

Effects of swimming and MitoQ on mitochondrial dynamics genes in skeletal muscle of rats with spinal cord injury

Mahdiye Moradi¹, Daruosh Moflehi², Soheil Aminizadeh³, Zahra Behroozi⁴

.1 MSc Student in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran. ORCID ID: 0009-0000-9592-7148

2. Associate Professor, Department of exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. ORCID ID: 0000-0003-1861-5161

3 Assistant Professor, Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3651-3505

4 Assistant Professor, Physiology Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, (Corresponding Author), Email: behroozi_2010@yahoo.com, Tel: +983432264071.

. ORCID ID: 0000-0002-8375-7441

ABSTRACT

Background and Aim: Spinal cord injury (SCI) is a condition that causes muscle atrophy and motor disability. An imbalance in mitochondrial dynamics may contribute to motor dysfunction. Considering the effective role of exercise in rehabilitation and the antioxidant effect of MitoQ in neural injury patients, this study aimed to investigate the individual and combined effects of these two treatments on the expression of certain genes involved in mitochondrial fission and fusion pathways in the gastrocnemius muscle of SCI rats.

Materials and Methods: Thirty adult male rats were randomly divided into five groups: Sham, SCI (injury induced at T11-12 using an aneurysm clip), MitoQ group, swimming exercise group, and swimming combined with MitoQ supplementation group. Treatments began two days after SCI induction and continued for 28 days. At the end of the study, after performing the Basso, Beattie, and Bresnahan (BBB) locomotor test, the gastrocnemius muscle was dissected, and the expression of mitochondrial fission genes (Drp-1, Fis-1) and fusion genes (Mfn-2, Opa-1) was evaluated using Real-time PCR. Data were analyzed with GraphPad Prism 9 software.

Results: The results showed that after SCI, motor function significantly decreased compared to the sham group. Treatments (swimming, MitoQ, and the combined therapy) significantly improved motor function, with the best improvement observed in the MitoQ group. Furthermore, the expression of mitochondrial fission and fusion genes in the injury group was markedly increased compared to the control group. Groups receiving only swimming exercise and/or MitoQ supplementation reduced the expression of all four genes significantly ($p < 0.05$).

Conclusion: All three interventions successfully attenuated the aberrant expression of key mitochondrial fission and fusion genes, restoring their levels toward those observed in the control group. These findings suggest that the improvements in motor function may be mediated through the restoration of mitochondrial dynamics by reestablishing the equilibrium between fission and fusion processes.

Keywords: Mitochondria, MitoQ, muscle, spinal cord injury, swimming.

Received: Nov 26, 2024

Accepted: Sep 21, 2025

How to cite the article: Mahdiye Moradi, Daruosh Moflehi, Soheil Aminizadeh, Zahra Behroozi. Effects of swimming and MitoQ on mitochondrial dynamics genes in skeletal muscle of rats with spinal cord injury. SJKU 2025;30(5):27-40

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

تأثیرات شنا و مکمل MitoQ بر ژن‌های دینامیک میتوکنندری در عضله اسکلتی موش‌های دارای آسیب نخاعی

مهديه مرادی^۱، داریوش مفلحی^۲، سهیل امینی زاده^۳، زهرا بهروزی^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۹-۰۰۰۰-۹۵۹۲-۷۱۴۸
۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۳-۰۰۰۰-۱۸۶۱-۵۱۶۱
۳. استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، کد ارکید: ۰۰۰۳-۰۰۰۰-۳۶۵۱-۳۵۰۵
۴. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، (نویسنده مسئول)، پست الکترونیک: behroozi_2010@yahoo.com، تلفن: ۰۳۴-۳۲۲۶۴۰۷۱، کد ارکید: ۰۰۰۲-۰۰۰۰-۸۳۷۵-۷۴۴۱

چکیده

زمینه و هدف: آسیب نخاعی (SCI) یک بیماری است که باعث آتورفی و ناتوانی حرکتی می‌شود. عدم تعادل دینامیک میتوکنندری می‌تواند در ناتوانی حرکتی نقش داشته باشد. با توجه به نقش مؤثر ورزش در توانبخشی و نقش آنتی‌اکسیدانی MitoQ در بیماران آسیب عصبی، بر آن شدیم نقش جداگانه و توأم این دو درمان را بر بیان برخی ژن‌های مسیرهای شکافت و همجوشی میتوکنندری در عضله دوقلو موش‌های مبتلا به SCI بررسی کنیم

مواد و روش‌ها: سی موش صحرایی نر بالغ به‌صورت تصادفی در ۵ گروه تقسیم شدند: شم، SCI (القای آسیب در محل T11-12 با استفاده از گیره آنوریسم)، MitoQ، گروه ورزش شنا و گروه شنا و مکمل MitoQ توأم. تمام گروه‌های درمان، درمان‌ها را دو روز پس از القای SCI شروع و تا ۲۸ روز ادامه دادند. در پایان مطالعه، پس از انجام آزمون حرکتی باسو، بیستی و برسناهان (BBB score)، عضله دوقلوی پا جدا و بیان ژن‌های مسیرهای شکافت (Drp-1, Fis-1) و همجوشی میتوکنندری (Mfn-2, Opa-1) با فن Real-time PCR انجام شد. نرم‌افزار Graph pad Prism 9 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها انتخاب شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد پس SCI عملکرد حرکتی نسبت به گروه شم به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. درمان‌ها (شنا، MitoQ و درمان توأم) عملکرد حرکتی را به‌طور معناداری بهبود بخشیدند که بهترین عملکرد در گروه MitoQ مشاهده شد. از طرف دیگر، بیان ژن‌های مسیرهای شکافت و همجوشی میتوکنندری در گروه آسیب نسبت به گروه شم شدیداً افزایش یافتند. گروه‌هایی که فقط تمرین شنا و/یا مصرف MitoQ داشتند بیان هر ۴ ژن را به‌خوبی کاهش دادند ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: هر سه مداخله با موفقیت بیان نابجای ژن‌های کلیدی تقسیم و ادغام میتوکنندری را کاهش دادند و سطح آن‌ها را به سطح مشاهده‌شده در گروه کنترل بازگرداندند. یافته‌ها نشان می‌دهد که بهبود در عملکرد حرکتی ممکن است از طریق بازیابی دینامیک میتوکنندری با برقراری مجدد تعادل بین فرآیندهای تقسیم و ادغام انجام شود.

کلمات کلیدی: آسیب نخاعی، شنا، عضله، مایتوکیو، میتوکنندری.

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۹/۰۶ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰

پروتئین بزرگ مرتبط با دینامین Dynamin-related protein 1, Drp-1) و پروتئین آداپتور شکافت میتو کندری (Fission Adapter Protein, FIS-1) (در شکافت) و پروتئین آتروفی بصری ۱ (Optic Atrophy 1, Opa-1) و پروتئین‌های میتوفوسین (Mitofusin-2, Mfn2) و (Mitofusin-1, Mfn1) (در همجوشی) تنظیم می‌شود و نقش بسیار مهمی در حفظ عملکرد طبیعی سلول ایفا می‌کند (۶).

Drp-1 از اعضای خانواده بزرگ GTPase، پس از تغییرات پس از ترجمه‌اش، از سیتوزول به غشای خارجی میتو کندری منتقل می‌شود، در آنجا به FIS-1 متصل شده، سپس فرآیند شکافت میتو کندری با مشارکت سایر فاکتورها آغاز می‌شود (۷) پدیده همجوشی با ادغام میتو کندرهای زنده و تکه تکه شده باعث بازگرداندن آن‌ها به چرخه طبیعی میتو کندریایی می‌شود (۸). پروتئین‌های Opa-1 و Mfn2 که همجوشی میتو کندری را در غشای خارجی و داخلی میتو کندری به ترتیب انجام می‌دهند تأثیر بسزایی بر عملکرد میتو کندری دارند (۹).

عدم تعادل دینامیک میتو کندری پس از آسیب نخاعی (۲)، کاهش تعداد میتو کندری و یا مهار انتقال میتو کندری در اکسونها در نهایت منجر به کاهش انرژی موضعی و تخریب اکسونی شدید (axonal degeneration) می‌شوند (۹). این تغییرات با تغییر نوع تارهای عضلانی (از آهسته به تند) منجر به آتروفی عضلانی و نقص حرکتی می‌گردند (۲) و از طرفی دیگر، با کاهش تولید انرژی و افزایش گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) باعث گسترش ایسکمی بافت نخاع پس از آسیب شده که مسئله را وخیم‌تر می‌کند (۱۰)؛ بنابراین، می‌توان از طریق همجوشی و شکافت، میتو کندری را جایگزین یا حذف کرد و از این طریق فیزیولوژی طبیعی سلول را حفظ کرد (۱۱). از آنجا که میتو کندری نقش کلیدی در تولید انرژی و بقای سلول‌های عضلانی دارد، اختلال در دینامیک میتو کندری می‌تواند پیامدهای تخریبی شدیدی پس از آسیب نخاعی اعمال کند؛ بنابراین، توجه به

آسیب نخاعی (Spinal Cord Injury, SCI) یک وضعیت ناتوان کننده است که منجر به کاهش تحریک پذیری عصبی، ضعف واسپاسم عضلانی و فلج زیر سطح آسیب می‌شود. سالانه تقریباً ۲۵۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند. این شرایط هزینه‌های گزافی را بر فرد و جامعه تحمیل می‌کند (۱). در حدود ۷۰٪ بیماران مبتلا به SCI اسپاسم عضلانی، پوکی و شکستگی استخوان و آتروفی عضلانی شایع است که شدیداً کیفیت زندگی آن‌ها را کاهش می‌دهد (۲)؛ بنابراین، یافتن راهکارهای درمانی مؤثر و کم هزینه، از اهمیت بالایی برخوردار است.

پاتوفیزیولوژی دقیق آسیب نخاعی مشخص نیست ولی رویدادها در دو فاز اولیه و ثانویه رخ می‌دهد. فاز اولیه بلافاصله پس از آسیب شروع می‌شود. فاز ثانویه پیامد فاز اولیه است و با آسیب به عروق خونی، ایسکمی، هیپوکسی و اختلالات متابولیک میتو کندری در نخاع همراه است. این اختلالات منجر به کاهش فعالیت سلولی وابسته به آدنوزین تری فسفات (Adenosine triphosphate, ATP) می‌شوند. این شرایط استرس اکسیداتیو، سمیت اسید آمینه تحریکی و از بین رفتن میلین اعصاب را تشدید می‌کند (۳) که در نهایت زمینه‌ساز تغییرات ساختاری و عملکردی عضلات اسکلتی نظیر کاهش قطر فیبرهای عضلانی، کاهش نیروی انقباض ارادی، کاهش متابولیسم و تأخیر در تبدیل فیبرهای کند انقباض به تند انقباض می‌شود (۴).

در سال‌های اخیر، نقش دینامیک میتو کندری شامل شکافت (Fission) و همجوشی (Fusion) در بیماری‌های آسیب عصبی (neurodegenerative) اهمیت فزاینده‌ای پیدا کرده است. شواهد نشان می‌دهد که در شرایط پاتولوژی، تقسیمات غیرطبیعی میتو کندری، نقش مهمی در بروز و توسعه بیماری‌های مانند آلزایمر، پارکینسون، مالتیل اسکلروز (MS) و ... ایفا می‌کند (۵). تعادل بین فرایند همجوشی و شکافت میتو کندری توسط پروتئین‌های مانند

نقش میتو کندری در آسیب‌های نخاعی می‌تواند راهگشای درمان‌های نوین باشد.

تمرینات ورزشی به‌ویژه شنا، به‌عنوان یکی از مؤثرترین و قابل‌اعتمادترین مداخله در بهبود عملکرد حرکتی پس از آسیب نخاع در مطالعات پیش‌بالینی شناخته‌شده است (۱۲)؛ زیرا بخشی از رفتارهای غریزی حیوان‌ها هستند و در یک دوره تمرینی مشخص، به چرخه‌های گام بیشتری نسبت به تردمیل دست می‌یابند (۱۳).

از سوی دیگر، استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند MitoQ از یک کاتیون لیپوفیلک، تری فنیل فسفونیوم تشکیل شده است که توسط یک زنجیره آلکیل ۱۰ کربنی اشباع‌شده به یوبیکینون متصل شده است و پس از ورود به میتو کندری، یوبیکینون توسط کمپلکس ۲ به شکل فعال یوبیکینول احیا می‌شود که به‌طور اختصاصی وارد میتو کندری می‌شود، توجه زیادی از محققین را برای درمان بیماری‌های عصبی عضلانی به خود جلب کرده است. این مکمل با حذف سریع ROS، از ساختار و عملکرد میتو کندری در مقابل استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند و از این طریق باعث کاهش آتروفی عضلانی (۱۴). چارچوب مفهومی این مطالعه بر این پیش‌فرض استوار است که آسیب نخاعی با اختلال در دینامیک میتو کندری باعث کاهش عملکرد حرکتی می‌شوند. همچنین، تمرین شنا و مصرف مکمل MitoQ هرکدام به نحوی در بهبود وضعیت میتو کندریایی و کاهش استرس اکسیداتیو مؤثر هستند و ترکیب این دو می‌تواند اثرات درمانی تقویت‌شده‌ای داشته باشد. با توجه به اینکه مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و تمرینات ورزشی در دوران توانبخشی برای کاهش اثرات ثانویه آسیب نخاعی در عضله اسکلتی مورد توجه هستند (۱۵)، لذا در تحقیق حاضر نیز سعی شد اثرات ثانویه که بیشتر روی عضلات اسکلتی اثرگذار است مورد بررسی قرار بگیرد؛ بنابراین هدف این مطالعه بررسی تأثیر تمرین شنا به‌تنهایی و همراه با مصرف مکمل MitoQ بر بیان ژن‌های کلیدی مسیرهای شکافت (Drp-1 و FIS-1) و همجوشی

(Mfn2, Opa-1) میتو کندری در عضله اسکلتی حیوانات آسیب نخاعی است

فرضیه اصلی پژوهش این است که مداخله ترکیبی تمرین شنا و مصرف مکمل MitoQ، در مقایسه با هرکدام به‌تنهایی، باعث تنظیم بهتر بیان ژن‌های دخیل در دینامیک میتو کندری و در نتیجه بهبود عملکرد سلولی و کاهش آتروفی عضلانی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

این طرح در دانشگاه باهنر کرمان تصویب شد. سی سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۱۰-۲۰۰ گرم) از حیوانخانه مرکز تحقیقات فیزیولوژی خریداری و در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دما 22 ± 2 سانتی‌گراد، رطوبت حدود ۵۵ درصد و دسترسی آزادانه به آب و غذای استاندارد) نگهداری شدند. پس از یک هفته سازگاری با محیط، حیوانات به روش تصادفی ساده به ۵ گروه (تعداد در هر گروه = ۶) زیر تقسیم شدند

- گروه شم (گروهی که فقط لامینکتومی شدند و هیچ درمانی را دریافت نکردند)
- گروه آسیب نخاعی (SCI) (گروهی که نخاع آن‌ها به‌وسیله گیره انوربسم فشرده شدند و هیچ درمانی دریافت نکردند)
- گروه ورزش شنا (حیواناتی که تمرین شنا را دو روز پس از آسیب با SCI که به مدت ۴ هفته انجام دادند).
- گروه MitoQ (حیواناتی که MitoQ را به میزان ۲۵۰ میکرو مولار ($250 \mu\text{M/L}$) در لیتر دو روز پس از آسیب SCI به مدت ۴ هفته دریافت کردند)
- گروه شنا و مکمل MitoQ (حیواناتی که تمرین شنا و MitoQ توأم به مدت ۴ هفته پس از آسیب SCI دریافت کردند).

ایجاد مدل ضایعه نخاعی:

حیوانات توسط (کتامین ۱۰۰ و زایلازین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) بیهوش شدند. پس از تراشیدن موهای پشت حیوانات، برش و کنار زدن عضلات در سطح T11 تا T12، لامینکتومی در محل اتصال مهره‌های T11 و T12 بدون آسیب به سخت‌شامه انجام شد. پس از مشاهده نخاع، به منظور ایجاد آسیب نخاعی شدید، گیره Micro Vascular (RS 6472 و v2 با تولید نیرویی معادل $45-35 \text{ gr/cm}^2$) به صورت کاملاً عمود به مدت ۱۲۰ ثانیه روی آن قرار گرفت پس از بخیه عضلات و پوست، حیوانات در قفس‌های استریل قرار داده شدند. بعد از دو روز، موش‌های که وضعیت حرکتی آن‌ها بر اساس آزمون حرکتی (Basso, Beattie and Bresnahan (BBB)) چهار و کمتر از آن بود وارد مطالعه گردید. تمام موش‌های جراح شده دارای BBB Score زیر ۴ بودند. برای جلوگیری از عفونت محل جراحی، محلول تتراسایکلین یک بار در روز روی ضایعه اسپری شد. ماساژمthane دوبار در روز تا زمانی که حیوانات توانایی ادرار کردن را به دست آورد، انجام شد (۱۷).

آزمون رفتاری:

برای بررسی وضعیت حرکتی حیوان از آزمون رفتاری حرکتی BBB استفاده می‌شود. مقیاس نمره بندی آن از ۰ تا ۲۱ است، به طوری که نمره کمتر نشان‌دهنده اختلال بیشتر در وضعیت حرکتی حیوان است.

پروتکل تمرین شنا:

دو روز بعد از ایجاد آسیب نخاعی، موش‌ها با محیط استخر آب آشناسازی شدند به این صورت که هر یک از موش‌های متعلق به گروه‌های تمرینی را در آب قرار داده و هر موش چند دقیقه (با توجه به تحمل هر موش) تمرین شنا را به صورت غریزی انجام دادند. در روزهای بعد، حیوانات ۶ و هله ۵ دقیقه‌ای در هر روز، ۵ روز در هفته و به مدت ۴ هفته شنا را انجام دادند (حدود ۳۰ دقیقه در هر روز). دمای

آب برای تمرین شنا ۲۵ تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد و هر روز قبل از شروع تمرین شنا، دما با استفاده از دماسنج اندازه‌گیری می‌شد (۱۸).

روش تهیه مکمل:

مکمل (MitoQ Ltd, New Zealand MitoQ) به صورت روزانه به میزان ۲۵۰ میکرومولار در لیتر ($250 \mu\text{M/L}$) تهیه‌شده و به صورت محلول در آب به موش‌های گروه‌های ۴ و ۵، حداقل ۴ ساعت قبل از شروع پروتکل تمرینی، به مدت ۴ هفته خوراندند (۱۹). در تحقیقات قبلی، بارگیری مکمل، از روش HPLC تأیید شد (۲۰) و میزان مصرف آب نیز هر دو روز یک‌بار در پروژۀ حاضر بررسی شد. انتخاب دوز بر اساس مطالعات قبلی (۱۹، ۲۰) انجام شد.

نمونه‌گیری بافتی و آنالیز آزمایشگاهی:

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، حیوانات با همان دوز قبلی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. بافت عضله دوقلو (Gastrocnemius) پای چپ پس از جدا سازی فوراً به ازت مایع و سپس به فریزر -80°C درجه منتقل شد.

بررسی بیان ژن:

استخراج RNA مطابق با پروتکل کیت شرکت سیناکلون انجام شد. برای ارزیابی بیان ژن، ۵۰ میکروگرم از بافت عضله دوقلو را برداشته و به روش هاون کوبی پودر گردید. سنتز cDNA با استفاده از $1 \mu\text{g}$ از RNA و با استفاده از Random hexamer primer و آنزیم Mulv Reverse transcriptase انجام گرفت. Real time - PCR با استفاده از غلظت Premix syber green II و با استفاده از غلظت 100ng از cDNA انجام گرفت. از 18S به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده گردید. برنامه مورد استفاده در Real time شامل: 95°C به مدت ۱۰ دقیقه - 95°C به مدت ۱۵ ثانیه، 60°C به مدت ۱ دقیقه (تکرار چرخه ۴۰) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ اندازه‌گیری شد. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ ارائه شد.

جدول ۱. توالی پرایمرها

ژن‌ها	Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'
Drp-1	GCAGCCGTAGTCCTCAAAGA	CTCCACCTTTTGAAGCCAGG
Fis-1	CTGTTACAGACTGAGCCCCA	TGAGGCCTGTCACTTTCTT
Mfn-2	AGTCGGTTGGAAGTCACTGT	TGTACTCGGGCTGAAAGGAG
Opa-1	CCGTGTGAGCAGAAGAACAC	AGCCTCAAGGCCAACTATGT
GAPDH	AACGACCCCTTCATTGAC	TCCACGACATACTCAGCAC

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

نرمال بودن توزیع داده با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنف و همگنی واریانس‌ها نیز به وسیله آزمون لوین مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، آنالیز آماری One way ANOVA (Tukey Post Hoc) استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار ۹ Graph pad Prism 0. مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها به صورت $Mean \pm SD$ بیان شدند. در همه آنالیزها $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی داری لحاظ شد.

یافته‌ها

آمار توصیفی مربوط به متغیرها در گروه‌های تمرین شنا و مکمل MitQ جداگانه و توام
نتایج آماری نشان می‌دهد که آسیب نخاعی بیان ژن‌های مؤثر در شکافت (Fis-1 و Drp1) و همجوشی میتوکنندری (Mfn2 و Opa1) را شدیداً نسبت به گروه شم افزایش داده است و عملکرد حرکتی را شدیداً کاهش می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پیامدهای آسیب نخاعی مانند ناتوانی حرکتی می‌تواند تحت تأثیر عدم تعادل در شکافت و همجوشی میتوکنندری قرار گیرد (جدول ۲)

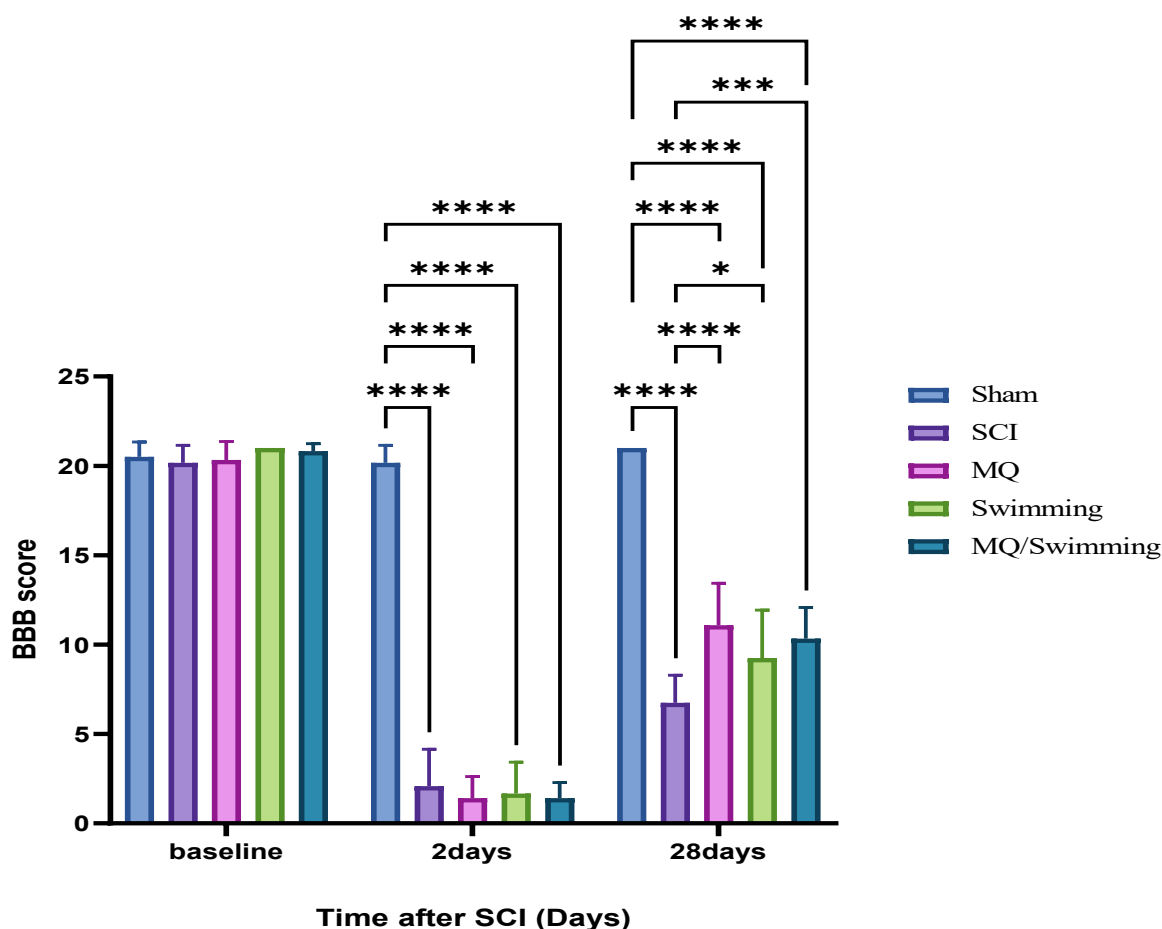
جدول ۲. مقایسه عملکرد حرکتی و میزان بیان ژن‌ها شکافت (Fis-1 و Drp-1) و همجوشی (Mfn1 و Opa-1) در گروه‌های مختلف مطالعه

گروه متغیرها	گروه شم (n=6)		گروه تمرین شنا (n=6)		گروه آسیب نخاعی (n=6)		گروه مکمل MitQ (n=6)		گروه تمرین شنا و مکمل (n=6)	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
BBB Score	۲۱	۰	۱۱.۰۸۳	۲.۳۵	۹.۲۵	۲.۶۷۹	۱۰.۳۲	۱.۷۵		
Drp-1	۱.۱۶۲	۰.۲۹۸۶	۱.۷۴۶	۰.۹۴۲۴	۱.۹۰۸	۰.۸۰۵۸	۲.۴۳۰	۱.۸۴۷		
Fis-1	۱.۰۰۹	۰.۴۶۸۱	۱.۰۵۰	۰.۷۹۵	۰.۸۱۲۳	۰.۳۰۶۱	۱.۳۶۳	۰.۷۹۸		
Mfn-2	۱.۰۸۳	۰.۵۸۶۲	۰.۵۲۳۵	۰.۲۱۷۲	۱.۰۰۱	۰.۴۷۷۸	۱.۰۵۸	۰.۶۹۶۱		
Opa-1	۱.۱۳۹	۰.۳۴۹۲	۱.۲۸۱	۰.۹۰۵۹	۱.۵۸۲	۰.۷۵۵۰	۱.۶۷۲	۱.۱۰۰		

شنا به تنهایی و گروهی که با هردو تیمار شدند توانستند حرکت را نسبت به گروه آسیب بهبود ببخشند ($p < 0.0001$ ، $p = 0.032$ و $p = 0.0005$ به ترتیب) اما هیچ‌یک از درمان‌ها نتوانست عملکرد حرکتی را به سطح کنترل برساند (نمودار ۱)

اثر تمرین شنا و مکمل MitQ جداگانه و توام بر عملکرد حرکتی (BBB scores)

نتایج پژوهش نشان داد در پایان مطالعه، حیواناتی که آسیب نخاعی را تجربه کردند با کاهش شدید حرکت مواجهه شدند ($p < 0.0001$) و حیواناتی که MitQ به تنهایی، تمرین



نمودار ۱. عملکرد حرکتی در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

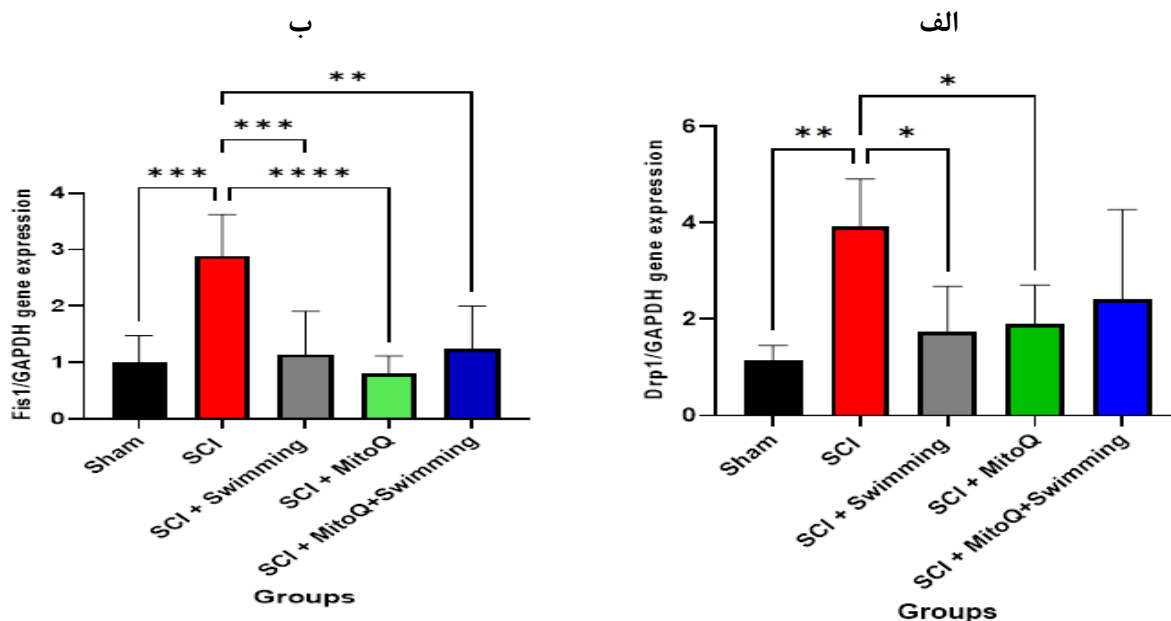
ژن تفاوت معناداری بین این گروه و گروه آسیب مشاهده نشد (نمودار ۲- الف).

بیان ژن Fis-1:

داده‌های آماری نشان دادند که بیان ژن *Fis-1* در گروه آسیب نخاعی به‌طور فراوان نسبت به گروه شم افزایش داشته است (۲۸۶ برابر؛ $p=0.003$). در سایر گروه‌ها درمان شامل: تمرین شنا، مکمل *MitoQ* به‌تنهایی و گروه درمان توام شنا و مکمل، علاوه بر کاهش معنادار بیان ژن *Fis-1* در عضله دوقلو ($p=0.0004$ ، $p<0.0001$ و $p=0.0035$ به ترتیب)، توانستند سطح بیان ژن را به نزدیکی سطح آن در گروه شم برسانند (نمودار ۲- ب).

اثر تمرین شنا و مکمل *MitoQ* جداگانه و توام بر روی بیان ژن‌های درگیر در شکاف میتوکندری بیان ژن Drp1:

داده‌های آماری نشان داد که بیان ژن *Drp1* در گروه آسیب نخاعی نسبت به گروه شم بیک افزایش تقریبی ۳.۴ برابری داشته است ($p=0.0015$). همچنین گروه‌های که تمرین شنا و مکمل *MitoQ* را به‌تنهایی دریافت کرده بودند بیان ژن *Drp1* را به‌طور معناداری نسبت به گروه آسیب کاهش داده (۲.۲۵ برابر؛ $p=0.0149$ و $p=0.027$ به ترتیب) و به سطح کنترل نزدیک کردند. اگرچه درمان توام شنا و مکمل توانسته بود بیان ژن را کاهش دهد ولی در سطح بیان



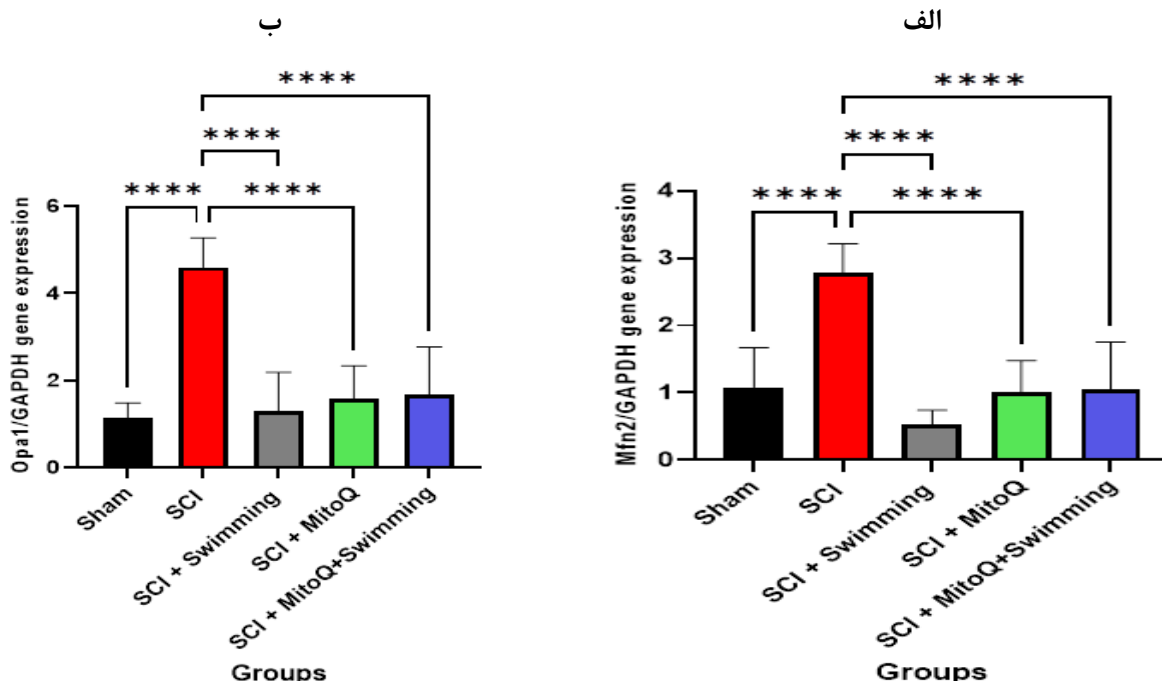
نمودار ۲. تغییرات بیان ژن‌های Drp1 و Fis-1 در گروه‌های مختلف مطالعه را نشان می‌دهد.

اثر تمرین شنا و مکمل MitQ جداگانه و توأم بر روی بیان ژن‌های درگیر در همجوشی میتوکندری بیان ژن Mfn2.

داده‌های آماری نشان دادند که بیان ژن Mfn2 در گروه آسیب نخاعی به‌طور فراوان نسبت به گروه شم افزایش داشته است ($p < 0.0001$). هر سه گروه درمان ما، گروه شنا و کاهش معنادار بیان ژن Mfn2 در عضله دوقلو ($p < 0.0001$) است، توانستند تقریباً سطح بیان ژن را به سطح آن در گروه شم برسانند (نمودار ۳-الف).

بیان ژن Opa-1:

داده‌های آماری نشان دادند که بیان ژن Opa-1 در گروه آسیب نخاعی به‌طور فراوان نسبت به گروه شم افزایش داشته است ($p < 0.0001$). هر سه گروه درمان ما، گروه شنا و مکمل MitoQ به‌تنهایی و درمان همزمان آن باعث کاهش معنادار بیان ژن Opa-1 در عضله دوقلو حیوانات تحت در مکان شدند ($p < 0.0001$) (نمودار ۳-ب).



نمودار ۳. تغییرات بیان ژنهای *Opa-1* و *Mfn2* در گروه‌های مختلف مطالعه را نشان می‌دهد.

بحث

در سال‌های اخیر، نقش دینامیک میتوکنندری در بیماری‌های آسیب عصبی اهمیت فزاینده‌ای پیدا کرده است. با توجه به پیچیدگی تعاملات میان آسیب نخاعی، دینامیک میتوکنندری و تأثیر تمرین ورزشی و مکمل MitoQ، تدوین یک چارچوب مفهومی روشن و دقیق که این ارتباطات پیچیده را به‌طور سامانمند بررسی کند، چالشی مهم است. شواهد تائید کرده‌اند که در شرایط پاتولوژی، تقسیمات غیرطبیعی میتوکنندری مشاهده می‌گردد. میتوکنندری‌ها به‌عنوان محل اصلی تولید سوپراکسید در عضلات اسکلتی شناخته شدند و تقریباً ۰.۱۵٪ از اکسیژن مصرفی میتوکنندری‌ها در حین فعالیت به سوپراکسید تبدیل می‌شود. مطالعات نشان دادند که افزایش ROS در میتوکنندری عضلات و اعصاب، موجب تخریب میتوکنندری و درنهایت آتروفی عضلانی می‌شود که می‌تواند نقش مهمی در ناتوانی حرکتی داشته باشد (۲۱).

دو فرایند همجوشی و شکافت میتوکنندری از عوامل مهم تعیین شکل، تعداد میتوکنندری و دینامیک آن نقش دارند. این فرایندها توسط برخی پروتئین‌ها مانند پروتئین‌های مانند *Mfn-2* (۹، ۲۲)، *Opa-1* و *Fis-1*، *Drp-1* انجام می‌شود؛ بنابراین، میزان و عملکرد این پروتئین‌ها نقش مهمی در عملکرد کلی میتوکنندری دارند (۲۳).

مطالعات قبلی نشان داد که تقسیمات غیرطبیعی میتوکنندری، به‌ویژه با واسطه فاکتورهای شکافت میتوکنندری مانند *Drp-1* و *Fis-1*، نقش مهمی در بروز و توسعه بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، بیماری هانتینگتون و غیره بازی می‌کنند (۵). همچنین، افزایش پروتئین *Drp-1* با افزایش جذب کلسیم پس از آسیب نخاعی، باعث فعال شدن سیستم یوبیکوئیتین-پروتئازوم (Ubiquitin-Proteasome System, UPS) می‌شود. این سیستم درنهایت منجر به کاهش پروتئین‌های مسیر همجوشی میتوکنندری (*Opa-1* و *Mfn-2*) می‌گردد که باعث اختلال در دینامیک

در مطالعه حاضر کاهش عملکرد حرکتی در گروه آسیب نسبت به سایر گروه‌ها مشهود است که می‌تواند به دلیل عدم تعادل نرمال در فرایند شکافت و همجوشی میتوکندری باشد. مطالعات نشان دادند که به ترتیب در مراحل اولیه و اواخر SCI کاهش پتانسیل غشای میتوکندری به دلیل تغییر دینامیک میتوکندری باعث افزایش آزادسازی سیتوکروم c و القای پروسه آپوپتوز می‌شوند که در نهایت منجر به ایجاد و گسترش آسیب‌های ناشی از این بیماری از جمله ناتوانی حرکتی می‌شود (۳۰).

همچنین اختلاف نتایج بین مطالعات می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع مدل آسیب، شدت آسیب، نوع و شدت تمرین ورزشی، نوع بیماری و حتی شرایط محیطی مانند دمای آب استخر و محل فسفریلاسیون پروتئین‌های مؤثر در عملکرد میتوکندری باشد. برای مثال محل فسفریلاسیون *Drp-1* در جایگاه‌های مختلف می‌تواند نقش متضادی در تنظیم شکافت میتوکندری داشته باشد که این موضوع پیچیدگی بیشتری به تفسیر نتایج پژوهش می‌بخشد. فسفریلاسیون *Drp-1* در جایگاه سیرین ۶۳۷ و ۶۵۶ شکافت میتوکندری را مهار می‌کند، درحالی‌که فسفریلاسیون *Drp-1* در سیرین ۶۱۶، ۵۷۹ و ۶۰۰ شکافت میتوکندری را تقویت می‌کند (۲۵). بسته به محل فسفریلاسیون *Drp-1* و فعال شدن آن ممکن است پتانسیل غشا از طریق حساس شدن منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندری (mPTP) و افزایش تولید ROS از بین برود. ورزش به‌تنهایی با کاهش فسفریلاسیون *Ser616* و در نتیجه کاهش بیان پروتئین *Drp-1* باعث افزایش پتانسیل غشای میتوکندری، کاهش نفوذپذیری میتوکندری و بهبود کارایی میتوکندری می‌شود (۳۱). مطالعه‌ای نیز نشان داد که دمای آبی که حیوان در آن شنا می‌کند می‌تواند در بیان ژن‌های مربوط به همجوشی و شکافت میتوکندری بسیار مؤثر باشد و بیان ژن‌های *Opa-1*، *Mfn2* و *Drp-1* در دمای بالا (۳۶ درجه سانتی‌گراد) نسبت به آب با دمای پایین‌تر (۵ درجه سانتی‌گراد) کاهش یافته است (۳۲).

میتوکندری و آتروفی عضلانی و در نتیجه کاهش عملکرد حرکتی می‌شود (۲۴، ۲۵). در مطالعه حاضر برخلاف مطالعات بالا، در گروه آسیب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با فرآیندهای شکافت (*Drp-1* و *Fis-1*) با افزایش ژن‌های مرتبط با همجوشی (*Opa-1* و *Mfn-2*) همراه بود همچنین یک بهبود جزئی در عملکرد حرکتی موش‌های آسیب‌دیده مشاهده شد که نشانگر یک پاسخ جبرانی است که به‌واسطه جوانه زدن اکسونها اتفاق می‌افتد (۲۶). برخی مطالعات پیشین مشابه مطالعه حاضر نشان داده‌اند که پس از آسیب‌های عصبی، سلول‌ها ممکن است به‌صورت همزمان فرایندهای همجوشی و شکافت را افزایش دهند تا از طریق بازسازی و تفکیک میتوکندری‌های آسیب‌دیده، تعادل عملکردی را حفظ کنند (۲۷، ۲۸)؛ برای مثال، در مدل ایسکمی گذرا مغزی در موش‌ها، بیان پروتئین‌های همجوشی میتوکندری (*Opa1* و *Mfn1*) و شکافت *Drp1* و *Fis1* هر دو به‌طور همزمان افزایش یافتند. این تغییرات نشان‌دهنده تلاش سلولی برای بازیابی عملکرد میتوکندری و مقابله با آسیب ایسکمی است (۲۸). مطالعه دیگر نشان می‌دهد که در آسیب‌های نورونی مرتبط با بیماری آلزایمر، افزایش فعالیت *Drp1* باعث افزایش شکافت میتوکندری می‌شود. در این شرایط هم‌زمان برخی فرآیندهای همجوشی نیز فعال می‌شوند (۲۹). این مطالعات، افزایش هم‌زمان بیان پروتئین‌های همجوشی و شکافت را یک پاسخ پیچیده و تطبیقی می‌دانند که احتمالاً برای جلوگیری از تجمع میتوکندری‌های معیوب و کاهش استرس اکسیداتیو فعال می‌گردد.

بنابراین، با استناد به مطالعات فوق، می‌توان گفت که در مطالعه حاضر نیز آسیب اولیه موجب افزایش شکافت میتوکندری شده است و در پاسخ جبرانی، بیان ژن‌های مرتبط با همجوشی افزایش یافته تا از تخریب بیش‌ازحد میتوکندری جلوگیری کند. این فرآیند احتمالاً نقش مهمی در ایجاد پاسخ جبرانی و بهبود نسبی عملکرد حرکتی پس از آسیب نخاعی ایفا می‌کند.

افزایش فرایند همجوشی پس از درمان نقش موثرتری در بهبود عملکرد میتوکندری دارد. همچنین ممکن است محل فسفوریلاسیون *Drp-1* بین گروه‌های درمان متفاوت باشد و از طرف دیگر مکانیسم متفاوت اثر MitoQ بر بیان ژن *Drp-1* در درمان توام که می‌تواند علت عدم کاهش معنی‌دار این ژن باشد، زیرا MitoQ بیشتر از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش ROS عمل می‌کند و تأثیر مستقیم بر بیان *Drp-1* ندارد (۳۷). همچنین پروتئین *Drp1* که باعث شکافت میتوکندری می‌شود، بیشتر توسط تغییراتی که بعد از ساخته‌شدن پروتئین (مثل فسفوریلاسیون) روی آن انجام می‌شود کنترل می‌شود. یعنی اینکه میزان فعالیت *Drp1* به‌طور مستقیم به مقدار ROS یا آنتی‌اکسیدان‌ها مثل MitoQ ربطی ندارد، بلکه بیشتر به این تغییرات پس از ساخته‌شدن پروتئین وابسته است (۳۸). بنابراین، احتمالاً این دو مسیر هم‌افزایی قدرتمندی ندارند و همین موضوع باعث عدم کاهش معنی‌دار *Drp-1* در درمان ترکیبی شده است (۳۹)، ۴۰) درحالی‌که بهبود عملکرد حرکتی حفظ‌شده است. برای اثبات این فرضیه، مطالعات بیشتر با تمرکز بر فعالیت پروتئین‌ها و فسفوریلاسیون *Drp-1* لازم است.

فرضیه پژوهش بر اساس شواهد تجربی و منابع معتبر شکل گرفته، اما برای تأیید آن نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر با استفاده از روش‌های عملکردی مانند ارزیابی پتانسیل غشا، میزان ATP و تولید ROS و همچنین شواهد بیوشیمیایی از جمله فعالیت پروتئین‌ها و تغییرات فسفوریلاسیون است و این موارد جز محدودیت‌های مطالعه حاضر نیز محسوب می‌شود؛ بنابراین، یافته‌های فعلی صرفاً به‌عنوان مشاهدات توصیفی مطرح‌شده و نیازمند تحقیقات تکمیلی برای کشف مکانیسم دقیق‌تر در آینده می‌باشند.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که MitoQ و شنا می‌توانند به‌طور جداگانه و همراه با هم اثرات آسیب‌نخاعی روی همجوشی و شکافت میتوکندری را معکوس کند و این اثر در مسیر

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد ۴ هفته تمرین هوازی سبب کاهش معنی‌داری در بیان ژن *Fis-1* و در نتیجه کاهش شکافت میتوکندری به دنبال آسیب نخاعی می‌شود. مشخص‌شده است با انجام تمرینات ورزشی می‌توان از بیان بیش‌ازحد *Fis-1* در بیماری‌های مختلف جلوگیری کرد (۳۳). نتایج به‌دست‌آمده در این بخش در سایر مطالعات نیز تأیید شده است و می‌توان گفت کاهش بیان ژن‌های شکافت میتوکندری (*Drp-1* و *Fis-1*) سبب کاهش آپوپتوز از طریق کاهش انتشار سیتوکروم c می‌شود (۳۴). مطالعات نشان داده‌اند که اثرات MitoQ بر عملکرد میتوکندری ممکن است بسته به نوع بافت هدف و شرایط آسیب متفاوت باشد؛ برای مثال، در هیپوکامپ MitoQ تأثیر قابل‌توجهی بر تنظیم ژن‌های دینامیک میتوکندری نداشته است اما توانسته با کاهش استرس اکسیداتیو به بهبود عملکرد بافت کمک کند (۳۵).

مطالعه دیگر نشان داد که دست‌کاری سطح بیان پروتئین‌های *Drp-1* و *Opa-1*، می‌تواند حساسیت به آپوپتوز را تغییر دهد و سلول حاوی ژن *Opa-1* احتمالاً با عملکرد پروپوپتوز *hFis-1* مقابله کرده و سلول را در مقابل آپوپتوز حفظ می‌کند به همین علت سلول‌های که پروتئین‌های *Opa-1* آن‌ها تخلیه شدند به القای آپوپتوز اگزوزن بسیار حساس می‌شوند (۳۶). یافته‌های پژوهش حاضر نیز نشان دادند که کاهش بیان *Opa-1* در گروه شنا با کاهش عملکرد حرکتی همراه بوده است. این موضوع با نتایج مطالعات قبلی مطابقت دارد (۳۶)

تمامی گروه‌های درمانی (شنا، MitoQ و ترکیبی) باعث بهبود عملکرد حرکتی فراوان نسبت به گروه آسیب‌شدند و بیان ژن‌های *Opa-1* و *Mfn-2* و *Fis1* را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه آسیب کاهش دادند. آنچه در مطالعه حاضر جالب بود گروهی است که درمان‌ها را توأم دریافت کردند کاهش معناداری در سطح بیان ژن *Drp-1* در عضله مشاهده نشد. ولی باعث بهبود عملکرد حرکتی بهتر از گروه شنا و کمتر از گروه مکمل شد. این موضوع تأیید می‌کند که

IR.KMU.AEC.1402.020 است. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده تربیت‌بدنی دانشگاه شهید باهنر کرمان، واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی جیرفت و کلیه افرادی که با همکاری بی‌دریغشان در اجرای پژوهش حاضر ما را یاری نموده‌اند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

همجوشی بیشتر مشهود است. به‌طورکلی به نظر می‌رسد ورزش هوازی و مکمل MitoQ هر دو به بهبود شرایط و توانبخشی بیماران مبتلا به آسیب نخاعی کمک می‌کنند اما انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه به‌ویژه در نمونه انسانی مبتلا به آسیب نخاعی به‌منظور تعیین شدت و مدت تمرین هوازی و تعیین دوز مکمل مصرفی، ضروری است.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر (پایان‌نامه) توسط دانشگاه شهید باهنر کرمان با شماره ۲۳۰۵۷۳۹۴ حمایت مالی شده است. همچنین این مطالعه بخشی از طرح با کد اخلاق

منابع

1. Quadri SA, Farooqui M, Ikram A, Zafar A, Khan MA, Suriya SS, et al. Recent update on basic mechanisms of spinal cord injury. *Neurosurg Rev.* 2020;43(2):425-41.
2. Cheng L, Cai B, Lu D, Zeng H. The role of mitochondrial energy metabolism in neuroprotection and axonal regeneration after spinal cord injury. *Mitochondrion.* 2023;69:57-63.
3. Liu C, Liu Y, Ma B, Zhou M, Zhao X, Fu X, et al. Mitochondrial regulatory mechanisms in spinal cord injury: A narrative review. *Medicine.* 2022;101(46):e31930.
4. Fu J, Wang H, Deng L, Li J. Exercise Training Promotes Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *Neural Plast.* 2016;2016:4039580.
5. Shi W, Tan C, Liu C, Chen D. Mitochondrial fission mediated by Drp1-Fis1 pathway and neurodegenerative diseases. *Reviews in the Neurosciences.* 2023;34(3):275-94.
6. Otera H, Ishihara N, Mihara K. New insights into the function and regulation of mitochondrial fission. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2013;1833(5):1256-68.
7. Losón OC, Song Z, Chen H, Chan DC. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission. *Mol Biol Cell.* 2013;24(5):659-67.
8. Menezes TN, Ramalho LS, Bechara LR, Ferreira JCB. Targeting mitochondrial fission-fusion imbalance in heart failure. *Current Tissue Microenvironment Reports.* 2020;1:239-47.
9. Sheng Z-H, Cai Q. Mitochondrial transport in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Nature Reviews Neuroscience.* 2012;13(2):77-93.
10. Calo L, Dong Y, Kumar R, Przyklenk K, H Sanderson T. Mitochondrial dynamics: an emerging paradigm in ischemia-reperfusion injury. *Current pharmaceutical design.* 2013;19(39):6848-57.
11. Chang JC, Liu KH, Li YC, Kou SJ, Wei YH, Chuang CS, et al. Functional recovery of human cells harbouring the mitochondrial DNA mutation MERRF A8344G via peptide-mediated mitochondrial delivery. *Neurosignals.* 2013;21(3-4):160-73.
12. Fu J, Wang H, Deng L, Li J. Exercise training promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neural plasticity.* 2016;2016(1):4039580.

13. Smith RR, Shum-Siu A, Baltzley R, Bunger M, Baldini A, Burke DA, et al. Effects of swimming on functional recovery after incomplete spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma*. 2006;23(6):908-19.
14. Mao P, Manczak M, Shirendeb UP, Reddy PH. MitoQ, a mitochondria-targeted antioxidant, delays disease progression and alleviates pathogenesis in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2013;1832(12):2322-31.
15. Barros NdA, Aida FJ, Marçal AC, Santos JL, de Souza RF, Menezes JL, et al. Effects of resistance training on oxidative stress markers and muscle damage in spinal cord injured rats. *Biology*. 2021;11(1):32.
16. Maugeri G, Amato A, Sortino M, D' Agata V, Musumeci G. The influence of exercise on oxidative stress after spinal cord injury: a narrative review. *Antioxidants*. 2023;12(7):1401.
17. Hadadi M, Farazi MM, Mehrabani M, Tashakori-Miyanroudi M, Behroozi Z. Curcumin reduces pain after spinal cord injury in rats by decreasing oxidative stress and increasing GABAA receptor and GAD65 levels. *Scientific Reports*. 2025;15(1):12910.
18. Harman KA, DeVeau KM, Squair JW, West CR, Krassioukov AV, Magnuson DS. Effects of early exercise training on the severity of autonomic dysreflexia following incomplete spinal cord injury in rodents. *Physiological Reports*. 2021;9(15):e14969.
19. Rostamzadeh F, Najafipour H, Aminizadeh S, Jafari E. Therapeutic effects of the combination of moderate-intensity endurance training and MitoQ supplementation in rats with isoproterenol-induced myocardial injury: the role of mitochondrial fusion, fission, and mitophagy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024;170:116020.
20. Rouholamini FS, Aminaei M, Aminizadeh S. The effect of eight weeks of endurance training and MitoQ supplementation on antioxidant capacity and the expression of sestrin-2 and AMPK in cardiac tissue of aged rats. *Experimental Gerontology*. 2024;196:112572.
21. Xu X, Talifu Z, Zhang C-J, Gao F, Ke H, Pan Y-Z, et al. Mechanism of skeletal muscle atrophy after spinal cord injury: A narrative review. *Frontiers in Nutrition*. 2023;10:1099143.
22. Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. *Journal of cell science*. 2001;114(5):867-74.
23. Rabchevsky AG, Michael FM, Patel SP. Mitochondria focused neurotherapeutics for spinal cord injury. *Experimental neurology*. 2020;330:113332.
24. Broome SC, Woodhead JST, Merry TL. Mitochondria-Targeted Antioxidants and Skeletal Muscle Function. *Antioxidants (Basel)*. 2018;7(8).
25. Ren L, Chen X, Chen X, Li J, Cheng B, Xia J. Mitochondrial Dynamics: Fission and Fusion in Fate Determination of Mesenchymal Stem Cells. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:580070.
26. Friedli L, Rosenzweig ES, Barraud Q, Schubert M, Dominici N, Awai L, et al. Pronounced species divergence in corticospinal tract reorganization and functional recovery after lateralized spinal cord injury favors primates. *Science translational medicine*. 2015;7(302):302ra134-302ra134.
27. Kawalec M, Wojtyniak P, Bielska E, Lewczuk A, Boratyńska-Jasińska A, Beręsewicz-Haller M, et al. Mitochondrial dynamics, elimination and biogenesis during post-ischemic recovery in ischemia-resistant and ischemia-vulnerable gerbil hippocampal regions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2023;1869(3):166633.
28. Liu W, Tian F, Kurata T, Morimoto N, Abe K. Dynamic changes of mitochondrial fusion and fission proteins after transient cerebral ischemia in mice. *Journal of neuroscience research*. 2012;90(6):1183-9.

29. Cho D-H, Nakamura T, Fang J, Cieplak P, Godzik A, Gu Z, et al. S-nitrosylation of Drp1 mediates β -amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. *Science*. 2009;324(5923):102-5.
30. Chang J-C, Liu K-H, Li Y-C, Kou S-J, Wei Y-H, Chuang C-S, et al. Functional recovery of human cells harbouring the mitochondrial DNA mutation MERRF A8344G via peptide-mediated mitochondrial delivery. *Neurosignals*. 2013;21(3-4):160-73.
31. Fealy CE, Mulya A, Lai N, Kirwan JP. Exercise training decreases activation of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein-1 in insulin-resistant human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2014;117(3):239-45.
32. Bosiacki M, Tarnowski M, Misiakiewicz-Has K, Lubkowska A. The Effect of Cold-Water Swimming on Energy Metabolism, Dynamics, and Mitochondrial Biogenesis in the Muscles of Aging Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(7):4055.
33. Rostamzadeh F, Najafipour H, Aminizadeh S, Jafari E. Therapeutic effects of the combination of moderate-intensity endurance training and MitoQ supplementation in rats with isoproterenol-induced myocardial injury: The role of mitochondrial fusion, fission, and mitophagy. *Biomed Pharmacother*. 2024;170:116020.
34. Cereghetti G, Costa V, Scorrano L. Inhibition of Drp1-dependent mitochondrial fragmentation and apoptosis by a polypeptide antagonist of calcineurin. *Cell Death & Differentiation*. 2010;17(11):1785-94.
35. Jeong JH, Koo JH, Yook JS, Cho JY, Kang EB. Neuroprotective Benefits of Exercise and MitoQ on Memory Function, Mitochondrial Dynamics, Oxidative Stress, and Neuroinflammation in D-Galactose-Induced Aging Rats. *Brain Sci*. 2021;11(2).
36. Lee Y-j, Jeong S-Y, Karbowski M, Smith CL, Youle RJ. Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and Opal in apoptosis. *Molecular biology of the cell*. 2004;15(11):5001-11.
37. Murphy MP, Smith RA. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47(1):629-56.
38. Chang CR, Blackstone C. Dynamic regulation of mitochondrial fission through modification of the dynamin-related protein Drp1. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1201(1):34-9.
39. Moore TM, Zhou Z, Cohn W, Norheim F, Lin AJ, Kalajian N, et al. The impact of exercise on mitochondrial dynamics and the role of Drp1 in exercise performance and training adaptations in skeletal muscle. *Molecular metabolism*. 2019;21:51-67.
40. Haghghi AH, Bandali MR, Askari R, Shahrabadi H, Barone R, Bei R, et al. The effects of different exercise training protocols on mitochondrial dynamics in skeletal and cardiac muscles of Wistar rats. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2025;20(1):395.