The effect of eight weeks of endurance training on the contents of dynamin-related protein 1 (DRP1) and optic atrophy 1 (OPA1) related to mitochondrial fission and fusion in the left ventricle of aged rats

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

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

Corresponding author e-mail: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Mitochondrial dynamics through fission and fusion play an important role in physiological and pathological conditions in aging. Disruption of mitochondrial dynamics contributes to age-related cardiovascular diseases, while exercise therapy has been proposed to prevent this process.

Materials and Methods: The current research is of an experimental type, which was conducted with 12, 20-month-old Wistar male rats with an average weight of 400 ± 30 gr. Rats were randomly divided into two endurance training and control groups (each group had 6 rats). The training group ran on the treadmill for 8 weeks and 5 sessions per week. The intensity of the endurance training was 55-75% of speed; which started with a speed of 12 meters per minute in the first week and reached a speed of 33 meters per minute in the eighth week. After 48 hours from the last training session, the rats were anesthetized and the variables were measured by western blot method. Data were analyzed through independent t-test in SPSS software version 29 and Graphpad Prism version 10.2.3 and the significance level was considered $P \leq 0.05$.

Results: Eight weeks of endurance training caused a significant increase in DRP1 content (P=0.001); While it was not significant for OPA1 protein content in the heart of old rats (P=0.16).

Conclusion: It seems that endurance training with appropriate intensity and duration can improve mitochondrial quality control in the heart tissue of elderly patients.

Keywords: Endurance training, Mitochondrial fusion, Dynamin-related protein 1, Optic atrophy 1, Left ventricle

Received: Jul 21, 2024 **Revised:** Aug 30, 2024 **Accepted:** Aug 31, 2024

How to cite this article: Marezloo M, Aghaei Bahmanbeglou N, Alizadeh Pahlavani H, Asgharpour H. The effect of eight weeks of endurance training on the contents of dynamin-related protein 1 (DRP1) and optic atrophy 1 (OPA1) related to mitochondrial fission and fusion in the left ventricle of aged rats. Daneshvar Medicine 2024; 32(4):11-22. doi: 10.22070/DANESHMED.2024.19389.1521

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.

تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین مرتبط با داینامین ۱ (DRP1) و آتروفی اپتیک ۱ (OPA1) در بطن چپ موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی سالمند

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

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

*نویسنده مسئول: ندا آقایی بهمن‌بگلو **Email: nedaaghaei@aliabadiau.ac.ir**

چکیده

مقدمه و هدف: پویایی میتوکندری توسط شکافت و همجوشی، نقش مهمی در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی در پیری ایفا می‌کند. اختلال دینامیک میتوکندری به بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با سن کمک می‌کند در حالی که ورزش درمانی برای جلوگیری از این فرآیند پیشنهاد شده است.

مواد و روش ها: پژوهش حاضر از نوع تجربی بود، که با ۱۲ سر موش سفید بزرگ آزمایشگاهی نر ۲۰ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰ ± ۴۰۰ گرم انجام شدند. موش های سفید بزرگ آزمایشگاهی به صورت تصادفی به دو گروه تمرین استقامتی و کنترل (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت ۸ هفته و هر هفته ۵ جلسه بر روی تردمیل دویدند. شدت تمرین استقامتی ۵۵-۷۵ درصد سرعت بود؛ که در هفته اول با سرعت ۱۲ متر در دقیقه شروع شد و در هفته هشتم به سرعت ۳۳ متر بر دقیقه رسید. پس از ٤٨ ساعت از آخرین جلسه تمرین، موش های سفید بزرگ آزمایشگاهی بی‌هوش شدند و با روش وسترن بلات متغییرها اندازه‌گیری شدند. داده‌ها از طریق آزمون t-مستقل در نرم افزار SPSS نسخه ۲۹ و گراف پد پریسم نسخه ۱۰/۲/۳تحلیل شدند و سطح معناداری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: هشت هفته تمرین استقامتی سبب افزایش معنی‌دار محتوای DRP1 شد (P=۰/۰۰۱)؛ در حالی که برای محتوای پروتئین OPA1 در قلب موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (P=۰/۱٦).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با شدت و مدت مناسب می‌تواند کنترل کیفیت میتوکندری را در بافت قلب بیماران سالمند بهبود بخشد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، همجوشی میتوکندری، پروتئین مرتبط با داینامین ۱، آتروفی اپتیک ۱، بطن چپ

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۴/۳۱
اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۰۹
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۰

مقدمه

میتوکندری‌ها اندامک‌های حیاتی هستند که برای حفظ عملکرد، توزیع و ارتقای کیفیت خود تحت فرآیندهای شکافت و همجوشی قرار می‌گیرند (۱). پویایی میتوکندری، تعادل بین شکافت و همجوشی، نقش مهمی در شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتولوژیک از جمله پیری ایفا می‌کند (۲). اختلال در این تعادل ظریف می‌تواند منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری شود که به توسعه بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با سن کمک می‌کند (۳).

پروتئین شبه دینامین ۱ (DRP1)[1] و آتروفی نوری ۱ (OPA1)[2] دو تنظیم کننده کلیدی پویایی میتوکندری هستند. قابل ذکر است DRP1 یک GTPase سیتوزولی است که به غشای خارجی میتوکندری جذب می‌شود، و تسهیل شکافت غشاء را الیگومریزه و منقبض می‌کند (٤). به عبارت دیگر، در طی شکافت میتوکندری، DRP1 به غشای خارجی میتوکندری جذب می‌شود و با پروتئین‌های آداپتوری مانند FIS1، MFF، MiD49 و MiD51 تعامل می‌کند و تقسیم میتوکندری را تسهیل می‌کند (۵).

از طرف دیگر، OPA1 یک GTPase شبیه داینامین است که در غشای داخلی میتوکندری قرار دارد و مسئول همجوشی میتوکندری است (٦). همجوشی میتوکندری، ادغام غشای خارجی و داخلی میتوکندری، با مولکول‌های هسته نظیر MFN1/2 و OPA1 انجام می‌شود (۵). شایان ذکر است تعامل بین DRP1 و OPA1 برای حفظ یک شبکه میتوکندری سالم و تقویت عملکرد مناسب میتوکندری ضروری است (٧،٤). مطالعات نشان داده‌اند پیری با کاهش عملکرد میتوکندری و عدم تعادل در پویایی میتوکندری همراه است (۸). اختلال عملکرد میتوکندری باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که منجر به استرس اکسیداتیو و جهش‌های DNA میتوکندری می‌شود که به اختلال عملکرد سلولی و پیری کمک می‌کند. از این رو، اختلال عملکرد میتوکندری، ناشی از تغییرات ساختاری و عملکردی، با بیماری‌های دژنراتیو مرتبط با سن مرتبط است (۸). در قلب افراد سالخورده، تغییراتی در بیان و فعالیت DRP1 و OPA1 مشاهده شده است که به اختلال در عملکرد میتوکندری و ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با سن کمک می‌کنند (۹, ۱۰). بنابراین درک تنظیم DRP1 و OPA1 در قلب افراد سالخورده برای توسعه مداخلات هدفمند جهت حفظ سلامت میتوکندری و جلوگیری یا به تاخیر انداختن شروع عوارض قلبی عروقی مرتبط با سن بسیار مهم است.

نشان داده شده است که تمرینات استقامتی اثرات مفیدی بر عملکرد و پویایی میتوکندری در بافت‌های مختلف از جمله عضله و قلب دارد (۱۱). به عنوان مثال گزارش شده است ورزش استقامتی طولانی مدت باعث افزایش محتوای میتوکندری در مردان تمرین کرده می‌شود (۱۲). علاوه بر این، شواهدی وجود دارد که پیوند میتوکندری در عضلات اندام عقبی موش‌ها به طور موثری اختلال عملکرد میتوکندری را کاهش می‌دهد و ظرفیت عملکردی بر روی تردمیل را بهبود می‌بخشند (۱۳). همچنین افزایش قابل توجهی (تقریباً دو برابر) در نشانگرهای میتوکندری در هر دو نوع عضلات گلیکولیتیک و اکسیداتیو مشاهده شده است؛ که تحمل ورزش را بهبود می‌بخشد. این مطالعات شواهدی را نشان می‌دهند که پیوند میتوکندری می‌تواند انرژی عضلات اسکلتی را در مدل جوندگان مسن ارتقا بخشد (١٤). لذا به نظر می‌رسد فعالیت بدنی منظم می‌تواند بیان و فعالیت تنظیم کننده‌های کلیدی پویایی میتوکندری مانند DRP1 و OPA1 را تعدیل کند و در نتیجه عملکرد میتوکندری و سلامت کلی قلب و عروق را بهبود بخشد (۱۵). از طرف دیگر، بطن چپ به دلیل نقش حیاتی آن در عملکرد قلب و حساسیت آن به تغییرات مرتبط با سن به عنوان کانون این مطالعه انتخاب شده است (١٦).

[1]. Dynamin-related protein-1 (DRP1)
[2]. Optic atrophy-1 (OPA1)

با درک تأثیر تمرینات استقامتی بر تنظیم پویایی میتوکندری در قلب افراد سالخورده، می‌توانیم بینش‌هایی در مورد استراتژی‌های درمانی بالقوه برای حفظ سلامت میتوکندری و جلوگیری یا به تاخیر انداختن شروع بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط با سن به دست آوریم. از این رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر محتوای DRP1 و OPA1 مربوط به شکافت و همجوشی میتوکندری در بطن چپ موش‌های سفید بزرگ مسن آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است. برای این مطالعه ۱۲ سر موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی نر ۲۰ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزنی حدود ۳۰ ± ۴۰۰ گرم خریداری شدند. معیار ورود موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی سن بود که سن ۲۰ ماه و بالاتر در نظر گرفته شد (۱۷). موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی در آزمایشگاه مخصوص حیوانات آزمایشگاهی با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای پلت برای موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی به صورت آزادانه از مرکز سفیر آب تهیه شد. هم‌چنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب مورد توجه قرار گرفت. موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی سالمند به‌صورت تصادفی به ۲ گروه ۱) گروه تمرین استقامتی (٦ سر) ۲) گروه کنترل (٦ سر)تقسیم شدند. گروه کنترل در طول انجام تحقیق هیچ‌گونه فعالیتی نداشت. قابل ذکر است این مطالعه دارای کد اخلاق ثبت شده در سامانه ملی کد اخلاق با شماره IR.US.PSYEDU.REC.1403.040 صادر شده از دانشگاه شیراز می‌باشد.

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

برنامه تمرین استقامتی

برنامه تمرین اصلی استقامتی با شدت ۵۵ تا ۷۵ درصد سرعت بیشینه (متر بر دقیقه) برای هر جلسه در هفته بود. حداکثر سرعت در هفته اول با سرعتی حدود ۱۲ متر بر دقیقه شروع شد و در پایان هفته هشتم به سرعتی حدود ۳۳ متر بر دقیقه رسید. جزئیات برنامه تمرین استقامتی در جدول ۱ گزارش شده است. این برنامه بر اساس برنامه تمرینی استفاده شده در مقاله دیسچنز و همکاران (۲۰۱۸) و سوری و همکاران (۲۰۱۹) طراحی شده است (۱۹, ۲۰).

روش بافت‌برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس، نمونه‌ها بعد از ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی 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 شستشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شد. سپس نمونه‌های بافتی برای سنجش‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد فریزر شدند.

جدول ۱. برنامه تمرین استقامتی

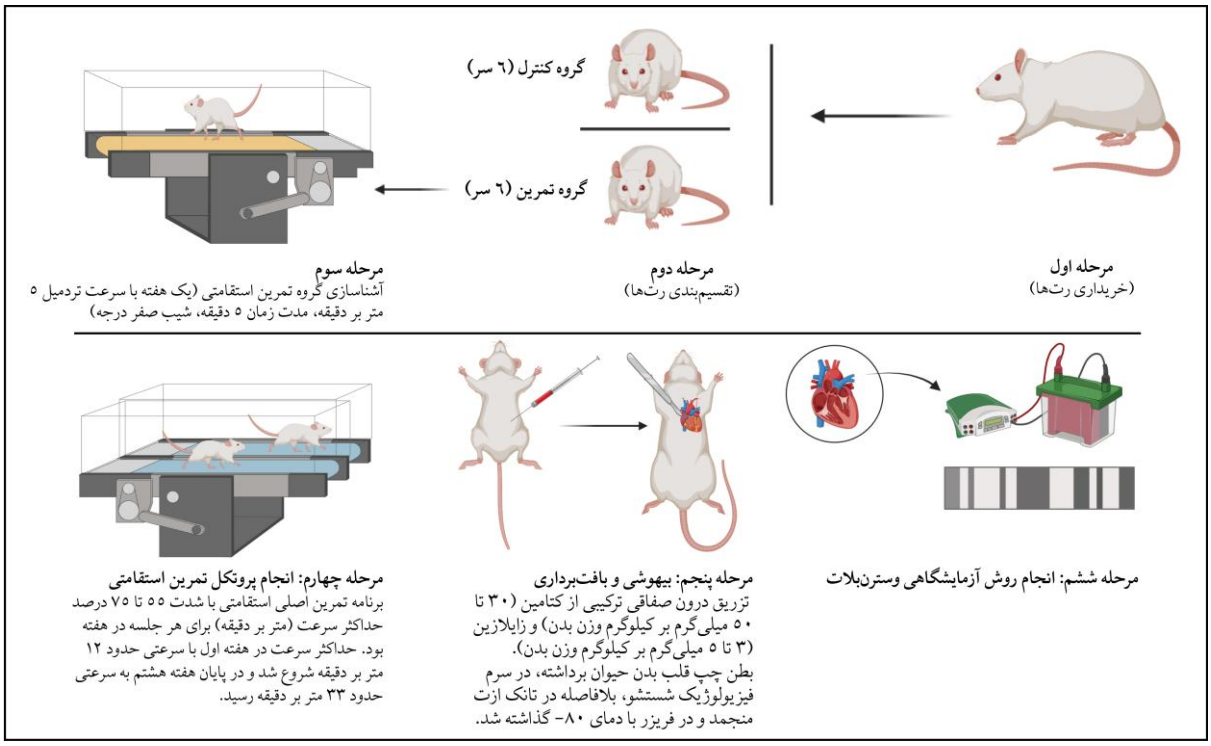
هفته	جلسه در هفته	مدت زمان (دقیقه)	شدت تمرین	حدود حداکثر سرعت (متر بر دقیقه)
اول	۵	۸	۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر سرعت	۱۲
دوم	۵	۱۱		۱۵
سوم	۵	۱٤		۱۸
چهارم	۵	۱۷		۲۱
پنجم	۵	۲۰		۲٤
ششم	۵	۲۳		۲۷
هفتم	۵	۲٦		۳۰
هشتم	۵	۲۹		۳۳

روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات

از روش وسترن‌بلات برای سنجش میزان DRP1 و OPA1 در بافت بطن چپ قلب استفاده شد. برای لیز کردن بافت‌ها از Lysis buffer استفاده شد و سپس نمونه‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شفاف حاوی پروتئین استخراج و در فریزر منفی ۲۰ نگه‌داری شد. سپس تعیین غلظت پروتئین‌ها به‌وسیله روش بردفورد انجام شد. از BSA به عنوان پروتئین استاندارد برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. شیشه‌های حاوی ژِل، درون تانک الکتروفوز 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 ٤۵ دقیقه جریان با ولتاژ ۱۲۰ برقرار شد. در مرحله بلاکینک، محلول بلاکینک به منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیراختصاصی آنتی‌بادی اولیه به کار می‌رود. پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای که با محلول بلاکینگ به مقدار معین آنتی‌بادی اولیه بتا-اکتین (anti-β-Actin (sc-47778) (C4)) مخلوط و رقیق شده، به مدت ١٦ 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. پس از شست‌وشوی نهایی مرحله قبل آب اضافی کاغذ PVDF روی سلفون قرار گرفت و محلول کمولومینسانس با سمپلر روی نواحی باند مورد نظر ریخته شد. برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست بسته شد. 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 ٦۰ تا ۸۰ ثانیه و در مورد آنتی‌بادی بتا-اکتین ۱۰، ثانیه زمان مناسبی بود. سپس در تشتک آب فیلم را به مدت ۲۰ ثانیه شسته و بعد از آن به مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان داده شد. سپس مجدداً فیلم را با آب جاری شسته و با گیره آویزان کرده تا خشک شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

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



شکل ۱. نمای شماتیک مراحل انجام کار

نتایج

در جدول ۲ میزان وزن موش‌های بزرگ آزمایشگاهی گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی در هفته‌های اول و هشتم گزارش شده است. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها وزن گروه کنترل در هفته هشتم نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۱) (جدول ۲). اما در گروه تمرین استقامتی تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین در هفته هشتم نسبت به هفته اول مشاهده نشد (P=۰/٦٢) (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه و تحلیل وزن (گرم) موش‌های بزرگ آزمایشگاهی

وزن (گرم)	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار T	معنی‌داری
کنترل	۳۹۵/۸۳	۱۸/۰۰		
(هفته اول)			٦/٥١	۰/۰۰۱
کنترل	٤٤٥/٥۰	٥/۰۰		
(هفته هشتم)				
تمرین	٤۰۱/٥۰	۱۷/٦٤		
(هفته اول)			۰/٥۰	۰/٦٢
تمرین	٤۰٦/٤۰	۱٦/٥٣		
(هفته هشتم)				

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون **T** مستقل نشان داد، محتوای پروتئین **DRP1** در بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۰۱) (جدول ۳، شکل ۲، **A** و **B**). به نظر می‌رسد تمرین استقامتی بر میزان پروتئین **DRP1** در بطن چپ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی تاثیر معنی‌داری دارد و این تاثیر به صورت افزایش در محتوای گروه تمرین استقامتی نسبت به کنترل است (جدول ۳، شکل ۲، **A** و **B**). شاخص

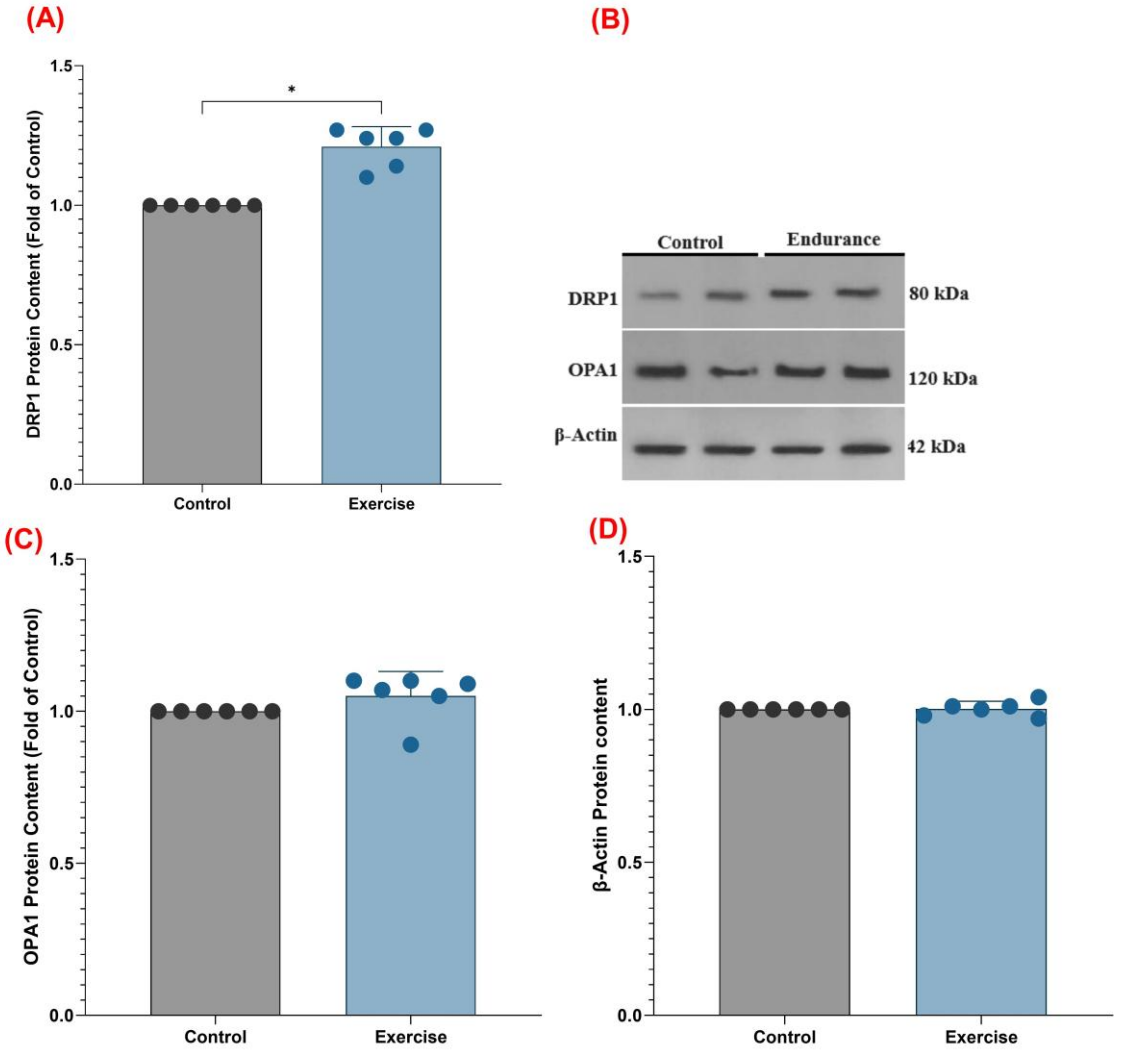
آماری کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین **DRP1**، اثر قدرتمندی را نشان داد (**Effect Sizes=**٤/١١) (جدول ۳، شکل ۲، **A** و **B**).

در مقابل، در بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری در محتوای پروتئین **OPA1** مشاهده نشد (**P=**۰/١٦) (جدول ۳، شکل ۲، **C** و **B**). این نشان می‌دهد انجام هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین **OPA1** در بطن چپ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی تاثیر معنی‌داری ندارد (جدول ۳، شکل ۲، **C** و **B**). شاخص آماری کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین **OPA1**، اثر متوسطی را نشان داد (**Effect Sizes=**۰/۸۷) (جدول ۳، شکل ۲، **C** و **B**).

از طرفی دیگر مقدار **t** برای محتوای پروتئین بتا-اکتین (**β-Actin**) به عنوان کنترل داخل سلولی، ۰/١٦ است؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد (**P=**۰/۸۷) (جدول ۳، شکل ۲، **D** و **B**). این نشان می‌دهد انجام هشت هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین بتا-اکتین در بطن چپ موش‌های بزرگ آزمایشگاهی تاثیر معنی‌داری ندارد (جدول ۳، شکل ۲، **D** و **B**). شاخص آماری کوهن برای اندازه‌گیری اندازه اثر میزان پروتئین بتا-اکتین، اثر ضعیفی را نشان داد (**Effect Sizes=**۰/۰۹) (جدول ۳، شکل ۲، **D** و **B**).

جدول ۳. تجزیه و تحلیل متغیرهای پژوهش

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار T	معنی‌داری	Choen'd
محتوای پروتئین **DRP1**	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۰			
	تمرین	۱/۲۱	۰/۰۷	۷/۱۳	۰/۰۰۱	٤/۱۱
محتوای پروتئین **OPA1**	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۰			
	تمرین	۱/۰۵	۰/۰۸	۱/۵۱	۰/۱٦	۰/۸۷
محتوای پروتئین بتا-اکتین	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۰			
	تمرین	۱/۰۱	۰/۰۲	۰/۱٦	۰/۸۷	۰/۰۹



شکل ۲. مقایسه‌ی محتوای پروتئین ها در گروه‌های تمرین استقامتی و کنترل 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 کنترل در سطح P=۰/۰۵)

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین استقامتی به طور قابل‌توجهی محتوای پروتئین DRP1 را در بطن چپ موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر نسبت به گروه کنترل افزایش داد. این امر نشانگر این است که تمرین استقامتی شکافت میتوکندری را تقویت می‌کند، و ممکن است مکانیسمی برای حفظ عملکرد میتوکندری و کنترل کیفیت میتوکندری در قلب موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر باشد. این مطالعه هم راستا با سایر مطالعاتی است که نشان دادند در عضلات اسکلتی موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی در حین ورزش شکافت میتوکندری از طریق DRP1 افزایش می‌یابد؛ و در طول ریکاوری پس از ورزش به حالت اولیه باز می‌گردد. در حالی که کمبود DRP1، استقامت عضلانی، عملکرد دویدن و سازگاری عضلانی را در پاسخ به تمرین ورزش کاهش می‌دهد. این یافته‌ها، دینامیک میتوکندری، به‌ویژه سیگنال‌دهی DRP1 را در تنظیم عملکرد ورزشی و سازگاری با تمرینات ورزش استقامتی نشان می‌دهد (۲۱).

از این رو، به نظر می‌رسد فرآیند شکافت میتوکندری توسط پروتئین DRP1 انجام می‌شود و می‌تواند یک میتوکندری قطبی و دپلاریزه تولید کند (۲۲). همچنین به نظر می‌رسد افزایش سطح DRP1 با بهبود عملکرد، بیوژنز میتوکندری، کاهش استرس اکسیداتیو و همچنین آپوپتوز در قلب افراد سالخورده مرتبط باشد. زیرا مطالعات نشان داده‌اند که ورزش با افزایش قابل توجه سطح پروتئین DRP1 ظرفیت عضلات را برای اکسیداسیون پالمیتات در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر بهبود می‌بخشد؛ و همچنین فعالیت آنزیمی کمپلکس I تا III را به طور قابل توجهی در موش‌های پیر افزایش می‌دهد. این مشاهدات نشان می‌دهند که تمرین ورزشی در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر می‌تواند عملکرد میتوکندری را از طریق تأثیر بر عملکرد زنجیره انتقال الکترون و دینامیک میتوکندری بهبود بخشد (۲۳). قابل ذکر است کاهش DRP1و بیان بیش از حد DRP1 در اواخر زندگی در موش‌ها برای عملکرد عضلات اسکلتی و سلامت میتوکندری مضر است. زیرا گزارش شده است سرکوب DRP1در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ۱۸ ماهه منجر به آتروفی شدید عضلات اسکلتی، اختلال عملکرد میتوکندری، انحطاط عضلات، استرس اکسیداتیو و اختلال در اتوفاژی می‌شود. از طرفی بیان بیش از حد DRP1 در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ۱۸ ماهه منجر به آتروفی خفیف عضلات اسکلتی و کاهش کیفیت میتوکندری می‌شود. از این رو، به نظر می‌رسد سرکوب یا بیان بیش از حد DRP1 در اواخر زندگی برای یکپارچگی عضلات اسکلتی مضر است. این داده‌ها نشان می‌دهد که محتوای DRP1 باید در یک محدوده فیزیولوژیکی باریک باقی بماند تا یکپارچگی عضله و میتوکندری در طول پیری حفظ شود (۲٤). از این رو پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای جهت بررسی میزان پروتئین DRP1 در مقاطع زمانی مختلف مثل دورهٔ ریکاوری انجام شود تا تغییرات این پروتئین ناشی از تمرینات استقامتی مشخص شود.

در مطالعه حاضر، محتوای پروتئین OPA1 در بطن چپ موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی مسن پس از تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری پیدا نکرد. این موضوع نشان می‌دهد که تمرینات استقامتی به مدت ۸ هفته ممکن است پویایی میتوکندری را از طریق همجوشی تغییر ندهد، و به طور بالقوه ۸ هفته تمرین استقامتی برای حذف میتوکندری‌های معیوب یا ناکارآمد و تشکیل شبکه میتوکندری سالم کافی نبوده است. از آنجا که افزایش OPA1 با بهبود عملکرد میتوکندری و کاهش استرس اکسیداتیو در قلب پیر مرتبط است به نظر می‌رسد ۸ هفته تمرین سازگاری لازم را ایجاد نکرده است. این یافته‌ها با مطالعات قبلی مطابقت دارد زیرا گزارش کردند تمرین ورزشی (دویدن روی تردمیل با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، ٤٥ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۸ هفته) باعث افزایش پروتئین‌های همجوشی میتوکندری (OPA1) در گروه رت‌های پیر ورزشکار در مقایسه با گروه رت‌های پیر غیرورزشکار می‌شود. محققان نتیجه گرفتند که افزایش سن باعث عدم تعادل بین پروتئین‌های همجوشی و شکافت میتوکندری می‌شود در حالی که ورزش درمانی در کاهش این عدم تعادل نقش دارد (۲۵). این نتایج با سایر مطالعات دیگر ناهمسو و همسو است زیرا آنها بیان کردند در عضلات افراد ۷۰ ساله، تحریک الکتریکی عصبی عضلانی به مدت ۹ هفته، سبب افزایش پویایی میتوکندری از طریق افزایش بیان پروتئین OPA1 می‌شود. این یافته‌های اولیه در عضلات اسکلتی انسان پیر، ورزش را به عنوان اهداف دارویی بالقوه برای مقابله با کاهش توده عضلانی مرتبط با افزایش سن پیشنهاد می‌کنند (۲٦). تفاوت مطالعه حاضر با سایر مطالعات در تفاوت نوع آزمودنی‌ها و مدت زمان تمرین است؛ زیرا مطالعه حاضر بر روی موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی و به مدت ۸ هفته انجام شده است در حالی که مطالعات دیگر بر روی انسان و به مدت ۹ هفته انجام شده است (۲٦). قابل ذکر است نوع بافت مطالعه حاضر بافت قلب بوده است در حالی که بافت سایر مطالعات عضلات اسکلتی بوده‌اند که ممکن است اینچنین تفاوت در نتایج را توجیه کند (۲٦). دربارهٔ اهمیت OPA1 شواهدی وجود دارد که پیری و سبک زندگی بی‌تحرک، با کاهش OPA1 و اختلال عملکرد میتوکندری همراه با کاهش توده عضله است. علاوه بر این، در موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی بالغ، حذف حاد و اختصاصی OPA1 از طریق استرس شبکه اندوپلاسمی در عضلات منجر به فنوتیپ پیری زودرس و

مرگ زودرس می‌شود (۲۷). گزارشات علمی بیان کرده‌اند که همجوشی غشای خارجی میتوکندری (OMM) از طریق میتوفیوژن ۱ (Mfn)[1] و Mfn2 انجام می‌شود و همجوشی غشای داخلی میتوکندری (IMM) از طریق OPA1 تنظیم می‌گردد. در نهایت همه این فرآیندها برای حفظ یک جمعیت میتوکندری سالم میتوکندری ضروری هستند (۲۲). از آنجا که مطالعه حاضر میزان OPA1 را افزایش داده است اما این مقدار معنی‌دار نبوده است به نظر می‌رسد با ادامه تمرینات استقامتی ممکن است این مقدار به سطح معنی‌دار برسد. شایان ذکر است بافت قلب ممکن است نسبت به بافت عضله اسکلتی تاثیرپذیری کمتری به تمرینات استقامتی داشته باشد. در مجموع تغییرات مشاهده شده در محتوای DRP1 و OPA1 در پاسخ به ۸ هفته تمرین استقامتی نشان می‌دهد که فعالیت بدنی منظم می‌تواند پویایی میتوکندری را در قلب موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر تعدیل کند و به طور بالقوه به بهبود عملکرد میتوکندری و سلامت قلب و عروق کمک کند.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ۸ هفته تمرین استقامتی می‌تواند محتویات DRP1 و OPA1، به عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی شکافت و همجوشی میتوکندری را در بطن چپ موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی مسن تغییر دهد. افزایش معنی‌دار DRP1 و افزایش غیرمعنی‌دار OPA1 نشان دهنده تغییر به سمت شکافت میتوکندری است، که ممکن است یک مکانیسم جبرانی برای حفظ عملکرد میتوکندری و کنترل کیفیت میتوکندری در قلب موش‌های سفید بزرگ آزمایشگاهی پیر باشد. این یافته‌ها بینش‌های ارزشمندی را در مورد مکانیسم‌های بالقوه‌ای ارائه می‌دهند که توسط آن تمرین استقامتی می‌تواند پویایی میتوکندری را تعدیل کند و به حفظ سلامت قلب و عروق در جمعیت سالمند کمک کند.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه دارای کد اخلاق ثبت شده در سامانه ملی کد اخلاق با شماره IR.US.PSYEDU.REC.1403.040 صادر شده از دانشگاه شیراز می‌باشد

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

[1]. Mitofusion 1 and 2

منابع

1. Al Ojaimi M, Salah A, El-Hattab AW. Mitochondrial fission and fusion: molecular mechanisms, biological functions, and related disorders. Membranes. 2022;12(9):893.
2. Traa A, Keil A, AlOkda A, Jacob-Tomas S, Tamez González AA, Zhu S, et al. Overexpression of mitochondrial fission or mitochondrial fusion genes enhances resilience and extends longevity. Aging Cell. 2024:e14262.
3. Wei T, Wang Q, Chen T, Zhou Z, Li S, Li Z, et al. The possible association of mitochondrial fusion and fission in copper deficiency-induced oxidative damage and mitochondrial dysfunction of the heart. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2024:127483.
4. He X, Wang L, Tsang HY, Liu X, Yang X, Pu S, et al. GTPBP8 modulates mitochondrial fission through a Drp1-dependent process. Journal of Cell Science. 2024;137(8.(
5. Chen C, Dong X, Zhang W, Chang X, Gao W. Dialogue between mitochondria and endoplasmic reticulum-potential therapeutic targets for age-related cardiovascular diseases. Frontiers in Pharmacology. 2024;15:1389202.
6. Gilkerson R, Kaur H, Carrillo O, Ramos I. OMA1-Mediated Mitochondrial Dynamics Balance Organellar Homeostasis Upstream of Cellular Stress Responses. International Journal of Molecular Sciences. 2024;25(8):4566.
7. Wu M, Huang Z, Akuetteh PDP, Huang Y, Pan J. Eriocitrin prevents Sepsis-induced acute kidney injury through anti-inflammation and anti-oxidation via modulating Nrf2/DRP1/OPA1 signaling pathway. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 2024;1868(7):130628.
8. Somasundaram I, Jain SM, Blot-Chabaud M, Pathak S, Banerjee A, Rawat S, et al. Mitochondrial dysfunction and its association with age-related disorders. Frontiers in Physiology. 2024;15:1384966.
9. Sheng Y, Zhu X, Wei L, Zou Y, Qi X, Shi R, et al. Aberrant expression of thyroidal hormone receptor α exasperating mitochondrial dysfunction induced sarcopenia in aged mice. Aging (Albany NY). 2024;16(8):7141.
10. Maneechote C, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Future perspectives on the roles of mitochondrial dynamics in the heart in obesity and aging. Life Sciences. 2024:122575.
11. Gojevic T, Gelade K, Da Silva NT, Tulleneers B, Mullens W, Hansen D. Effects of low vs. moderate intense resistance exercise training combined with endurance exercise training in patients with heart failure: a randomized clinical trial. European Journal of Preventive Cardiology. 2024;31(4):e9-e12.
12. Sahl RE, Patsi I, Hansen MT, Rømer T, Frandsen J, Rasmusen HK, et al. Prolonged endurance exercise increases macrophage content and mitochondrial respiration in adipose tissue in trained men. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2024;109(2):e799-e808.
13. Arroum T, Hish GA, Burghardt KJ, Ghamloush M, Bazzi B, Mrech A, et al. Mitochondria Transplantation: Rescuing Innate Muscle Bioenergetic Impairment in a Model of Aging and Exercise Intolerance. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2024;38(7):1189-99.
14. Arroum T, Hish GA, Burghardt KJ, McCully JD, Hüttemann M, Malek MH. Mitochondrial Transplantation’s Role in Rodent Skeletal Muscle Bioenergetics: Recharging the Engine of Aging. Biomolecules. 2024;14(4):493.
15. Jang J, Kim Y, Song T, Park S, Kim HJ, Koh Jh, et al. Free essential amino acid feeding improves endurance during resistance training via DRP1-dependent mitochondrial remodelling. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle. 2024.
16. Frenzel S, Bülow R, Dörr M, Felix SB, Friedrich N, Völzke H, et al. Left ventricular hypertrophy as a risk factor for accelerated brain aging: Results from the Study of Health in Pomerania. Human Brain Mapping. 2024;45(3):e26567.
17. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. International journal of preventive medicine. 2013;4(6):624.
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. Ghane M, Riyahi Malayeri S, Hosseini M. High-intensity interval training and intake nano-selenium supplementation on the gene expression of hepatic SOD and CAT in dexamethasone-induced rats. Sport Sciences for Health. 2024;20(1):177-84.
20. Wang Q, Cui C, Zhang N, Lin W, Chai S, Chow SK-H, et al. Effects of physical exercise on neuromuscular junction degeneration during ageing: A systematic review. Journal of Orthopaedic Translation. 2024;46:91-102.
21. 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.

22. 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;2017(1):2012798.
23. 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. Experimental gerontology. 2017;90:1-13.
24. Dulac M, Leduc-Gaudet JP, Cefis M, Ayoub MB, Reynaud O, Shams A, et al. Regulation of muscle and mitochondrial health by the mitochondrial fission protein Drp1 in aged mice. The Journal of Physiology. 2021;599(17):4045-63.
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. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2020;472:179-93.
26. Zampieri S, Mammucari C, Romanello V, Barberi L, Pietrangelo L, Fusella A, et al. Physical exercise in aging human skeletal muscle increases mitochondrial calcium uniporter expression levels and affects mitochondria dynamics. Physiological reports. 2016;4(24):e13005.
27. 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 metabolism. 2017;25(6):1374-89. e6.