

تأثیر تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) بر محتوای پروتئین شبه داینامین ۱ (DRP1) و آتروفی اپتیک ۱ (OPA1) بطن چپ رت‌های نر سالمند

مهدی مارزلو^۱، ندا آقایی بهمن‌بگلو^۱، حامد علیزاده پهلوانی^۱، حبیب اصغرپور^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: پیری همراه با ضعف تدریجی عملکرد قلب است که می‌تواند منجر به افزایش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی شود. به نظر می‌رسد تمرین تناوبی پر شدت HIIT (High-intensity interval training) به عنوان مداخله‌ی ورزشی قوی اثرات مفیدی بر عملکرد قلب و سلامت میتوکندری در گروه‌های سالمند دارد.

روش‌ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی است، که با ۱۲ سر رت نر ۲۰ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی 400 ± 30 گرم انجام شد. معیار ورود، رت‌های نر سالمند ۲۰ ماهه و بالاتر بودند که بطور تصادفی به دو گروه HIIT و شاهد (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند. در حین انجام تحقیق، گروه شاهد فعالیت نداشتند و گروه تمرین به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه بر روی تردمیل دویدند. برنامه‌ی HIIT با وهله‌های پر شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) و دوره‌های استراحت فعال با شدت ۴۰ تا ۵۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) برای هر جلسه در هفته انجام شد. پس از ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها بی‌هوش شدند و با روش وسترن بلات متغیرهای DRP1 و OPA1 اندازه‌گیری شدند. داده‌ها از طریق آزمون آماری Shapiro-Wilk و Independent Sample T-test تحلیل شدند و سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، ۸ هفته HIIT سبب افزایش معنی‌دار DRP1 ($P = 0/001$) در قلب رت‌های پیر شد در حالی که محتوای پروتئین OPA1 ($P = 0/09$) را تغییر معنی‌دار نداد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد پروتکول HIIT می‌تواند کنترل کیفیت میتوکندری را در قلب رت‌های سالمند بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: بیماری قلب؛ تمرین تناوبی با شدت بالا؛ بطن چپ؛ شکافت میتوکندری؛ همجوشی میتوکندری

ارجاع: مارزلو مهدی، آقایی بهمن‌بگلو ندا، علیزاده پهلوانی حامد، اصغرپور حبیب. تأثیر تمرین تناوبی پر شدت (HIIT) بر محتوای پروتئین شبه داینامین ۱ (DRP1) و آتروفی اپتیک ۱ (OPA1) بطن چپ رت‌های نر سالمند. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۳؛ ۴۲ (۷۷۶): ۶۱۵-۶۲۳.

پروتئین‌های بزرگ آتروفی اپتیک ۱ (OPA1) و میتوفوزین ۱ و ۲ (Mfn1/2) انجام می‌شود، در حالی که شکافت میتوکندری توسط پروتئین مرتبط با داینامین ۱ (DRP1) تنظیم می‌شود (۵، ۶). تعادل پویا بین همجوشی و شکافت برای حفظ مورفولوژی، توزیع و عملکرد میتوکندری ضروری است که به نوبه خود بر فرآیندهای سلولی مانند تولید انرژی، هموستاز کلسیم و آپوپتوز تأثیر می‌گذارد (۷، ۸). در قلب افراد پیر، عدم تعادل در پویایی میتوکندری، با تغییر به سمت افزایش شکافت میتوکندری و کاهش همجوشی مشاهده شده است (۹، ۱۰). این اختلال در تعادل پویایی میتوکندری می‌تواند منجر به تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد شود که به ایجاد آسیب‌شناسی قلبی مرتبط با سن کمک می‌کند (۱۱). بنابراین، مداخلاتی که می‌توانند

مقدمه

پیری، یک فرایند بیولوژیکی پیچیده همراه با کاهش تدریجی عملکرد فیزیولوژیکی در چندین سیستم بدن است. یکی از علائم بارز پیری، بدتر شدن تدریجی عملکرد قلب است که می‌تواند منجر به افزایش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی شود (۱، ۲). میتوکندری‌ها به عنوان نیروگاه‌های سلولی، نقش مهمی در حفظ سلامت و عملکرد قلب دارند. افزایش سن و اختلال عملکرد میتوکندری در قلب به ایجاد آسیب‌شناسی قلبی مرتبط با سن کمک می‌کند (۳، ۴). پویایی میتوکندری به عنوان تعادل بین همجوشی و شکافت (Fission and Fusion) میتوکندری، یک تنظیم‌کننده‌ی کلیدی عملکرد میتوکندری و هموستاز سلولی است. همجوشی میتوکندری توسط

۱ - گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران.

۲ - گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، صندوق پستی ۸۸۹-۱۴۶۶۵ تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: ندا آقایی بهمن‌بگلو؛ گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران

Email: nedaaghaei@aliabadiu.ac.ir

دانشگاه شیراز اجرا شد. در این پژوهش، ۱۲ سررت نر ۲۰ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی 30 ± 400 گرم از دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شد. معیار ورود رت‌ها، سن بود که سن ۲۰ ماه و بالاتر در نظر گرفته شد. رت‌ها در آزمایشگاه مخصوص حیوانات آزمایشگاهی نگهداری شدند. غذا و آب رت‌ها به صورت آزادانه در اختیار آن‌ها قرار داده شد. رت‌های سالمند به صورت تصادفی به ۲ گروه HIIT (۶ سر) و شاهد (۶ سر) تقسیم شدند. گروه شاهد در طول انجام تحقیق هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند. در ضمن مطالعه‌ی حاضر دارای کد اخلاق IR.US.PSYEDU.REC.1403.040 می‌باشد.

برنامه‌های تمرینی

رت‌ها در گروه تمرین یک برنامه ۸ هفته‌ای و هر هفته ۵ جلسه دویدن بر روی تردمیل را اجرا کردند. در ابتدا رت‌ها به مدت یک هفته جهت کاهش استرس با تردمیل مخصوص جوندگان آشنا شدند. سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه و مدت زمان ۵ دقیقه بود. رت‌ها در شروع و پایان هر جلسه تمرین اصلی با همین سرعت آشناسازی، گرم و سرد کردند. قبل از شروع برنامه‌ی HIIT، آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت بر روی گروه پابلوت (۵ سر) که حدوداً یک هفته جلوتر از گروه تمرین اصلی بودند، جهت تنظیم و کنترل سرعت رت‌های گروه تمرین اصلی انجام گرفت. رت‌های گروه پابلوت با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی برسند. معیار خستگی رت‌ها چسبیدن به انتهای تردمیل بود. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی رسیدند، به عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (۱۸).

برنامه‌ی تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

برنامه‌ی تمرین اصلی HIIT با وهله‌های پر شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) و دوره‌های استراحت فعال با شدت ۴۰ تا ۵۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) برای هر جلسه در هفته بود. جزئیات برنامه‌ی HIIT در جدول ۱ گزارش شده است. این برنامه بر اساس برنامه‌ی تمرینی استفاده شده در مقاله‌ی سوری و همکاران (۱۹) و Alizadeh و همکاران (۲۰) طراحی شده است (۲۱).

روش بافت‌برداری

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

پویایی میتوکندری را تعدیل کنند و عملکرد میتوکندری را در قلب پیری بهبود بخشند، بسیار مورد توجه است.

تمرین تناوبی با شدت بالا (High-intensity interval training) HIIT، به عنوان یک مداخله‌ی ورزشی قوی ظاهر شده است که اثرات مفیدی بر عملکرد قلب و سلامت میتوکندری در گروه‌های سنی مختلف دارد (۱۲، ۱۳). HIIT شامل دوره‌های متناوب ورزش با شدت بالا با دوره‌های استراحت یا ورزش با شدت کمتر است و نشان داده شده است که در بهبود تناسب اندام قلبی عروقی و عملکرد میتوکندری در مقایسه با تمرینات سنتی مداوم با شدت متوسط مؤثرتر است (۱۴).

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که HIIT ممکن است تأثیر مثبتی بر پویایی میتوکندری در قلب افراد سالمند داشته باشد. به عنوان مثال، مطالعه‌ای بر روی موش‌های مسن انجام شد و گزارش داد تمرین هوازی منجر به افزایش قابل توجه محتوای پروتئین OPA1 و Mfn1 میتوکندری و افزایش غبر قابل توجه محتوای پروتئین شکافت میتوکندری DRP1 در بطن چپ می‌شود (۱۵). این یافته‌ها نشان می‌دهند که تمرین هوازی ممکن است بتواند تعادل پویایی میتوکندری را در قلب افراد سالمند بازگرداند و به طور بالقوه به بهبود عملکرد میتوکندری و سلامت کلی قلب کمک کند (۱۶).

نشان داده شده است که HIIT فواید محافظتی مختلفی از جمله بهبود عملکرد قلب و کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی دارد. بررسی تغییرات در سطوح DRP1 و OPA1 در پاسخ به HIIT ممکن است مکانیسم‌های مولکولی بالقوه‌ای را نشان دهد که زمینه‌ساز اثرات محافظتی در قلب افراد سالمند باشد (۱۷). از این رو، درک پویایی میتوکندری از طریق DRP1 و OPA1 به عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی شکافت و همجوشی میتوکندری برای حفظ عملکرد میتوکندری و سلامت کلی سلول حیاتی است. شایان ذکر است درک تأثیر HIIT بر سطوح DRP1 و OPA1 در بطن چپ موش‌های سالمند ممکن است مداخلات بالقوه‌ی ناشی از ورزش را برای کاهش اثرات مضر پیری روشن کند.

همچنین یافته‌های این مطالعه می‌تواند به توسعه برنامه‌های ورزشی مؤثرتر، به ویژه HIIT، برای پیشگیری و مدیریت اختلال عملکرد قلبی مرتبط با افراد سالمند کمک کند. علاوه بر این، درک اختصاصی HIIT بر پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری می‌تواند طراحی مداخلات ورزشی مناسب برای جمعیت افراد سالمند را نشان دهد. از این رو هدف از مطالعه‌ی حاضر، تأثیر هشت هفته HIIT بر محتوای پروتئین‌های DRP1 و OPA1 در بطن چپ رت‌های سالمند بود.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که در فروردین ماه ۱۴۰۳ در

جدول ۱ برنامه HIIT

هفته	جلسه در هفته	وهله‌های پر شدت			وهله‌های استراحت (فعال)			حدود حداکثر سرعت (متر بر دقیقه)
		تکرار	مدت زمان (دقیقه)	شدت	تکرار	مدت زمان (دقیقه)	شدت	
اول	۵	۳	۲	۲	۲	۱	۱۲	
دوم	۵	۴	۲	۸۵ تا ۹۵	۳	۱	۱۵	
سوم	۵	۵	۲	۹۵ تا ۱۰۵	۴	۱	۱۸	
چهارم	۵	۶	۲	۱۰۵ تا ۱۱۵	۵	۱	۲۱	
پنجم	۵	۷	۲	۱۱۵ تا ۱۲۵	۶	۱	۲۴	
ششم	۵	۸	۲	۱۲۵ تا ۱۳۵	۷	۱	۲۷	
هفتم	۵	۹	۲	۱۳۵ تا ۱۴۵	۸	۱	۳۰	
هشتم	۵	۱۰	۲	۱۴۵ تا ۱۵۵	۹	۱	۳۳	

روش آزمایشگاهی وسترن بلات

از روش وسترن بلات برای سنجش میزان DRP1 و OPA1 در بافت بطن چپ قلب استفاده شد که شامل مراحل زیر بود:

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

۲- **تعیین غلظت پروتئین به وسیله برد فورد:** برای ساخت محلول بردفورد کوماسی بلو کاملاً در الکل به مدت ۲۰ دقیقه حل گردید، سپس اسیدفسفوریک قطره قطره به آن اضافه شد. سپس آب را قطره قطره اضافه کرده تا محلول حاصل به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. محلول تهیه شده با کاغذ صافی دوبار صاف شده و در بطری تیره داخل یخچال نگهداری شد.

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

۴- **آماده‌سازی نمونه:** نمونه‌های پروتئینی تهیه شده قبل از ریخته شدن در چاهک می‌بایست هم غلظت شده و با بافر نمونه مخلوط و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد جوشانده شود. این بافر موجب سنگین شدن، احیا و خطی شدن پروتئین‌ها می‌شود علاوه بر آن برموفنول بلو موجود در بافر طریقه حرکت پروتئین‌ها را در ژل نشان می‌دهد.

۵- **ساخت الکتروفورز بر روی ژل SDS page:** ژل SDS page

از پلیمر آکریل آمید ساخته شده است که بیس آکریل آمید این پلیمر را به صورت عرضی به هم مرتبط کرده است. به گونه‌ای که منافذ با قطر معین و یکسان در ژل حاصل می‌شود. پلیمریزاسیون ژل با افزودن آمونیوم پرسولفات (APS) شروع شده و با اضافه کردن تترامتی‌اتیلن‌دی‌آمین (TEMED) موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد از APS شده که این رادیکال‌ها باعث پلیمریزاسیون می‌شود.

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

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

۸- **وسترن بلات یا ایمونوبلاتینگ:** ایمونوبلاتینگ روشی است که طی آن باندهای پروتئینی جدا شده توسط ژل الکتروفورز به غشایی از جنس نیترو سلولوز یا PVDF انتقال یافته و سپس به وسیله آنتی‌بادی

کمولومینسانس با سمپلر روی نواحی باند مورد نظر ریخته شد. کاغذ در سلفون گذاشته و درون کاست فیلم قرار داده شد. برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست بسته شد. مدت زمان باقی ماندن فیلم در کاست به نوع آنتی‌بادی و شدت نور دیده شده از باند پروتئینی بستگی داشت. در مورد آنتی‌بادی‌های anti-DRP1 (C-5) (sc-271583) ساخت شرکت Santa-Cruz و anti-OPA1 (D-9) (sc-393296) ساخت شرکت Santa-Cruz و ۶۰ تا ۸۰ ثانیه و در مورد آنتی‌بادی بتا-اکتین ۱۰، ثانیه زمان مناسبتی بود. سپس در تشتک آب فیلم را به مدت ۲۰ ثانیه شسته و بعد از آن به مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان داده شد. سپس مجدداً فیلم را با آب جاری شسته و با گیره آویزان کرده تا خشک شدند.

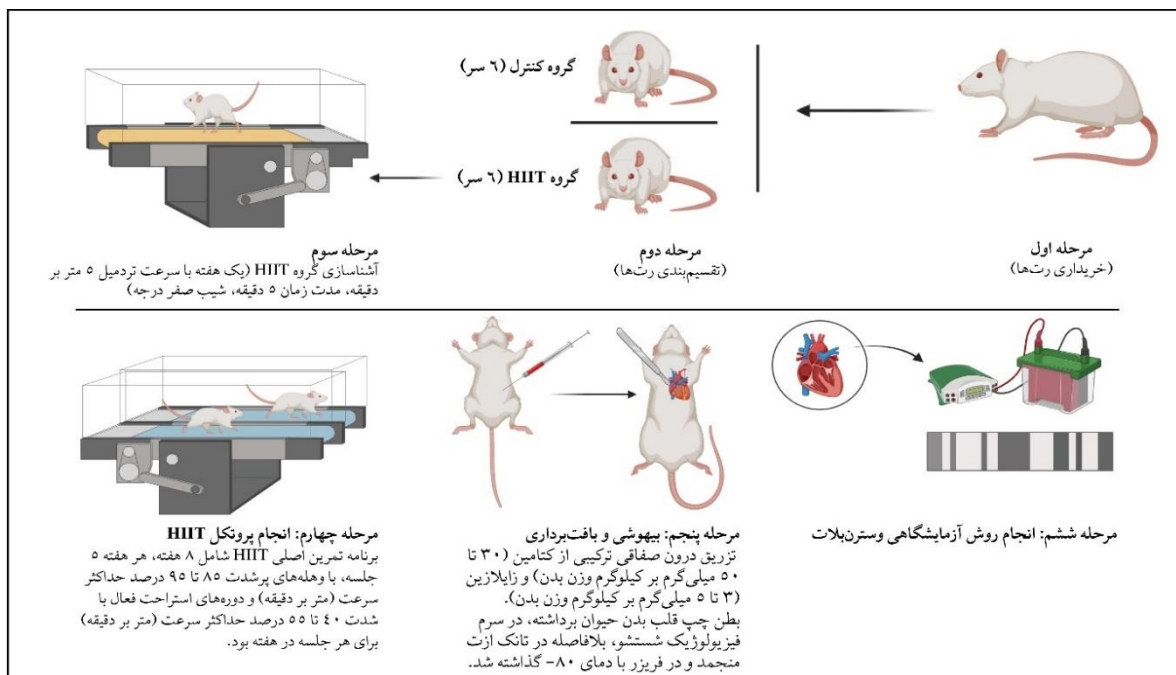
نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری Shapiro-Wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، داده‌های متغیرهای تحقیق حاضر از طریق آزمون‌های آماری Independent Sample T-test تجزیه و تحلیل شدند. بررسی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۹ (version 29, IBM Corporation, Armonk, NY) و گراف پد پریسم نسخه ۱۰/۲/۳ انجام گرفت. اندازه‌ی اثر از طریق آزمون Choen'd بررسی شد. شکل ۱ از طریق نرم‌افزار ادوپی ایندیزاین نسخه ۲۰۲۳ و شکل ۲ از طریق نرم‌افزار گراف پد پریسم طراحی شد. سطح معنی داری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

اختصاصی پروتئین‌های روی آن شناسایی می‌شود. انتقال نمونه‌ها از ژل به کاغذ توسط جریان الکتریکی صورت گرفت. بعد از اتمام الکتروفورز ژل به آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF به اندازه‌ی ژل بریده شده و برای فعال شدن به مدت ۱ دقیقه در متانول شیک‌شده و با آب مقطر شسته شد و درون بافر انتقال قرار گرفت. در حین قرار دادن کاغذ صافی روی کاغذ PVDF و کاغذ PVDF روی ژل، حباب‌هایی ایجاد شده توسط حرکت آهسته اسپیس روی کاغذ صافی خارج گردید. در نهایت دستگاه و باولتاژ ۱۲۰ میلی‌ولت به مدت یک و نیم ساعت به منبع مولد جریان متصل گشته و پروتئین‌های موجود در ژل به کاغذ منتقل گردید.

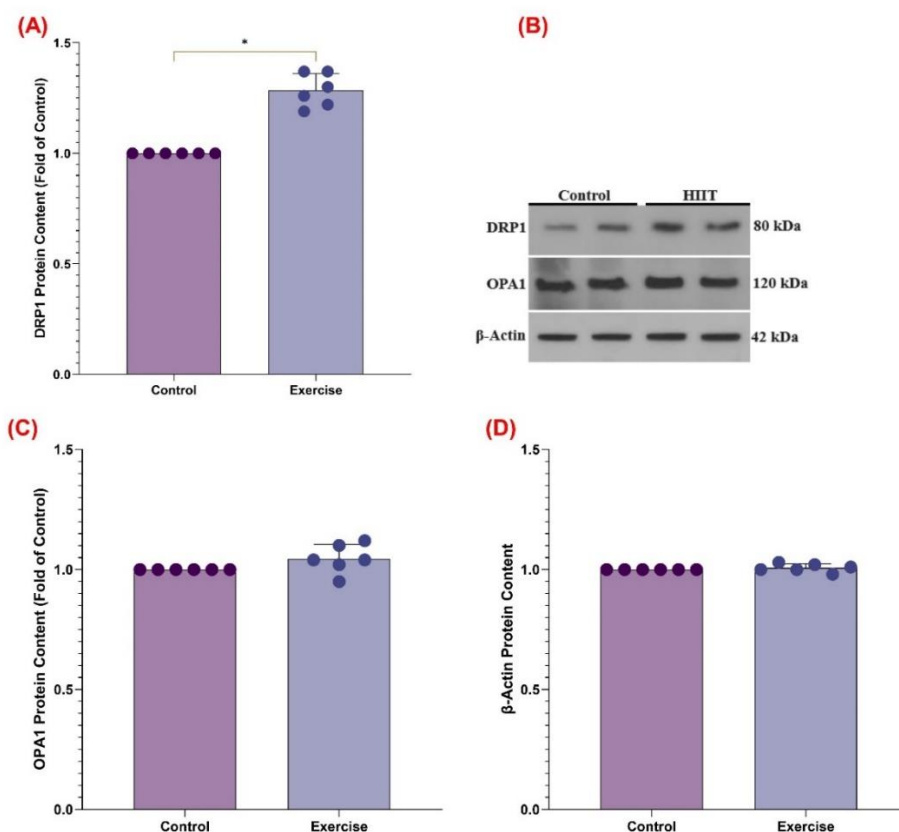
۹- مرحله‌ی بلاکینگ: در این مرحله، محلول بلاکینگ به منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیراختصاصی آنتی‌بادی اولیه به کار می‌رود.

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

۱۱- مرحله‌ی آشکار سازی: پس از شست‌وشوی نهایی مرحله قبل آب اضافی کاغذ PVDF روی سلفون قرار گرفت و محلول



شکل ۱. نمای شماتیک مراحل انجام کار



شکل ۲. مقایسه‌ی محتوای پروتئین‌ها در گروه‌های تمرین استقامتی و شاهد در بطن چپ قلب. (A). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین DRP1 در مقابل لودینگ کنترل. (B). تصاویر وسترن‌بلات محتوای پروتئین‌ها و β -Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بطن چپ قلب. (C). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین OPA1 در مقابل لودینگ کنترل. (D). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین β -Actin در مقابل لودینگ کنترل. *: وجود افزایش معنی‌دار بین گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه شاهد در سطح $P = 0/05$

متوسطی را نشان داد (Effect Sizes = $1/05$) (شکل ۲، C و B). بر اساس نتایج به دست آمده، محتوای پروتئین بتا-اکتین (β -Actin) تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد (شکل ۲، D و B). این نشان می‌دهد، انجام هشت هفته HIIT بر میزان پروتئین بتا-اکتین در بطن چپ رت‌ها تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲، D و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه‌ی اثر میزان پروتئین بتا-اکتین، اثر ضعیفی را نشان داد (Effect Sizes = $0/53$) (شکل ۲، D و B).

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، در بین گروه‌های پژوهش محتوای پروتئین DRP1 تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P = 0/001$) (شکل ۲، A و B). این نشان می‌دهد HIIT بر میزان پروتئین DRP1 در بطن چپ رت‌ها افزایش معنی‌داری دارد (شکل ۲، A و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه‌ی اثر میزان پروتئین DRP1، اثر قدرتمندی را نشان داد (Effect Sizes = $5/33$)، و نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار قابل‌توجه بین گروه HIIT و شاهد است (شکل ۲، A و B).

در مقابل، در بین گروه‌های پژوهش محتوای پروتئین OPA1 تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($P = 0/09$) (شکل ۲، C و B). این نشان می‌دهد انجام هشت هفته HIIT بر میزان پروتئین OPA1 در بطن چپ رت‌ها تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲، C و B). آزمون کوهن برای اندازه‌گیری اندازه‌ی اثر میزان پروتئین OPA1، اثر

بحث

در سال‌های اخیر برنامه‌ی HIIT به دلیل مزایای بالقوه آن در افزایش سلامت قلب و عروق و بهبود عملکرد میتوکندری، توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است. داده‌های مطالعاتی حاضر نشان دادند که

آپوپتوز و کاهش میتوفاژی در کاردیومیوسیت‌ها در دوران پیری مشاهده شده است و کاهش DRP1 باعث آسیب میتوکندری و آپوپتوز می‌شود. محققان بیان کردند که میتوفاژی با واسطه‌ی DRP1 مسیر PINK1/Parkin را در سلول‌های پیر مهار می‌کند و DRP1 ناکافی با مهار میتوفاژی باعث آپوپتوز کاردیومیوسیت می‌شود و DRP1 بر مسیر PINK1/Parkin میتوفاژی در قلب پیر تأثیر می‌گذارد (۲۶).

در مقابل، موش‌های پیر در معرض ورزش افزایش قابل‌توجهی در سطح پروتئین DRP1 در مغز نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین ورزشی در موش‌های پیر می‌تواند عملکرد میتوکندری مغز را از طریق تأثیر بر عملکرد زنجیره‌ی انتقال الکترون و پویایی میتوکندری بدون افزایش بیوژنز میتوکندری بهبود بخشد (۲۷). شایان ذکر است که ورزش استقامتی بر تمام ابعاد چرخه‌ی میتوکندری مانند شکافت، همجوشی، بیوژنز و میتوفاژی تأثیر می‌گذارد؛ به طوری که فسفوریلاسیون DRP1 به طور قابل‌توجهی با ورزش حاد افزایش می‌یابد و در طول ریکاوری پس از ورزش به سطح پایه باز می‌گردد. در باب اهمیت DRP1 این نکته قابل‌توجه است که کمبود DRP1 نیز استقامت عضلانی و عملکرد دوییدن را کاهش داده و سازگاری عضلانی را در پاسخ به تمرین ورزشی تغییر می‌دهد. این یافته‌ها اهمیت پویایی میتوکندری، به‌ویژه سیگنال‌دهی DRP1 را در تنظیم عملکرد ورزشی و سازگاری با تمرینات ورزشی استقامتی برجسته می‌کند (۲۸).

پویایی میتوکندری، به ویژه نقش پروتئین‌هایی مانند OPA1 برای حفظ هموستاز انرژی سلولی و جلوگیری از کاهش عملکرد قلبی مرتبط با افزایش سن بسیار مهم است. OPA1 به عنوان یک GTPase مرتبط با دینامین واقع در غشای داخلی میتوکندری، نقش حیاتی در همجوشی میتوکندری ایفا می‌کند و برای حفظ مورفولوژی و عملکرد میتوکندری ضروری است (۲۹). با توجه به اهمیت OPA1 در سلامت قلب، عدم تغییرات قابل‌توجه در سطوح OPA1 به دنبال HIIT را می‌توان به عوامل متعددی از جمله سن، مدت و شدت پروتکل تمرین، و سازگاری‌های خاص بافت قلب در پاسخ به HIIT نسبت داد. افزایش سن، اغلب با کاهش عملکرد میتوکندری و تغییر پاسخ به ورزش همراه است. این امکان وجود دارد که مدل موش HIIT نشان نداده باشد. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که ارگان‌های پیر، اغلب پاسخی ضعیف به مداخلات ورزشی دارند، که می‌تواند سطوح بدون تغییر OPA1 را با وجود استرس فیزیولوژیکی تحمیل شده توسط HIIT توضیح دهد (۳۰).

علاوه بر این، مدت مداخله HIIT نیز ممکن است نقش مهمی در نتایج مشاهده شده داشته باشد. هشت هفته، اگرچه برای برخی سازگاری‌ها کافی می‌باشد، اما ممکن است برای ایجاد تغییرات قابل

HIIT نسبت به گروه شاهد به مدت ۸ هفته میزان پروتئین DRP1 را در بطن چپ رت‌های سالمند افزایش معنی‌داری داده است. این نتایج با مطالعات Yan و همکاران همسو بود، آن‌ها نشان دادند که مداخلات ورزشی، عملکرد عضلات اسکلتی را بهبود بخشیده و سارکوپنیا را از طریق افزایش بیان Nrf2 در عضلات موش‌ها بازسازی کرده است. محققان ذکر کردند Nrf2 می‌تواند پایداری DRP1 را افزایش دهد و شکافت میتوکندری وابسته به DRP1 را برای کاهش اختلال میتوکندری تقویت کند (۲۲). این یافته‌ی مطالعه حاضر قابل‌توجه است زیرا پویایی میتوکندری مثل فرایند بیوژنز، همجوشی، شکافت و اتوفاژی، برای حفظ یکپارچگی، توزیع، اندازه و عملکرد میتوکندری بسیار مهم است و نقش مهمی در هموستاز قلبی-عروقی دارد.

در این راستا مطالعه‌ی دیگر نشان داد که سلامت قلب و عروق با ورزش هوازی به عنوان یک مداخله‌ی غیردارویی هم برای افراد سالم و هم برای افراد بیمار مبتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی (CVD) مفید است (۲۳). شواهد فزاینده نشان می‌دهند که ورزش هوازی می‌تواند به طور مؤثر پویایی میتوکندری را تنظیم مثبت کند و از پیشرفت CVD جلوگیری کند (۲۴). سایر مطالعات درباره‌ی اهمیت میتوکندری نشان دادند، با افزایش سن، ظرفیت تنفسی اکسیژن میتوکندری و ظرفیت نگهداری کلسیم به تدریج کاهش می‌یابد و پتانسیل انتشار H₂O₂ میتوکندری به طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد. در حالی که تمرینات ورزشی، پتانسیل انتشار H₂O₂ میتوکندری ناشی از پیری و کاهش ظرفیت تنفسی O₂ میتوکندری را ضعیف می‌کند و از احتباس کلسیم در گروه‌های سالمند محافظت می‌نماید.

محققان بیان کردند، پیری باعث ایجاد پویایی نامتعادل میتوکندری و میتوفاژی اضافی می‌شود، در حالی که تمرینات ورزشی، عدم تعادل ناشی از پیری را از طریق پویایی میتوکندری و میتوفاژی اضافی بهبود می‌بخشد. این داده‌ها نشان می‌دهند که تمرینات ورزشی منظم از آسیب ناشی از پیری در عملکرد میتوکندری و آپوپتوز با واسطه میتوکندری در عضلات قلب جلوگیری می‌کند (۲۵).

در مطالعه‌ی فوق، گروه‌های تمرین ورزشی از نوع تمرینات استقامتی بود که موش‌ها با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، ۴۵ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته روی تردمیل دویدند (۲۵). لذا به نظر می‌رسد تمرینات استقامتی و HIIT می‌توانند بر افزایش DRP1 میتوکندری تأثیر مثبت بگذارند و DRP1 عامل مهمی است که در شکافت میتوکندری شرکت می‌کند و باعث میتوفاژی برای حفظ کیفیت میتوکندری می‌شود. در تأیید این مطلب، گزارش شد که افزایش آپوپتوز کاردیومیوسیت عامل اصلی بروز بیماری قلبی در پیری است و میتوکندری‌ها نقش مهمی در آپوپتوز قلبی ایفا می‌کنند. زیرا افزایش

رویکردهای هدفمند برای تقویت عملکرد میتوکندری در جمعیت‌های سالمند تأکید می‌کند. در نتیجه، یافته‌ها مبنی بر اینکه هشت هفته HIIT هیچ تأثیر قابل توجهی بر سطوح پروتئین OPA1 در بطن چپ موش‌های مسن نداشت، به ادبیات رو به رشدی کمک می‌کند که رابطه بین ورزش و پویایی میتوکندری در پیری را بررسی می‌کند. در حالی که HIIT یک روش ورزشی امیدوارکننده با مزایای سلامتی متعدد است. سازگاری‌های خاص در پروتئین‌های میتوکندری مانند OPA1 ممکن است تحت تأثیر عواملی مانند سن، مدت مداخله و ویژگی‌های خاص پروتکل ورزش قرار گیرد.

تحقیقات بیشتر برای بررسی تفاوت‌های ظریف در مورد چگونگی تأثیر پیری بر پاسخ قلب به HIIT و بررسی اینکه آیا تغییرات در رژیم HIIT می‌تواند نتایج متفاوتی در بیان پروتئین میتوکندری به همراه داشته باشد ضروری است. درک این پویایی‌ها برای توسعه مداخلات ورزشی مؤثر با هدف بهبود سلامت قلب و کاهش کاهش عملکرد میتوکندریایی مرتبط با سن بسیار مهم است. در نهایت، درک جامع‌تر از تعامل بین ورزش و پویایی میتوکندری در پیری به اطلاع‌رسانی استراتژی‌هایی برای افزایش سلامت قلبی-عروقی در بزرگسالان مسن کمک می‌کند.

نتیجه‌گیری

در نهایت به نظر می‌رسد پیری همراه با آسیب‌پذیری در برابر بیماری‌های قلبی-عروقی است و اختلال عملکرد میتوکندری نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌های قلبی-عروقی ایفا می‌کند. از طرف دیگر، تمرین ورزشی بویژه HIIT با فوایدی در برابر بیماری‌های مزمن قلبی همراه است و نتایج این مطالعه می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کلیه‌ی افراد شرکت‌کننده در پژوهش تشکر به عمل می‌آید.

توجهی در بیان پروتئین میتوکندری در قلب‌های رت‌های سالمند کافی نباشد. مطالعاتی که بر دوره‌های مداخله طولانی‌تر متمرکز شده‌اند، اغلب تغییرات بارزتری را در پویایی میتوکندری و سطوح پروتئین مرتبط گزارش کرده‌اند (۳۱). بنابراین، تمدید مدت زمان HIIT می‌تواند بیش از پیشتری در مورد اینکه آیا یک دوره‌ی تمرین طولانی‌تر نتایج متفاوتی در مورد سطوح OPA1 به همراه خواهد داشت، ارائه دهد.

علاوه بر این، پروتکل HIIT به کار گرفته شده در این مطالعه باید مورد بررسی دقیق قرار گیرد. شدت، مدت و فراوانی فواصل می‌تواند به طور قابل توجهی بر سازگاری‌های فیزیولوژیکی مشاهده شده تأثیر بگذارد. اگر پروتکل HIIT به اندازه‌ی کافی شدید یا متنوع نبوده باشد، ممکن است محرک لازم برای تغییرات در بیان OPA1 را ایجاد نکرده باشد. تنظیم HIIT برای بهینه‌سازی شدت و زمان بازیابی می‌تواند به طور بالقوه منجر به نتایج متفاوتی در بیان پروتئین میتوکندری شود.

ملاحظات دیگر مکانیسم‌های جبرانی بالقوه‌ای است که قلب ممکن است در پاسخ به ورزش استفاده کند. قلب یک اندام بسیار سازگار است و ممکن است در حالی که سطوح OPA1 بدون تغییر باقی مانده است، سایر پویایی‌ها یا پروتئین‌های میتوکندری ممکن است این عدم تغییر را جبران کرده باشند. مطالعات آینده باید طیف گسترده‌تری از پروتئین‌های میتوکندری و پویایی میتوکندری را بررسی کند تا درک جامع‌تری از سازگاری قلبی با HIIT در جمعیت‌های سالمند را ارائه کنند.

یافته‌های این مطالعه همچنین سؤالاتی را در مورد ویژگی HIIT در ایجاد سازگاری‌های مفید در قلب‌های سالمند ایجاد می‌کند. در حالی که نشان داده شده است که HIIT ابعاد مختلف سلامت قلبی-عروقی، از جمله ظرفیت‌های هوازی و برون‌ده قلبی را بهبود می‌بخشد (۳۲، ۳۳)، اما فقدان اثر بر OPA1 نشان می‌دهد که همه پروتئین‌های میتوکندری به طور یکسان به مداخلات ورزشی پاسخ نمی‌دهند. این پیچیدگی سازگاری‌های ناشی از ورزش را برجسته می‌کند و بر نیاز به

References

1. Steenman M, Lande G. Cardiac aging and heart disease in humans. *Biophys Rev* 2017; 9(2): 131-7.
2. Stern S, Behar S, Gottlieb S. Aging and diseases of the heart. *Circulation* 2003; 108(14): e99-e101.
3. Chaudhary KR, El-Sikhry H, Seubert JM. Mitochondria and the aging heart. *J Geriatr Cardiol* 2011; 8(3): 159-67.
4. Dai D-F, Rabinovitch PS, Ungvari Z. Mitochondria and cardiovascular aging. *Circ Res* 2012; 110(8): 1109-24.
5. Wu NN, Zhang Y, Ren J. Mitophagy, mitochondrial dynamics, and homeostasis in cardiovascular aging. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019(1): 9825061.
6. Chen L, Liu T, Tran A, Lu X, Tomilov AA, Davies V, et al. OPA1 Mutation and Late-Onset Cardiomyopathy: Mitochondrial Dysfunction and mtDNA Instability. *J Am Heart Assoc* 2012; 1(5): e003012.
7. Poznyak AV, Kirichenko TV, Borisov EE, Shakhpazyan NK, Kartuesov AG, Orekhov AN. Mitochondrial implications in cardiovascular aging and diseases: the specific role of mitochondrial dynamics and shifts. *Int J Mol Sci* 2022; 23(6): 2951.
8. Uchikado Y, Ikeda Y, Ohishi M. Current understanding of the pivotal role of mitochondrial dynamics in cardiovascular diseases and senescence. *Front Cardiovasc Med* 2022; 9: 905072.

9. Chauhan A, Vera J, Wolkenhauer O. The systems biology of mitochondrial fission and fusion and implications for disease and aging. *Biogerontology* 2014; 15(1): 1-12.
10. Liu YJ, McIntyre RL, Janssens GE, Houtkooper RH. Mitochondrial fission and fusion: A dynamic role in aging and potential target for age-related disease. *Mech Ageing Dev* 2020; 186: 111212.
11. Ong S-B, Kalkhoran SB, Cabrera-Fuentes HA, Hausenloy DJ. Mitochondrial fusion and fission proteins as novel therapeutic targets for treating cardiovascular disease. *Eur J Pharmacol* 2015; 763(Pt A): 104-14.
12. Wang C, Xing J, Zhao B, Wang Y, Zhang L, Wang Y, et al. The effects of high-intensity interval training on exercise capacity and prognosis in heart failure and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc Ther* 2022; 2022: 4273809.
13. Taylor JL, Barnes JN, Johnson BD. The utility of high intensity interval training to improve cognitive aging in heart disease patients. *Int J Environ Res Public Health* 2022; 19(24): 16926.
14. Silva M, Baptista L, Neves R, França E, Loureiro H, Rezende M, et al. High intensity interval training improves health-related quality of life in adults and older adults with diagnosed cardiovascular risk. *Journal of Physical Education and Sport* 2019; 19(1): 611-8.
15. Zafarani S, Choobineh S, Soori R. The effect of 12 weeks of aerobic exercise on mitochondrial dynamics in cardiac myocytes of type 2 diabetic rats. *Sport Sciences for Health* 2018; 14: 305-12.
16. Lim AY, Chen Y-C, Hsu C-C, Fu T-C, Wang J-S. The effects of exercise training on mitochondrial function in cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2022; 23(20): 12559.
17. Zafarani S, Soori R. The effect of 12 weeks of high intensity interval training on mitochondrial dynamics in cardiac myocytes of type 2 diabetic rats [in Persian]. *Journal of Sport Biosciences* 2021; 13(1): 25-38.
18. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr^{-/-} mice: role of aerobic exercise training. *Am J Cardiovasc Dis* 2017; 7(2): 64-71.
19. Soori R, Gerami M, Pornemati P, Eskandari A. Effect of high intensity interval training and continus training on antioxidant enzymes in the heart of the old rats [in Persian]. *J Gorgan Univ Med Sci* 2019; 21(2): 26-31.
20. Alizadeh R, Salehi O, Rezaeinezhad N, Hosseini SA. The effect of high intensity interval training with genistein supplementation on mitochondrial function in the heart tissue of elderly rats. *Exp Gerontol* 2023; 171: 112039.
21. Sherafati-Moghadam M, Pahlavani HA, Daryanoosh F, Salesi M. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on protein expression in Flexor Hallucis Longus (FHL) and soleus (SOL) in rats with type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord* 2022; 21(2): 1499-508.
22. Yan X, Shen Z, Yu D, Zhao C, Zou H, Ma B, et al. Nrf2 contributes to the benefits of exercise interventions on age-related skeletal muscle disorder via regulating Drp1 stability and mitochondrial fission. *Free Radic Biol Med* 2022; 178: 59-75.
23. Kemi OJ, Wisløff U. High-intensity aerobic exercise training improves the heart in health and disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2010; 30(1): 2-11.
24. Gu C, Yan J, Zhao L, Wu G, Wang Y-l. Regulation of mitochondrial dynamics by aerobic exercise in cardiovascular diseases. *Front Cardiovasc Med* 2022; 8: 788505.
25. No M-H, Heo J-W, Yoo S-Z, Kim C-J, Park D-H, Kang J-H, et al. Effects of aging and exercise training on mitochondrial function and apoptosis in the rat heart. *Pflugers Arch* 2020; 472(2): 179-93.
26. Wei X, Wu YE, Wang W, Zhang S, Liu D, Liu H. Decreased dynamin-related protein 1-related mitophagy induces myocardial apoptosis in the aging heart. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2021; 53(10): 1354-66.
27. Gusdon AM, Callio J, Distefano G, O'Doherty RM, Goodpaster BH, Coen PM, et al. Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice. *Exp Gerontol* 2017; 90: 1-13.
28. 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. *Mol Metab* 2019; 21: 51-67.
29. Robert P, Nguyen PMC, Richard A, Grenier C, Chevrollier A, Munier M, et al. Protective role of the mitochondrial fusion protein OPA1 in hypertension. *FASEB J* 2021; 35(7): e21678.
30. Tezze C, Romanello V, Desbats MA, Fadini GP, Albiero M, Favaro G, et al. Age-associated loss of OPA1 in muscle impacts muscle mass, metabolic homeostasis, systemic inflammation, and epithelial senescence. *Cell Metab* 2017; 25(6): 1374-89.e6.
31. Konopka AR, Suer MK, Wolff CA, Harber MP. Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; 69(4): 371-8.
32. Alizadeh Pahlavani H, Laher I, Knechtle B, Zouhal H. Exercise and mitochondrial mechanisms in patients with sarcopenia. *Front Physiol* 2022; 13: 1040381.
33. Alizadeh Pahlavani H. Exercise therapy for people with sarcopenic obesity: myokines and adipokines as effective actors. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022; 13: 811751.

The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the Contents of Dynamin-Like Protein 1 (DRP1) and Optic Atrophy 1 (OPA1) in the Left Ventricle of Aged Male Rats

Mahdi Marezloo¹, Neda Aghaei Bahmanbeglou¹, Hamed Alizadeh Pahlavani², Habib Asgharpour¹

Original Article

Abstract

Background: Aging is accompanied by a gradual weakening of heart function, which can lead to an increase in the risk of cardiovascular diseases. HIIT, as a potent exercise intervention, seems to benefit heart function and mitochondrial health in elderly groups.

Methods: The present research is of an experimental type, conducted with 12 20-month-old Wistar male rats with an average weight of 400 ± 30 grams. The inclusion criteria were male rats aged 20 months and older, which were randomly divided into two HIIT and control groups (6 rats in each group). During the research, the control group had no activity, and the training group ran on the treadmill for eight weeks and five sessions weekly. The HIIT program was performed with high-intensity bouts of 85-95% of maximum speed (m/min) and active rest periods with an intensity of 40-55% of maximum speed (m/min) for each session per week. After 48 hours following the last training session, the rats were anesthetized, and the variables were measured using the western blot method. The data were analyzed through Shapiro-Wilk and independent t-test, and the significance level was considered $P \geq 0.05$.

Findings: The results showed that eight weeks of HIIT caused a significant increase in DRP1 in the hearts of old rats, while it did not significantly change the content of OPA1 protein.

Conclusion: HIIT protocol seems to improve mitochondrial quality control in the heart of aged rats.

Keywords: Heart disease; High-intensity interval training (HIIT); Left ventricle; Mitochondrial fission; Mitochondrial fusion

Citation: Marezloo M, Aghaei Bahmanbeglou N, Alizadeh Pahlavani H, Asgharpour H. **The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the Contents of Dynamin-Like Protein 1 (DRP1) and Optic Atrophy 1 (OPA1) in the Left Ventricle of Aged Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2024; 42(776): 615-23.

1- Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran.

2- Department of Physical Education, Farhangian University, P.O. Box 14665-889, Tehran, Iran

Corresponding Author: Neda Aghaei Bahmanbeglou, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran; Email: nedaaghaei@aliabadiu.ac.ir