**Feyz Medical Sciences Journal**
**2024, Volume 28, Issue 4**
**Pages: 383-391**
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.4.383
**Original Article**

# The effect of eight weeks of endurance training on the levels of proteins related to mitophagy and mitochondrial dynamics in the left ventricle of aged rats

**Mahdi Marezloo [1], Neda Aghaei Bahmanbeglou [1*], Hamed Alizadeh Pahlavani [2], Habib Asgharpour [1]**

[1] Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
[2] Department of Physical Education, Farhangian University, Tehran, Iran

[*]**Corresponding author: Neda Aghaei Bahmanbeglou**, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
**Email**: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir

**Received:** 29 July 2024 **Revised:** 9 October 2024 **Accepted:** 9 October 2024

## Abstract

**Background and Aim:** Aging is associated with a gradual decline in cardiac function. Endurance training has been shown to positively impact heart health in the elderly. The aim of this study was to investigate the effects of eight weeks of endurance training on the levels of proteins associated with mitophagy and mitochondrial dynamics in the left ventricle of aged rats.

**Methods:** This experimental study involved 12 male rats, aged 20 months, with an average weight of 400 ± 30 grams. The rats were randomly assigned to either an endurance training group or a control group, with six rats in each group. The endurance training program consisted of sessions at 55-75% of maximum speed (m/min) each week. The maximum speed started at approximately 12 meters per minute in the first week and increased to about 33 meters per minute by the end of the eighth week. Following a 48-hour period after the last training session, the left ventricle was excised, and the levels of mitophagy-related proteins PINK1 and PARKIN were measured using the western blot method.

**Results:** Eight weeks of endurance training resulted in a significant increase in PINK1 protein levels in the left ventricle of elderly rats ($P = 0.005$). However, PARKIN protein levels did not show a significant change after the eight-week training period ($P = 0.227$).

**Conclusion:** The findings suggest that an eight-week endurance training program, conducted at an appropriate intensity, can enhance mitochondrial quality control in the left ventricle of aged rats. However, further research is warranted to explore this area more comprehensively.

**Keywords:** Endurance exercise, Mitophagy, Mitochondrial dynamics, Left ventricle.

Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۸، شماره ۴، مهر و آبان ۱۴۰۳
صفحات: ۳۹۱-۳۸۳
Doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.4.383
اصیل پژوهشی

# تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی و پویایی میتوکندری در بطن چپ رت‌های سالمند

مهدی مارزلو [۱]، ندا آقایی بهمن‌بگلو [۱*]، حامد علیزاده پهلوانی [۲]، حبیب اصغرپور [۱]

[۱] گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران
[۲] گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۵/۸ اصلاح مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۷/۱۸

## چکیده

**زمینه و هدف:** سالمندی با کاهش تدریجی عملکرد قلب همراه است. تمرین استقامتی بر سلامت قلب در افراد سالمند موثر است. هدف از مطالعه حاضر، تعیین تاثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی و پویایی میتوکندری در بطن چپ رت‌های سالمند بود.

**روش‌ها:** پژوهش تجربی حاضر با ۱۲ رت نر (۲۰ ماهه) با میانگین وزنی ۳۰±۴۰۰ گرم انجام شد. رت‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی و کنترل (هر گروه ۶ رت) تقسیم شدند. برنامه تمرین استقامتی با شدت ۵۵-۷۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) برای هر جلسه در هفته بود. حداکثر سرعت در هفته اول، حدود ۱۲ متر بر دقیقه بود و در پایان هفته هشتم، به حدود ۳۳ متر بر دقیقه رسید. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، بطن چپ قلب برداشته شد و سطح پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی و پویایی میتوکندری، PINK1 و PARKIN، با روش وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** هشت هفته تمرین استقامتی سبب افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین PINK1 در بطن چپ رت‌های سالمند شد (P=۰/۰۰۵)؛ در حالی که محتوای پروتیئن PARKIN تغییر معنی‌داری را بعد از هشت هفته تمرین استقامتی نشان نداد (P=۰/۲۲۷).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین استقامتی به مدت ۸ هفته با شدت مناسب می‌تواند کنترل کیفیت میتوکندری را در بطن چپ قلب رت‌های سالمند بهبود بخشد، البته نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری است.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین استقامتی، میتوفاژی، پویایی میتوکندری، بطن چپ.

*نویسنده مسئول: **ندا آقایی بهمن‌بگلو**. پست الکترونیک: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir
آدرس: گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

## مقدمه

سالمندی با کاهش تدریجی عملکرد قلب همراه است و اغلب با تغییرات پویایی میتوکندری و میتوفاژی مرتبط می‌باشد. پویایی میتوکندری و میتوفاژی، فرآیندهای مسئول در حفظ کیفیت و عملکرد میتوکندری هستند. میتوکندری‌ها نقش مهمی در تولید انرژی، متابولیسم سلولی و آپوپتوز دارند و عملکرد مناسب آنها برای سلامت قلب ضروری است. در موجودات سالمند، اختلال عملکرد میتوکندری می‌تواند منجر به افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال در متابولیسم انرژی و در نهایت منجر به ایجاد بیماری‌های قلبی شود [۱-۳].

میتوفاژی، تخریب انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده توسط فرآیند حیاتی اتوفاژی است، که به حفظ هموستاز میتوکندری کمک می‌کند. دو پروتئین کلیدی درگیر در میتوفاژی کیناز ناشی از PTEN (PTEN-induced kinase 1 (PINK1)) و PARKIN هستند. PINK1 یک سرین/ترئونین کیناز میتوکندری است که در غشای خارجی میتوکندری آسیب‌دیده تجمع می‌یابد، جایی که PARKIN، لیگاز یوبیکوئیتین E3 را جذب می‌کند. برهمکنش بین PINK1 و PARKIN منجر به یوبیکوئیتین‌شدن پروتئین‌های میتوکندری می‌شود و آنها را برای تخریب مشخص میکند و حذف آنها را از طریق مسیرهای اتوفاژیک تسهیل می‌نماید [۴]. این فرآیند برای جلوگیری از تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد بسیار مهم است، که می‌تواند آسیب سلولی را تشدید کند و به آسیب‌شناسی‌های مرتبط با سن کمک نماید [۵].

نشان داده شده که تمرین‌های استقامتی اثرات مفیدی بر سلامت قلب و عروق، به ویژه در جمعیت‌های مسن دارد. فعالیت بدنی منظم، بیوژنز میتوکندری را افزایش می‌دهد، عملکرد میتوکندری را بهبود می‌بخشد و بیان پروتئین‌های دخیل در پویایی میتوکندری و کنترل کیفیت را ارتقاء می‌دهد [۶]. به طور خاص، به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با تغییرات بیان PINK1 و PARKIN همراه است و نشان می‌دهد فعالیت‌های ورزشی ممکن است پاسخ میتوفاژیک را افزایش دهد و گردش میتوکندری را در بافت‌های پیر بهبود بخشد [۷].

بطن چپ قلب به‌طور ویژه در برابر اثرات سالمندی حساس است و جایگاه مهمی برای بررسی تأثیر تمرین‌های استقامتی بر پویایی میتوکندری می‌باشد [۸، ۹]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بطن چپ با افزایش سن، دچار تغییرات مورفولوژیکی و عملکردی قابل‌توجهی می‌شود که با هیپرتروفی، فیبروز و اختلال در انقباض مشخص می‌شود. این تغییرات اغلب با تغییرات در محتوا و عملکرد میتوکندری همراه است و بر اهمیت درک مکانیسم‌هایی تاکید می‌کند که می‌تواند سلامت میتوکندری را در این منطقه تنظیم نماید [۱۰،۱۱].

پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که تمرین‌های استقامتی می‌توانند برخی از اثرات نامطلوب سالمندی بر عملکرد قلب و پویایی میتوکندری را کاهش دهد. پژوهشی نشان داد که تمرین های ورزشی استقامتی در رت‌های سالمند منجر به افزایش نشانگرهای بیوژنز میتوکندری، از جمله PGC-1α به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی بیوژنز میتوکندری می‌شود [۱۲]. علاوه بر این، نشان داده شده، ورزش می‌تواند بیان پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی را افزایش دهد، یا به طور بالقوه گردش میتوکندری آسیب دیده را بهبود بخشد و سلامت کلی قلب را ارتقا دهد [۱۳].

علی‌رغم این یافته‌ها، درک محدودی از اثرات خاص تمرین استقامتی بر محتوای PINK1 و PARKIN در بطن چپ رت‌های سالمند وجود دارد. بررسی این اثرات بسیار مهم است، زیرا می‌تواند بینشی در مورد مکانیسم‌های مولکولی ارائه دهد که از طریق آن ورزش اثرات محافظتی خود را در قلب آزمودنی‌های سالمند اعمال می‌کند. درک تعامل بین تمرین‌های استقامتی، میتوفاژی و پویایی میتوکندری ممکن است مسیری را برای توسعه مداخلات هدفمند با هدف بهبود سلامت قلب در جمعیت‌های سالمند هموار کند. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای PINK1 و Parkin در بطن چپ رت‌های سالمند انجام شد.

## روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است. در این مطالعه، ۱۲ رت نر ۲۰ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰±۴۰۰ گرم خریداری شدند. معیار سالمندی رت، ۲۰ ماه و بالاتر در نظر گرفته شد. رت‌ها در آزمایشگاه مخصوص حیوانات آزمایشگاهی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. رت‌ها به صورت آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. ۱۲ رت سالمند ۲۰ ماهه به صورت تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی (۶ رت) و گروه کنترل (۶ رت) تقسیم شدند. گروه کنترل در طول انجام تحقیق هیچ‌گونه فعالیتی نداشت.

### برنامه‌های تمرینی

رت‌ها در گروه تمرین یک برنامه ۸ هفته‌ای و هر هفته ۵ جلسه دویدن بر روی تردمیل را اجرا کردند. در ابتدا رت‌ها به مدت یک هفته جهت کاهش و از بین بردن استرس با تردمیل مخصوص جوندگان آشنا شدند و سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه و مدت زمان ۵ دقیقه بود. رت‌ها در شروع و پایان هر جلسه تمرین اصلی با همین سرعت آشناسازی، گرم و سرد کردند.

قبل از شروع برنامه تمرین استقامتی، آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت بر روی گروه پایلوت (۵ رت) انجام گرفت که حدوداً یک هفته جلوتر از گروه تمرین اصلی برای تنظیم و کنترل سرعت بودند. این رت‌های گروه پایلوت با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی برسند. معیار خستگی رت‌ها چسبیدن به انتهای تردمیل بود. سرعتی که در آن، رت‌ها به خستگی رسیدند،

به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۱۴].

**برنامه تمرین استقامتی**

برنامه تمرین اصلی استقامتی با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر سرعت (متر بر دقیقه) برای هر جلسه در هفته بود. حداکثر سرعت در هفته اول با سرعتی حدود ۱۲ متر بر دقیقه شروع شد و در پایان هفته هشتم به سرعتی حدود ۳۳ متر بر دقیقه رسید. جزئیات برنامه تمرین استقامتی در جدول-۱ آمده است. این برنامه بر اساس برنامه تمرینی استفاده شده در مطالعه Deschenes و همکاران (۲۰۱۸) و سوری و همکاران (۲۰۱۹) طراحی شد [۱۵, ۱۶].

**جدول ۱.** برنامه تمرین استقامتی

| هفته | جلسه در هفته | مدت زمان (دقیقه) | شدت تمرین | حدود حداکثر سرعت (متر بر دقیقه) |
|---|---|---|---|---|
| اول | ۵ | ۸ | ۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر سرعت | ۱۲ |
| دوم | ۵ | ۱۱ | | ۱۵ |
| سوم | ۵ | ۱۴ | | ۱۸ |
| چهارم | ۵ | ۱۷ | | ۲۱ |
| پنجم | ۵ | ۲۰ | | ۲۴ |
| ششم | ۵ | ۲۳ | | ۲۷ |
| هفتم | ۵ | ۲۶ | | ۳۰ |
| هشتم | ۵ | ۲۹ | | ۳۳ |

**بافت‌برداری**

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و استرس، رتها در زمان اجرای برنامه تمرینی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ قلب برداشته و بعد از شستشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شد. نمونه‌های بافتی برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر ذخیره شد.

**روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات**

از روش وسترن‌بلات برای سنجش میزان پروتئین PINK1 و PARKIN در بافت بطن چپ قلب رت استفاده شد که شامل مراحل زیر بود:

**لیز کردن بافت:** برای لیز کردن بافت‌ها از Lysis buffer استفاده شد و نمونه‌ها در سانتریفیوژ مدل Eppendorph 5415 R در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شفاف (Supernatant) حاوی پروتئین استخراج و در فریزر منفی ۲۰ نگه‌داری شد.

**تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد:** برای ساخت محلول بردفورد، کوماسی بلو در الکل به مدت ۲۰ دقیقه حل گردید، سپس اسیدفسفوریک قطره‌قطره به آن اضافه شد. در ادامه آب را قطره‌قطره اضافه کرده تا محلول حاصل به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. محلول تهیه‌شده با کاغذ صافی دو بار صاف‌شده و در بطری تیره داخل یخچال نگهداری شد.

**تهیه غلظت‌های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد:** از BSA به عنوان پروتئین استاندارد برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۰/۱۵، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۱۲۵ از پروتئین استاندارد با افزودن نصف حجم آب به غلظت قبلی ساخته شد.

**آماده‌سازی نمونه:** نمونه‌های پروتئینی تهیه‌شده قبل از ریخته‌شدن در چاهک، هم غلظت‌شده و با بافر نمونه مخلوط و به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. این بافر موجب سنگین‌شدن، احیا و خطی‌شدن پروتئین‌ها می‌شود علاوه برآن، برموفنول بلو موجود در بافر مسیر حرکت پروتئین‌ها را در ژل نشان می‌دهد.

**ساخت الکتروفوژ بر روی ژل SDS page:** پلیمریزاسیون ژل با افزودن آمونیوم پرسولفات (APS) شروع شد و با اضافه‌کردن تترامتی‌اتیلن‌دی‌آمین (TEMED) موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد از APS گردید که این رادیکال‌ها باعث پلیمریزاسون می‌شود.

**روش انجام آزمایش و ساختن ژل پایین و بالا:** برای دورگیری ژل، ۱۰۰۰ میکرولیتر از ژل پایین کاملاً فاقد تمد را برداشته و به آن ۴ میکرولیتر تمد اضافه شد. سپس محلول حاصل به سرعت از گوشه‌هایی از فضای دو ژل ریخته شد، بعد از دورگیری ۱۵ دقیقه، فرصت داده شد تا کاملاً بگیرد و سپس محلول ژل کامل به همراه تمد را برداشته به‌وسیله سمپلر در فضایی بین دو شیشه ریخته به‌طوری که تا دوسوم شیشه‌ها پر شد. مقداری اتانول اشباع شده اسپری کرده تا مانع خشک شدن ژل شود و به علت سنگینی حاصل از آن سطح ژل صاف شد. حدود ۴۵ دقیقه برای پلیمریزاسیون ژل پایین لازم بود و در این مرحله ژل بالا ۵ درصد آماده شد.

**الکتروفوز بر ژل SDS page:** شیشه‌های حاوی ژل، درون تانک الکتروفوز قرار داده شدند. بافر الکتروفور اضافه گردید و سپس مارکر پروتئین رنگی (دارای پروتئین‌هایی با وزن مولکولی مشخص است که رنگی می‌باشد و از ژل به کاغذ منتقل می‌شود) به میزان ۲ میکرولیتر در چاهک اول و نمونه‌ها در سایر چاهک‌ها به میزان ۱۲ میکرولیتر توسط سرنگ همیلتون لود شد. الکترودها را به دستگاه مولد جریان وصل کرده و تا رسیدن پروتئین‌ها به ژل پایین، حدود ۴۵ دقیقه جریان با ولتاژ ۱۲۰ برقرار شد.

**وسترن بلات یا ایمنوبلاتینگ:** انتقال نمونه‌ها از ژل به کاغذ توسط جریان الکتریکی صورت گرفت. بعد از اتمام الکتروفوز، ژل به آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF به اندازه ژل، بریده شده و برای فعال شدن به‌مدت ۱ دقیقه در متانول شیک شد و با آب مقطر شسته شد و درون بافر

انتقال قرار گرفت. در حین قرار دادن کاغذ صافی روی کاغذ PVDF و کاغذ PVDF روی ژل، حباب‌های ایجادشده توسط حرکت آهسته اسپیسر روی کاغذ صافی خارج گردید. در نهایت دستگاه با ولتاژ ۱۲۰ میلی ولت به مدت ۱/۵ ساعت به منبع مولد جریان متصل شد و پروتئین‌های موجود در ژل به کاغذ منتقل گردید.

**مرحله بلاکینگ:** محلول بلاکینگ به منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیراختصاصی آنتی‌بادی اولیه به کار می‌رود.

**مرحله انکوبه کردن با آنتی‌بادی اولیه و ثانویه:** پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ، کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای که با محلول بلاکینگ به مقدار معین آنتی‌بادی اولیه بتا-اکتین (anti-β-Actin (C4) (sc-47778) مخلوط و رقیق شده، به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه گردید. سپس کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه با غلظت (۱:۱۰۰۰) برای تمام آنتی‌بادی‌های اولیه به مدت ۱ ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد.

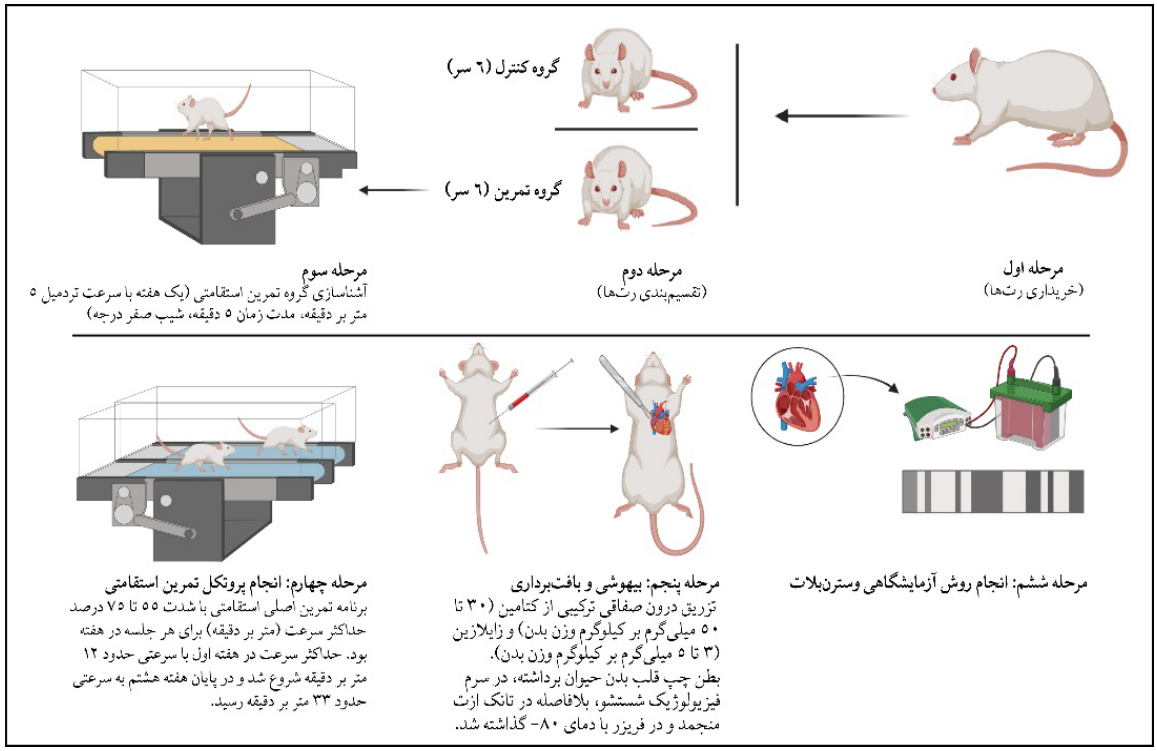
**مرحله آشکارسازی:** پس از شست‌وشوی نهایی، آب اضافی کاغذ PVDF روی سلفون قرار گرفت و محلول کمولومینسانس با سمپلر روی نواحی باند مورد نظر ریخته شد. کاغذ در سلفون گذاشته شد و درون کاست فیلم قرار داده شد. برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست بسته شد. مدت زمان باقی ماندن فیلم در کاست به نوع آنتی‌بادی و شدت نور دیده شده از باند پروتئینی بستگی داشت. در مورد آنتی‌بادی‌های anti-PINK1 (C-3) (sc-518052) ساخت شرکت Santa-Cruz و anti-PARKIN (D-1) (sc-133167) ساخت شرکت Santa-Cruz به مدت ۶۰ تا ۸۰ ثانیه و در مورد آنتی‌بادی بتا-اکتین، ۱۰ ثانیه زمان مناسبی بود. سپس در تشتک آب، فیلم را به مدت ۲۰ ثانیه شسته و بعد از آن به مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان داده شد. سپس مجدداً فیلم را با آب جاری شسته و با گیره آویزان کرده تا خشک شدند.

### محاسبات آماری

نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری شاپیرو-ویلک بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، داده‌های متغیرهای تحقیق حاضر از طریق آزمون‌های آماری t-مستقل تجزیه و تحلیل شدند. همچنین وزن رت‌ها از طریق آزمون t-وابسته تجزیه و تحلیل شد. بررسی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۹ و گراف‌پد پریسم نسخه ۱۰/۲/۳ انجام گرفت. اندازه اثر از طریق آزمون Choen'd بررسی شد. شکل-۱ از طریق نرم‌افزار ادوبی ایندیزاین نسخه ۲۰۲۳ و شکل-۲ از طریق نرم‌افزار گراف‌پد پریسم طراحی شد. سطح معناداری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### ملاحظات اخلاقی

تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه شیراز با کد مصوب IR.US.PSYEDU.REC.1403.040 ثبت شده در سامانه ملی کد اخلاق در نظر گرفته و اجرا شد.




**شکل ۱.** نمای شماتیک مراحل انجام کار

## نتایج

در جدول-۲ میزان وزن رت‌های سالمند گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی در هفته‌های اول و هشتم گزارش شده است. نتایج آزمون t-وابسته نشان داد وزن گروه کنترل در هفته هشتم نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری دارد (P=۰/۰۰۱). اما در گروه تمرین استقامتی تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین در هفته هشتم نسبت به هفته اول مشاهده نشد (P=۰/۶۲).

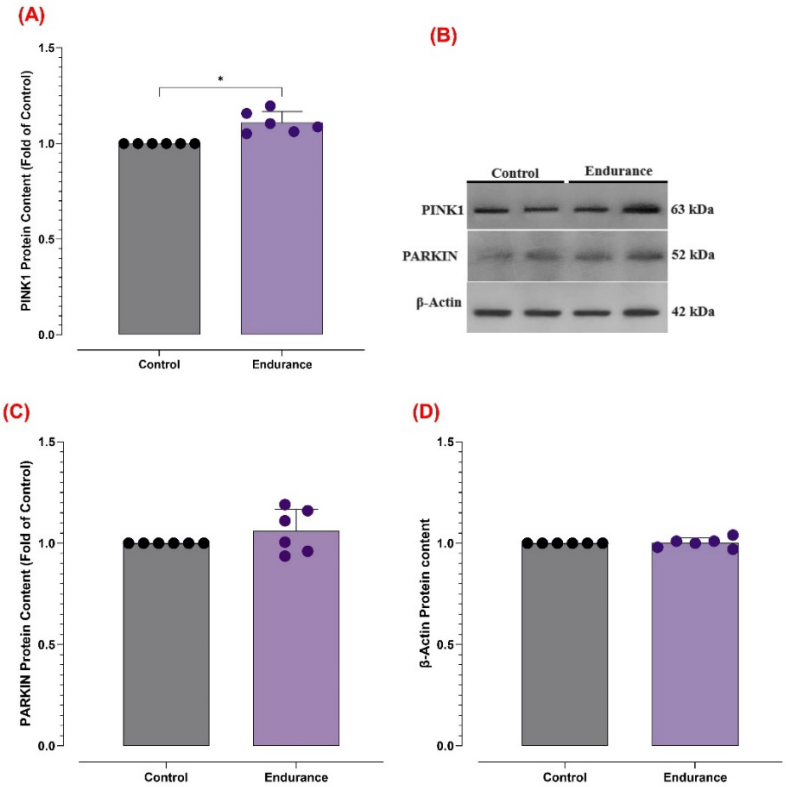
**جدول ۲.** تجزیه و تحلیل وزن (گرم) رت‌های سالمند

| وزن (گرم) | میانگین± انحراف استاندارد | مقدار T | P value |
|---|---|---|---|
| **کنترل** (هفته اول) | ۳۹۵/۸±۱۸ | ۶/۵۱ | ۰/۰۰۱ |
| **کنترل** (هفته هشتم) | ۴۴۵/۵±۵ | | |
| **تمرین** (هفته اول) | ۴۰۱/۵±۱۷ | ۰/۵۰ | ۰/۶۲ |
| **تمرین** (هفته هشتم) | ۴۰۶/۴±۱۶ | | |

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون t-مستقل نشان داد، مقدار t برای محتوای پروتئین PINK1، ۴/۷۴ است؛ و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود دارد (P=۰/۰۰۵) (شکل-۲، A و B). این نشان می‌دهد تمرین استقامتی بر میزان پروتئین PINK1 در بطن چپ رت‌های سالمند تاثیر معنی‌داری دارد و این تاثیر به صورت افزایش در محتوای گروه تمرین استقامتی نسبت به کنترل است (شکل-۲، A و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین PINK1، اثر قدرتمندی را نشان داد (Effect Sizes=۲/۷۳)؛ با توجه به اینکه اندازه اثر به دست آمده از مقادیر مرجع آزمون کوهن بیشتر است، می‌توان ذکر کرد که اندازه اثر ۲/۷۳، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری قابل‌توجهی بین گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل است و می‌توان نتیجه گرفت که انجام تمرین استقامتی تاثیر قابل‌توجهی بر محتوای پروتئین PINK1 داشته باشد (شکل-۲، A و B).

مقدار t برای محتوای پروتئین PARKIN، ۱/۳۷ است؛ و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد (P=۰/۲۲۷) (شکل-۲، C و B). این نشان می‌دهد انجام ۸ هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین PARKIN در بطن چپ رت‌های سالمند تاثیر معنی‌داری ندارد (شکل-۲، C و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین PARKIN، اثر متوسطی را نشان داد (Effect Sizes=۰/۷۹) (شکل-۲، C و B).

از طرفی دیگر مقدار t برای محتوای پروتئین بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخل سلولی، ۰/۱۶ است؛ و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد (P=۰/۸۷۶) (شکل ۲، D و B). این نشان می‌دهد انجام ۸ هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین بتا-اکتین در بطن چپ رت‌های سالمند تاثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲، D و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین بتا-اکتین، اثر ضعیفی را نشان داد (Effect Sizes=۰/۰۹) (شکل ۲، D و B).




**شکل ۲.** مقایسه محتوای پروتئین ها در گروه‌های تمرین استقامتی و کنترل در بطن چپ قلب.

A). نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین PINK1 در مقابل لودینگ کنترل. B). تصاویر وسترن‌بلات محتوای پروتئین‌ها و β-Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بطن چپ قلب. C). نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین PARKIN در مقابل لودینگ کنترل. D). نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین β-Actin در مقابل لودینگ کنترل. (*افزایش معنی‌دار بین گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل در سطح P=۰/۰۵)

## بحث

رابطه بین تمرین‌های استقامتی و بیان پروتئین‌های کلیدی درگیر در عملکرد میتوکندری و سلامت سلولی در تحقیقات اخیر کانون توجه بوده است. در این مطالعه، ما دریافتیم که تمرین‌های استقامتی به طور معنی داری میزان پروتئین PINK1 را در بطن چپ رت‌ها افزایش می‌دهد، در حالی که بر محتوای پروتئین PARKIN تأثیر نمی‌گذارد. این نتیجه‌گیری با دانش موجود در مورد نقش PINK1 و PARKIN در کنترل کیفیت میتوکندری و پیامدهای آنها برای سلامت قلب مطابقت دارد [۱۷].

پروتئین PINK1 یک سرین/ترئونین کیناز میتوکندری است که نقش مهمی در محافظت از سلول‌ها در برابر اختلال عملکرد میتوکندری ایفا می‌کند. این موضوع در فعال‌شدن PARKIN نقش دارد که میتوکندری‌های آسیب‌دیده را برای تخریب از طریق اتوفاژی برجسته می‌کند [۱۷]. افزایش سطح PINK1 مشاهده شده در گروه تمرین استقامتی نشان می‌دهد که تمرین ورزشی ممکن است توانایی قلب را برای پاسخ به استرس میتوکندری افزایش دهد، در نتیجه سلامت سلولی را ارتقاء می‌دهد و به طور بالقوه عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد. پژوهش‌های اخیر اهمیت PINK1 را در مدل‌های مختلف استرس قلبی نشان داده‌اند. به عنوان مثال، پژوهشی توسط Siddall و همکاران نشان داد که کمبود PINK1 آسیب قلبی را در مدل‌های ایسکمی–پرفیوژن مجدد تشدید می‌کند، که نشان می‌دهد PINK1 برای محافظت از بافت قلب تحت استرس بسیار مهم است [۱۸]. یافته‌های ما این درک را با نشان دادن اینکه تمرین استقامتی می‌تواند محتوای PINK1 را افزایش دهد، تائید می‌کند؛ و نشان دهنده این است که فعالیت‌های ورزشی هوازی منظم ممکن است بتواند با افزایش مکانیسم‌های کنترل کیفیت میتوکندری، به عنوان یک عامل محافظتی در برابر اختلال عملکرد قلبی عمل کند.

در مقابل، مطالعه ما هیچ تغییر قابل‌توجهی در محتوای پروتئین PARKIN پس از ۸ هفته تمرین استقامتی نشان نداد. این یافته نکاتی را در مورد مکانیسم‌های تنظیمی حاکم بر PINK1 و PARKIN در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی ایجاد می‌کند؛ در حالی که PINK1 به عنوان فعال‌کننده PARKIN شناخته‌شده است، عدم افزایش متناظر در محتوای درون سلولی PARKIN نشان می‌دهد که تمرین استقامتی ممکن است مستقیماً بر بیان PARKIN تأثیر نداشته باشد یا مکانیسم‌های تنظیمی دیگر ممکن است وارد عمل شوند. تحقیقات نشان داده‌اند که فعال شدن PARKIN تنها به سطح بیان آن بستگی ندارد، بلکه به فسفوریلاسیون و انتقال بعدی آن به میتوکندری آسیب دیده نیز بستگی دارد [۱۹]. ممکن است در حالی که تمرین استقامتی باعث افزایش سطح PINK1 می‌شود، لزوماً منجر به افزایش بیان PARKIN نشود، بلکه فعال‌شدن آن را در پاسخ به استرس میتوکندری تسهیل کند. این تفسیر با یافته‌های سایر پژوهش‌هایی که اختلافات مشابهی را بین سطوح PINK1 و PARKIN در مدل‌های مختلف استرس گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد [۱۹–۲۱].

نتایج این مطالعه را می‌توان در چارچوب تحقیقات موجود در مورد تمرین ورزشی، پویایی میتوکندری و سلامت قلب قرار داد. به عنوان مثال، بررسی توسط Lochmann و همکاران اثرات مفید تمرین استقامتی بر بیوژنز و عملکرد میتوکندری را برجسته کرد و بر نقش PGC-1α، به عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی بیوژنز میتوکندری، در میانجیگری این اثرات تاکید نمود [۲۲]. در حالی که مطالعه ما سطوح PGC-1α را مستقیماً اندازه‌گیری نکرد، اما افزایش PINK1 یک ارتباط بالقوه بین تمرینات استقامتی و کنترل کیفیت میتوکندری بهبود یافته را نشان می‌دهد که می‌تواند توسط مسیرهای PGC-1α تنظیم شود.

علاوه بر این، یافته‌های مربوط به PARKIN با مطالعاتی که پاسخ‌های آن را به انواع مختلف عوامل استرس‌زا نشان داده‌اند، مطابقت دارد. به‌عنوان مثال، در پژوهشی Ju و همکاران دریافتند که سطوح PARKIN در پاسخ به تمرین ورزشی (۵ جلسه شنای روزانه ۱ ساعته در هفته به مدت ۸ هفته) در رت‌ها تغییر نمی‌کند، که نشان می‌دهد تنظیم PARKIN ممکن است پیچیده‌تر از آنچه قبلاً درک شده است، باشد [۲۳]. این پیچیدگی نیاز به تحقیقات بیشتر را برای روشن شدن مکانیسم‌های دقیق تمرین استقامتی بر پویایی میتوکندری در بافت‌های قلب تأکید می‌کند.

یافته‌های این مطالعه پیامدهای مهمی برای تحقیقات آینده دارد. اولاً، افزایش قابل‌توجه محتوای PINK1 نشان می‌دهد که پژوهش‌های بیشتر برای بررسی اثرات پایین‌دستی این افزایش بر عملکرد میتوکندری و سلامت کلی قلب ضروری است. از این رو، پژوهش‌های آینده می‌توانند پیامدهای عملکردی افزایش سطح PINK1 مانند میزان تنفس میتوکندری، تولید ATP و عملکرد کلی قلب در پاسخ به تمرین‌های استقامتی را بررسی کنند. ثانیاً، عدم تأثیر بر سطوح PARKIN نشان می‌دهد که محققان باید مکانیسم‌های نظارتی حاکم بر فعال‌سازی PARKIN را جدا از بیان آن در نظر بگیرند. بررسی تغییرات پس از ترجمه PARKIN و رابطه آنها با تمرین‌های ورزشی می‌تواند بینش‌های ارزشمندی در مورد اینکه چگونه تمرین استقامتی بر کنترل کیفیت میتوکندری تأثیر می‌گذارد، ارائه دهد. در نهایت، ارزیابی اثرات طولانی‌مدت تمرین استقامتی بر سطوح PINK1 و PARKIN و همچنین پیامدهای عملکردی آنها در مدل‌های رت‌های سالمند یا در زمینه بیماری‌های قلبی عروقی مفید خواهد بود. درک اینکه چگونه این پروتئین‌ها به مداخلات ورزشی مزمن پاسخ می‌دهند می‌تواند استراتژی‌هایی را برای ارتقای سلامت قلب از طریق اصلاح سبک زندگی ارائه دهد.

در ارتباط با پویایی میتوکندری، مسیرها و پروتئین‌های بسیاری درگیر هستند و اندازه‌گیری محتوای پروتئین‌های PINK1 و PARKIN به تنهایی نمی‌تواند بازگوکننده مسیرهای سلولی

بزرگی مانند میتوفاژی و داینامیک یا پویایی باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود دیگر مسیرها و پروتئین‌ها مانند مسیرهای مرتبط با پروتئین‌های OPA1، DRP1، MFN1/2 و غیره نیز بررسی گردد؛ همچنین تقاطع این مسیرها می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. از طرفی دیگر در مطالعه حاضر محتوای پروتئین‌ها از طریق روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات سنجیده شد و پیشنهاد می‌گردد محققان علاوه بر این روش، روش‌های دیگر مانند تکنیک Real-Time PCR برای سنجش بیان ژن، رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی در بافت قلب و الایزا در خون را نیز مورد بررسی قرار دهند که در مطالعه حاضر به دلیل کمبود منابع انجام نشده است.

## نتیجه‌گیری

این مطالعه به شواهد فزاینده‌ای کمک می‌کند که نشان می‌دهد تمرینات استقامتی بر پویایی میتوکندری در بافت‌های قلبی، به‌ویژه از طریق افزایش سطح پروتئین PINK1 تأثیر مثبتی دارد. در حالی که سطوح پروتئین PARKIN تغییر معنی‌داری را نشان نداد، این یافته‌ها نشان می‌دهد که یک تعامل پیچیده بین این دو پروتئین وجود دارد و انجام تحقیقات بیشتر را ایجاب می‌کند. به‌طور کلی، نتایج بر اهمیت تمرین استقامتی به عنوان یک استراتژی درمانی بالقوه برای افزایش عملکرد میتوکندری و ارتقای سلامت قلب تاکید می‌کند.

**تشکر و قدردانی:** این مطالعه حاصل رساله دکترا ثبت شده در تاریخ ۱۴۰۲/۱۰/۲۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول است. تمام هزینه‌ها بعهده نویسندگان بوده است. از همه افرادی که در به انجام رساندن این پژوهش ما را یاری کردند کمال تشکر را داریم.

**نقش نویسندگان:** همه نویسندگان در کارهای اجرایی، فنی و نگارش مقاله حاضر سهیم بوده‌اند و داده‌های مطالعه حاضر را تایید می‌کنند و با ارسال به مجلات علمی پژوهشی موافقت خود را اعلام نموده‌اند.

**تضاد منافع:** نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

## منابع

1. Alizadeh Pahlavani H, Laher I, Knechtle B, Zouhal H. Exercise and mitochondrial mechanisms in patients with sarcopenia. Front Physiol. 2022. 13: 1040381. doi:10.3389/fphys.2022.1040381
2. Alizadeh Pahlavani H. Exercise therapy for people with sarcopenic obesity: myokines and adipokines as effective actors. Front Endocrinol. 2022. 13: 811751. doi:10.3389/fendo.2022.811751
3. Pahlavani HA. Exercise-induced signaling pathways to counteracting cardiac apoptotic processes. Front Cell Dev Biol. 2022. 10: 950927. doi:10.3389/fcell.2022.950927
4. McLelland GL, Soubannier V, Chen CX, McBride HM, Fon EA. Parkin and PINK 1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control. EMBO J. 2014. 33(4): 282-95. doi:10.1002/embj.201385902
5. Kitagishi Y, Nakano N, Ogino M, Ichimura M, Minami A, Matsuda S. PINK1 signaling in mitochondrial homeostasis and in aging. Int J Mol Med. 2017. 39(1): 3-8. doi:10.3892/ijmm.2016.2827
6. Moreira OC, Estébanez B, Martínez-Florez S, Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. Mitochondrial function and mitophagy in the elderly: effects of exercise. Oxidative Med Cell Longevity. 2017; 2017(1): 2012798. doi:10.1155/2017/2012798
7. Li H, Qin S, Liang Q, Xi Y, Bo W, Cai M. Exercise training enhances myocardial mitophagy and improves cardiac function via Irisin/FNDC5-PINK1/Parkin pathway in MI mice. Biomedicines. 2021; 9(6): 701. doi:10.3390/biomedicines9060701
8. Pahlavani HA, Rajabi H, Nabiuni M, Motamedi P, Khaledi N. The effect of anaerobic exercise with melatonin consumption on the expression of Bax and Bcl-2 markers in rat myocardium after ischemic-reperfusion. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2019; 41(3): 68-77. doi:10.34172/mj.2019.035
9. Arbab-Zadeh A, Dijk E, Prasad A, Fu Q, Torres P, Zhang R, et al. Effect of aging and physical activity on left ventricular compliance. Circulation. 2004; 110(13):1799-805 doi:10.1161/01.CIR.0000142863.71285.74
10. Zha Z, Wang J, Wang X, Lu M, Guo Y. Involvement of PINK1/Parkin-mediated mitophagy in AGE-induced cardiomyocyte aging. Int J Cardiol. 2017; 227: 201-8. doi:10.1016/j.ijcard.2016.11.161
11. Grewal J, McCully RB, Kane GC, Lam C, Pellikka PA. Left ventricular function and exercise capacity. Jama. 2009; 301(3): 286-94. doi:10.1001/jama.2008.1022
12. Dillon LM, Rebelo AP, Moraes CT.The role of PGC-1 coactivators in aging skeletal muscle and heart. IUBMB life, 2012; 64(3): 231-41. doi:10.1002/iub.608 doi:10.1002/iub.1010
13. Guo C, Wu RY, Dou JH, Song SF, Sun XL, Hu YW, et al. Mitophagy-dependent cardioprotection of resistance training on heart failure. J Appl Physiol. 2023; 135(6): 1390-401. doi:10.1152/japplphysiol.00674.2023
14. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr-/- mice: role of aerobic exercise training. Am J Cardiovasc Dis. 2017; 7(2): 64.
15. Soori R, Gerami M, Pornemati P, Eskandari A. Effect of high intensity interval training and continus training on antioxidant enzymes in the heart of the old rats. J Gorgan Univ Med Sci. 2019; 21(2): 26-31.
16. Deschenes MR, Li S, Adan MA, Oh JJ, Ramsey HC. Muscle fibers and their synapses differentially

adapt to aging and endurance training. Exp Gerontol. 2018; 106: 183-191 doi:10.1016/j.exger.2018.03.010
17. Youle RJ, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011; 12(1): 9-14. doi:10.1038/nrm3028
18. Siddall HK, Yellon DM, Ong SB, Mukherjee UA, Burke N, Hall AR, et al. Loss of PINK1 increases the heart's vulnerability to ischemia-reperfusion injury. PloS one. 2013; 8(4): e62400. doi:10.1371/journal.pone.0062400
19. McWilliams TG, Barini E, Pohjolan-Pirhonen R, Brooks SP, Singh F, Burel S, et al. Phosphorylation of Parkin at serine 65 is essential for its activation in vivo. Royal Society Open Biol. 2018; 8(11): 180108. doi:10.1098/rsob.180108
20. Sauvé V, Sung G, Soya N, Kozlov G, Blaimschein N, Miotto LS, et al. Mechanism of parkin activation by phosphorylation. Nature Structural Mol Biol. 2018; 25(7): 623-30. doi:10.1038/s41594-018-0088-7
21. Koyano F, Okatsu K, Kosako H, Tamura Y, Go E, Kimura M, et al. Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. Nature. 2014; 510(7503): 162-6. doi:10.1038/nature13392
22. Lochmann TL, Thomas RR, Bennett Jr JP, Taylor SM. Epigenetic modifications of the PGC-1α promoter during exercise induced expression in mice. PLoS One. 2015; 10(6): e0129647. doi:10.1371/journal.pone.0129647
23. Ju JS, Jeon SI, Park JY, Lee JY, Lee SC, Cho KJ, et al., Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. J Physiological Sci. 2016; 66: 417-30. doi:10.1007/s12576-016-0440-9

**How to Cite this Article:**
Marezloo M, Aghaei Bahmanbeglou N, Alizadeh Pahlavani H, Asgharpour H. The effect of eight weeks of endurance training on the levels of proteins related to mitophagy and mitochondrial dynamics in the left ventricle of aged rats. Feyz Med Sci J 2024; 28 (4) :383-391.
doi: 10.48307/FMSJ.2024.28.4.383