



تحقیقی

اثر دوره‌های متناوب انسداد جریان خون پاها و تمرین هوازی بر پویایی میتوکندریایی قلب موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس میوکارد

هدی یزدانی^۱، دکتر امین فرزانه حساری*^۲، دکتر هاجر عباس زاده^۲، دکتر عبدالرضا جعفری چاشمی^۳^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. ^۲ دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران. ^۳ استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اختلال عملکرد میتوکندریایی قلب در بیماری قلب ایسکمیک شناخته شده و به نظر می‌رسد میتوکندری نقش مهمی در اثرات محافظتی ناشی از تمرین ورزشی در انفارکتوس میوکارد داشته باشد. دوره‌های کوتاه و متناوب انسداد جریان خون یک اثر محافظتی در مقابل آسیب قلب دارد، با این حال، مکانیسم آن به روشنی مشخص نیست. این مطالعه به منظور تعیین اثر دوره‌های متناوب انسداد جریان خون پاها و تمرین هوازی بر پویایی میتوکندریایی قلب موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس میوکارد انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸-۱۰ هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هیستونوتک تهران انجام شد. حیوانات در پنج گروه پنج تایی شامل گروه‌های سالم، انفارکتوس، انفارکتوس+انسداد، انفارکتوس+تمرین و انفارکتوس+تمرین+انسداد تقسیم شدند. انفارکتوس میوکارد با تزریق درون صفاقی ایزوپروترونول (100 mg/kg.day) در دو دوز القاء شد. دوره‌های متناوب انسداد خون در پاها و شامل سه دوره ۵ دقیقه‌ای انسداد و ۵ دقیقه جریان مجدد متعاقب بود. تمرین هوازی به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته انجام شد. بیان ژن *Drp1* و *MFN1* با روش *real-time PCR* اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: انفارکتوس میوکارد نسبت به گروه سالم با کاهش بیان *MFN1* (0.12 ± 0.013) در مقابل (1.00 ± 0.095) و افزایش *Drp1* (4.93 ± 0.209) در مقابل (1.01 ± 0.184) قلب همراه بود ($P < 0.05$). نسبت به گروه انفارکتوس، *MFN1* و *Drp1* به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری در گروه انسداد خون ($MFN1 = 0.29 \pm 0.028$ ، $Drp1 = 3.49 \pm 0.136$)، تمرین ($MFN1 = 0.40 \pm 0.010$ ، $Drp1 = 3.57 \pm 0.432$) و تمرین+انسداد ($MFN1 = 0.65 \pm 0.027$ ، $Drp1 = 1.76 \pm 0.022$) نشان داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و دوره‌های متناوب انسداد خون پاها با تنظیم شکافت و همجوشی میتوکندریایی منجر به بهبود پویایی میتوکندریایی قلب در موش‌های صحرایی نر مدل انفارکتوس میوکارد می‌شود و تمرین هوازی به‌همراه دوره‌های متناوب انسداد خون اثر بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: پیش شرطی سازی ایسکمی از راه دور، تمرین هوازی، پویایی میتوکندریایی، انفارکتوس میوکارد

* نویسنده مسؤول: دکتر امین فرزانه حساری، پست الکترونیکی: a.farzaneh@iau.ir

نشانی: ساری، جاده دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، دانشکده علوم انسانی، گروه تربیت بدنی، تلفن ۰۱۱-۳۳۰۳۲۸۹۱

وصول	۱۴۰۴/۴/۲۸	اصلاح نهایی	۱۴۰۴/۹/۱	پذیرش	۱۴۰۴/۹/۲۲	انتشار	In Press
------	-----------	-------------	----------	-------	-----------	--------	----------

مقدمه

مرکزی که بیوانرژیستیک سلولی، هموستاز کلسیم، سیگنالینگ ردوکس و مسیرهای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی را تنظیم می‌کنند؛ به‌طور حیاتی در پاتوژنز انفارکتوس میوکارد و آسیب ایسکمی-رپرفیوژن نقش دارند. علاوه بر نقش‌های متابولیک، یکپارچگی ساختاری و عملکردی شبکه میتوکندریایی که توسط مجموعه‌ای پیچیده از فرآیندها که تحت عنوان پویایی میتوکندریایی نامیده می‌شوند؛ تنظیم می‌گردد. این فرآیندهای پویا شامل همجوشی (ناشی از میتوفوزین‌های Mfn1، Mfn2 و Optic Atrophy Protein-1، OPA1)، شکافت (ناشی از پپتید-۱ مرتبط با دینامین، Drp1)

انفارکتوس میوکارد، تظاهر اصلی بیماری ایسکمیک قلب، همچنان یکی از علل پیشرو در بروز عوارض و مرگ و میر در سطح جهانی است. پاتوفیزیولوژی زمینه‌ای آن با انسداد حاد شریان کرونر مشخص می‌شود که منجر به ایسکمی میوکارد و پس از بازگرداندن جریان خون، آسیب ایسکمی-رپرفیوژن متعاقب آن می‌گردد. این آبشار پیچیده آسیب ایسکمی-رپرفیوژن به مرگ سلول‌های قلبی، التهاب و بازسازی نامطلوب قلب ختم می‌شود و در نهایت فرد را مستعد نارسایی قلبی می‌کند.^۱ میتوکندری‌ها، به عنوان اندامک‌های

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸-۱۰ هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی هیستونوتک تهران طی سال ۱۴۰۳ انجام شد.

تعداد نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار $G^*Power-3.1.9.2$ و با توجه به اندازه اثر ۰/۸۶، توان ۰/۶۵ و خطای نوع اول ۰/۰۵ تعداد ۵ سر موش در هر گروه تعیین شد.^{۱۱}

پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. حیوانات در شرایط آب و هوایی کنترل شده (دمای 22 ± 2 سانتی‌گراد، رطوبت 50 ± 5 درصد، سیکل روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. تعداد ۵ سر موش به عنوان گروه سالم جدا شدند و بقیه بعد از ایجاد مدل انفارکتوس میوکارد به صورت تصادفی در ۴ گروه شامل گروه انفارکتوس، گروه تمرین هوازی، گروه انسداد خون و گروه انسداد خون+تمرین هوازی قرار گرفتند.

به منظور ایجاد مدل تجربی انفارکتوس میوکارد، ایزوپروترونول (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، محلول در نرمال سالین) به صورت درون صفاقی طی دو روز متوالی با فاصله ۲۴ ساعت تزریق گردید. دو روز بعد از تزریق ایزوپروترونول و مطابق با مطالعات پیشین، وقوع انفارکتوس میوکارد از طریق نمونه‌گیری خون از سینوس رتروآریتهال حیوانات گروه سالم و گروه دچار انفارکتوس و مقایسه سطوح سرمی تروپونین قلبی، کراتینین کیناز (CK) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) تأیید شد.^{۱۲}

یک هفته پس از القای انفارکتوس میوکارد، پروتکل‌های تمرین ورزشی و دوره‌های متناوب انسداد جریان خون پاها آغاز شدند. طی یک دوره دو هفته‌ای سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌های صحرایی گروه‌های تمرینی به مدت یک هفته با فعالیت روی تردمیل آشنا شدند. این دوره آشناسازی شامل ۵ جلسه دویدن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد بود. متعاقباً، پروتکل تمرین هوازی به مدت هشت هفته، پنج روز در هفته، بر روی تردمیل مخصوص موش‌های صحرایی اجرا شد. شدت و مدت تمرین به صورت فزاینده تنظیم گردید. به طوری که هفته‌های اول و دوم ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، هفته‌های سوم و چهارم ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه، هفته‌های پنجم و ششم ۲۵ دقیقه با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و هفته‌های هفتم و هشتم ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه در نظر گرفته شد. شیب تردمیل در تمام طول دوره تمرین، ۵ درصد ثابت نگه داشته شد. هر جلسه تمرینی شامل ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۵ متر بر دقیقه بود.^{۱۳}

دوره‌های متناوب انسداد جریان خون شامل بستن یک تورنیکت (به عرض ۸ میلی‌متر) به بالای هر دو ران حیوانات و ایجاد سه دوره

میتوفاژی (شامل مسیرهای PINK1/Parkin) و بیوژنز (تولید میتوکندری‌های جدید) است.^۲ تعادل دقیق تنظیم شده بین این فرآیندها به‌خصوص بین شکافت و همجوشی برای کنترل کیفیت میتوکندری، سازگاری با نیازهای متابولیک و انعطاف‌پذیری سلولی در برابر استرس ضروری است. نقش اختلال در پویایی میتوکندریایی در پیامدهای آسیب‌زای انفارکتوس میوکارد تأیید شده است.^۳ مهار دارویی یا ژنتیکی شکافت ناشی از Drp1 می‌تواند محافظت قلبی قابل توجهی را در مدل‌های پیش‌بالینی انفارکتوس میوکارد ایجاد کند. همچنین، کاهش بیان یا فعالیت Mfn2 یا Opa1 در طول ایسکمی-رپرفیوژن می‌تواند یکپارچگی شبکه میتوکندریایی را مختل کرده و در نتیجه اختلال عملکرد میتوکندری و آسیب‌پذیری سلولی را تشدید کند.^۴

مطالعه‌ای نشان داد نارسایی قلبی با افزایش فسفوریلاسیون Drp1 در جایگاه Ser616 و کاهش سطوح Mfn2 و Opa1 همراه بود و تمرین هوازی به‌طور قابل توجهی Drp1 را کاهش و Mfn2 و Opa1 را افزایش داد.^۵ همچنین تمرین هوازی در موش‌های صحرایی دیابتی شکافت میتوکندریایی قلب را کاهش و تعادل میتوکندریایی را بهبود داده است.^۶

یکی از مداخله‌های درمانی بالقوه برای بیماری‌های قلبی-عروقی، پیش‌شرطی‌سازی ایسکمیک (Ischemic Preconditioning) است که شامل دوره‌های کوتاه و متناوب انسداد جریان خون و سپس برقراری مجدد جریان خون (رپرفیوژن) در یک بافت یا اندام خاص است که منجر به القای اثرات محافظتی در بافت می‌شود.^۷

مطالعه Sárközy و همکاران نشان داد که اعمال دوره‌های کوتاه و متناوب انسداد خون از قلب در برابر آسیب ایسکمی-رپرفیوژن در موش‌های صحرایی با بیماری کلیوی مزمن محافظت می‌کند.^۸ علاوه بر این، اعمال دوره‌های کوتاه انسداد خون و رپرفیوژن در یک اندام یا بافت، موجب محافظت از یک اندام یا بستر عروقی که در فاصله‌ای دورتر قرار دارد؛ در برابر آسیب‌های ایسکمی / رپرفیوژن آتی می‌شود که به عنوان پیش‌شرطی‌سازی ایسکمیک از راه دور (Remote Ischemic Preconditioning) خوانده می‌شود. به عنوان مثال، اعمال دوره‌های کوتاه و متناوب انسداد خون در اندام تحتانی می‌تواند سلول‌های قلبی را در برابر آسیب ناشی از انفارکتوس میوکارد محافظت نماید.^۹ همچنین، بهبود استرس شبکه آندوپلاسمی قلب در موش‌های صحرایی مدل سکته قلبی پس از اعمال دوره‌های کوتاه و متناوب انسداد جریان خون در یک پا و دو پای حیوانات گزارش شده است.^{۱۰}

این مطالعه به منظور تعیین اثر دوره‌های متناوب انسداد جریان خون پاها و تمرین هوازی بر پویایی میتوکندریایی قلب موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس میوکارد انجام شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای سنجش ژن های MFN1 و DRP1

ژن ها	توالی پرایمرها در جهت ۵ به ۳ (از چپ به راست)
GAPDH-f	AGGTCGGTGTGAACGGATTG
GAPDH-r	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
r-MFN1-F	ATC GGA TCT TTT TTG TTT CAG C
r-MFN1-R	CTC CTG TAA TCT TGC CTG
r-DRP1-F	GATCTCATGGATGCGGGTACT
r-DRP1-R	GGCCAATGGGTACTTCTT

برای تجزیه و تحلیل داده ها، ابتدا طبیعی بودن توزیع داده ها با آزمون شاپیرو-ویلک بررسی گردید. در ادامه، به منظور بررسی تفاوت ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-27 استفاده شد. سطح معنی داری آزمون ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

اطلاعات توصیفی گروه های مورد مطالعه در **جدول ۲** آمده است. فعالیت آنزیم های قلبی کراتین کیناز، لاکتات دهیدروژناز و تروپونین در گروه انفارکتوس میوکارد نسبت به گروه کنترل در اثر تزریق ایزوپرنالین افزایش آماری معنی داری داشت (**جدول ۳**).

جدول ۲: توصیف متغیرهای مورد مطالعه در پنج گروه موش های صحرایی

گروه ها	وزن اولیه (گرم)	وزن ثانویه (گرم)	میزان بیان ژن MFN1	میزان بیان ژن DRP1
سالم	221/47±A/4	244/6±12/3	1/03±0/095	1/011±0/184
سکته قلبی	206/3±10/2	207/6±10/3	0/12±0/013	4/937±0/209
تمرین	221/3±9/5	224/1±11/2	0/409±0/010	3/57±0/432
انسداد خون	208/8±8/3	213/8±12/1	0/298±0/028	3/99±0/136
تمرین+انسداد	213/2±10/7	217/3±9/7	0/659±0/027	1/765±0/227

جدول ۳: فعالیت آنزیم های قلبی در پنج گروه موش های صحرایی

گروه ها	لاکتات دهیدروژناز (U/L)	کراتین کیناز (U/L)	تروپونین (ng/L)
کنترل	211/3±12/4	244/1±14/4	0/1±0/075
سکته قلبی	251/8±15/2	289/1±18/1	0/13±0/088
P-value	0/024	0/006	0/028

بیان ژن DRP1 ($P<0/0001$) و FMN1 ($F=142/08$, $P<0/0001$) بافت قلب بین گروه های مختلف تفاوت آماری معنی داری داشت. بیان ژن FMN1 بافت قلب در گروه انفارکتوس میوکارد نسبت به گروه سالم کاهش آماری معنی داری داشت ($P<0/0001$). در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد، گروه انسداد خون ($P<0/0032$)، تمرین هوازی ($P<0/0001$) و تمرین هوازی+انسداد ($P<0/0001$) منجر به افزایش آماری معنی دار بیان FMN1 بافت قلب شد. بیان ژن FMN1 در گروه تمرین+انسداد در مقایسه با گروه انسداد خون ($P<0/0001$) و تمرین هوازی ($P<0/0001$) افزایش آماری معنی داری داشت. بین گروه تمرین و انسداد خون تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد (**نمودار یک**).

۵ دقیقه ای ایسکمی متناوب با سه دوره ۵ دقیقه ای رپرفیوژن و در مجموع ۳۰ دقیقه بود. انسداد جریان خون طی دوره ایسکمی با استفاده از نشانه های بالینی نظیر فقدان نبض، کاهش دمای اندام و سیانوز پوستی تأیید شد. فقدان نبض با استفاده از یک حسگر پالس قرار گرفته بر روی شریان دورسالیس پدیس (ادامه شریان تیپال قدامی در سطح قدامی مچ پا، طرفی نسبت به تاندون اکستنسور هالوسیس لونگوس) ارزیابی شد.^{۱۴} شایان ذکر است که در گروه انسداد+تمرین، دوره های متناوب انسداد جریان خون ۲۰ دقیقه پیش از هر جلسه تمرینی اعمال شد. به این صورت که اولین چرخه ۵ دقیقه ای ایسکمی، ۴۵ دقیقه پیش از شروع فعالیت ورزشی اعمال و پس از آن ۵ دقیقه رپرفیوژن در نظر گرفته شد. این چرخه های انسداد-رپرفیوژن سه مرتبه تکرار شدند. به صورتی که فعالیت هوازی ۲۰ دقیقه پس از اتمام آخرین دوره ایسکمی آغاز گردید.

حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، در شرایط استراحت و ناشتا با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بیهوش شدند و قلب موش ها استخراج در ازلت مایع قرار گرفت.

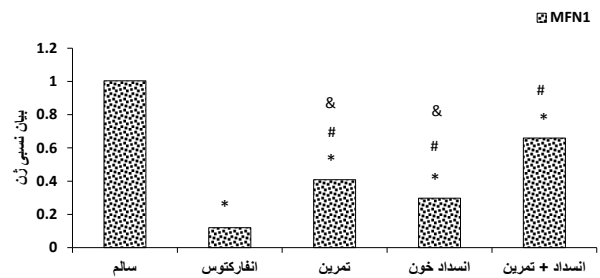
برای سنجش بیان ژن DRP1 و MFN1 از روش Real-TimePCR استفاده شد. ابتدا استخراج RNA صورت گرفت. برای این منظور، میکروتیوب ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. فاز شفاف رویی حاوی RNA جدا شده و به میکروتیوب دیگری منتقل گردید و به آنها ایزوپروپانول اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- انکوبه شدند. به منظور رسوب RNA، نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ RPM و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. پس از نیمه خشک شدن رسوب، مقدار ۲۰ الی ۳۰ میکرولیتر آب DEPC یا عاری از RNase به هر میکروتیوب اضافه شد تا رسوب RNA در آن حل شود. بعد از این مرحله سنتز cDNA انجام شد. برای تهیه میکس RT، برای ساخت cDNA شامل بافر RT، آنزیم RT، پرایمر dT Oligo و آب DEPC با یکدیگر مخلوط شده و سپس در حجم های ۹ μl در میکروتیوب های ۰/۲ میلی لیتری توزیع شدند. میکروتیوب های آماده شده حاوی RT mix و نمونه RNA در دستگاه ترموسایکلر یا Dry block heater برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷ درجه و ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه گذاشته شدند. نمونه های cDNA آماده شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از پایان آزمایش، اعداد CT مربوط به ژن رفرنس و ژن مرجع هر نمونه با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ بیان نسبی هر ژن محاسبه شد. توالی پرایمرها در **جدول یک** آمده است.

نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری و آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) مرتبط است. از طرفی کاهش همجوشی مانع تبادل محتویات میتوکندری و نجات میتوکندری‌های کمی آسیب‌دیده شده و سبب کاهش سلامت کلی میتوکندری می‌شود.^{۱۶}

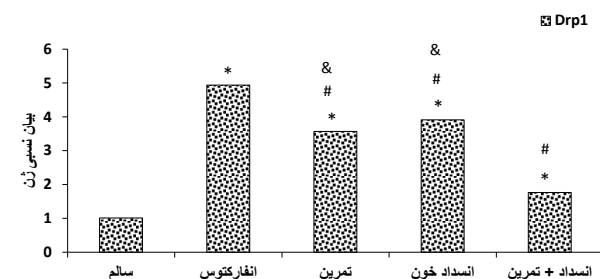
در مطالعه حاضر، تمرین هوازی منجر به افزایش بیان ژن MFN1 و کاهش بیان DRP1 بافت قلب بعد از انفارکتوس میوکارد شد. در این راستا، در مطالعه حقیقی و همکاران تمرین هوازی با شدت متوسط و تناوبی با شدت بالا منجر به افزایش بیان شاخص‌های همجوشی و کاهش شاخص‌های شکافت قلب موش‌های صحرایی گردید.^{۱۷} در مطالعه Gu و همکاران ابراز شد که تمرین هوازی با بهبود پویایی میتوکندریایی و افزایش عملکرد میتوکندریایی در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی نقش به‌سزایی دارد.^{۱۸} Ma و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی به طور قابل توجهی Drp1 را کاهش و Mfn2 و Opa1 را در موش‌های سوری با هایپرتروفی قلبی افزایش داد.^۵ در مقابل در مطالعه کرمی و همکاران شش هفته تمرین تناوبی متوسط و شدید بیان ژن Mfn2 را در قلب موش‌های هایپرتنسو تغییر نداد.^{۱۱} عدم تغییر بیان ژن Mfn2 و Opa1 در قلب موش‌های هایپرتنسو بعد از یک دوره تمرین هوازی در مطالعه Quiroga و همکاران نیز مشاهده شد.^{۱۹} Zhao و همکاران گزارش کردند که هشت هفته تمرین شنا منجر به افزایش پروتئین Mfn2 قلب موش‌های سوری با انفارکتوس میوکارد شده است.^{۲۰} احمدی و همکاران عدم تغییر معنی‌دار Mfn2 قلب بعد از ۴ هفته تمرین تناوبی شدید را در موش‌های صحرایی با انفارکتوس میوکارد گزارش کردند.^{۲۱} تفاوت در نتایج این مطالعات می‌تواند ناشی از عواملی چون نوع نمونه‌های تحقیق، پروتکل‌های تمرینی متفاوت و ویژگی‌های آزمودنی‌ها مورد بررسی باشد. به عنوان مثال، در مطالعه Zhao و همکاران انفارکتوس میوکارد با جراحی و بستن شریان کرونر موش‌های سوری سالمند القا شد و تمرین ۴ ماه بعد از آن انجام و بیان پروتئین Mfn2 قلب مورد سنجش قرار گرفت.^{۲۰} همچنین، نوع حیوان مورد مطالعه در برخی تحقیقات موش و در برخی مطالعات دیگر موش صحرایی بوده است. علاوه بر این، در مطالعه احمدی و همکاران شدت تمرین در هفته اول ۸۵ درصد و در هفته چهارم ۱۰۰ درصد سرعت بیشینه بود.^{۲۱}

سازوکارهای مولکولی که از طریق آنها تمرین، تغییرات را در پویایی میتوکندریایی قلب القا می‌کند؛ پیچیده و چندوجهی است. فعال شدن AMPK ناشی از ورزش که نه تنها PGC-1 α را فعال می‌کند؛ بلکه می‌تواند مستقیماً بر پروتئین‌های همجوشی و شکافت نیز اثر گذارد. PGC-1 α به عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی انرژی و بیوژنز میتوکندریایی است که می‌تواند فاکتورهای تنفسی هسته‌ای و فاکتور رونویسی میتوکندریایی را فعال کند. در نتیجه این آبشار

بیان ژن DRP1 بافت قلب در گروه انفارکتوس میوکارد نسبت به گروه سالم افزایش آماری معنی‌داری داشت ($P < 0.0001$). تمرین هوازی ($P < 0.0001$)، انسداد خون ($P < 0.0017$) و تمرین + انسداد ($P < 0.0001$) منجر به کاهش معنی‌دار بیان DRP1 بافت قلب در مقایسه با گروه انفارکتوس میوکارد شد. بیان ژن DRP1 در گروه تمرین + انسداد در مقایسه با انسداد خون ($P < 0.0012$) و تمرین ($P < 0.0001$) کاهش آماری معنی‌داری داشت. بین گروه تمرین و انسداد خون تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲).



نمودار ۱: میزان بیان نسبی ژن MFN1 در موش‌های صحرایی پنج گروه مورد مطالعه * تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه سالم، # تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه انفارکتوس، & تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه انسداد + تمرین



نمودار ۲: میزان بیان نسبی ژن Drp1 در موش‌های صحرایی پنج گروه مورد مطالعه * تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه سالم، # تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه انفارکتوس، & تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) نسبت به گروه انسداد + تمرین

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، انفارکتوس میوکارد با کاهش بیان ژن MFN1 و افزایش بیان ژن DRP1 در بافت قلب همراه بود و تمرین هوازی و دوره‌های متناوب انسداد جریان خون پاها به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر منجر به افزایش بیان ژن MFN1 و کاهش بیان ژن DRP1 شدند. به طوری که میزان تغییرات در گروه‌های تمرین + انسداد از تمرین و ایسکمی تنها بیشتر بود. مشابه با نتایج مطالعه حاضر، مطالعاتی نشان داده‌اند^{۱۶، ۱۵} که پویایی میتوکندریایی پس از انفارکتوس میوکارد به‌طور پاتولوژیک تغییر می‌کند. به‌طوری که با افزایش پروتئین‌های شکافت مانند DRP1 و Fis1 و کاهش پروتئین‌های همجوشی از جمله Mfn1، Mfn2 و Opa1 همراه است. تکه‌تکه شدن بیش از حد، بخش‌های آسیب‌دیده میتوکندری را جدا می‌کند؛ اما اگر کنترل نشود؛ به تجمع اندامک‌های ناکارآمد می‌انجامد.^{۱۵} این حالت افزایش یافته شکافت اغلب با افزایش

می‌کند.^{۲۶} فراتر از تعدیل مستقیم پروتئین‌های شکافت / همجوشی، دوره‌های متناوب انسداد جریان خون ممکن است میتوکندری‌ها را برای مکانیسم‌های کنترل کیفیت کارآمدتر، مانند میتوفاژی، آماده کند. در حالی که شکافت بیش از حد می‌تواند مضر باشد؛ شکافت تنظیم شده برای جداسازی قطعات آسیب‌دیده میتوکندری برای پاکسازی اتوفاژیک ضروری است. نشان داده شده است که دوره‌های متناوب انسداد جریان خون میتوفاژی را با واسطه PINK1/Parkin افزایش می‌دهد و وضعیت پویایی شبکه میتوکندریایی مستقیماً بر کارایی این فرآیند اثر می‌گذارد.^{۲۸،۲۷} تنظیم متعادل پویایی، جلوگیری از تکه‌تکه شدن بیش از حد در حالی که امکان شکافت هدفمند را فراهم می‌کند؛ بهینه خواهد بود.

از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به روش تشخیص انسداد جریان خون در اندام‌ها اشاره کرد که بر اساس علائم حیاتی نظیر کاهش دما، فقدان نبض و سیانوز پوستی تأیید شد. استفاده از روش‌های دقیق‌تری مانند سونوگرافی داپلر یا تصویربرداری برای اطمینان از انسداد جریان خون توصیه می‌شود. علاوه بر این، عدم اندازه‌گیری شاخص‌های عملکرد قلبی قبل و بعد از القای انفارکتوس میوکارد و همچنین عدم تعیین اندازه انفارکتوس قلبی با روش‌های هیستوشیمیایی، از دیگر محدودیت‌های این پژوهش بود. از سوی دیگر، تا زمان روشن شدن کامل مسیرهای فیزیولوژیک مؤثر بر کاهش آسیب‌های سلولی در انفارکتوس میوکارد، تعمیم نتایج مطالعه حاضر به نمونه‌های انسانی با ایستی با احتیاط صورت گیرد و نیازمند مطالعات تکمیلی است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که دوره‌های متناوب و کوتاه مدت انسداد جریان خون در پاهای قادر است اثرات سودمند تمرین هوازی را در بهبود پویایی میتوکندریایی بافت قلب موش‌های صحرایی مدل انفارکتوس میوکارد تقویت نماید. ضمن آنکه بخشی از اثر محافظت قلبی دوره‌های متناوب و کوتاه مدت انسداد جریان خون ممکن است ناشی از بهبود پویایی میتوکندریایی باشد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری (IR.IAU.SARI.REC.1404.122) قرار گرفت. این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم هدی یزدانی برای اخذ درجه دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی (شماره ۱۶۳۱۰۹۵۷۵) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری بود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تضاد منافع وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

هدی یزدانی: انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها و نوشتن نسخه اولیه

سیگنالینگ، تعداد و تراکم میتوکندری‌ها در عضله قلب افزایش می‌یابد. افزایش کلسیم داخل سلولی ناشی از انقباض عضلانی، از طریق فعال‌سازی CaMKII و کلسی‌نورین، مسیرهای سیگنالینگ را فعال می‌کند که به بیوژنز و سایر جنبه‌های پویایی میتوکندریایی کمک می‌کنند.^{۲۲} علاوه بر این، گونه‌های فعال اکسیژن که در سطوح پایین تا متوسط در حین ورزش تولید می‌شوند؛ می‌توانند به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ عمل کرده و پاسخ‌های تطبیقی را القا کنند. شواهد نشان داده‌اند که گونه‌های فعال اکسیژن شکافت میتوکندریایی را تحریک می‌کند. گونه‌های فعال اکسیژن که در طول فعالیت تولید می‌شوند، به عنوان پیام‌رسان‌های ثانویه عمل کرده و دفاع آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز ۲ را فعال کرده و گردش میتوکندریایی را تقویت می‌کنند. این مسیرها بر نقش دوگانه تمرین در تحمیل استرس و تقویت انعطاف‌پذیری میتوکندریایی تأکید می‌کنند.^۵

در مطالعه حاضر، دوره‌های متناوب انسداد جریان خون منجر به افزایش بیان ژن MFN1 و کاهش بیان DRP1 بافت قلب بعد از انفارکتوس میوکارد گردید. مطالعات محدودی اثر دوره‌های متناوب انسداد جریان خون بر پویایی میتوکندریایی بافت قلب را بررسی کرده‌اند. در این رابطه، Wang و همکاران گزارش کردند که دوره‌های متناوب انسداد جریان خون قلب منجر به افزایش MFN1 و کاهش DRP1 قلب موش‌های صحرایی با نارسایی مزمن کلیه دارای آسیب ایسکمی-رپر فیوژن قلب، گردید. آسیب ایسکمی-جریان مجدد با ۴۰ دقیقه ایسکمی و ۱۲۰ دقیقه جریان مجدد جریان خون در قلب ایجاد شد و دوره‌های متناوب انسداد جریان خون در پاهای چند دقیقه قبل از آسیب ایسکمی اعمال شد.^{۲۳} در مطالعه Ismail و همکاران افزایش بیان شاخص‌های همجوشی و کاهش شاخص‌های شکافت در قلب موش‌های صحرایی با آسیب ایسکمی-جریان مجدد در نتیجه اعمال دوره‌های متناوب انسداد جریان خون در کرونر قلب در مطالعه‌ای In-Vitro نشان داده شد.^{۲۴} احتمالاً مسیرهای سیگنال‌دهی مسئول اثر دوره‌های متناوب انسداد جریان خون بر پویایی میتوکندری چندوجهی هستند. مسیر RISK (پروتئین کینازهای نجات‌دهنده آسیب رپر فیوژن)، شامل PI3K-Akt و ERK1/2، یک سازوکار احتمالی است. نشان داده شده است که Drp1، Akt و Ser637 فسفوریله می‌کند و فعالیت شکافت آن را مهار می‌کند؛ در حالی که ERK1/2 نیز می‌تواند Drp1 را تعدیل کند.^{۲۵} علاوه بر این، واسطه‌های سیگنال‌دهی مانند GSK3 β که فعالیت Drp1 را از طریق فسفوریلاسیون Ser616 افزایش می‌دهد؛ می‌تواند توسط Akt مهار شود. بنابراین، مهار GSK3 β ناشی از دوره‌های متناوب انسداد جریان خون، یک مکانیسم محافظت‌کننده قلبی تأیید شده است که به تغییر مشاهده شده از شکافت کمک

نهایی مقاله. دکتر عبدالرضا جعفری: انجام پروژ، آنالیز داده‌ها و تایید نسخه نهایی مقاله.

مقاله. دکتر امین فرزانه حساری: مدیریت و طراحی پروژ، انجام پروژ، تفسیر نتایج و تایید نسخه نهایی مقاله. دکتر هاجر عباس زاده: مدیریت و طراحی پروژ، آنالیز داده‌ها، تفسیر نتایج و تایید نسخه

References

- Deng Y, Chen Q, Wang T, Wang S, Li R, Wang Y, et al. Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Mechanism and Targeted Treatment for Ferroptosis. *Anatol J Cardiol*. 2024 Feb;28(3):133-41. <https://doi.org/10.14744/anatoljcardiol.2023.3606>.
- Yang M, Linn BS, Zhang Y, Ren J. Mitophagy and mitochondrial integrity in cardiac ischemia-reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019 Sep;1865(9):2293-302. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.05.007>.
- Atici AE, Crother TR, Noval Rivas M. Mitochondrial quality control in health and cardiovascular diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2023 Nov;11:1290046. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1290046>.
- Zhang M, Zou R, Wang G, Fan X. Editorial: Mitochondrial quality control in cardiovascular diseases. *Front Cardiovasc Med*. 2023 Jul;10:1243895. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1243895>.
- Ma M, Chen W, Hua Y, Jia H, Song Y, Wang Y. Aerobic exercise ameliorates cardiac hypertrophy by regulating mitochondrial quality control and endoplasmic reticulum stress through M2 AChR. *J Cell Physiol*. 2021 Sep;236(9):6581-96. <https://doi.org/10.1002/jcp.30342>.
- Wang B, Zhao C, Wang Y, Tian X, Lin J, Zhu B, et al. Exercise ameliorating myocardial injury in type 2 diabetic rats by inhibiting excessive mitochondrial fission involving increased irisin expression and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *J Diabetes*. 2024 Jan;16(1):e13475. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13475>.
- O'Brien L, Jacobs I. Methodological Variations Contributing to Heterogenous Ergogenic Responses to Ischemic Preconditioning. *Front Physiol*. 2021 Apr;12:656980. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.656980>.
- Sárközy M, Márványkövi FM, Szűcs G, Kovács ZZA, Szabó MR, Gáspár R, et al. Ischemic preconditioning protects the heart against ischemia-reperfusion injury in chronic kidney disease in both males and females. *Biol Sex Differ*. 2021 Sep;12(1):49. <https://doi.org/10.1186/s13293-021-00392-1>.
- Lang JA, Kim J. Remote ischaemic preconditioning - translating cardiovascular benefits to humans. *J Physiol*. 2022 Jul;600(13):3053-67. <https://doi.org/10.1113/jp282568>.
- Ghorbanipor A, Farzaneh Hesari A, Farzanegi P, Jafari A. [Remote Ischemic Preconditioning Enhances the Effect of Aerobic Exercise on Cardiac Endoplasmic Reticulum Stress in Rats with Myocardial Infarction Model]. *Sport Physiology*. 2025;17(66):49-34. <https://doi.org/10.22089/spj.2025.18049.2373>. [Article in Persian]
- Karami H, Farzaneh Hesari A, Farzanegi P. [The Effect of Two Different Intensities of Interval Training with Alpha Lipoic Acid Consumption on the Expression of mfn Gene in Heart Tissue of Rats with Hypertension]. *Razi J Med Sci*. 2022;29(6):188-98. [Article in Persian]
- Pouzesh Jadidi G, Seifi-Skishahr F, Bolboli L, Azali Alamdari K, Pourrahim Ghouroghch A. [Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventricular of miR-133 and miR-1 gene expression in isoproterenol-induced myocardial infarction rat model]. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2023;11(25):8-20. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4337.1638>. [Article in Persian]
- Jamali Qarakhani B, Ebrahimi Kalan A, Tofighi A. [Effect of resveratrol and aerobic exercise on some cardiovascular risk factors in rats with acute myocardial infarction]. *JSSU*. 2017;25(6):501-11. [Article in Persian]
- Zatparvar M, Farzaneh Hesari A, Farzanegi P. [Effects of intermittent cycles of ischemia with resistance and endurance training on Murf-1 and Atrogin-1 gene expression and fiber diameter of gastrocnemius muscle in diabetic rats]. *J Sport Exerc Physiol*. 2024;17(2):80-94. <https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.235584.1250>. [Article in Persian]
- Tokuyama T, Yanagi S. Role of Mitochondrial Dynamics in Heart Diseases. *Genes (Basel)*. 2023 Sep;14(10):1876. <https://doi.org/10.3390/genes14101876>.
- Forte M, Schirone L, Ameri P, Basso C, Catalucci D, Modica J, et al. The role of mitochondrial dynamics in cardiovascular diseases. *Br J Pharmacol*. 2021 May;178(10):2060-76. <https://doi.org/10.1111/bph.15068>.
- Haghighi 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. *J Orthop Surg Res*. 2025 Apr;20(1):395. <https://doi.org/10.1186/s13018-025-05809-w>.
- Gu C, Yan J, Zhao L, Wu G, Wang YL. Regulation of Mitochondrial Dynamics by Aerobic Exercise in Cardiovascular Diseases. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Jan;8:788505. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.788505>.
- Quiroga C, Mancilla G, Oyarzun I, Tapia A, Caballero M, Gabrielli LA, et al. Moderate Exercise in Spontaneously Hypertensive Rats Is Unable to Activate the Expression of Genes Linked to Mitochondrial Dynamics and Biogenesis in Cardiomyocytes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Aug;11:546. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00546>.
- Zhao D, Sun Y, Tan Y, Zhang Z, Hou Z, Gao C, et al. Short-Duration Swimming Exercise after Myocardial Infarction Attenuates Cardiac Dysfunction and Regulates Mitochondrial Quality Control in Aged Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Apr;2018:4079041. <https://doi.org/10.1155/2018/4079041>.
- Ahmadi A, Kashef M, Rajabi H, Salehpour M. The effect of exercise preconditioning with high-intensity interval training on cardiac protection following induction of myocardial infarction through mitochondrial dynamic changes in cardiac tissue in male rats. *Arch Sports Med Physiother*. 2023;8(1):11-18. <https://doi.org/10.17352/asmp.000018>.
- Viloria MAD, Li Q, Lu W, Nhu NT, Liu Y, Cui ZY, et al. Effect of exercise training on cardiac mitochondrial respiration, biogenesis, dynamics, and mitophagy in ischemic heart disease. *Front Cardiovasc Med*. 2022 Oct;9:949744. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.949744>.
- Wang A, Zhang D, Liu J, Yan H, Zhang P, Yuan H, et al. Guanxinning Injection Combined With Ischemic Postconditioning Attenuate Myocardial Ischemic Reperfusion Injury in Chronic Renal Failure Rats by Modulating Mitochondrial Dynamics. *Front Cardiovasc Med*. 2022 May;9:905254. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.905254>.
- Ismail NI, Michel NA, Katwadi K, Lim MM, Chan TK,

- Rahman A, et al. Ischemic Preconditioning and Postconditioning Protect the Heart by Preserving the Mitochondrial Network. *Biomed Res Int*. 2022 Sep;2022:6889278. <https://doi.org/10.1155/2022/6889278>.
25. Wen C, Xue FS, Wang YH, Jin JH, Liao X. Hypercholesterolemia attenuates cardioprotection of ischemic preconditioning and postconditioning with $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist by enhancing inflammation and inhibiting the PI3K/Akt/eNOS pathway. *Exp Ther Med*. 2022 May;23(5):342. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11272>.
26. Kong E, Li Y, Geng X, Wang J, He Y, Feng X. Ischemic preconditioning attenuates endoplasmic reticulum stress-dependent apoptosis of hepatocytes by regulating autophagy in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Int Immunopharmacol*. 2023 Sep;122:110637. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110637>.
27. Zhao X, Wang Z, Wang L, Jiang T, Dong D, Sun M. The PINK1/Parkin signaling pathway-mediated mitophagy: a forgotten protagonist in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Res*. 2024 Nov;209:107466. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2024.107466>.
28. Zhang J, Zhao Y, Yan L, Tan M, Jin Y, Yin Y, et al. Corosolic acid attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury through the PHB2/PINK1/parkin/mitophagy pathway. *iScience*. 2024 Jul;27(8):110448. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110448>.