



Ministry of Science, Research and Technology
Sport Sciences Research Institute

Sport Physiology

Journal homepage: <https://spj.ssrc.ac.ir>



Original Article

Effect of Interval and Continuous Exercise Training on Some Mitophagy Markers (PINK1, Parkin) in the Hippocampal Tissue of Aging Rat Model

Hajar Allahverdi ¹, Jalil Reisi*¹, Mohammad Faramarzi ¹,
Siamak Beheshti ²

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Department of of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 1-Dec-2025 | Accepted: 26-Jan-2026 | Available Online: 31-Jan-2026

*Corresponding Author: Jalil Reisi, E-mail: j.reisi@spr.ui.ac.ir

How to Cite: Allahverdi, H; Reisi, J; Faramarzi, M; Beheshti, S. (2026). Effect of Interval and Continuous Exercise Training on Some Mitophagy Markers (PINK1, Parkin) in the Hippocampal Tissue of Aging Rat Model. *Sport Physiology*, 18(69):99-119. (In Persian). Doi: [10.22089/spj.2026.18863.2423](https://doi.org/10.22089/spj.2026.18863.2423)

Extended Abstract

Background and Purpose

Brain aging is a time dependent physiological process closely associated with progressive mitochondrial dysfunction, particularly within the hippocampus. Mitochondrial quality control (MQC) is essential for maintaining neuronal integrity and protecting cells against metabolic and oxidative stress. Mitophagy, primarily regulated by the PINK1/Parkin pathway, is a key mechanism that preserves MQC by eliminating dysfunctional mitochondria; however, its efficiency declines with age, enhancing to oxidative stress, metabolic imbalance, and neurodegeneration. Exercise training is recognized as a potent modulator of MQC, with moderate intensity continuous training (MICT) consistently shown to enhance mitophagy related pathways, whereas the effects of high intensity interval training (HIIT) on mitophagy in the aging brain remain unclear inconsistent. Clarifying how different exercise intensities influence PINK1/Parkin-mediated mitophagy is essential for optimizing exercise interventions to protect brain function during aging. Therefore, this study aimed to investigate the effects of eight weeks of MICT and HIIT on some mitophagy markers (PINK1, Parkin) in the hippocampus of D-galactose-induced aging rats.



Copyright: © 2026 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Materials and Methods

Twenty eight male Wistar rats (3 months old; 220 ± 40 g) were obtained and housed in the Animal Facility of the University of Isfahan under controlled environmental conditions (12-h light/dark cycle, 23 ± 2 °C, $50 \pm 5\%$ humidity) with ad libitum access to standard chow and water. After a one-week acclimation period, rats completed five days of treadmill familiarization (5–10 m/min, 0% incline, 10 min/day). Subsequently, the animals were randomly divided into four groups ($n = 7$ each): control (C), D-galactose- induced aging model (D-gal), moderate-intensity continuous training plus D-galactose (MICT+D), and high-intensity interval training plus D-galactose (HIIT+D). Aging was induced in all groups except the control group via daily intraperitoneal injections of D-galactose (150 mg/kg/day, dissolved in 0.9% saline) for eight weeks. was monitored weekly throughout the intervention. Baseline exercise capacity and maximal running velocity (V_{max}) were determined using an incremental treadmill test. The protocol consisted of ten consecutive 3-min stages at 0% incline, beginning at 0.3 km/h and increasing by 0.3 km/h per stage until volitional exhaustion. V_{max} was reassessed at weeks 2, 4, 6, and 8 to adjust training intensities. Exercise training was conducted five days per week for eight weeks and each sessions included a 5 min warm up and cool down at 40% V_{max} . The MICT protocol involved continuous running at 60% V_{max} for 33.3–38.5 min, while the HIIT protocol consisted of nine 1.5-min bouts at 85% V_{max} interspersed with nine 2-min recovery bouts at 45% V_{max} . Forty-eight hours after the final training session, and following a 12-h fast, rats were anesthetized using ketamine (90 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) and subsequently euthanized. Hippocampal tissues were rapidly dissected on an ice-cold surface, immediately snap-frozen in liquid nitrogen, and stored at -70 °C until analysis. To assess expression levels of PINK1 and Parkin by Western blotting, tissues were homogenized in a lysis buffer containing protease inhibitors, followed by centrifugation at 14,000 rpm for 10 minutes at 4 °C. The resulting supernatants were collected, and protein concentrations were determined using the Bradford assay. Samples were separated on 12% SDS–PAGE gels, transferred to PVDF membranes, blocked with 5% skim milk, and incubated with primary antibodies against PINK1, Parkin, and β -actin, followed by HRP-conjugated secondary antibodies for 1 hour at room temperature. Protein bands were visualized by enhanced chemiluminescence and quantified relative to β -actin. A one way ANOVA was used to analyze PINK1 and Parkin levels, and a two way repeated measures ANOVA assessed changes in body weight and V_{max} over time. The Bonferroni post hoc test was used for pairwise comparisons between groups. A significance level of $p < 0.05$ was applied.

Results

The results of the repeated-measures ANOVA for body weight revealed a significant main effect of time ($F(1,24) = 130.180$, $p = 0.001$, $\eta^2p = 0.844$), indicating that mean body weight changed significantly over the course of the 8-week intervention. However, the main effect of group was not significant ($F(3,24) = 0.154$, $p = 0.926$, $\eta^2p = 0.019$), demonstrating that mean body weight did not differ across groups. Despite the absence of group differences, the time \times group interaction was statistically significant ($F(3,24) = 3.935$, $p = 0.020$, $\eta^2p = 0.330$), suggesting that patterns of weight change over time varied among groups. For V_{max} , there was a significant main effect of

time ($F(1,24) = 7.105$, $p = 0.014$, $\eta^2p=0.228$), along with a significant main effect of group ($F(3,24) = 26.527$, $p = 0.001$, $\eta^2p=0.768$). Furthermore, a highly significant time \times group interaction was detected ($F(3,24) = 70.095$, $p = 0.001$, $\eta^2p=0.898$), indicating that the progression of V_{max} over the 8-weeks period differed substantially between groups. Bonferroni post hoc tests indicated no significant difference in V_{max} between the control and D-gal groups ($p = 1.000$). In contrast, both training groups showed significant increases in V_{max} compared with the control and D-gal groups ($p = 0.001$). No significant difference was found between the MICT+D and HIIT+D groups ($p = 1.000$), indicating that both training modalities comparable improvements in V_{max} . To determine the effect of exercise intensity on the expression levels of mitophagy-related proteins, a one-way ANOVA was conducted for PINK1 and Parkin. The analysis revealed significant differences among groups for both proteins (PINK1: $F(3,24) = 385.30$, $p = 0.001$, $\eta^2p = 0.979$; Parkin: $F(3,24) = 591.40$, $p = 0.001$, $\eta^2p = 0.986$). Post hoc Bonferroni comparisons indicated that D-gal administration significantly increased levels of PINK1 and Parkin expression relative to the control group (both, $p = 0.001$). In contrast, eight weeks of exercise training markedly reduced the expression of both proteins in the MICT+D and HIIT+D groups compared with the D-gal group ($p = 0.001$), demonstrating that aerobic training effectively attenuated mitochondrial stress responses. Moreover, the MICT+D group exhibited a significantly greater reduction in PINK1 and Parkin levels than the HIIT+D group ($p = 0.001$). These findings indicate that both exercise protocols improved functional capacity (V_{max}), while MICT exerted a more pronounced regulatory effect on mitophagy-related protein expression in the aging-induced hippocampal tissue.

Conclusion

The present study demonstrates that chronic D-galactose administration the significantly elevation of PINK1 and Parkin expression in the hippocampus. This increase likely reflects a compensatory response to increased oxidative stress and the accumulation of damaged mitochondria, which is consistent with previous evidence indicating that D-galactose promotes ROS over production, accelerates brain aging, and impairs mitochondrial integrity. In contrast, eight weeks of exercise training reversed these alterations, as both MICT and HIIT significantly reduced PINK1 and Parkin levels compared with the D-gal group. These findings are in line with the established role of exercise in modulating mitophagy-related pathways and improving mitochondrial function. Notably, MICT induced a more pronounced reduction in these proteins, suggesting that moderate, sustained intensity may more effectively regulate the mitophagy signaling in vulnerable hippocampal tissue, and facilitate a more efficient restoration of mitochondrial homeostasis compared with HIIT. Collectively, these results underscore the therapeutic potential of appropriately prescribed exercise training for mitigating mitochondrial dysfunction during aging and highlight MICT as a particularly promising strategy for maintaining hippocampal cellular integrity.

Key Words: MICT, HIIT, Mitochondrial Quality Control, Aging Model.

Article Message

The findings of the present study demonstrate that both continuous and intermittent exercise training (MICT, HIIT), effectively improved hippocampal MQC-related protein expression and attenuated D-galactose-induced neurodegenerative alterations. Notably, MICT induced a more pronounced restoration of MQC balance compared with HIIT, suggesting that moderate, sustained exercise may exert a more favorable regulatory influence on mitochondrial homeostasis in the aging hippocampus. These results highlight the importance of considering exercise intensity and training structure when designing interventions aimed at mitigating or preventing brain aging.

Ethical Considerations

The study was approved ethically by the ethics committee of the University of Isfahan, Iran Code No, IR.UI.REC.1403.027). All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations.

Authors' Contributions

Conceptualization: Mohammad Faramarzi

Data Collection: Hajar Allahverdi, Siamak Beheshti

Data Analysis: Hajar Allahverdi, Jalil Reisi

Manuscript Writing: Hajar Allahverdi

Review and Editing: Hajar Allahverdi, Mohammad Faramarzi, Jalil Reisi, Siamak Beheshti

Responsible for funding: Hajar Allahverdi

Literature Review: Hajar Allahverdi

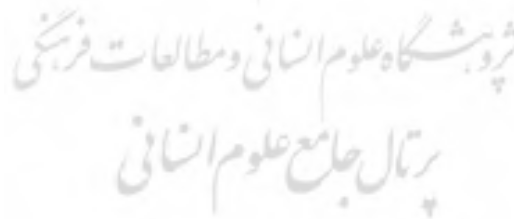
Project Manager: Mohammad Faramarzi

Conflict of Interest

The authors declare no competing interests

Acknowledgments

This study was supported by the Iran National Science Foundation (INSF) under project No.4030891. The authors gratefully acknowledge this support.





تأثیر تمرینات ورزشی تناوبی و تداومی بر برخی نشانگرهای میتوفاژی (PINK1, Parkin) در بافت هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی

هاجر الهوردی^۱، جلیل رئیسی*^۲، محمد فرامرزی^۳، سیامک بهشتی^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۳. استاد فیزیولوژی ورزشی گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴. دانشیار گروه زیست‌شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۰ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۰۶ | تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱

*نویسنده مسئول: جلیل رئیسی، ایمیل: j.reisi@spr.ui.ac.ir

نحوه ارجاع‌دهی: الهوردی، هاجر؛ رئیسی، جلیل؛ فرامرزی، محمد و بهشتی، سیامک. (۱۴۰۵). تأثیر تمرینات ورزشی تناوبی و تداومی بر برخی نشانگرهای میتوفاژی (PINK1, Parkin) در بافت هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی. فیزیولوژی ورزشی، ۶۹(۱۱): ۹۹-۱۱۹.

چکیده

هدف: اختلال عملکرد میتوکندری از مهم‌ترین عوامل آسیب عصبی در سالمندی است. شواهد نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند کیفیت عملکرد میتوکندری را بهبود بخشد؛ با این حال، شدت بهینه آن هنوز مشخص نیست. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر تمرینات تداومی با شدت متوسط (MICT) و تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر برخی نشانگرهای میتوفاژی در بافت هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی القاء شده با دی-گالاکتوز انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۲۸ رت نر ویستار به طور تصادفی به چهار گروه (n=۷) کنترل (C)، سالمندی القاء شده با دی-گالاکتوز (D-gal)، تمرین تداومی با شدت متوسط+دی-گالاکتوز (MICT+D) و تمرین تناوبی با شدت بالا+دی-گالاکتوز (HIIT+D) تقسیم شدند. سالمندی با تزریق داخل صفاقی دی-گالاکتوز (۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به مدت هشت هفته القا شد. تمرینات ورزشی روی نوارگردان، پنج روز در هفته، به مدت هشت هفته با شدت‌های ۶۰ و ۸۵ درصد سرعت بیشینه برای گروه‌های تمرینی اجرا شد. بیان پروتئین‌های PINK1 و Parkin به روش وسترن بلات ارزیابی شد و تحلیل داده‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه در سطح معناداری $P \leq 0.05$ صورت گرفت.

یافته‌ها: تزریق دی-گالاکتوز به افزایش معنادار پروتئین‌های PINK1 و Parkin در گروه‌های مداخله در مقایسه با کنترل منجر شد ($P=0.001$). هر دو نوع تمرین موجب کاهش معنادار سطوح PINK1 و Parkin در مقایسه با گروه D-gal شدند ($P=0.001$)؛ اگرچه MICT اثر قوی‌تری را نشان داد ($P=0.001$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که با وجود کاهش مقادیر این پروتئین‌ها در اثر هر دو نوع تمرین، روش MICT در بازیابی تعادل پروتئین‌های PINK1 و Parkin به نظر مؤثرتر است.

واژگان کلیدی: تمرینات تداومی با شدت متوسط، تمرینات تناوبی با شدت زیاد، کنترل کیفیت میتوکندری، مدل سالمندی.



مقدمه

سالمندی فرایندی چندعاملی و تدریجی است که به طور طبیعی با کاهش عملکردهای سلولی، مولکولی و فیزیولوژیک همراه است (۱). در سطح سلولی، یکی از اصلی‌ترین ویژگی‌های سالمندی، اختلال در عملکرد میتوکندری، تجمع میتوکندری‌های غیرطبیعی و کاهش کارایی فرایندهای تنظیم‌کننده کیفیت آن است (۲). از آنجاکه مغز برای تأمین انرژی موردنیاز خود به میتوکندی وابستگی شدیدی دارد (۳)، هرگونه اختلال در این اندام به‌ویژه در نواحی هیپوکمپ موجب آسیب نورونی، اختلالات شناختی و افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های تخریب عصب مانند آلزایمر و پارکینسون می‌شود (۴).

سیستم کنترل کیفیت میتوکندری (MQC)^۱، به‌عنوان یکی از عوامل کلیدی اثرگذار بر دوره سالمندی و بسیاری از بیماری‌های تخریب عصب مطرح است (۵). این سیستم از طریق فرایندهای متعدد از جمله بیوژنز میتوکندری، پویایی و میتوفاژی نقش مهمی در حفظ عملکرد صحیح و پایداری ساختاری و عملکردی شبکه‌ی میتوکندریایی ایفا می‌کند (۶). میتوفاژی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای حفاظتی سلول در برابر اختلال عملکرد میتوکندری است (۷)، که با حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده و اضافی از طریق اتوفاژی، موجب حفظ کیفیت میتوکندری، هموستاز متابولیکی و سلامت نورون‌ها می‌شود (۸). این فرایند توسط دو پروتئین اصلی، کیناز فرضی القاشده توسط PTEN (PINK1)^۲ و لیگاز یوبیکوئین-پروتئین E3 (Parkin)^۳ تنظیم و هدایت می‌شود (۲). هنگام آسیب یا استرس میتوکندری، PINK1 در غشای خارجی میتوکندری تجمع می‌یابد و با جذب Parkin میتوفاژی را آغاز می‌کند. سپس میتوکندری‌ها از طریق تعامل بین پروتئین‌های آدابتوری اتوفاژی و پروتئین غشای اتوفاگوزومی LC3II^۴ شناسایی می‌شوند و برای تجزیه توسط سیستم اتوفاگوزومی-لیزوزومی هدف قرار می‌گیرند (۹). PINK1 به‌عنوان حسگر اصلی استرس میتوکندریایی عمل می‌کند و نشان داده شده است که در محافظت از سلول‌های عصبی در برابر مرگ ناشی از استرس اکسیداتیو نقش کلیدی دارد (۸). از طرفی، بیان موقتی Parkin نیز با تقویت فرایند میتوفاژی موجب حفظ بیشتر شبکه‌های میتوکندریایی می‌شود (۱۰). مطالعات، افزایش بیان پروتئین‌های میتوفاژی مانند PINK1، Parkin و همچنین تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد را در مغز افراد سالمند و مبتلا به آلزایمر گزارش کرده‌اند (۱۱، ۱۲). در مقابل، شواهد دیگر نشان داده‌اند که با افزایش سن، فعالیت میتوفاژی و بیان پروتئین مرتبط با آن کاهش می‌یابد؛ این امر موجب اختلال در حذف و پاکسازی میتوکندری‌های آسیب‌دیده، تجمع آن‌ها و در نهایت تخریب عصبی می‌شود (۱۳). (۱۴). به طور کلی، حفظ سطح پایه میتوفاژی برای عملکرد مطلوب سلول‌های عصبی ضروری است؛ زیرا این فرایند با حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۵ جلوگیری می‌کند و مانع بروز آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود (۱۵).

- 1 . Mitochondrial Quality Control (MQC)
- 2 . Phosphatase and Tensin homolog-induced putative kinase protein 1 (PINK1)
- 3 . E3 ubiquitin-protein ligase (Parkin)
- 4 . Microtubule-Associated Protein Light Chain 3II (LC3II)
- 5 . Reactive Oxygen Species (ROS)

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی می‌تواند با تنظیم مسیرهای اصلی پیام‌رسانی مرتبط با MQC از جمله اتوفاژی و میتوفاژی نقش محافظتی مهمی در مغز طی فرایند سالمندی ایفا کند (۱۶-۱۸). همچنین فعالیت ورزشی، به‌ویژه تمرینات MICT با بهبود عملکرد میتوکندری و تعادل ردوکس در هیپوکمپ سالمندان، نقش مؤثری در مقابله با کاهش وابسته به سن عملکرد این ناحیه نشان داده است (۱۲). در سال‌های اخیر، تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT)^۱، به‌عنوان رویکرد نوین تمرینی با حجم تمرین کمتر و صرف زمان کوتاه‌تر مدنظر قرار گرفته‌اند (۱۹). با وجود شواهد قوی درباره اثرات مفید MICT بر تحریک مسیرهای میتوفاژی و بهبود عملکرد مغز (۲۰-۲۲)، یافته‌ها درباره تأثیر HIIT بر این مسیرها در مغز محدود و متناقض است؛ برای مثال، گزارش شده است که هشت هفته تمرین HIIT موجب افزایش معنادار بیان PINK1 و Parkin در هیپوکمپ رت‌های دیابتی می‌شود (۲۳)؛ در حالی که در مطالعه‌ای نشان داد هفت هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر بیان پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی در هیپوکمپ موش‌های میانسال نداشت (۱۸). نتایج مطالعه دیگر نشان داد شش هفته تمرین HIIT تغییر در خورتوجهی بر بیان هیپوکمپی PINK1 و Parkin در موش‌های جوان ایجاد نکرد (۲۴). در مجموع، اگرچه HIIT قادر به ایجاد سازگاری‌های میتوکندریایی در خورتوجهی است (۲۵، ۲۶)، اثرات آن بر مسیرهای میتوفاژی در بافت مغز هنوز به طور کامل روشن نشده است و نیازمند بررسی‌های بیشتر است.

هیپوکمپ به‌عنوان ناحیه‌ای کلیدی در یادگیری و حافظه، درمقابل تغییرات وابسته به سن در عملکرد میتوکندری و استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیری زیادی دارد (۲۷)؛ از این رو اختلال در مسیرهای MQC می‌تواند پیامدهای نامطلوبی بر بقای نورونی و عملکرد شناختی در سالمندی داشته باشد (۲۸). مطالعات پیشین یا بر بافت‌های محیطی مانند کبد و عضله متمرکز بوده‌اند یا اثر HIIT را در مدل‌های حیوانی غیر سالمند مانند مدل‌های جوان یا بیماری بررسی کرده‌اند؛ در نتیجه تأثیر این نوع تمرین بر مسیرهای کلیدی میتوفاژی مانند PINK1/Parkin در مغز سالمند به‌خوبی بررسی نشده است. درک بهتر چگونگی تأثیر شدت‌های مختلف تمرینی بر مسیرهای مولکولی تنظیم‌کننده این فرایند به‌منظور طراحی مداخلات تمرینی هدفمند و مناسب از اهمیت بسیاری برخوردار است؛ بنابراین هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی و تداومی (HIIT, MICT) بر برخی نشانگرهای میتوفاژی (PINK1, Parkin) در بافت هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی بود.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش

این مطالعه از نوع پژوهش‌های تجربی-بنیادی بود. به‌منظور تعیین حجم نمونه، تحلیل توان آماری با استفاده از نرم‌افزار جی‌پاور (نسخه ۳.۱.۹.۲) انجام شد. با توجه به اینکه متغیرهای اصلی مطالعه به صورت بین‌گروهی و در یک زمان (پس از پایان مداخله) اندازه‌گیری شدند، آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه^۲ برای محاسبه حجم نمونه در نظر گرفته شد؛ بر

1 . High-Intensity Interval Training (HIIT)

2 . One-way ANOVA

این اساس، با فرض اندازه اثر ۷۰ درصد، خطالی آلفای ۰/۰۵ و توان آزمون (خطای بتا) ۰/۰۸۰، ۲۸ نمونه محاسبه شد؛ بنابراین ۲۸ سررت نر نژاد ویستار سه‌ماهه با میانگین وزنی 220 ± 20 گرم از انستیتو تحقیقاتی پاستور ایران تهیه و به لانه حیوانات دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. پس از انتقال به لانه، رت‌ها در شرایط کنترل‌شده محیطی شامل دمای 23 ± 3 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد و چرخه نور-تاریکی ۱۲ ساعته در قفس‌های چهارتایی نگهداری شدند. تمامی حیوانات در طول مطالعه به غذای استاندارد پلت (شرکت به‌پرور، کرج، ایران) دسترسی روزانه داشتند. همچنین آب به صورت آزادانه از طریق بطری‌های آب‌خوری نصب‌شده در قفس‌ها در اختیار حیوانات قرار داشت. پس از یک هفته سازگاری با محیط جدید، حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل (C)، گروه تزریق دی-گالاکتوز (D-gal)، گروه تمرینات تناوبی با شدت متوسط+تزریق دی-گالاکتوز (MICT+D) و گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا+تزریق دی-گالاکتوز (HIIT+D) تقسیم شدند. در هفته دوم، رت‌های گروه‌های تمرینی به مدت پنج روز با نحوه دویدن روی تردمیل (سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و مدت‌زمان ۱۰ دقیقه) آشنا شدند (شکل ۱). همه مراحل انجام مطالعه، طبق اصول و قوانین مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی وزارت بهداشت و با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه اصفهان کد IR.UI.REC.1403.027 صورت گرفت.

روش القای سالمندی

القای مدل سالمندی با استفاده از تزریق دی-گالاکتوز^۱، یکی از مدل‌های رایج و متداول در مطالعات حیوانی مرتبط با سالمندی صورت می‌گیرد. دی-گالاکتوز یک مونوساکارید احیاکننده است که به طور طبیعی در مغز وجود دارد. دریافت طولانی‌مدت و فراتر از حد طبیعی آن می‌تواند از طریق افزایش تولید ROS، تجمع فرآورده‌های گلیکاسیون پیشرفته (AGEs)^۲، ایجاد استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری، فرایندهای مشابه سالمندی طبیعی را در بافت‌های مختلف از جمله مغز القا کند (۲۹، ۳۰)؛ بر این اساس، در مطالعه حاضر برای القای سالمندی از تزریق داخل‌صفاقی (IP)^۳ دی-گالاکتوز (Merck Company, Germany) به مقدار ۱۵۰ (میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) پس از حل کردن در سالین ۹ درصد و به صورت روزانه به مدت هشت هفته استفاده شد (۲۲). همچنین وزن بدن حیوانات به صورت هفتگی اندازه‌گیری و وضعیت سلامت عمومی آن‌ها پایش می‌شد.

تعیین سرعت بیشینه دویدن (V_{max})^۴

قبل از شروع مداخلات، آزمون دویدن وامانده‌ساز روی نوارگردان مخصوص جوندگان برای تعیین V_{max} طبق پروتکل لیندرو^۵ و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. این آزمون شامل ده مرحله دویدن سه دقیقه‌ای بود که از سرعت اولیه پنج متر

- 1 . D-galactose
- 2 . Advanced glycation end products (AGEs)
- 3 . Intraperitoneal (IP)
- 4 . Maximum Velocity Test (Vmax)
- 5 . Leandro

بر دقیقه آغاز می‌شد و در هر مرحله پنج متر بر دقیقه به سرعت نوارگردان افزوده می‌شد تا زمانی که حیوان قادر به ادامه دویدن نباشد. این سرعت به عنوان سرعت بیشینه ثبت شد (۳۱, ۳۲). به منظور به‌روزرسانی شدت تمرین، آزمون V_{max} هر دو هفته یک‌بار تکرار شد. اجرای آزمون با فاصله زمانی مناسب از جلسات تمرینی انجام گرفت تا از اعمال بار تمرینی اضافی و اثرات مداخله‌ای ناخواسته جلوگیری شود.

برنامه‌های تمرینی

تمرینات ورزشی به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته روی نوارگردان بدون شیب برای گروه‌های تمرینی اجرا شد. سرعت نوارگردان نیز هر دو هفته متناسب با میانگین V_{max} به دست آمده برای هر گروه تمرینی تنظیم شد. تمرینات گروه HIIT+D شامل هر جلسه ۹ دوره فعالیت ۱/۵ دقیقه‌ای با شدت V_{max} ۸۵ درصد و ۹ دوره استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت V_{max} ۴۵ درصد بود (جدول ۱). برنامه تمرین گروه MICT+D نیز با V_{max} ۶۰ درصد، به مدت ۳/۵-۳۸/۳۳ دقیقه انجام شد (جدول ۲). مسافت طی شده روی نوارگردان برای هر دو گروه تمرینی در آغاز و پایان دوره تمرین به ترتیب معادل ۳۴۶/۵ متر و ۴۹۹/۵ متر بود. همچنین رت‌ها در شروع و پایان هر جلسه تمرین اصلی به مدت ۵ دقیقه و با سرعت V_{max} ۴۰ درصد به گرم کردن و سرد کردن پرداختند (۳۳).

جدول ۱- برنامه تمرینی تناوبی با شدت زیاد | HIIT protocol

Weeks هفته			
7-8	5-6	3-4	1-2
21	20	18	15
سرعت (متر/دقیقه)			
Velocity (m.min)			
%85	%85	%85	%85
شدت فعالیت (V_{max} %)			
Intensity (% V_{max})			
9 × 1.5	9 × 1.5	9 × 1.5	9 × 1.5
تعداد تکرار × مدت فعالیت (دقیقه)			
Frequency × Duration (min)			
12	11	10	8
سرعت استراحت فعال (متر/دقیقه)			
Active recovery velocity (m/min)			
%45	%45	%45	%45
شدت استراحت (V_{max} %)			
Recovery intensity (% V_{max})			
9 × 2	9 × 2	9 × 2	9 × 2
تعداد تکرار × مدت استراحت (دقیقه)			
Frequency × Rest Interval (min)			

نمونه برداری

چهل و هشت ساعت پس از پایان مداخلات تمرینی و به دنبال یک دوره ناشتایی ۱۲ ساعته، همه رت‌ها با تزریق ترکیبی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش شدند (۳۴). سپس سر حیوانات جدا شد. به منظور استخراج بافت مغز، پوست ناحیه جمجمه به طور کامل برداشته شد و با استفاده از قیچی جراحی،

برشی در امتداد خط میانی حجمه ایجاد شد. پس از آن، استخوان‌های جداری به آرامی کنار زده شد تا از وارد شدن آسیب مکانیکی به بافت مغز جلوگیری شود. در ادامه، استخوان حجمه به طور کامل برداشته شد و مغز با دقت از حفره حجمه خارج شد. بافت مغز استخراج شده در سرم فیزیولوژیک سرد شست‌وشو شد و هیپوکمپ به دقت جداسازی شد. نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آنالیزهای بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۲- برنامه تمرینی تداومی با شدت متوسط | MICT protocol - Table 2

Weeks هفته			
7-8	5-6	3-4	1-2
15	13	11	9
سرعت (متر/دقیقه) Velocity (m.min)			
%60	%60	%60	%60
شدت فعالیت (%V _{max}) Intensity (%V _{max})			
38.5	36	38.5	38.5
مدت فعالیت (دقیقه) Duration (min)			

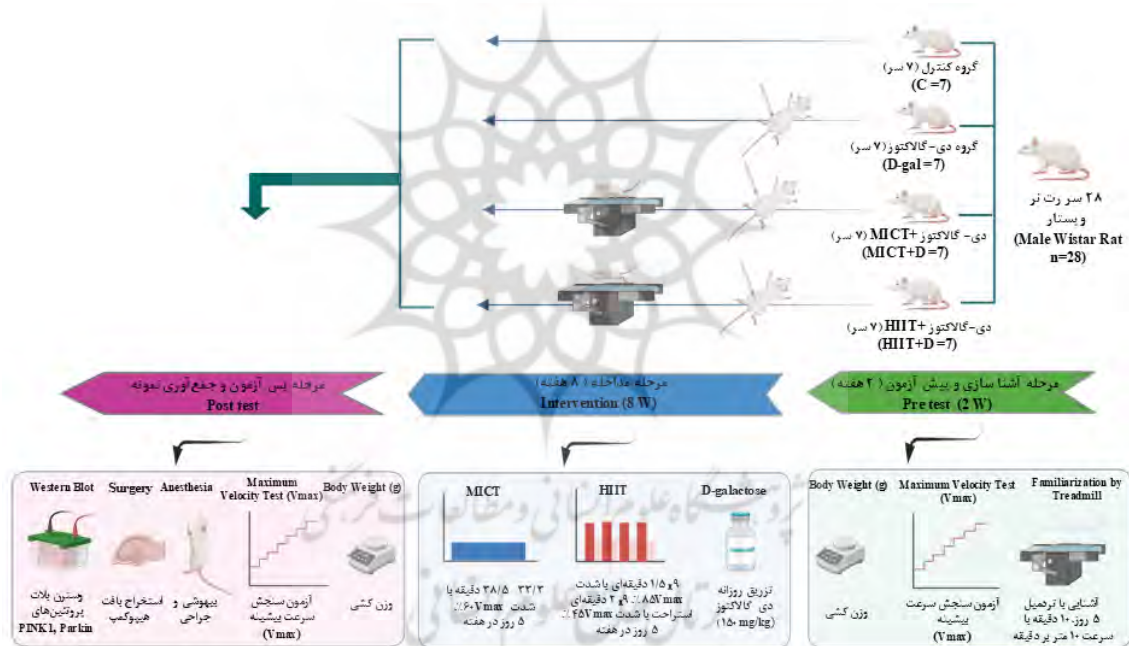
تحلیل بافتی

به منظور بررسی بیان پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی، سطوح پروتئین‌های PINK1 و Parkin در بافت هیپوکمپ رت‌ها در هر گروه آزمایشی به تعداد هفت سر رت با استفاده از روش وسترن بلات صورت گرفت. نمونه‌های هیپوکمپ منجمد در بافر لیزکننده حاوی تریس پایه ۵۰ میلی مولار (۰/۳ گرم)، کلرید سدیم ۱۵۰ میلی مولار (۰/۴۳ گرم)، تریتون ۱۰۰× ۰/۱ درصد (۰/۲ میلی لیتر)، سدیم دیاوکسی کولات ۰/۲۵ درصد (۰/۰۵ گرم)، SDS ۰/۱ درصد (۰/۲ گرم) و EDTA (۵/۸۴ گرم)، فنیل متیل سولفونیل فلوراید ۱ میلی مولار (۰/۰۰۹ گرم) در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر هموژنیزه شدند. پیش از استفاده، به منظور جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر در هر ۱۰ میلی لیتر بافر حاوی کوکتل مهارکننده پروتئاز (Sigma-Aldrich, USA) افزوده شد. سپس به ازای هر ۱۰۰ میلی گرم بافت، ۲۰۰ میکرولیتر بافر لیز سرد اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه روی یخ با هموژنایزر پرسرعت (۲۵۰۰۰ rpm) همگن شدند. پس از سانتریفیوژ در ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد، محلول رویی جمع‌آوری شد. غلظت پروتئین با روش برادفورد و با استفاده از BSA به عنوان استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر (USA, BioTek, ELX800) اندازه‌گیری شد و نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل ۱۲ درصد سدیم دودسیل سولفات-پلی‌اکریل‌امید دنانوره و به غشای PVDF منتقل شدند. غشاها با شیر بدون چربی ۵ درصد در PBS به مدت دو ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد مسدود شدند و سپس به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق با آنتی‌بادی‌های اولیه (Parkin (1:500, sc- 517353, Santa Cruz Biotechnology, USA), β-actin (1:1000, #4211, Cell Signaling Technology, USA), HRP (1:1000, Cell Signaling Technology, USA). پس از شست‌وشو، غشاها با آنتی‌بادی ثانویه کونژوکه متصل به

شدند. چگالی باندها توسط نرم‌افزار FUSION FX (Vilber, France) اندازه‌گیری شد و سطوح بیان پروتئین نسبت به β -actin به‌عنوان کنترل بارگذاری نرمال‌سازی شد. به‌منظور افزایش دقت اندازه‌گیری، هر نمونه پروتئینی در سه RUN اجرا شد و محاسبه میانگین نتایج برای هر نمونه صورت گرفت.

روش آماری

پس از بررسی توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک^۱ و تأیید همگنی واریانس‌ها به وسیله آزمون لون^۲، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای ارزیابی میزان تغییرات پروتئین‌های PINK1 و Parkin استفاده شد. آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری^۳ نیز برای بررسی تغییرات V_{max} و وزن بدن به کار رفت. در صورت وجود معناداری آزمون تعقیبی بونفرونی^۴ برای مقایسه تفاوت‌های بین گروهی اجرا شد. همه آزمون‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ انجام شد و سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. نمودارها به‌وسیله نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۱۰.۳.۱ ترسیم شدند.



شکل ۱- طرح کلی اجرای پژوهش | Figure 1- The experimental design

1. Shapiro-Wilk
2. Levene
3. Repeated measures analysis of variance (RM ANOVA)
4. Bonferroni

نتایج

نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری برای متغیرهای توصیفی وزن و V_{max} در دو مرحله آغاز شد و پس از پایان هشت هفته مداخله در جدول (۳) گزارش شد. این نتایج برای متغیر وزن بدن، حاکی از وجود تفاوت معنادار اثر اصلی زمان ($F_{(۱,۲۴)}=۱۳۰/۱۸۰$ ، $P=۰/۰۰۱$ ، $p^2\eta=۰/۸۴۴$) است که نشان می‌دهد میانگین وزن بدن حیوانات در طول دوره مداخله به طور معناداری افزایش یافت. در اثر اصلی گروه تفاوت معناداری مشاهده نشد ($p^2\eta=۰/۰۱۹$)، وجود نداشت؛ با این حال، بین اثر تعاملی زمان و گروه تفاوت معناداری مشاهده شد ($P=۰/۰۲۰$ ، $p^2\eta=۰/۳۳۰$)، که بیانگر تغییرات متفاوت وزن بدن در طول زمان است. برای متغیر V_{max} ، نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنادار در اثر اصلی زمان ($F_{(۱,۲۴)}=۷/۱۰۵$ ، $P=۰/۰۱۴$ ، $p^2\eta=۰/۲۲۸$)، اثر اصلی گروه ($F_{(۱,۲۴)}=۷/۱۰۵$ ، $P=۰/۰۱۴$ ، $p^2\eta=۰/۲۲۸$) و اثر تعاملی زمان و گروه ($F_{(۳,۲۴)}=۲۶/۵۲۷$ ، $P=۰/۰۰۱$ ، $p^2\eta=۰/۷۶۸$) بود. این نتایج نشان می‌دهد که تغییرات V_{max} در طول دوره هشت‌هفته‌ای مداخلات در بین گروه‌های مختلف متفاوت بود. نتایج مقایسه‌های جفتی با استفاده از آزمون تعقیبی بونفرونی، تفاوت معناداری را در V_{max} بین گروه‌های کنترل و D-gal نشان نداد ($P=۱/۰۰۰$). در مقابل، هر دو گروه تمرینی MICT+D و HIIT+D افزایش معناداری در V_{max} در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند (هر دو، $P=۰/۰۰۱$). علاوه بر این، افزایش معناداری در V_{max} بین هر دو گروه تمرینی در مقایسه با گروه D-gal مشاهده شد (هر دو، $P=۰/۰۰۱$)؛ با این حال، تفاوت معناداری بین گروه‌های HIIT+D و MICT+D یافت نشد ($P=۱/۰۰۰$). این نتایج نشان می‌دهد که هر دو روش تمرینی به‌طور مشابهی توانستند V_{max} را بهبود بخشند.

جدول ۳- نتایج آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری برای متغیرهای توصیفی پژوهش در بین گروه‌ها

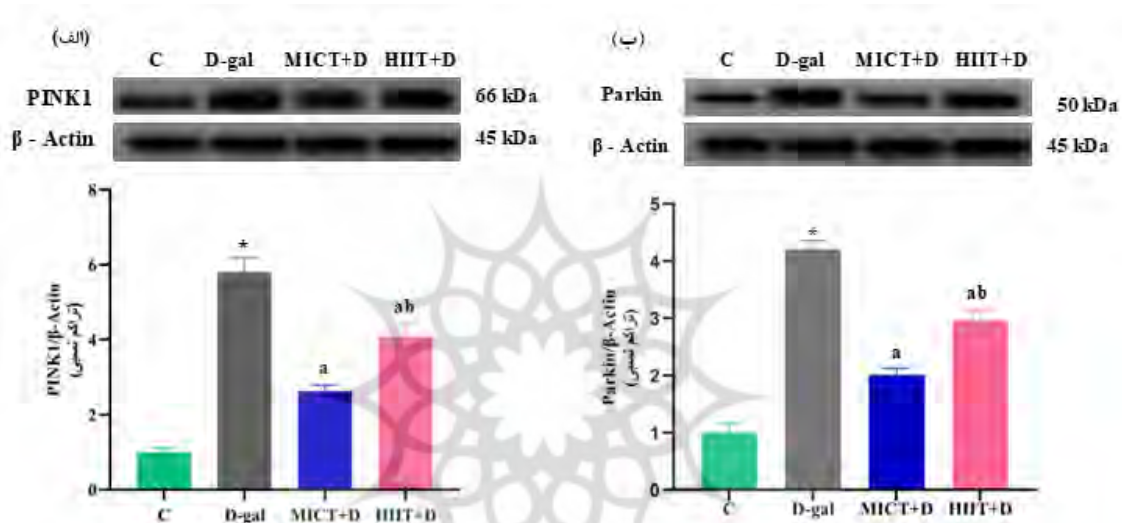
Table 3- RM- ANOVA results for descriptive research variables between groups

متغیر	گروه	پیش از مداخله	پس از مداخله	F	مقدار معناداری	اندازه اثر
Variable	Group	Pre test	Post test		p-value	η^2p
وزن بدن Body weight (g)	C	213.4 ± 9.8	260 ± 14.5	$F_{time}=130.2$	$p_{time}=0.000$	$\eta^2p=0.844$
	D-gal	229.4 ± 16.8	286.2 ± 31.1			
	MICT+D	216.4 ± 26.8	283.7 ± 26.8			
	HIIT+D	201.4 ± 9.9	298.2 ± 39.7	$F_{group}=0.154$	$p_{group}=0.926$	$\eta^2p=0.019$
				$F_{txg}=3.935$	$p_{txg}=0.020$	$\eta^2p=0.330$
سرعت بیشینه V_{max} (m/min)	C	20.7 ± 7.3	11.42 ± 6.3	$F_{time}=7.1$	$p_{time}=0.014$	$\eta^2p=0.228$
	D-gal	20.7 ± 5.3	6.4 ± 2.4			
	MICT+D	20.7 ± 8.7	37.8 ± 4.8 ab			
	HIIT+D	23.6 ± 2.4	40.7 ± 4.5 ab			
				$F_{group}=26.5$	$p_{group}=0.000$	$\eta^2p=0.768$
				$F_{txg}=70.1$	$p_{txg}=0.000$	$\eta^2p=0.898$

مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد است. a: تفاوت معنادار با گروه C، b: تفاوت معنادار با گروه D-gal؛ سطح معناداری $P < 0/05$. Values are presented as mean \pm SD. a: Significant difference with C group, b: Significant difference with D-gal group; Significant level $P < 0.05$.

برای تعیین اینکه شدت فعالیت ورزشی چه تأثیری بر سطوح بیان پروتئین‌های مرتبط با میتوفاژی می‌گذارد، آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای پروتئین‌های PINK1 و Parkin اجرا شد. نتایج این آزمون تفاوت معناداری را بین گروه‌ها

در مقادیر بیان پروتئین PINK1 نشان داد ($F_{(۳,۲۴)} = ۳۸۵/۳۰$ ، $P = ۰/۰۰۱$ ، $p^2\eta = ۰/۹۷۹$). به منظور تعیین اینکه تفاوت معنادار بین کدام گروه‌ها بود، آزمون تعقیبی بونفرونی به کار رفت. نتایج این آزمون افزایش معناداری را در سطوح پروتئین PINK1 در گروه D-gal در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P = ۰/۰۰۱$). در مقابل، هر دو گروه تمرینی MICT+D و HIIT+D کاهش معناداری را در بیان PINK1 در مقایسه با گروه D-gal نشان دادند (هر دو، $P = ۰/۰۰۱$). در مقایسه بین دو گروه تمرینی، کاهش بیان PINK1 در گروه MICT+D به طور معناداری بیشتر از گروه HIIT+D بود ($P = ۰/۰۰۱$) که نشان‌دهنده اثربخشی بیشتر این نوع تمرینات بر پروتئین PINK1 است. همچنین در سطوح بیان این پروتئین در هر دو گروه تمرینی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری مشاهده شد (هر دو، $P = ۰/۰۰۱$ ، شکل ۲- الف).



شکل ۲- تغییرات میزان بیان پروتئین‌های PINK1 و Parkin در هیپوکامپ رت‌های مدل سالمندی پس از هشت هفته تمرینات ورزشی (MICT و HIIT) و تزریق دی-گالاکتوز. (تصاویر وسترن بلات و نمودارهای بیان پروتئین‌های مرتبط با MQC: الف) PINK1، (ب) Parkin. *: تفاوت معنادار با C، a: تفاوت معنادار با گروه D-gal، b: تفاوت معنادار با MICT+D، سطح معناداری $P < ۰/۰۰۵$

Figure 2- Changes in the expression levels of PINK1 and Parkin proteins in the hippocampus of aging rat models following 8 weeks of exercise training (MICT and HIIT) and D-galactose administration. (Images and graphs of expression of MQC-related proteins are analyzed by Western blot. (a): PINK1, (b): Parkin. * Significant difference with C group, a: Significant difference with D-gal group, b: Significant difference with MICT+D group, Significant level $P < 0.05$)

به طور مشابه، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه برای پروتئین Parkin نشان داد که بین گروه‌های مطالعه‌شده در سطوح بیان این پروتئین تفاوت معناداری وجود داشت ($F_{(۳,۲۴)} = ۵۹۱/۴۰$ ، $P = ۰/۰۰۱$ ، $p^2\eta = ۰/۹۸۶$). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که بیان Parkin در گروه D-gal به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود ($P = ۰/۰۰۱$). در مقابل، انجام هشت هفته تمرینات ورزشی بیان Parkin را در هر دو گروه تمرینی MICT+D و HIIT+D در مقایسه با گروه D-gal به طور معناداری کاهش داد (هر دو، $P = ۰/۰۰۱$). هنگام مقایسه بین گروه‌های تمرینی، بیشترین کاهش معنادار در گروه MICT+D در مقایسه با گروه HIIT+D مشاهده شد که نشان می‌دهد تمرینات MICT مؤثرتر از HIIT بودند

($P=0/001$). علاوه بر این، سطوح بیان Parkin در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری را نشان داد (هر دو، $P=0/001$ ، شکل ۲-ب).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، تأثیر هشت هفته تمرینات HIIT و MICT بر برخی نشانگرهای میتوفاژی در بافت هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی القاشده با دی-گالاکتوز بررسی شد. نتایج پژوهش افزایش معنادار بیان پروتئین‌های PINK1 و Parkin در گروه دی-گالاکتوز را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در مقابل، هر دو روش تمرین MICT و HIIT موجب کاهش معنادار سطوح بیان این پروتئین‌ها در مقایسه با گروه دی-گالاکتوز شدند؛ به طوری که میزان کاهش در گروه MICT+D در مقایسه با گروه HIIT+D چشمگیرتر بود. همچنین افزایش معناداری در سطوح بیان پروتئین‌های PINK1 و Parkin در گروه‌های MICT+D و HIIT+D در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. از نظر متغیرهای عملکردی، وزن بدن افزایش معناداری در طول دوره مداخله نشان داد؛ با این حال، تغییرات معناداری بین گروه‌ها در این متغیر مشاهده نشد. در طول دوره هشت‌هفته‌ای مداخلات، در متغیر V_{max} تفاوت معناداری بین گروه کنترل و D-gal مشاهده نشد. در مقابل V_{max} بین گروه‌های HIIT+D و MICT+D در مقایسه با گروه کنترل و D-gal افزایش معناداری نشان داد؛ اگرچه تفاوت معناداری بین دو روش تمرینی در متغیر V_{max} یافت نشد.

نورون‌ها به‌عنوان سلول‌های بسیار تمایز یافته با تقاضای انرژی زیاد، برای حفظ بقا و عملکرد طبیعی خود به‌شدت به سلامت و کارایی میتوکندری وابسته هستند. عملکرد میتوکندری در درجه اول توسط فعال‌سازی مناسب میتوفاژی تنظیم می‌شود که با حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده، هموستاز سلولی را حفظ می‌کند (۳۵، ۳۶). شواهد نشان می‌دهند، تنظیم غیرطبیعی اتوفاژی/میتوفاژی، به صورت افزایش یا کاهش بیش‌از حد، از ویژگی‌های مشترک پاتولوژی مختلف محسوب می‌شود (۳۷). در مطالعه حاضر، افزایش معنادار بیان هیپوکمپی PINK1 و Parkin در اثر تجویز مزمن دی-گالاکتوز نسبت به گروه کنترل بیانگر فعال شدن مسیر میتوفاژی است که می‌توان آن را پاسخ جبرانی سلول برای مقابله با آسیب اکسیداتیو ناشی از دی-گالاکتوز و تلاش برای حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده تفسیر کرد (۳۸، ۳۹). این نتیجه با مطالعاتی همسوسست که نشان داده‌اند قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض دی-گالاکتوز از طریق افزایش تولید ROS و تجمع AGEs فرایند سالمندی مغز را تسریع می‌کند و با افزایش استرس اکسیداتیو که سازوکار اصلی سالمندی مغز است، بروز اختلال عملکرد میتوکندریایی را تشدید می‌کند (۴۰، ۴۱). در همین راستا، ژائو^۱ و همکاران افزایش فعال‌سازی میتوفاژی را در هیپوکمپ موش‌های تراریخته مدل APP/PS1 در پاسخ به سطوح افزایش یافته این پروتئین‌ها در مقایسه با گروه کنترل گزارش دادند (۱۱). وکیلی و همکاران نیز افزایش غیر معنادار بیان PINK1 و Parkin را در اثر القای دیابت در بافت کبد رت‌ها مشاهده کردند (۴۲). همسویی نتایج مطالعه حاضر با مطالعات مذکور می‌تواند ناشی از ماهیت مشترک آسیب‌های اکسیداتیو و اختلالات میتوکندریایی در این مدل از بیماری‌ها باشد؛ هرچند نوع محرک اولیه آسیب‌زا در این بیماری‌ها، بافت هدف و سن حیوانات متفاوت است. از نظر

سازوکار مولکولی، مسیر PINK1-Parkin نقش محوری در حذف انتخابی میتوکندری‌های آسیب‌دیده دارد. این مسیر در شرایط آسیب یا استرس میتوکندریایی فعال می‌شود تا میتوفاژی را برای حذف میتوکندری‌های آسیب دیده آغاز کند (۹، ۱۰).

شواهد متعدد نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی با فعال‌سازی مؤثر میتوفاژی، ضمن بهبود کیفیت میتوکندری و حفظ هموستاز سلولی، نقش حیاتی در حفظ یکپارچگی سیناپسی، تقویت رشد آکسونی و ارتقای سلامت کلی نوروها در دوران سالمندی دارد (۸، ۱۲، ۳۶). براساس یافته‌های این مطالعه، مداخله‌های ورزشی هشت‌هفته‌ای با شدت متوسط و زیاد روی ترمیم به طور درخور توجهی سطوح بیان پروتئین PINK1 را در هر دو گروه HIIT+D و MICT+D در مقایسه با گروه D-gal کاهش دادند و تغییرات ناشی از دی-گالاکتوز را در هیپوکمپ رت‌های مدل سالمندی به مقادیری نزدیک به گروه کنترل بازگرداندند؛ هرچند سطوح این پروتئین در گروه‌های تمرینی همچنان از نظر آماری بالاتر از گروه کنترل بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی ممکن است شدت استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندریایی ناشی از دی-گالاکتوز را کاهش دهند و موجب تعدیل فعال‌سازی این پروتئین شده باشند؛ با این حال، بازگشت کامل به سطح فیزیولوژیک پایه حاصل نشده است. هنگام مقایسه بین شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی، کاهش PINK1 در گروه MICT+D در مقایسه با HIIT+D به طور چشمگیری بیشتر بود که حاکی از پاسخ مؤثرتر تمرین با شدت متوسط در تنظیم PINK1 در مغز سالمند است. مطالعات قبلی نقش فعالیت‌های ورزشی در تعدیل بیان PINK1 را بررسی کرده‌اند؛ به طوری که کوان^۱ و همکاران (۲۰) و الکسیو^۲ و همکاران (۴۳)، افزایش معنادار بیان PINK1 را در قشر مغز و مخچه موش‌های جوان پس از MICT گزارش کردند. علاوه بر این، مارزلو و همکاران افزایش معناداری در سطوح بیان PINK1 در بطن چپ رت‌های سالمند پس از یک دوره HIIT مشاهده کردند (۴۴). در مطالعه دیگری عبادی و همکاران نشان دادند که بین سه شدت تمرین کم، متوسط و زیاد، تنها تمرین با شدت متوسط افزایش معناداری در بیان PINK1 در مدل انفارکتوس میوکارد ایجاد کرده است (۴۵). این مطالعات از این لحاظ که فعالیت ورزشی به افزایش معنادار بیان PINK1 در مقایسه با گروه کنترل منجر شده است، با یافته‌های مطالعه حاضر مقایسه‌شدنی و همسو هستند؛ هرچند طراحی آن‌ها بیشتر مقایسه بین دو گروه (تمرین و کنترل) بوده است. در مقابل، هو^۳ و همکاران گزارش کردند، HIIT تغییر معناداری در بیان PINK1 در هیپوکمپ موش‌های جوان ایجاد نکرد و اثر محدودی بر میتوفاژی داشت (۲۴). این ناهم‌سویی ممکن است به دلیل تفاوت در مدل استفاده‌شده حیوان (دی-گالاکتوز در مقابل سالم)، سن آن‌ها و ویژگی‌های برنامه تمرینی به کاررفته باشد.

درخصوص پروتئین Parkin، در مطالعه حاضر هر دو مداخله ورزشی MICT و HIIT موجب کاهش معنادار بیان Parkin در مقایسه با گروه D-gal شدند و روند افزایشی این پروتئین را معکوس کردند؛ با این حال، سطوح Parkin در هر دو گروه تمرینی در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود که بیانگر بازنگشتن کامل به سطح

-
1. Kwon
 2. Aleixo
 3. Hu

فیزیولوژیک پایه است. مقایسه بین دو گروه تمرینی نشان داد که کاهش بیان Parkin در گروه MICT+D از نظر آماری چشمگیرتر از گروه HIIT+D است. این کاهش بیان پروتئین می‌تواند نشان‌دهنده کاهش بار استرس اکسیداتیو ناشی از دی-گالاکتوز و کاهش نیاز به فعال‌سازی بیش‌ازحد مسیر Parkin-PINK1 باشد. مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات HIIT از طریق تحریک اتوفاژی و/یا میتوفاژی می‌توانند اثرات مطلوبی بر قلب، عضله اسکلتی و کبد داشته باشند، اما شواهد مربوط به اثرات آن بر فرایندهای اتوفاژی/ میتوفاژی در مغز سالمند همچنان محدود و متناقض است (۱۸). یافته‌های مطالعه حاضر تاحدی با نتایج پژوهش احمدی و همکاران (۴۶) همسوست که افزایش درخور توجهی در بیان Parkin پس از تمرینات HIIT و MICT در عضله نعلی رت‌های سالمند چاق گزارش کردند. هرچند در این مطالعه تفاوت معناداری بین دو روش تمرینی مشاهده نشد (۴۶). در مطالعه دیگری، لئو^۱ و همکاران افزایش معناداری در سطوح Parkin به دنبال یک دوره تمرینات شنا با شدت متوسط در هیپوکمپ رت‌های سالمند گزارش کردند (۱۲). در تضاد با این یافته‌ها، خسروی و همکاران افزایش معناداری در سطوح هیپوکمپی Parkin پس از تمرینات HIIT مقایسه با گروه دیابتی مشاهده کردند (۲۳). تینکنل^۲ و همکاران نیز تفاوت معناداری در سطوح بیان Parkin پس از HIIT در عضله اسکلتی موش‌های چاق گزارش نکردند (۴۷). این نتایج که با مطالعه حاضر ناهمسوست، ممکن است ناشی از تفاوت در مدل بیماری (دیابت یا چاقی در برابر سالمندی القاشده با دی‌گالاکتوز)، ماهیت آسیب اولیه، نوع بافت، سن حیوانات و ویژگی مداخلات ورزشی از جمله مدت، شدت و نوع تمرینات باشد که امکان مقایسه مستقیم یافته‌ها را محدود می‌کند.

از نظر سازوکارهای مولکولی، شواهد نشان می‌دهند که فعالیت‌های ورزشی از طریق تعدیل استرس متابولیکی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تنفس میتوکندریایی، تحریک شار میتوفاژی، MQC و عملکرد کلی میتوکندری را بهبود می‌دهند و نقش مؤثری در حفظ سلامت نوروها ایفا می‌کنند (۹، ۱۲، ۲۲). سازوکارهای دیگری که به‌طور بالقوه بر سطوح PINK1 و Parkin تأثیر می‌گذارند، شامل فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی وابسته به AMPK هستند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تحریک پیام‌رسانی AMPK، SIRT1، P53 و PGC1- α و مهار فعالیت AKT/mTOR و AKT/FOXO3a می‌توانند در این فرایند نقش داشته باشند (۴۸-۵۰)؛ با این حال، بررسی نشدن مستقیم سایر شاخص‌های میتوفاژی و مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود.

پژوهش حاضر اولین مطالعه‌ای است که تأثیر دو شدت مختلف فعالیت ورزشی را بر بیان پروتئین‌های PINK1 و Parkin در مدل سالمندی مغز القاشده با دی-گالاکتوز بررسی کرده است. طبق یافته‌های این مطالعه، هر دو نوع تمرین MICT و HIIT توانستند تغییرات ناشی از دی-گالاکتوز را در بیان این پروتئین‌ها را در مقایسه با گروه D-gal کاهش دهند؛ اگرچه روش MICT در بازگرداندن تعادل مسیر PINK1-Parkin در هیپوکمپ سالمندان مؤثرتر بود؛ با این حال، از آنجاکه در این مطالعه تنها دو نشانگر از مسیر میتوفاژی ارزیابی شدند، امکان نتیجه‌گیری قطعی درباره وضعیت کلی میتوفاژی یا MQC وجود ندارد. از طرفی، کاهش بیان این پروتئین‌ها در گروه HIIT کمتر بود، اما این

1. Luo

2. Tincknell

یافته به معنای اثرگذاری کمتر این نوع تمرین نیست؛ بلکه می‌تواند بازتاب تفاوت در ماهیت پاسخ سلولی به شدت‌های بالاتر تمرین و تداوم استرس متابولیکی باشد؛ از این رو تفاوت‌های مشاهده‌شده بین دو شدت تمرینی، اهمیت در نظر گرفتن شدت تمرین و پاسخ‌های وابسته به بافت را در مطالعات مرتبط با مسیرهای میتوکندریایی برجسته می‌کند. به طور کلی، این یافته‌ها پتانسیل ورزش را به‌عنوان رویکرد غیردارویی مؤثر برای کمک به حفظ سلامت میتوکندری در دوران سالمندی نشان می‌دهد.

پژوهش حاضر با وجود یافته‌های معنادار، دارای محدودیت‌هایی بود. از جمله محدودیت‌های اصلی، استفاده از مدل سالمندی القایی با دی‌گالاکتوز به جای سالمندی طبیعی است که ممکن است بر تعمیم‌پذیری نتایج به شرایط سالمندی طبیعی تأثیر گذاشته باشد. علاوه بر این، در پژوهش حاضر، تنها دو شدت مختلف تمرین هوازی بررسی شد و مقایسه این یافته‌ها با سایر شیوه‌های تمرینی از جمله تمرینات مقاومتی صورت نگرفت. علاوه بر این، در پژوهش حاضر تنها تعداد محدودی از نشانگرهای کنترل کیفیت میتوکندریایی بررسی شد؛ از این رو پژوهش‌های آتی می‌توانند با ارزیابی سایر مسیرهای مرتبط، تصویری جامع‌تر از اثرات تمرینات ورزشی بر عملکرد میتوکندری در سالمندی ارائه دهند.

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که القای سالمندی با دی-گالاکتوز توانست باعث افزایش درخور توجه بیان پروتئین‌های میتوفاژی PINK1 و Parkin در هیپوکمپ رت‌ها شود؛ در حالی که تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف می‌توانند بیان پروتئین‌های کلیدی مسیر PINK1-Parkin را در هیپوکمپ سالمند تعدیل کنند؛ به‌ویژه تمرین MICT که اثر قوی‌تری بر بیان این پروتئین‌ها نشان داد؛ با این حال، برای دستیابی به درک جامع‌تر اثر ورزش بر میتوفاژی و MQC، انجام مطالعات آینده با بررسی هم‌زمان سایر شاخص‌های میتوفاژی، بیوژنز و پویای میتوکندری و سایر مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط، به‌ویژه در مدل‌های سالمندی طبیعی، ضروری به نظر می‌رسد.

پیام مقاله

یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که هر دو نوع تمرین HIIT و MICT توانستند بهبود درخور توجهی در پروتئین‌های مرتبط با حفظ MQC هیپوکمپ و پیشگیری از پیشرفت تخریب عصبی ناشی از دی-گالاکتوز فراهم کنند. به نظر می‌رسد تمرین MICT در بازگرداندن تعادل MQC در هیپوکمپ مؤثرتر از HIIT بود. این نتایج اهمیت بررسی دقیق‌تر نقش شدت و الگوی تمرینی را در طراحی برنامه ورزشی مناسب برای مدیریت و پیشگیری از سالمندی مغز برجسته می‌کند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه برگرفته از رساله دکتری است. همه مراحل انجام آن، طبق اصول و قوانین مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی وزارت بهداشت و با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش معاونت پژوهش و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان کد IR.UI.REC.1403.027 صورت گرفت.

مشارکت نویسندگان

ایده‌پردازی: محمد فرامرزی

جمع‌آوری داده‌ها: هاجر الهوردی و سیامک بهشتی

تحلیل داده‌ها: هاجر الهوردی و جلیل رئیسی

نوشتن مقاله: هاجر الهوردی

بازبینی و ویرایش: هاجر الهوردی، محمد فرامرزی، جلیل رئیسی و سیامک بهشتی

مرور ادبیات: هاجر الهوردی

مدیر پروژه: محمد فرامرزی

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله با حمایت مالی بنیاد علم ایران به شماره طرح ۴۰۳۰۹۸۱ انجام شد. نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را ابراز می‌دارند.

منابع

1. Fatemi I, Khaluoi A, Kaeidi A, Shamsizadeh A, Heydari S. Protective effect of metformin on D-galactose-induced aging model in mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2018;21(1):19. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2017.24331.6071>.
2. Moreira OC, Estébanez B, Martínez-Florez S, Paz JAd, Cuevas MJ, González-Gallego J. Mitochondrial function and mitophagy in the elderly: effects of exercise. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;(1):012798. <https://doi.org/10.1155/2017/2012798>.
3. Liu H, Zhang X, Xiao J, Song M, Cao Y, Xiao H, Liu X. Astaxanthin attenuates d-galactose-induced brain aging in rats by ameliorating oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and regulating metabolic markers. *Food & Function*. 2020;11(5):4103-13. <https://doi.org/10.1039/D0FO00633E>.
4. Jin Y, Li X, Wei C, Yuan Q. Effects of exercise-targeted hippocampal PDE-4 methylation on synaptic plasticity and spatial learning/memory impairments in D-galactose-induced aging rats. *Experimental Brain Research*. 2024;242(2):309-20. <https://doi.org/10.1007/s00221-023-06749-9>.
5. Swerdlow NS, Wilkins HM. Mitophagy and the brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(24):9661. <https://doi.org/10.3390/ijms21249661>.
6. Zheng Y, Yang J, Li X, Qi L, Zheng Z, Kong J, et al. Mitochondria at the crossroads: Quality control mechanisms in neuronal senescence and neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*. 2025;106862. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2025.106862>.
7. Sukhorukov V, Voronkov D, Baranich T, Mudzhiri N, Magnaeva A, Illarioshkin S. Impaired mitophagy in neurons and glial cells during aging and age-related disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(19):10251. <https://doi.org/10.3390/ijms221910251>.
8. Mishra E, Thakur MK. Mitophagy: A promising therapeutic target for neuroprotection during ageing and age related diseases. *British Journal of Pharmacology*. 2023;180(12):1542-61. <https://doi.org/10.1111/bph.16062>.
9. Zhao N, Zhang X, Li B, Wang J, Zhang C, Xu B. Treadmill exercise improves PINK1/Parkin-mediated mitophagy activity against Alzheimer's disease pathologies by upregulated SIRT1-FOXO1/3 axis in

- APP/PS1 mice. *Molecular Neurobiology*. 2023;60(1):277-91. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03035-7>.
10. Kitagishi Y, Nakano N, Ogino M, Ichimura M, Minami A, Matsuda S. PINK1 signaling in mitochondrial homeostasis and in aging. *International Journal of Molecular Medicine*. 2017;39(1):3-8. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2827>.
 11. Zhao N, Yan Q-W, Xia J, Zhang X-L, Li B-X, Yin L-Y, Xu B. Treadmill exercise attenuates A β -induced mitochondrial dysfunction and enhances mitophagy activity in APP/PS1 transgenic mice. *Neurochemical Research*. 2020;45:1202-14. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03003-4>.
 12. Luo L, Dai J-R, Guo S-S, Lu A-M, Gao X-F, Gu Y-R, et al. Lysosomal proteolysis is associated with exercise-induced improvement of mitochondrial quality control in aged hippocampus. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2017;72(10):1342-51. <https://doi.org/10.1093/gerona/glw242>.
 13. Tran M, Reddy PH. Defective autophagy and mitophagy in aging and Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2021;14:612757. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.612757>.
 14. Liang J, Wang C, Zhang H, Huang J, Xie J, Chen N. Exercise-induced benefits for Alzheimer's disease by stimulating mitophagy and improving mitochondrial function. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2021;13:755665. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.755665>.
 15. Semadhi MP, Mulyaty D, Halimah E, Levita J. Healthy mitochondrial DNA in balanced mitochondrial dynamics: A potential marker for neuro aging prediction. *Biomedical Reports*. 2023;19(3):1-7. <https://doi.org/10.3892/br.2023.1646>
 16. Mishra E, Thakur MK. Alterations in hippocampal mitochondrial dynamics are associated with neurodegeneration and recognition memory decline in old male mice. *Biogerontology*. 2022;23(2):251-71. <https://doi.org/10.1007/s10522-022-09960-3>.
 17. O'Reilly CL, Miller BF, Lewis Jr TL. Exercise and mitochondrial remodeling to prevent age-related neurodegeneration. *Journal of Applied Physiology*. 2023. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00611.2022>.
 18. Zhang Y, Liao B, Hu S, Pan S-Y, Wang G-P, Wang Y-L, et al. High intensity interval training induces dysregulation of mitochondrial respiratory complex and mitophagy in the hippocampus of middle-aged mice. *Behavioural Brain Research*. 2021;412:113384. <https://doi.org/10.1113/JP273950>.
 19. McKie GL, Islam H, Townsend LK, Robertson-Wilson J, Eys M, Hazell TJ. Modified sprint interval training protocols: Physiological and psychological responses to 4 weeks of training. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2018;43(6):595-601. <https://doi.org/10.1139/apnm-2017-0595>.
 20. Kwon I, Jang Y, Lee Y. Endurance exercise-induced autophagy/mitophagy coincides with a reinforced anabolic state and increased mitochondrial turnover in the cortex of young male mouse brain. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2021;71:42-54. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01624-6>.
 21. Shen K, Liu X, Chen D, Chang J, Zhang Y, Kou X. Voluntary wheel-running exercise attenuates brain aging of rats through activating miR-130a-mediated autophagy. *Brain Research Bulletin*. 2021;172:203-11. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.04.027>.
 22. Kou X, Li J, Liu X, Chang J, Zhao Q, Jia S, et al. Swimming attenuates d-galactose-induced brain aging via suppressing miR-34a-mediated autophagy impairment and abnormal mitochondrial dynamics. *Journal of Applied Physiology*. 2017;122(6):1462-9. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00018.2017>.
 23. Khosravi P, Shahidi F, Eskandari A, Khoramipour K. High-intensity interval training reduces Tau and beta-amyloid accumulation by improving lactate-dependent mitophagy in rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2024;27(11):1430. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2024.77038.16664>.

24. Hu J, Cai M, Shang Q, Li Z, Feng Y, Liu B, et al. Elevated lactate by high-intensity interval training regulates the hippocampal BDNF expression and the mitochondrial quality control system. *Frontiers in Physiology*. 2021;12:629914. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.629914>.
25. Memme JM, Erlich AT, Phukan G, Hood DA. Exercise and mitochondrial health. *The Journal of Physiology*. 2021;599(3):803-17. <https://doi.org/10.1113/JP278853>.
26. Burtcher J, Millet GP, Place N, Kayser B, Zanou N. The muscle-brain axis and neurodegenerative diseases: the key role of mitochondria in exercise-induced neuroprotection. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(12):6479. <https://doi.org/10.3390/ijms22126479>.
27. Amirazodi M, Daryanoosh F, Mehrabi A, Gaeini A, Koushkie Jahromi M, Salesi M, Zarifkar AH. Interactive effects of swimming high-intensity interval training and resveratrol supplementation improve mitochondrial protein levels in the hippocampus of aged rats. *BioMed Research International*. 2022; <https://doi.org/10.1155/2022/8638714>.
28. Carvalho C, Santos MS, Oliveira CR, Moreira PI. Alzheimer's disease and type 2 diabetes-related alterations in brain mitochondria, autophagy and synaptic markers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(8):1665-75. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.05.001>.
29. Shwe T, Pratchayasakul W, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Role of D-galactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions. *Experimental Gerontology*. 2018;101:13-36. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.029>.
30. de Almeida Rezende MS, Oliveira de Almeida AJP, Gonçalves TAF, de Azevedo FdLAA, Dantas SH, Silva SdL, et al. D-(+)-Galactose-induced aging: a novel experimental model of erectile dysfunction. *PLoS One*. 2021;16(4):e0249487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249487>.
31. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhas-DE-Castro R, De-Castro CB, Curi R, Pithon-Curi TC. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2007;21(3):751-6.
32. Shanazari Z, Farsani ZH, Faramarzi M, Banitalebi E. MyomiR-OsteomiR crosstalk induced by different modes and intensities of exercise training and its role in controlling osteogenic differentiation in old male Wistar rats. *Experimental Gerontology*. 2021;149:111305. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111305>.
33. Li B, Liang F, Ding X, Yan Q, Zhao Y, Zhang X, et al. Interval and continuous exercise overcome memory deficits related to β -Amyloid accumulation through modulating mitochondrial dynamics. *Behavioural Brain Research*. 2019;376:112171. <https://doi.org/10.1139/apnm-2017-0595>.
34. Dittmar MS, Fehm NP, Vatankhah B, Horn M. Ketamine/xylazine anesthesia for radiologic imaging of neurologically impaired rats: dose response, respiratory depression, and management of complications. *Comparative Medicine*. 2004;54(6):652-5.
35. Ayyubova G, Madhu LN. Microglial NLRP3 inflammasomes in alzheimer's disease pathogenesis: from interaction with autophagy/mitophagy to therapeutics. *Molecular Neurobiology*. 2025:1-20. <https://doi.org/10.1007/s12035-025-04758-z>.
36. Pan S, Guo S, Dai J, Gu Y, Wang G, Wang Y, et al. Trehalose ameliorates autophagy dysregulation in aged cortex and acts as an exercise mimetic to delay brain aging in elderly mice. *Food Science and Human Wellness*. 2022;11(4):1036-44. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.03.028>.
37. Xing Y, Yang S-D, Wang M-M, Feng Y-S, Dong F, Zhang F. The beneficial roles of exercise training via autophagy in neurological diseases and possible mechanisms. *Life Sciences*. 2019;221:130-4. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.02.026>.
38. Narendra D, Tanaka A, Suen D-F, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of Cell Biology*. 2008;183(5):795-803. <https://doi.org/10.1083/jcb.200809125>.

39. De Gaetano A, Gibellini L, Zanini G, Nasi M, Cossarizza A, Pinti M. Mitophagy and oxidative stress: the role of aging. *Antioxidants*. 2021;10(5):794. <https://doi.org/10.3390/antiox10050794>.
40. Zhang J-j, Chen K-c, Zhou Y, Wei H, Qi M-h, Wang Z, et al. Evaluating the effects of mitochondrial autophagy flux on ginsenoside Rg2 for delaying D-galactose induced brain aging in mice. *Phytomedicine*. 2022;104:154341. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154341>.
41. Cai N, Wu Y, Huang Y. Induction of accelerated aging in a mouse model. *Cells*. 2022;11(9):1418. <https://doi.org/10.3390/cells11091418>.
42. Farajpour Khazaei S, Sari Sarraf V. Effect of eight weeks of high-intensity interval training on some indices of liver mitophagy in type 2 diabetic rats. *Yafteh*. 2023;25(1). <https://doi.org/10.48308/joeppa.2023.103909>.
43. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Balça M, Rizo-Roca D, Moreira P, Oliveira P, et al. Physical exercise improves brain cortex and cerebellum mitochondrial bioenergetics and alters apoptotic, dynamic and auto (mito) phagy markers. *Neuroscience*. 2015;301:480-95. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.027>.
44. Marezloo M, Aghaei Bahmanbeglou N, Asgharpour H. The effect of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) on the content of mitochondrial fission and fusion proteins in the left ventricle of old rats. *SSU_Journals*. 2025;32(10):8318-29. <https://doi.org/10.18502/ssu.v32i10.17417>.
45. Ebadi B, Naderi N, Darbandi Azar A, Damirchi A. Interval intensity exercise improves the levels of mitophagy-related proteins and ros in rats with myocardial infarction. *Journal of Exercise and Health Science*. 2021;1(2):19-34. <https://doi.org/10.22089/jehs.2021.9615.1012>.
46. Ahmadi M, Begloo NAB. The effect of training on mitochondrial mitophagy factors in obese male rats. *Journal of Sport & Exercise Physiology (JSEP)*. 2022;15(2). <https://doi: 15.2.10joeppa10.52547>.
47. Tincknell JB, Kugler BA, Spicuzza H, Berger N, Yan H, You T, Zou K. High-intensity interval training attenuates impairment in regulatory protein machinery of mitochondrial quality control in skeletal muscle of diet-induced obese mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2023. <https://doi.org/10.1139/apnm-2023-0286>.
48. Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan K-L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nature Cell Biology*. 2011;13(2):132-41. <https://doi.org/10.1038/ncb2152>.
49. Huang J, Wang X, Zhu Y, Li Z, Zhu YT, Wu JC, et al. Exercise activates lysosomal function in the brain through AMPK SIRT1 TFEB pathway. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2019;25(6):796-807. <https://doi.org/10.1111/cns.13114>.
50. Wahl D, Cavalier AN, LaRocca TJ. Novel strategies for healthy brain aging. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2021;49(2):115-25. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000242>.

پرتال جامع علوم انسانی