرف مکمل پنج روزه نیترات با دوز پایین تر (روزانه به میزان ۳۰ گرم قبل از هر جلسه)، در بهبود عملکرد دوی تناوبی با شدت بالا در ورزشکاران تفریحی موثر است. در همین ارتباط، لی و دیگران (۲۰۱۰) اثرات مکمل گیاه اکیناسه^۵ (به عنوان یک نمونه دیگر از مکمل های تأثیرگذار ارگانیک) بر پاسخ های ایمنی سلول های تک هسته ای خون محیطی در دانشجویان ورزشکار در دو رشته کشتی و فوتبال را در دوره قبل از تمرین، بررسی کرده اند. در این پژوهش بعد از تمرین، تولید MFN1 و OPA1 توسط PBMCs، تغییر نکرد و یا کاهش یافت؛ اما به دنبال جلسات تمرینی، تکثیر سلول های ایمنی تک هسته ای محیطی به ترتیب در کشتی گیران و بازیکنان فوتبال افزایش و کاهش یافت. در میان عوامل برون زا، احتمال می رود مکمل بتاولگاریس یکی از مواد تأثیر گذار بر عملکرد ورزشی ورزشکاران باشد. مکمل بتاولگاریس تأثیرات خوبی بر التهاب، استرس اکسیداتیو و عملکرد اندوتلیال عروق دارد. از آن جایی که استرس اکسیداتیو با عملکرد میتوکندریایی رابطه مستقیمی دارد، می توان به بررسی عملکرد ورزشکاران به دنبال مصرف این مکمل تغذیه ای پرداخت. مشخص شده است که تمرین تک جلسه ای همانند تمرینات چند جلسه ای به همراه مصرف مکمل بتاولگاریس، منجر به افزایش سطوح در گردش خون سلول های تک هسته ای خون و افزایش همزمان و به ظاهر ناهمسو، در میانجی های پیش التهابی و ضد التهابی آن می شود (کلونی^۶ و دیگران، ۲۰۰۴). نظر به این که تأثیر تمرینات فوتبال بر تغییرات سیستم ایمنی

1. Winkler
2. Wiley
3. Broeder

4. Thompson
5. Echinacea
6. Connolly

7. Da Silva

جدول ۱. توصیف ویژگی های فردی آزمودنی ها در گروه های پژوهش

متغیرها	گروه تمرین - مکمل (میانگین \pm انحراف استاندارد)	گروه تمرین - دارونما (میانگین \pm انحراف استاندارد)
سن (سال)	۲۰/۱۶ \pm ۱/۶۶	۱۹/۶۰ \pm ۱/۷۸
وزن (کیلوگرم)	۷۶/۰۳ \pm ۸/۷۲	۷۹/۹۲ \pm ۶/۹۰
قد (سانتی متر)	۱۷۶/۹۶ \pm ۶/۳۵	۱۷۸/۱۶ \pm ۵/۵۱

در هفته، عصر روزهای زوج هفته بین ساعت ۱۷ تا ۱۹ به اجرا درآمد و مشتمل بر تمرینات تناوبی، مقاومتی، سرعتی، پلايومتریک و بازی در گروه‌های کوچک بود. مدت زمان گرم کردن و سرد کردن در هر جلسه تمرین، به ترتیب ۱۵ و ۱۰ دقیقه در نظر گرفته شد. جزئیات برنامه تمرین آماده‌سازی ویژه فوتبال، در جدول شماره دو ارائه شده است. آستانه شدت تمرین در هر جلسه تمرین برای بازی ها در گروه کوچک، بر اساس تفاوت های فردی هر آزمودنی و براساس درک فشار تمرین (شاخص درک فشار بورگ) در محدوده، کمی سخت تا خیلی سخت (مقیاس ۱۴ تا ۱۷) تنظیم شد. در برنامه تمرین مقاومتی یک تکرار بیشینه (1RM) با استفاده از فرمول برزیسکی^۱ (۱۹۹۳) محاسبه شد. شرط استفاده از این روش آن است که در حداکثر تلاش، آزمودنی نتواند وزنه انتخاب شده را بیشتر از ۱۰ تکرار انجام دهد.

داوطلبان، اطلاعات و آگاهی‌های لازم درباره چگونگی انجام تحقیق و مراحل انجام آن، داده شد و از آن‌ها رضایت نامه کتبی برای حضور آگاهانه در پژوهش اخذ گردید. سپس طی یک هفته، همه آزمودنی ها با محیط و برنامه های اجرایی پژوهش آشنا شدند. به منظور کاهش اثر عوامل مداخله گر رژیم غذایی بر نتایج، از آزمودنی ها خواسته شد که رژیم غذایی خود را همانند دو ماه قبل از پژوهش ادامه و تا پایان پژوهش تغییر ندهند. همچنین از آن ها خواسته شد ۲۴ ساعت قبل از خون گیری اولیه و ثانویه، از ایجاد محدودیت کالری و یا دریافت کالری بیش از شرایط تغذیه ای طبیعی، خودداری کنند. تمامی مراحل پژوهش با توجه به ضوابط کمیته اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد و شناسه IR.U.M. REC.1401.126 برای آن اخذ گردید.

برنامه تمرین آماده‌سازی ویژه فوتبال، توسط محقق ساخته شد و برای هشت هفته، سه جلسه ۱۰۰ دقیقه‌ای

$$[\text{تعداد تکرار تا خستگی} \times (0.0278 - 1/0.278)] \div \text{وزن جابجا شده (کیلوگرم)} = \text{یک تکرار بیشینه}$$

رنگدانه آنتوسیانین، ویتامین C، ترکیبات ضد اکسایشی و آنتی اکسیدانی، گلوکز، ساکارز و گلی اگزلیک اسید^۲ موجود در زغال اخته؛ تا حدود زیادی مشابه مکمل استفاده شده است، تاثیر نیترات با دقت بیشتری مشخص می گردد (بنجامیم و دیگران، ۲۰۲۱).

اولین خونگیری ۲۴ ساعت پیش از مداخله برنامه آماده‌سازی فوتبال و دومین خونگیری ۴۸ ساعت پس از مداخله آخرین جلسه تمرین برنامه آماده‌سازی فوتبال، انجام شد. در هر بار بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی نمونه خونی به میزان ۱۰ میلی لیتر از ورید قدامی بازوی راست هر آزمودنی در وضعیت نشسته توسط کارشناس علوم آزمایشگاهی جمع آوری شد. نمونه خون پس از سانتریفیوژ کردن، و با استفاده از فایکول (با دانسیته ۱/۰۷۷) به یک لایه بالایی از پلاسما و به دنبال آن، یک لایه از PBMCs و یک قسمت پایین سلول‌های چند هسته‌ای (مانند نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها و اریتروسیت ها) جدا شد. نمونه خون

بر اساس نتایج پژوهش های مختلف، مصرف مکمل می‌تواند به دو صورت آب‌میوه طبیعی و یا پودرهای مکمل تجاری باشد که با در نظر گرفتن محدودیت‌های موجود و همچنین امکان بررسی دقیق میزان مواد موجود در مکمل، در این پژوهش از روش دوم مکمل دهی بهره گرفته شد (گونالان و دیگران، ۲۰۲۱). اثرات برجسته تر و پایدار مکمل‌های حاوی نیترات در رژیم غذایی، اغلب پس از مصرف یک قرص مکمل (دو تا سه ساعت قبل از تمرین) و دوز مؤثر بر عملکرد و سلامت، تقریباً در محدوده پنج تا نه میلی مول مشاهده شده است و این بهبود عملکرد، بدون هیچ گونه عوارض جانبی بوده است. در پژوهش حاضر، دو تا سه ساعت قبل از هر جلسه تمرین، ۵۰ گرم مکمل بتاولگاریس حاوی ۶/۱۳ میلی مول نیترات حل شده در نیم لیتر آب، برای هر بازیکن در نظر گرفته شد. همچنین از زغال اخته^۲ به عنوان دارونما استفاده گردید. با توجه به این که ترکیبات زیست فعال فنولیک، فلاونوئید،

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار مقادیر پروتئین های MFN1 و OPA1 گروه های تمرین-مکمل و تمرین-دارونما در دو مرحله پیش و پس از مداخله در جدول سه نشان داده شده است. بر اساس نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر، تغییرات (درون گروهی) مقادیر پروتئین MFN1 در گروه تمرین-مکمل ($p=0/001$) و تمرین-دارونما ($p=0/009$) افزایش معنی داری نشان داد و تغییران این متغیر بین گروه ها معنی دار بود ($p=0/01$). تغییر درون گروهی مقادیر پروتئین OPA1 در گروه تمرین-مکمل افزایش معنی دار نشان داد ($p=0/001$)، اما در گروه تمرین-دارونما معنی دار نبود ($p=0/72$).

بحث

یافته های مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته برنامه تمرین آماده سازی فوتبال به همراه مصرف مکمل بتاولگاریس، باعث افزایش معنی دار مقادیر پروتئین MFN1 می شود. به نظر می رسد جدای از تاثیر مثبت برنامه تمرین آماده سازی فوتبال؛ مصرف مکمل بتاولگاریس به همراه تمرین به عنوان عامل تسهیلی و کمک کننده، در افزایش پروتئین MFN1 موثر بوده است. هم چنین، هشت هفته برنامه تمرین آماده سازی فوتبال به همراه مصرف مکمل بتاولگاریس، باعث افزایش معنی دار مقادیر پروتئین OPA1 شد. این در حالی است که این تغییرات در گروه تمرین-دارونما معنی دار نبود. از آنجا که تغییرات بین گروهی مقادیر پروتئین OPA1 معنی دار شد، به نظر می رسد این معنی داری تنها نتیجه هم افزایی تعاملی تمرین و مصرف مکمل بتاولگاریس باشد.

نتایج پژوهش حاضر همسو با سایر نتایج بدست آمده (برادشاو و دیگران، ۲۰۲۱؛ لی و دیگران، ۲۰۲۲؛ محمدخانی و دیگران، ۲۰۲۱؛ بنجامیم و دیگران، ۲۰۲۱؛ مامفورد و دیگران، ۲۰۱۸؛ دی الیورا، ۲۰۲۱)، نشان داد که در گروه های تمرین، فارغ از وجود مکمل، بیان پروتئین MFN1 افزایش می یابد؛ اما افزایش مقادیر پروتئین OPA1 وابسته به مصرف مکمل بتاولگاریس است. اثر مثبت بهره گیری از مکمل ها برای بهبود، سرعت بخشی و افزایش سازگاری ها، و پیشرفت عملکرد ورزشی و بهبود وضعیت ایمنی، نیز همسو با نتایج مطالعه کلیفورد و دیگران (۲۰۱۷) است که نشان داده اند نیترات موجود در بتاولگاریس، می تواند با فعال کردن

همراه با ماده ضد انعقاد اتیلن دی آمین تتراسیتیک اسید^۱ (EDTA)، هپارین و سیترات، ترکیب شد و نمونه خون با سرعت ۳۵۰۰ دور در ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و پلاسما رویی جدا شد. سپس نمونه با نسبت مساوی با سالین بافر شده با فسفات^۲ (PBS) رقیق و با سرعت آهسته و قطره قطره به فایکول به نحوی که مخلوط نشوند، اضافه و با سرعت ۲۰۰۰ دور در ثانیه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت، لایه بافیکوت^۳ (PBMCs) و پلاکت و گلبول های قرمز و ... به طور کامل جدا شد. برای جداسازی سلول های تک هسته ای از بافیکوت، محلول برداشته شده به میزان برابر با PBS رقیق گردید و با سرعت ۱۸۰۰ دور در ثانیه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی خالی شد و سلول هایی که به کف لوله چسبیده بودند، مجدداً با PBS رقیق و شسته شدند. سلول ها برای استخراج پروتئین، به فریزر ۸۰- منتقل شدند. پس از خروج سلول ها از فریزر و به دمای مناسب رسیدن آن ها، به میزان مناسب با محلول لایزکننده بر طبق پروتکل، کاملاً مخلوط شدند و مداوم تکان داده شدند. بعد از ناپدید شدن کامل سلول ها و هموژن شدن محلول، آماده سانتریفیوژ شدند. سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در ثانیه به مدت هشت دقیقه انجام شد و مایع رویی برای انجام آزمون الیزا برداشته شد و به فریزر با دمای ۲۰- منتقل شد. از اینجا به بعد، پروتکل الیزا برای MFN1 و OPA1 به کار برده شد. محتوای پروتئین های میتوکندریایی با استفاده از الیزای ساندوچی بررسی شد (به^۴ و دیگران، ۲۰۲۱؛ اسکاینی^۵ و دیگران، ۲۰۲۲). برای بررسی این دو متغیر از کیت انسانی الیزای MFN1^۶ با شماره کاتالوگ E9663Hu و حساسیت ۰/۰۱۷ نانوگرم بر میلی لیتر؛ و کیت الیزای OPA1^۷ با شماره کاتالوگ E9664Hu و حساسیت ۰/۰۲۷ نانوگرم بر میلی لیتر، ساخت لابراتوار تکنولوژی سنجش زیستی^۸ کشور چین، استفاده شد. در پایان داده ها در محیط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ وارد و تجزیه و تحلیل شدند. با استفاده از آزمون های شاپیرو-ویلک^۹ و لون^{۱۰}، به ترتیب طبیعی بودن داده ها و همگن بودن واریانس ها تأیید شد. در ادامه از آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر^{۱۱} برای بررسی تفاوت واریانس درون گروهی و بین گروهی استفاده گردید و سطح معنی داری $p < 0/05$ برای آزمون آماری در نظر گرفته شد.

1. Ethylenediaminetetraacetic acid

2. Phosphate buffered saline

3. Bufficot layer

4. Ye

5. Scaini

6. MFN1 elisa kit: human mitofusin 1

7. Human optic atrophy1 elisa kit

8. Bioassay technology laboratory

9. Shapiro-Wilk

10. Levene

11. Repeated measure analysis of variance

جدول ۲. جزئیات برنامه تمرین آماده‌سازی ویژه فوتبال

تمرینات تناوبی، مقاومتی، سرعتی، پلايومتريك و بازی در گروه‌های کوچک			جلسات
سرد کردن	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	دویدن تناوبی	گرم کردن
	جلو پا با دستگاه، پشت پا با دستگاه، ددلیفت، پرس سینه، جلو و پشت بازو با سیم کش، همگی سه نوبت با هشت تا ۱۰ تکرار، ۶۰-۵۰ درصد 1RM	پنج تکرار دویدن ۲۰ ثانیه با ۶۴-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه*، استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	
سرد کردن	تمرین سرعتی (۱۴۰ متر)	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	گرم کردن
	دوی سرعت رو به عقب به صورت اریب (پابکس رو به عقب)، شش تکرار با ۶۴-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	بالاسینه دمبل، قفسه سینه دمبل، سرشانه هالتر، ددلیفت همگی سه نوبت با هشت تا ۱۰ تکرار، ۶۰-۵۵ درصد 1RM	
سرد کردن	تمرین پلايومتريك	بازی در گروه های کوچک (۴۰ دقیقه)	گرم کردن
	پرش روی باکس یا پله، پرش به طرفین (زیگزاگ)، پرش جانبی از مانع یا پله، لی با یک یک پا، دویدن بین موانع - هر حرکت ۱۰ تکرار، با ۶۴-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه	تمرین مشابه فوتبال با تعداد کمتر و زمین کوچکتر، انواع پاس، شوت، کنترل توپ، سایر مهارت‌ها و تاکتیک‌های بازی با ۷۷-۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه	
سرد کردن	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	دویدن تناوبی	گرم کردن
	جلو پا با دستگاه، پشت پا با دستگاه، ددلیفت، پرس سینه، جلو و پشت بازو با سیم کش، همگی سه نوبت با هشت تا ۱۰ تکرار، ۶۹-۶۰ درصد 1RM	پنج تکرار دویدن ۲۰ ثانیه با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه، استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	
سرد کردن	تمرین سرعتی (۱۴۰ متر)	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	گرم کردن
	دوی سرعت رو به عقب به صورت اریب (پابکس رو به عقب)، شش تکرار با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	بالاسینه دمبل، قفسه سینه دمبل، سرشانه هالتر، ددلیفت همگی سه نوبت با هشت تا ۱۰ تکرار، ۶۹-۶۰ درصد 1RM	
سرد کردن	تمرین پلايومتريك	بازی در گروه های کوچک (۴۰ دقیقه)	گرم کردن
	پرش روی باکس یا پله، پرش به طرفین (زیگزاگ)، پرش جانبی از مانع یا پله، لی با یک یک پا، دویدن بین موانع؛ هر حرکت ۱۰ تکرار با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه	تمرین مشابه فوتبال با تعداد کمتر و زمین کوچکتر، انواع پاس، شوت، کنترل توپ، سایر مهارت‌ها و تاکتیک‌های بازی با ۸۵-۹۰ درصد ضربان قلب بیشینه	
سرد کردن	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	دویدن تناوبی	گرم کردن
	جلو پا با دستگاه، پشت پا با دستگاه، ددلیفت، پرس سینه، جلو و پشت بازو با سیم کش، همگی سه نوبت با ۱۰ تا ۱۲ تکرار، ۶۹-۶۰ درصد 1RM	پنج تکرار دویدن ۲۵ ثانیه با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه، استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	
سرد کردن	تمرین سرعتی (۱۴۰ متر)	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)	گرم کردن
	دوی سرعت رو به عقب به صورت اریب (پابکس رو به عقب)، هشت تکرار با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار	بالاسینه دمبل، قفسه سینه دمبل، سرشانه هالتر، ددلیفت همگی سه نوبت با ۱۰ تا ۱۲ تکرار، ۶۹-۶۰ درصد 1RM	

ادامه جدول ۲. جزئیات برنامه تمرین آماده‌سازی ویژه فوتبال

سرد کردن	تمرین پلائیومتریک		گرم کردن	۱۷-۱۸
	بازی در گروه های کوچک (۴۰ دقیقه)	تمرین مشابه فوتبال با تعداد کمتر و زمین کوچک‌تر، انواع پاس، شوت، کنترل توپ، سایر مهارت‌ها و تاکتیک‌های بازی با ۹۰-۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه		
سرد کردن	تمرین مقاومتی (۶۰ دقیقه)		گرم کردن	۱۹-۲۰
	دویدن تناوبی	هفت تکرار دویدن ۲۰ ثانیه با ۷۶-۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه، استراحت حداکثر دو دقیقه ای بین هر تکرار		
سرد کردن	تمرین سرعتی (۱۴۰ متر)		گرم کردن	۲۱-۲۲
	دوی سرعت رو به عقب به صورت ارب (پابکس رو به عقب)،	بالاسینه دمبل، قفسه سینه دمبل، سرشانه هالتر، ددلیفت همگی سه نوبت با ۱۲ تا ۱۴ تکرار، ۶۹-۶۰ درصد 1RM		
سرد کردن	تمرین پلائیومتریک		گرم کردن	۲۳-۲۴
	بازی در گروه های کوچک (۴۰ دقیقه)	تمرین مشابه فوتبال با تعداد کمتر و زمین کوچک‌تر، انواع پاس، شوت، کنترل توپ، سایر مهارت‌ها و تاکتیک‌های بازی با ۹۰-۸۵ درصد ضربان قلب بیشینه		

* ضربان قلب بیشینه از تفریق سن از عدد ثابت ۲۲۰ بدست آمد.

جدول ۳. توصیف و مقایسه (نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری مکرر) متغیرهای وابسته

متغیرها	گروه ها	مرحله	میانگین ± انحراف معیار	تغییرات	
				درون گروه	بین گروه
				F (p-value)	F (p-value)
محتوای MFN1 (نانوگرم/مول)	تمرین-مکمل	قبل از مداخله	۱/۶۶ ± ۰/۹۳	۶/۳۷ (۰/۰۱*)	۲۳/۸۲ (۰/۰۰۱*)
		بعد از مداخله	۲/۹۷ ± ۱/۳۶		
	تمرین-دارونما	قبل از مداخله	۱/۸۷ ± ۱/۱۱	۹/۰۲ (۰/۰۰۹*)	
		بعد از مداخله	۲/۳۸ ± ۱/۰۴		
محتوای OPA1 (نانوگرم/مول)	تمرین-مکمل	قبل از مداخله	۵/۳۵ ± ۱/۴۱	۳۴/۱۵ (۰/۰۰۱*)	۳۸/۳۵ (۰/۰۰۱*)
		بعد از مداخله	۸/۵۷ ± ۲/۱۰		
	تمرین-دارونما	قبل از مداخله	۳/۶۳ ± ۱/۸۹	۰/۱۳ (۰/۷۲)	
		بعد از مداخله	۳/۵۵ ± ۱/۸۹		

* سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

به نظر می‌آید در فعالیت‌های ورزشی شدید، مقاومت سیستم ایمنی بدن کاهش می‌یابد و به عنوان نمونه، فعالیت ورزشی شدید یک عامل مستعدکننده برای عفونت مجاری تنفسی فوقانی (URTI) محسوب می‌شود؛ اما مشخص

مسیر پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK) و پروتئین گیرنده فعال کننده تکثیر پراکسی زوم گاما هم فعال ساز ۱-آلفا^۲ (PGC-1α)، در سازگاری میتوکندری موثر باشد.

1. AMP-activated protein kinase

2. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

تایید کرد که مکمل‌دهی بتاولگاریس به مدت شش روز، اکسیژن مصرفی ۳۰ دقیقه رکاب زدن را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، دوچرخه‌سواران توانستند بلافاصله پس از فعالیت زیربیشینه، عملکرد ۱۰ کیلومتر تایم تریل خود را بهبود بخشند (مامفورد و دیگران، ۲۰۱۸). در همین راستا، نشان داده شده است که ورزش کوتاه مدت، بیان ژن‌ها در PBMCs (رادوم آیزیک^۳ و دیگران، ۲۰۰۹)، در نوتروفیل‌ها (رادوم آیزیک و دیگران، ۲۰۰۸) و در microRNA نوتروفیل‌ها (رادوم آیزیک و دیگران، ۲۰۱۰)، به صورت متعادل تغییر می‌دهد. همچنین، منشی‌کووا^۴ و دیگران (۲۰۰۶) به بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر محتوای میتوکندریایی در عضلات اسکلتی زنان و مردان میانسال پرداخته و گزارش کرده‌اند که میتوکندری عضلات اسکلتی به دنبال افزایش سن، دچار افت عملکرد می‌شوند؛ اما فعالیت‌های ورزشی مختلف با تأثیر بر عوامل توسعه دهنده غشای داخلی و خارجی میتوکندری، عملکرد و ظرفیت میتوکندری‌های عضلات اسکلتی را افزایش می‌دهد. به اعتقاد این محققین، افزایش میتوکندری، با بهبود در عملکرد ورزش استقامتی همراه است و تراکم میتوکندری، تعداد و فعالیت آنزیمی آن در پاسخ به فعالیت‌های هوازی، توسعه پیدا می‌کند.

از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به فراهم نبودن شرایط و زمینه بررسی فعالیت گیرنده های MFN1 و OPA1 در سطح سلولی، عدم کنترل دقیق فعالیت‌های خارج از پژوهش، و نداشتن کنترل دقیق بر میزان کیفیت خواب و غذای شرکت‌کنندگان اشاره کرد. به نظر می‌رسد مطالعات آتی باید با کنترل عوامل مداخله‌گر از جمله میزان نیترات دریافتی از رژیم غذایی و همچنین ارزیابی دیگر شاخص‌های زیست‌شیمیایی مانند NO گردش، قبل و بعد از مکمل‌دهی بتاولگاریس؛ به بررسی اثربخشی این مکمل بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و عملکردی ورزشکاران پردازند.

نتیجه‌گیری: این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین آماده‌سازی ویژه فوتبال و مصرف مکمل بتاولگاریس با افزایش بیان پروتئین‌های OPA1 و MFN1 می‌توانند از ایجاد اختلال در فرآیند بایوژنیز میتوکندریایی جلوگیری و از طریق تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا؛ به حفاظت از اجزای سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو کمک کنند.

تعارض منافع

در این مقاله هیچگونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکترای فیزیولوژی ورزشی

شده است که با سازگاری‌های ایجاد شده در طول زمان و ادامه مستمر تمرینات، سیستم ایمنی بر این حالت فائق می‌آید. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که در افراد سالم، با وجود این که ژن‌های پیش‌التهابی و مسیرهای ژنی توسط ورزش کنترل افزایشی می‌شوند، اما پاسخ التهابی توسط ژن‌های ضدالتهابی متعادل می‌گردد (بوکریس^۱ و دیگران، ۲۰۲۱). این سازوکار دقیق تضمین می‌کند که به هنگام انجام بازی یا ورزش شدید، فرآیندهای التهابی مرتبط با ورزش مانند: آنافیلاکسی^۲ وابسته به ورزش (ادم حنجره، یا اسپاسم برونش‌ها ناشی از ورزش و زجر تنفسی) برای کودک یا بزرگسال رخ ندهد. همچنین بر اثر سازگاری، توانایی تنفسی میتوکندری عضله اسکلتی و قلبی بهبود می‌یابد و تنظیم مناسبی از چرخه زندگی میتوکندری ایجاد می‌شود (وانگ و دیگران، ۲۰۲۱). در حقیقت، در پی آسیب میتوکندری‌ها در اثر استرس‌های گوناگون (مانند ورزش)، یک سلول برای حفظ حیات خود دست به دو اقدام مختلف اما همسو، یعنی زدودن میتوکندری‌های آسیب دیده از طریق میتوفاژی و افزایش تولید میتوکندری‌های جدید از طریق بایوژنیز، دست می‌زند و شرایط مساعد را بوجود می‌آورد.

در یک نتیجه‌گیری کلی با مقایسه تغییرات افزایشی بیان پروتئین MFN1 در هر دو گروه مصرف مکمل بتاولگاریس و دارونما، می‌توان نتیجه گرفت که مصرف مکمل بتاولگاریس و تمرین فوتبال، هر دو موجب افزایش بیان پروتئین MFN1 می‌شوند؛ اما تمرین فوتبال به تنهایی و بدون مصرف مکمل، اثری بر بیان OPA1 ندارد. در این ارتباط با قبول این یافته که افزایش تعداد میتوکندری از پارامترهای فیزیولوژیکی است که می‌تواند به بهبود شرایط آستانه بی‌هوازی کمک کند (فرارا و دیگران، ۲۰۲۱)؛ به نظر می‌رسد مصرف مکمل بتاولگاریس می‌تواند سبب افزایش بایوژنیز میتوکندریایی و بهبود عملکرد آن شود. با قبول این فرض، به نظر می‌رسد مکمل‌دهی طولانی‌مدت بتاولگاریس به همراه تمرین به عنوان یک سازگاری، سبب کاهش مصرف اکسیژن در شدت آستانه بی‌هوازی شود. هم‌راستا با پژوهش حاضر، چندین مطالعه نیز اثر مکمل‌های بتاولگاریس را به عنوان یک رویکرد موثر برای افزایش عملکرد ورزشی، تایید کرده‌اند (کنلی و دیگران، ۲۰۰۴؛ وینکلر و دیگران، ۲۰۰۵؛ ویلی و دیگران، ۲۰۱۴). یک وعده مصرف نوشیدنی حاوی بتاولگاریس به مدت پنج روز توانست به هنگام انجام تمرین با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی؛ سه درصد از اکسیژن مصرفی ورزشکاران تمرین کرده بکاهد (بنجامیم و دیگران، ۲۰۲۱). مطالعه دیگری در دوچرخه‌سواران تمرین کرده

1. Boukhris

3. Radom-Aizik

2. Anaphylaxis

4. Menshikova

است این رساله با کد ۴۹۶۱۱ به تائید و حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد ثبت شده است. بدین وسیله از تمامی شرکت کنندگان در پژوهش و همه عزیزانی که در دانشکده علوم ورزشی دانشگاه فردوسی مشهد و باشگاه های ورزشی شیراز، ما را در این مسیر یاری رساندند؛ کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

- Benjamim, C.J.R., S Júnior, F.W., de Figueiredo, M.I.L.S., Benjamim, C.J.R., Cavalcante, T.C.F., da Silva, A.A.M., ... & Valenti, V.E. (2021). Beetroot (*beta vulgaris* L.) extract acutely improves heart rate variability recovery following strength exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial-pilot study. *Journal of the American College of Nutrition*, 40(4), 307-316. <http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2020.1774441>
- Boukhris, O., Trabelsi, K., Ammar, A., Hsouna, H., Abdessalem, R., Altmann, S., ... & Chtourou, H. (2023). Performance, muscle damage, and inflammatory responses to repeated high-intensity exercise following a 40-min nap. *Research in Sports Medicine*, 31(4), 398-415. <http://dx.doi.org/10.1080/15438627.2021.1988951>
- Bradshaw, A.V., Campbell, P., Schapira, A.H., Morris, H.R., & Taanman, J.W. (2021). The PINK1—Parkin mitophagy signalling pathway is not functional in peripheral blood mononuclear cells. *PLoS One*, 16(11), e0259903. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.02.12.945469>
- Broeder, C.E., Flores, V., Julian, B., Wojan, F., Tauber, R., Schubert, L., ... & Ivy, J.L. (2021). Nitric oxide enhancement supplement containing beet nitrite and nitrate benefits high intensity cycle interval training. *Current Research in Physiology*, 4, 183-191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crphys.2021.07.002>
- Brzycki, M. (1993). Strength predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *Journal of Physical Education, Recreation and Dance*, 64(1), 88-90. <http://dx.doi.org/10.1080/07303084.1993.10606684>
- Chastin, S.F., Abaraogu, U., Bourgois, J.G., Dall, P.M., Darnborough, J., Duncan, E., ... & Hamer, M. (2021). Effects of regular physical activity on the immune system, vaccination and risk of community-acquired infectious disease in the general population: systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 51(8), 1673-1686. <http://dx.doi.org/10.1007/s40279-021-01466-1>
- Clifford, T., Constantinou, C.M., Keane, K.M., West, D.J., Howatson, G., & Stevenson, E.J. (2017). The plasma bioavailability of nitrate and betanin from *Beta vulgaris rubra* in humans. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 1245-1254. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-016-1173-5>
- Connolly, P.H., Caiozzo, V.J., Zaldivar, F., Nemet, D., Larson, J., Hung, S.P., ... & Cooper, D.M. (2004). Effects of exercise on gene expression in human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Applied Physiology*, 97(4), 1461-1469. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00316.2004>
- Da Silveira, M.P., da Silva Fagundes, K.K., Bizuti, M.R., Starck, É., Rossi, R.C., & de Resende E Silva, D.T. (2021). Physical exercise as a tool to help the immune system against COVID-19: an integrative review of the current literature. *Clinical and Experimental Medicine*, 21(1), 15-28. <http://dx.doi.org/10.1007/s10238-020-00650-3>
- De Oliveira, S.P.A., do Nascimento, H.M.A., Sampaio, K.B., & de Souza, E.L. (2021). A review on bioactive compounds of beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) with special emphasis on their beneficial effects on gut microbiota and gastrointestinal health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2022-2033. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2020.1768510>

- Ferrara, L., Joksimovic, M., & D'Angelo, S. (2021). Modulation of mitochondrial biogenesis: Action of physical activity and phytochemicals. *Journal of Physical Education and Sport*, 21(1), 425-433. <http://dx.doi.org/10.7752/jpes.2021.01042>.
- Günalan, E., Cebioglu, i.K., & Çonak, Ö. (2021). The popularity of the biologically-based therapies during coronavirus pandemic among the google users in the USA, UK, Germany, Italy and France. *Complementary Therapies in Medicine*, 58, 102682. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102682>
- Lee, T.T., Huang, C.C., Shieh, X.H., Chen, C.L., Chen, L.J., & Yu, B.I. (2010). Flavonoid, phenol and polysaccharide contents of *Echinacea purpurea* L. and its immunostimulant capacity in vitro. *International Journal of Environmental Science and Development*, 1(1), 5. <http://dx.doi.org/10.7763/ijesd.2010.v1.2>
- Li, L., Cai, D., Zhong, H., Liu, F., Jiang, Q., Liang, J., ... & Ke, L. (2022). Mitochondrial dynamics and biogenesis indicators may serve as potential biomarkers for diagnosis of myasthenia gravis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 23(4), 1-11. <http://dx.doi.org/10.3892/etm.2022.11236>
- Menshikova, E.V., Ritov, V.B., Fairfull, L., Ferrell, R.E., Kelley, D.E., & Goodpaster, B.H. (2006). Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(6), 534-540. <http://dx.doi.org/10.1093/gerona/61.6.534>
- Mohammadkhani, P.G., Irandoust, K., Taheri, M., Mirmoezzi, M., & Baic, M. (2021). Effects of eight weeks of aerobic exercise and taking caraway supplement on C-reactive protein and sleep quality in obese women. *Biological Rhythm Research*, 52(2), 218-226. <http://dx.doi.org/10.1080/09291016.2019.1587837>
- Mumford, P.W., Kephart, W.C., Romero, M.A., Haun, C.T., Mobley, C.B., Osburn, S.C., ... & Young, K.C. (2018). Effect of 1-week betalain-rich beetroot concentrate supplementation on cycling performance and select physiological parameters. *European Journal of Applied Physiology*, 118(11), 2465-2476. <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-018-3973-1>
- Radom-Aizik, S., Zaldivar Jr, F., Leu, S.Y., & Cooper, D.M. (2009). A brief bout of exercise alters gene expression and distinct gene pathways in peripheral blood mononuclear cells of early-and late-pubertal females. *Journal of Applied Physiology*, 107(1), 168-175. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00121.2009>
- Radom-Aizik, S., Zaldivar Jr, F., Leu, S.Y., Galassetti, P., & Cooper, D.M. (2008). Effects of 30 min of aerobic exercise on gene expression in human neutrophils. *Journal of Applied Physiology*, 104(1), 236-243. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.00872.2007>
- Radom-Aizik, S., Zaldivar Jr, F., Oliver, S., Galassetti, P., & Cooper, D.M. (2010). Evidence for microRNA involvement in exercise-associated neutrophil gene expression changes. *Journal of Applied Physiology*, 109(1), 252-261. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.01291.2009>
- Scaini, G., Mason, B.L., Diaz, A.P., Jha, M.K., Soares, J.C., Trivedi, M.H., & Quevedo, J. (2022). Dysregulation of mitochondrial dynamics, mitophagy and apoptosis in major depressive disorder: Does inflammation play a role?. *Molecular Psychiatry*, 27(2), 1095-1102. <http://dx.doi.org/10.1038/s41380-021-01312-w>
- Shaban, N.Z., El-Kader, A., Sara, E., Mogahed, F.A., El-Kersh, M.A., & Habashy, N.H. (2021). Synergistic protective effect of *Beta vulgaris* with meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced neurotoxicity in male rats. *Scientific Reports*, 11(1), 1-18. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-80669-4>
- Thompson, C., Vanhatalo, A., Jell, H., Fulford, J., Carter, J., Nyman, L., ... & Jones, A.M. (2016). Dietary nitrate supplementation improves sprint and high-intensity intermittent running performance. *Nitric Oxide*, 61, 55-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2016.10.006>

- Wang, C., Huang, D., Tian, W., & Zhu, S. (2021). Nitric oxide alleviates mitochondrial oxidative damage and maintains mitochondrial functions in peach fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 287, 110249. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110249>
- Wiley, L., Ashok, D., Martin-Ruiz, C., Talbot, D.C., Collerton, J., Kingston, A., ... & von Zglinicki, T. (2014). Reactive oxygen species production and mitochondrial dysfunction in white blood cells are not valid biomarkers of ageing in the very old. *Plos One*, 9(3), e91005. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0091005>
- Wink, D.A., Miranda, K.M., Espey, M.G., Pluta, R.M., Hewett, S.J., Colton, C., ... & Grisham, M.B. (2001). Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxidants and Redox Signaling*, 3(2), 203-213. <http://dx.doi.org/10.1089/152308601300185179>
- Winkler, C., Wirleitner, B., Schroecksnadel, K., Schennach, H., & Fuchs, D. (2005). In vitro effects of beet root juice on stimulated and unstimulated peripheral blood mononuclear cells. *American journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(4), 180-185. <http://dx.doi.org/10.3844/ajbbbsp.2005.180.185>
- Ye, Q., Zhou, C., Li, S., Wang, J., Liu, F., Liu, Z., ... & Fu, H. (2021). The immune cell landscape of peripheral blood mononuclear cells from PNS patients. *Scientific Reports*, 11(1), 1-9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-92573-6>