مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیست و سوم، شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۳۹۶ ـ ۳۸۸ (بهمن ـ اسفند ۱۴۰۰)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر شش هفته تمرین هوازی بر سطح میتوکندریایی OPA-1 در عضله چهارسر موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

پریسا کوهی ، دکتر مهدی بوستانی

گروه تربیت بدنی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. **نشانی مکاتبه با نویسنده‌ی مسئول:** اهواز، بزرگراه گلستان، فرهنگ شهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز گروه تربیت بدنی، کد پستی ۳۷۳۳۳-۶۱۳۴۹ صندوق پستی ۱۹۱۵، دکتر مهدی بوستانی؛ e-mail: bostanim@yahoo.come

چکیده

مقدمه: اختلالات پویایی میتوکندریایی به بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت نسبت داده می‌شود. پروتئین‌های **MFN2** و **OPA-1** تنظیم‌کننده‌های اصلی هم‌جوشی و **DRP1** پروتئین ضروری تنظیم‌کننده‌ی شکافت میتوکندری می‌باشد. افزایش یا کاهش بیان ژن‌های مربوطه موجب عدم تعادل میان این دو فرآیند خواهد شد. این مطالعه به منظور بررسی اثر شش هفته تمرین هوازی بر سطح میتوکندریایی **OPA-1** عضله چهارسر موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد. مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۳۲ سر موش صحرایی به طور تصادفی به چهار گروه (n=۸) سالم-شاهد، سالم-تمرین، دیابت-شاهد و دیابت-تمرین تقسیم شدند. حیوانات بر روی نوارگردان مطابق پروتکل تمرین استقامتی به مدت شش هفته (۵ جلسه در هفته) دویدند. دیابت با تزریق صفاقی ۵۰ میلی‌گرم استرپتوزوسین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن القاء گردید. پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها توسط تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم/هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین ۱۰ میلی‌گرم /به ازای هر کیلوگرم وزن) بیهوش شدند. سپس بافت عضله چهارسر ران برداشته و بر اساس اصول استاندارد نگه‌داری شد. جهت مقایسه بین گروها از آزمون آماری آنوای یک طرفه در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده شد و جهت بررسی تفاوت بین میانگین-های دو گروه از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها: القاء دیابت موجب کاهش معنادار سطح **OPA-1** در بافت عضله چهارسر موش‌های دیابتی شده است (p=۰/۰۱۲)، شش هفته تمرین هوازی موجب افزایش معنی‌دار سطح پروتئین **OPA-1** در عضله چهارسر موش‌های دیابتی تمرین کرده شده است (p=۰/۰۱۶). نتیجه‌گیری: دیابت القایی موجب کاهش سطح پروتئین **OPA-1** می‌گردد ولی تمرین هوازی با افزایش سطح این پروتئین در موش‌های دیابتی منجر به افزایش هم‌جوشی و در نتیجه بهبود عملکرد میتوکندری در بافت عضله موش‌ها می‌گردد.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین هوازی، پویایی میتوکندریایی، پروتئین OPA-1، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۳/۳۱ـ دریافت اصلاحیه: ۱۴۰۱/۴/۱۱ ـ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۴/۲۹

مقدمه

عضله اسکلتی یک بافت متابولیک ضروری است که تقریباً ۵۰ درصد از کل توده بدن بوده و تقریباً ۸۰ درصد از کل جذب گلوکز تحریک شده توسط انسولین در بدن را تشکیل می‌دهد.[۱] اختلال عملکرد عضلات اسکلتی ناشی از چاقی می‌تواند منجر به اختلالات متابولیک، به ویژه مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ شود.[۲] پویایی میتوکندری‌ها[i] در عضله اسکلتی، به عنوان یکی از سازوکارهای ضروری برای القای مقاومت به انسولین، نقش مهمی در تنظیم این عارضه دارد.[۴]

کاهش تولید انسولین توسط سلول‌های بتای پانکراس منجر به بروز دیابت نوع یک (T1D)[ii] می‌شود. اگرچه تزریق انسولین راهبردی اولیه برای درمان دیابت نوع یک است، اما این عمل درمان قطعی نیست و منجر به ضعف عملکرد عضلات و کاهش کیفیت زندگی در افراد مبتلا به T1D می‌شود. موناکو[iii] و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که کاهش توده و عملکرد عضلانی در T1D؛ شکلی تسریع شده از

i -Mitochondrial Dynamic

ii -Type 1 Diabetes
iii -Monaco

کاهش قدرت و توده عضلانی مرتبط با افزایش سن یا سارکوپنی است. محققین نشان داده‌اند که اختلال عملکرد میتوکندری در تخریب عضلانی ناشی از دیابت نوع یک نقشی حیاتی دارد.[۵] بر این اساس کاهش عملکرد میتوکندری در دیابت نوع یک[۶،۷] مشابه اتفاقی است که بر اساس پیری[۸] در میتوکندری رخ می‌دهد. اختلال عملکرد میتوکندری شامل افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال، افزایش استرس اکسیداتیو، کاهش تنفس میتوکندریایی، کاهش ظرفیت اکسایشی، افزایش باز شدن منافذ نفوذپذیری میتوکندری، کاهش پویایی میتوکندری و در نهایت مرگ سلولی می‌باشد؛ که در دیابت نوع یک اتفاق می‌افتد.[۷،۹] با وجود کاهش و یا عدم ترشح انسولین در دیابت نوع یک، با این حال در افراد مبتلا به این بیماری، مقاومت به انسولین نیز شایع است.[۱۰]

میتوکندری‌ها تحت چرخه‌های هم‌جوشی[i] و شکافت[ii] (تغییرات ساختاری و مورفولوژیکی) قرار می‌گیرند که به عنوان دینامیک یا پویایی میتوکندری شناخته می‌شود، هم‌جوشی یا به هم پیوستن میتوکندری‌ها با ترکیب مجدد مواد میتوکندریایی؛ مانند پروتئین‌ها، متابولیت‌ها و DNA میتوکندری به بازآرایی و رفع آسیب‌ها کمک می‌کند، در حالی‌که شکافت میتوکندری شامل فرآیند تقسیم و ایجاد میتوکندری‌های جدید است. تعادل بین این دو فرآیند، حرکات و مورفولوژی میتوکندری را تعدیل می‌کند. پروتئین‌های میتوفیوزین-۱[iii]، میتوفیوزین-۲[iv] و آتروفی بینایی-۱[v] هماهنگ کننده فرآیند هم‌جوشی میتوکندریایی می‌باشند.[۱۲،۱۱] پروتئین وابسته به دینامین-۱[vi] به همراه پروتئین شکافت میتوکندریایی-۱[vii] تقسیم میتوکندری را رهبری می‌کنند.[۱۳،۱۴] این دو فرآیند در شرایط فیزیولوژیک متعادل هستند و در هموئوستاز میتوکندری‌ها از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند.[۱۵] عدم تعادل این دو فرآیند موجب به هم‌ریختگی ساختاری میتوکندری‌ها، اختلالات متابولیسمی، تجزیه میتوکندری‌ها و مرگ برنامه ریزی شده سلول[viii] می‌گردد.[۱۷،۱۶] در سلول‌های پستانداران، میتوکندری‌ها اندامک‌های پویایی هستند که به طور مداوم مورفولوژی خود را از طریق اعمال هم‌جوشی و شکافت در پاسخ به شرایط درون سلولی تغییر می‌دهند و تغییر در تعادل این فرایندها در وقایع مختلف زیست‌شناختی و عملکردی سلول در ارتباط است.[۱۸] این رخدادها فرآیندهای کلیدی مرتبط با کنترل کیفیت میتوکندری، بازسازی میتوکندری و هومئوستاز میتوکندری در سلول‌های عضلانی بالغ محسوب می‌شوند.[۱۹] مطالعات نشان داده است که بیان کم پروتئین‌های هم‌جوشی با قطعه قطعه شدن شبکه‌های میتوکندریایی همراه است.[۲۰] نشان داده شده است که هیپرگلیسمی ناشی از دیابت نوع یک که با عدم ترشح یا کاهش ترشح انسولین رخ می‌دهد با کاهش میزان OPA-1 در ارتباط است و اختلال عملکرد میتوکندی عضلات و سرانجام مرگ سلولی در بافت عضله را به دنبال دارد.[۲۱]

به دنبال کاهش ترشح انسولین در دیابت نوع یک، بیان DNA میتوکندری کاهش می‌یابد،[۲۲] هم‌چنین بازسازی انرژی و سطح آنزیم ATP سنتتاز نیز بر اثر دیابت نوع یک کاهش می‌یابد.[۲۳] با توجه به این‌که میتوکندری اندامکی حیاتی در تولید انرژی سلولی است،[۲۴] لذا کاهش تولید انرژی سلولی و در نتیجه اختلال عملکرد میتوکندری در دیابت نوع یک رخ می‌دهد. در دیابت، کاهش تنظیمی پروتئین‌های هم‌جوشی و کاهش حجم میتوکندریایی مشاهده شده است.[۱۳،۲۵] در موش‌هایی که OPA-1 در سلول‌های بتای آن‌ها حذف شده بود، ترشح انسولین کاهش و هایپرگلایسمی گسترش یافته بود. در بیماری دیابت، از دست رفتن شکل توبولی برخی سلول‌های بتا و سلول‌های عضلانی، و افزایش شکافت نورون‌ها و اندوتلیوم مدل‌های حیوانی مشاهده شده است.[۱۳]

ورزش موثرترین مداخله برای کاهش اختلال عملکرد میتوکندری ناشی از دیابت نوع یک می‌باشد. ورزش با افزایش پویایی میتوکندری، افزایش زیست‌زایی میتوکندری و خودخواری میتوکندری آسیب دیده (میتوفاژی[ix]) نقش مهمی در حفظ عملکرد مطلوب میتوکندری در دیابت نوع یک دارد.[۲۶] در میان رویکردهای درمانی مختلف، ورزش یک رویکرد غیردارویی امیدوارکننده برای کنترل و یا کاهش عوارض ناشی از دیابت نوع یک بر عملکرد میتوکندری می‌باشد. با این حال بر اساس دانش ما بررسی تاثیر فعالیت‌های ورزشی هوازی بر پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری؛ بویژه OPA-1، در بیماری دیابت نوع یک، تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین، در این مطالعه، فرض بر آن است که

i -Fusion
ii -Fission
iii-Dynamin-related GTPases Mitofusins Specialized Proteins-1
iv- Dynamin-related GTPases Mitofusins Specialized Proteins-2
v -Optic Atrophy Protein-1
vi- Dynamin-related Protein-1
vii -Mitochondrial Fission Protein-1
viii -Apoptosis
ix- Mitophagy

اولاً؛ دیابت نوع یک منجر به تغییر پروتئین OPA-1 در بافت عضله چهار سر ران موش‌های دیابتی می‌شود و دوماً تمرین ورزشی هوازی متوسط می‌تواند با تاثیر بر میزان پروتئین فوق به حفظ پویایی میتوکندری در دیابت نوع یک کمک کند.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن ۸ هفتگی با محدوده وزنی ۲/۱۰±۲۲۰ گرم از مرکز تکثیر حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه و در گروه‌های ٤ تایی در قفس‌های استاندارد از جنس پلی‌کربنات در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و تحت سیکل ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی نگه‌داری شدند. به تمامی موش‌ها دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش داده شد که با یک رژیم غذایی استاندارد (۱٤٪ از چربی ، ۳۲٪ پروتئین و ٥٤٪ کربوهیدرات) تغذیه شدند. بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه و آشناسازی با نوارگردان، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه (n=۸) دیابت-تمرین (DT)، دیابت-شاهد (DC)، سالم-تمرین (HT) و سالم-شاهد (HC) تقسیم شدند. قابل ذکر است که در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات (جابه جایی، محیط نگه‌داری، تغذیه، القاء دیابت، تمرین، بی هوشی، تشریح) توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز با کد IR.IAU.AHVAZ.REC.1399.098 مورد تایید قرار گرفت.

القاء دیابت با تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محلول استروپتوزوتوسین STZ (Sigma, St. Louis, MO)؛ حل شده در بافر سیترات M ۰/۰۵ با Ph=٤/٥ انجام شد. به موش‌های غیر دیابتی نیز معادل حجمی بافر سیترات M ۰/۰۵ با pH=٤/٥ به صورت درون صفاقی تزریق شد. جهت تزریق درون صفاقی از سرنگ انسولین استفاده گردید. ٤۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست بر روی ورید دم، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و نوار توسط دستگاه گلوکومتر (گلوکوترند ۲، شرکت روشه آلمان)[i] اندازه‌گیری و موش‌های صحرائی که قند خون آن‌ها بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.[۲۷] قابل ذکر است که علاوه بر اندازه‌گیری هفتگی سطح گلوکز خون، در پایان هر هفته وزن موش‌ها نیز توسط ترازوی مخصوص موش اندازه‌گیری و ثبت می‌شد.

پروتوکل تمرین هوازی

گروه‌های DT و HT به مدت ٦ هفته تمرین استقامتی را (٥ جلسه در هفته) با شدت ٥٥-٥٠ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه بر روی نوارگردان با شیب صفر درصد انجام دادند. سرعت و مدت تمرین نوارگردان به‌تدریج افزایش یافته و از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اول، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱٥-۱٤ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱٥-۱٤ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت.[۲۸] جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست‌آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند (جدول ۱).

موش‌های صحرائی در پایان شش هفته برنامه تمرینی و ٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۹۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس تحت شرایط استریل و بر اساس استانداردهای لازم، بافت عضله چهارسر ران از محل چسبندگی به استخوان لگن و استخوان درشت نی برداشته شد. بافت استخراج شده در نیتروژن مایع منجمد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات ملکولی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. جهت اندازه‌گیری سطح پروتئین OPA-1 از روش الایزا[ii] با استفاده از کیت‌های شرکت مای بیوسورس[iii] آمریکا که توسط آزمایشگاه هیستوژنتیک تهیه شده بود استفاده شد. حساسیت کیت الایزای مخصوص موش صحرایی برای سنجش پروتئین فوق ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر با دقت درون‌سنجی (CV) کمتر از ۱۵ درصد بود.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار، رسم جدول و نمودار) و آمار استنباطی استفاده شد. طبیعی بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو و ویلک مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت مقایسه متغیرهای وزن و سطح گلوکز خون موش‌های چهار گروه در هشت زمان مختلف از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد.

i -Glucotrend 2- Roche, Germany

ii- Enzyme-linked Immunosorbent Assay

iii -MyBioSource

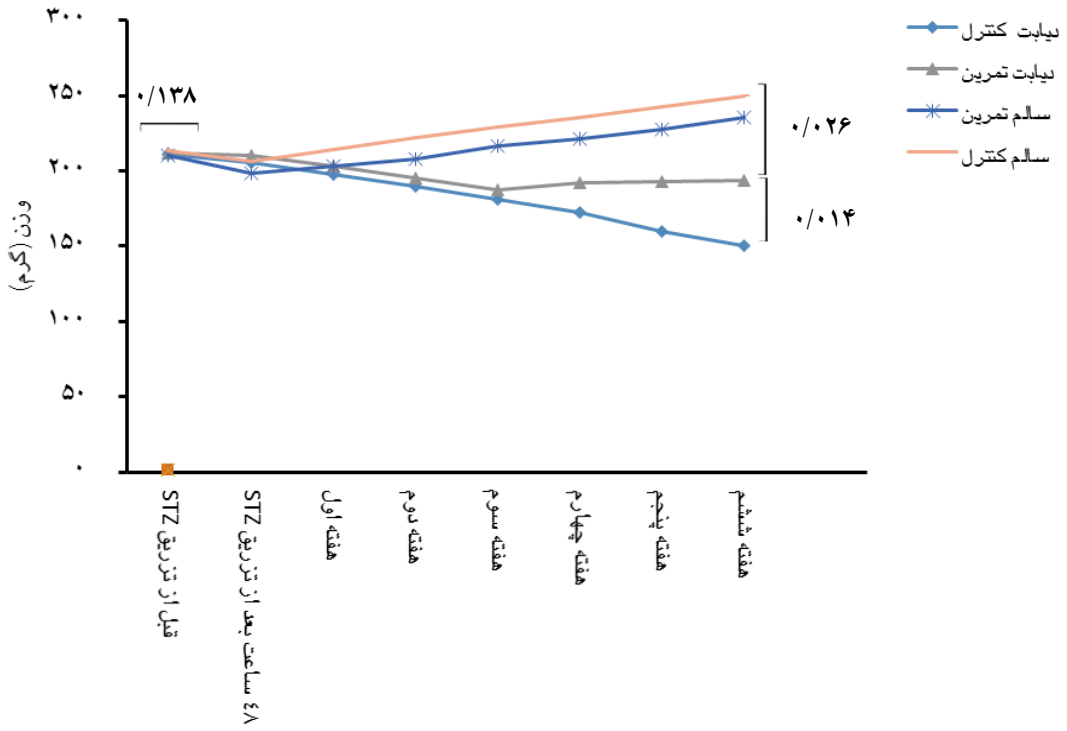
جدول۱- پروتکل تمرین استقامتی

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۴-۱۵	۱۴-۱۵	۱۷-۱۸	۱۷-۱۸

جهت مقایسه تغییرات سطح پروتئین OPA-1 گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه[i] و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معناداری P≤۰/۰۵ انجام گردید.

یافته‌ها

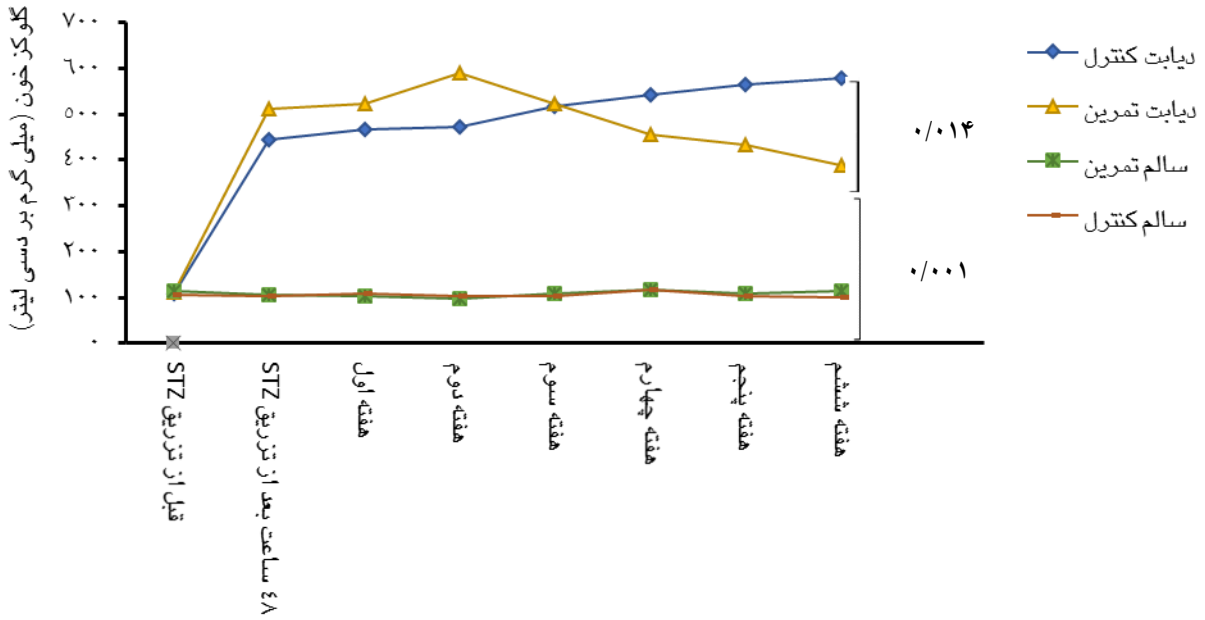
برای بررسی تغییرات وزن و میزان گلوکز خون موش-های صحرایی (نمودار ۱) در گروه‌ها، با توجه به این‌که اندازه‌گیری‌ها در ۸ زمان مختلف (قبل از تزریق STZ، ۴۸ ساعت پس از تزریق STZ و در پایان هر شش هفته از دوره تمرین) صورت گرفت، مقایسه داده‌ها در گروه‌ها با آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر انجام شد. نتایج این آزمون نشان داد که اختلاف معناداری در وزن اولیه موش‌ها در گروه‌های مورد مطالعه وجود نداشت (P=۰/۱۳۸)، اما در پایان مطالعه، میانگین تغییرات وزن گروه دیابت-شاهد به طور معناداری پایین‌تر از گروه سالم-شاهد بود (P=۰/۰۲۶). از طرفی شش هفته تمرین هوازی مانع از کاهش وزن ناشی از القاء دیابت گردید و میانگین تغییرات وزن گروه دیابت-تمرین در هفته‌های پایانی نسبت به گروه دیابت-شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P=۰/۰۱۴). (نمودار ۲)



نمودار ۱- مقایسه میزان تغییرات وزن بدن موش‌ها در گروه‌های مختلف و فواصل زمانی پیش از القاء دیابت، ۴۸ ساعت بعد از القاء دیابت و در پایان هر هفته از برنامه تمرین هوازی

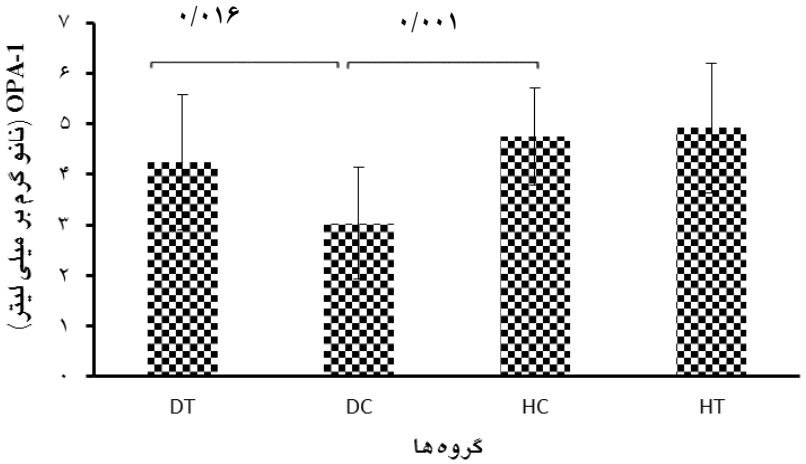
i- Analysis of Variance (ANOVA)

سطح گلوکز خون، ٤٨ ساعت پس از القای دیابت با تزریق صفاقی استرپتوزوتوسین در موش‌های گروه‌های دیابتی (دیابتی-شاهد و دیابتی-تمرین) افزایش معنی‌داری یافت (P=۰/۰۱٤)، از طرف دیگر هرچند سطوح گلوکز خون در پایان برنامه تمرین هوازی در گروه دیابتی تمرین به طور معنی‌داری کاهش نشان داد ولی در مقایسه با گروه‌های سالم هم‌چنان از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود (P=۰/۰۰۱).



نمودار۲- مقایسه میزان تغییرات سطوح گلوکز خون موش‌ها در گروه‌های مختلف و فواصل زمانی بعد از القاء دیابت و هر هفته تا پایان برنامه تمرین هوازی

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون تعقیبی توکی، در گروه دیابت شاهد کاهش معنی‌دار سطح پروتئین OPA-1 بافت عضله چهارسرران نسبت به گروه سالم شاهد مشاهده شد (P=۰/۰۰۱). از طرف دیگر بین سطح پروتئین OPA-1 بافت عضله چهارسر ران موش‌های گروه دیابت-شاهد و دیابت-تمرین تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۱٦). بنابراین شش هفته تمرین هوازی منجر به افزایش معنی‌دار سطوح پروتئین OPA-1 بافت عضله چهارسر ران موش‌های گروه دیابتی-تمرین در مقایسه با موش‌های دیابتی-سالم شد. هم‌چنین قابل ذکر است که سطوح پروتئین OPA-1 بافت عضله چهارسر ران موش‌های گروه دیابت-تمرین به حدی افزایش یافت که با گروه سالم-شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۱۳۷) (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه سطوح OPA-1 بافت عضله چهارسر ران گروه‌های مورد مطالعه

* تفاوت معنی‌دار بین سطوح OPA-1 گروه‌های سالم شاهد- دیابت شاهد و دیابت شاهد-دیابت تمرین

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین منجر به افزایش معنی‌دار گلوکز خون و کاهش معنی‌دار وزن موش‌های دیابتی می‌شود. هم‌چنین بر اثر دیابت سطح پروتئین OPA-1 در عضله چهر سر ران کاهش معنی‌داری یافت. از طرف دیگر شش هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنی‌دار سطح گلوکز خون، افزایش معنی‌دار وزن موش‌ها و نیز افزایش معنی‌دار سطح پروتئین OPA-1 در بافت عضله چهار سر ران موش‌های دیابتی گردید.

نشان داده شده است که تمرین ورزشی هوازی فرآیند گلیکولیز را فعال می‌کنند و در نتیجه سرعت تولید ATP و لاکتات را افزایش می‌دهند که در افراد مبتلا به دیابت، منجر به بهبود حساسیت به انسولین، بهبود عملکرد قلبی عروقی، ریوی و ایمنی می‌شود.[۲۹] به طور خاص، تمرین هوازی باعث بهبود متابولیسم چربی و کاهش مقاومت به انسولین در T1D می‌شود.[۳۰] هم‌چنین بهبود کنترل گلوکز خون بر اثر تمرین هوازی در افراد مبتلا به دیابت نوع یک گزارش شده است.[۳۱] به خوبی ثابت شده است که تمرین ورزشی استقامتی میزان پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز ٤ (GLUT4)[i] عضلات اسکلتی را افزایش می دهد، افزایش GLUT4 عضله اسکلتی باعث افزایش جذب گلوکز در عضلات اسکلتی می‌شود و در نتیجه از هیپرگلیسمی ناشی از دیابت تا حدی جلوگیری می‌شود.[۳۲]

وزن موش‌های دیابتی شاهد در تحقیق حاضر به طور معنی‌داری نسبت به موش‌های گروه سالم کنترل کمتر بود اما در گروه دیابتی که تمرین ورزشی هوازی داشتند کاهش وزن در هفته‌های پایانی معنی‌دار نبود. در خصوص سازوکار کاهش وزن بر عوارض دیابت، نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت با افزایش واسطه‌های آتروفی عضلانی بویژه یوبیکوئیتین لیگاز MuRF1[ii] منجر به ضعف و در نتیجه آتروفی عضلانی می‌شود. هم‌چنین گزارش شده است که تمرین ورزشی با کاهش استرس اکسیداتیو و مهار بیان MuRF1 در هر دو سطح mRNA و پروتئین، تحلیل و آتروفی بافت عضلات اسکلتی را در موش‌های دیابتی کاهش می‌دهد. هم‌چنین مهار بیان MuRF1 از تخریب زنجیره سنگین میوزین (MHC)[iii] در عضله و در نتیجه؛ تحلیل بافت عضلانی جلوگیری می‌کند.[۳۳]

از دیگر یافته‌های اصلی تحقیق حاضر این بود که انجام شش هفته تمرین هوازی موجب افزایش معنی‌دار سطوح پروتئین OPA-1 در گروه تمرین-دیابت نسبت به گروه شاهد-دیابتی می‌گردد.

تاکنون مطالعات بسیار محدودی در خصوص آثار تمرین ورزشی بر دینامیک میتوکندری انجام شده است، به طوری که سازوکار دقیق کنترل بازسازی میتوکندری به وضوح مشخص نیست. این گونه به نظر می‌رسد که گونه‌های اکسیژن فعال نقش تنظیم‌کنندگی مهمی در این فرآیند داشته باشند. در واقع تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS[iv]) میتوکندریایی ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند به تغییر سریع در بیان پروتئین‌های هم‌جوشی و شکافت میتوکندریایی منجر گردد.[۳٤] شواهد اخیر نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو منجر به شکافت میتوکندریایی خواهد شد.[۳۵] گزارش شده است که نقش ROS در شکافت میتوکندری و تبدیل به واحدهای متلاشی شده، به غلظت و مدت زمان تجمع آن وابسته است. بر این اساس، به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی وابسته به شدت فعالیت می‌توانند منجر به افزایش سطوح متفاوتی از ROS شوند و بر این اساس پروتئین‌های هم‌جوشی و شکافت را تحت تأثیر قرار دهند.[۳٦]

در این زمینه فیلی[v] و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که ۱۲ هفته تمرین ٦۰ دقیقه‌ای با ۸۵-۸۰ درصد ضربان قلب بیشینه موجب افزایش تنظیمی سطوح OPA-1 در بیماران دیابتی می‌گردد.[۳۷] بعلاوه نشان داده شده است که بیان یکی از پروتئازهای میتوکندریایی که پیش ساز ترشح OPA-1 است (پروتئاز لوزی میتوکندری[vi])، در مدل حیوانی دیابت پنجاه درصد کاهش می‌یابد و سه هفته تمرین ورزشی دویدن یک ساعته در روز، سطوح پروتئاز لوزی شکل میتوکندری را به حدود چهل درصد مقدار اولیه باز می‌گرداند که هم‌سو با افزایش پروتئین‌های مربوط به هم‌جوشی پس از فعالیت ورزشی در افراد دیابتی می‌باشد.[۳۸] هم‌چنین زعفرانیه و همکارانش در سال ۱٤۰۰ نشان دادند که دوازده هفته تمرین

i- Glucose Transporter Type 4
ii- Muscle RING-finger Protein-1
iii- Myosin Heavy Chain
iv -Reactive Oxygen Species
v- Fealy
vi -The Mitochondrial Rhomboid Protease (PSARL)

تناوبی شدید موجب افزایش معنی‌دار هفتاد و یک درصدی در بیان ژن OPA-1 نسبت به گروه شاهد دیابتی می‌گردد.[۳۹] اما لیو[i] و همکاران در سال ۲۰۱٤ گزارش کردند که میزان پروتئین OPA-1 در بافت عضله دوقلوی موش‌های صحرایی نر مدل کبد چرب تغییر معنی‌داری نداشته است.[٤۰] بعلاوه، ژنگ[ii] و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در مطالعه‌ی خود بر روی موش‌های صحرایی چاق تحت رژیم غذایی پر چرب نشان دادند که؛ میزان پروتئین هم‌جوشی OPA-1 نسبت به موش-های گروه شاهد که لاغر بودند تغییر معنی‌داری نداشته است.[٤۱] همان‌گونه که مشاهده شد در تحقیقات مختلف نتایج متفاوتی به دست آمده است و این ناهمگونی به ویژه زمانی نمایان می‌شود که انواع تمرین ورزشی با شدت‌ها و برنامه-های مختلف مقایسه می‌شوند. برنامه‌های تمرینی کوتاه مدت فقط منجر به یک پاسخ حاد در رخدادهای فیزیولوژیک بدن می‌شوند و چند ساعت بعد از تمرین آثار بدست آمده از بین می‌رود. هم‌چنین در خصوص تمرین شدید نیز نشان داده شده است که این تمرین سطح بالایی از استرس اکسیداتیو را به بدن تحمیل می‌کند و با تجمع گونه‌های اکسیژن و نیتروژن واکنشی و تضعیف دفاع آنتی‌اکسیداسیونی، زمینه را برای اختلال عملکرد، و حتی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول فراهم می‌کند. بعلاوه، فعالیت ورزشی سنگین نیز می‌تواند به تجزیه شبکه‌ی میتوکندریایی و اختلال در اکسیداسیون فسفریلاتیو منجر گردد.[٤۲] با توجه به تاثیر مثبت تمرین هوازی با شدت متوسط بر ظرفیت اکسیداسیونی و نیز بر ساختار و عملکرد میتوکندری، به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر نیز افزایش سطح OPA-1 عضله چهارسر ران در موش‌های دیابتی تحت تمرین منسوب به تمرین هوازی باشد.

نشان داده شده است که بین سطح OPA-1 با حساسیت به انسولین و ظرفیت هوازی رابطه معنی‌داری وجود دارد و بر اثر فعالیت ورزشی، بویژه فعالیت ورزشی هوازی با شدت متوسط سطح OPA-1 افزایش می‌یابد. درپژوهش حاضر نیز افزایش سطح OPA-1 عضلانی با افزایش برداشت گلوکز توسط عضلات اسکلتی، و در نتیجه کاهش میزان گلوکز خون همراه بود.[٤۳]

پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری شامل طیف وسیعی از پروتئین‌های هم‌جوشی و شکافت هستند. در پژوهش حاضر فقط یکی از پروتئین‌های مرتبط با هم‌جوشی (OPA-1) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پیشنهاد می‌شود سایر پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری مانند DRP-1، MFN1، MFN2، FIS1، همراه با بررسی بافت‌شناسی میتوکندری، در دیابت و تحت تاثیر فعالیت‌های ورزشی مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شش هفته تمرین هوازی علاوه بر کاهش سطح گلوکز خون، موجب افزایش سطح پروتئین OPA-1 در بافت عضله چهار سر ران موش‌های دیابتی می‌شود. با توجه به نقش پروتئین فوق در هم‌جوشی و درنتیجه عملکرد مطالوب میتوکندری، به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی بویژه از نوع هوازی می‌تواند به عنوان یکی از راهبردهای مفید وغیر دارویی جهت حفظ پویایی و عملکرد میتوکندری در عضلات دیابتی مورد توجه قرار بگیرد.

سپاسگزاری: این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز می‌باشد که هزینه انجام آن بصورت شخصی تامین شده است که بدین‌وسیله از حوزه پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز و عوامل مرتبط تقدیر و تشکر می‌شود.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

i- Liu
ii- Jheng

References

1. Fealy CE, Mulya A, Axelrod CL, Kirwan JP. Mitochondrial dynamics in skeletal muscle insulin resistance and type 2 diabetes. Transl Res 2018; 202: 69-82.
2. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes Care 2009; 32(Suppl 2): S157-63.
3. Calonne J, Isacco L, Miles-Chan J, Arsenijevic D, Montani JP, Guillet C, et al. Reduced skeletal muscle protein turnover and thyroid hormone metabolism in adaptive thermogenesis that facilitates body fat recovery during weight regain. Front Endocrinol 2019; 10: 119.
4. Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. J Endocrinol 2017; 233: R15-42.
5. Monaco CM, Gingrich MA, Hawke TJ. Considering type 1 diabetes as a form of accelerated muscle aging. Exerc Sport Sci Rev 2019; 47: 98-107.

6. Baseler WA, Dabkowski ER, Williamson CL, Croston TL, Thepa D, Powell MJ, et al. Proteomic alterations of distinct mitochondrial subpopulations in the type 1 diabetic heart: contribution of protein import dysfunction. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; 300: R186–200.
7. Monaco CMF, Hughes MC, Ramos SV, Vareh NE, Lamberz CH, Rahman FA, et al. Altered mitochondrial bioenergetics and ultrastructure in the skeletal muscle of young adults with type 1 diabetes. Diabetologia 2018; 61: 1411–23.
8. Alway SE, Mohamed JS, Myers MJ. Mitochondria initiate and regulate sarcopenia. Exerc Sport Sci Rev 2017; 45: 58-69.
9. Pottecher J, Adamopoulos C, Lejay A, Bouitbir J, Charles AL, Meyer A, et al. Diabetes worsens skeletal muscle mitochondrial function, oxidative stress, and apoptosis after lower-limb ischemia-reperfusion: Implication of the RISK and SAFE pathways?. Front Physiol 2018; 9: 579.
10. Alway SE. Mitochondrial dysfunction: linking Type 1 diabetes and sarcopenia. Exerc Sport Sci Rev 2019; 47: 63.
11. Chen H, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Fraser SE, Chan DC. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. J Cell Biol 2003; 160: 189-200.
12. Cipolat S, de Brito OM, Dal Zilio B, Scorrano L. OPA-1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101: 15927-32.
13. Ishihara N, Otera H, Oka T, Mihara K. Regulation and physiologic functions of GTPases in mitochondrial fusion and fission in mammals. Antioxid Redox Signal 2013; 19: 389-99.
14. Yoon Y, Krueger EW, Oswald BJ, McNiven MA. The mitochondrial protein hFis1 regulates mitochondrial fission in mammalian cells through an interaction with the dynamin-like protein DLP1. Mol Cell Biol 2003; 23: 5409-20.
15. Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science 2012; 337: 1062–5.
16. Lee YJ, Jeong SY, Karbowski M, Smith CL, Youle RJ. Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and OPA-1 in apoptosis. Mol Biol Cell 2004; 15: 5001-11.
17. Hernández-Alvarez MI, Thabit H, Burns N, Shah S, Brema I, Hatunic M, et al. Subjects with early-onset type 2 diabetes show defective activation of the skeletal muscle PGC-1α/mitofusin-2 regulatory pathway in response to physical activity. Diabetes Care 2010; 33: 645-51.
18. Ong S-B, Hall AR, Hausenloy DJ. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease. Antioxid Redox Signal 2013; 19: 400-14.
19. Piquereau J, Caffin F, Novotova M, Lemaire C, Veksler V, Garnier A, et al. Mitochondrial dynamics in the adult cardiomyocytes: which roles for a highly specialized cell? Front Physiol 2013; 4: 102.
20. Del Campo M, Stargardt A, Veerhuis R, Reits E, Teunissen C. Accumulation of BRI2-BRICHOS ectodomain correlates with a decreased clearance of Aβ by insulin degrading enzyme (IDE) in Alzheimer's disease. Neurosci Lett 2015; 589: 47-51.
21. Griparic L, Kanazawa T, van der Bliek AM. Regulation of the mitochondrial dynamin-like protein Opa1 by proteolytic cleavage. J Cell Biol 2007; 178: 757-64.
22. Karakelides H, Asmann YW, Bigelow ML, Short KR, Dhatariya K, Coenen-Schimke J, et al. Effect of insulin deprivation on muscle mitochondrial ATP production and gene transcript levels in type 1 diabetic subjects. Diabetes 2007; 56: 2683-9.
23. Kacerovsky M, Brehm A, Chmelik M, Schmid AI, Szendroedi J, Kacerovsky-Bielesz G, et al. Impaired insulin stimulation of muscular ATP production in patients with type 1 diabetes. J Intern Med 2011; 269: 189-99.
24. 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: 1374-89.
25. Jiang HK, Wang YH, Sun L, He X, Zhao M, Feng ZH, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. Int J Mol Sci 2014; 15: 5304-22.
26. Alway SE. Mitochondrial dysfunction: linking Type 1 diabetes and sarcopenia. Exerc Sport Sci Rev 2019; 47: 63.
27. Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ, et al. The streptozotocin diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. Heart Lung Circ 2003; 12: 44-50
28. Chae C-H, Jung S-L, An S-H, Jung C-K, Nam S-N, Kim H-T. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats. J Physiol Biochem 2011; 67: 235-41.
29. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CA. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. Med Sci Sports Exerc 2004; 36: 533-53.
30. Chimen M, Kennedy A, Nirantharakumar K, Pang TT, Andrews R, Narendran P. What are the health benefits of physical activity in type 1 diabetes mellitus? A literature review. Diabetologia 2012; 55: 542-51.
31. Riddell MC, Gallen IW, Smart CE, Taplin CE, Adolfsson P, Lumb AN, et al. Exercise management in type 1 diabetes: a consensus statement. Lancet Diabetes Endocrinol 2017; 5: 377-90.
32. Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. Physiological reviews. 2013 Jul 1.
33. Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, Wang S, Zhao ZW. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. Life Sci 2011; 89: 44-9.
34. Yu T, Robotham JL, Yoon Y. Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103: 2653-8.
35. Gomez-Lazaro M, Bonekamp NA, Galindo MF, Jordán J, Schrader M. 6-Hydroxydopamine (6-OHDA) induces Drp1-dependent mitochondrial fragmentation in SH-SY5Y cells. Free Radic Biol Med 2008; 44: 1960-9.
36. Parker L, McGuckin TA, Leicht AS. Influence of exercise intensity on systemic oxidative stress and antioxidant capacity. Clin Physiol Funct Imaging 2014; 34: 377-83.
37. 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 2014; 117: 239-45.
38. Walder K, Kerr-Bayles L, Civitarese A, Jowett J, Curran J, Elliott K, et al. The mitochondrial rhomboid protease

PSARL is a new candidate gene for type 2 diabetes. Diabetologia 2005; 48: 459-68.

39. Zafaranieh, S., Soori, R. The Effect of 12 Weeks of High Intensity Interval Training on Mitochondrial Dynamics in Cardiac Myocytes of Type 2 Diabetic Rats. Journal of Sport Biosciences 2021; 13: 25-38. [Farsi]
40. Liu R, Jin P, Wang Y, Han L, Shi T, Li XU. Impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics in diabetic skeletal muscle. PloS One 2014; 9: e92810.
41. Jheng HF, Tsai PJ, Guo SM, Kuo LH, Chang CS, Su IJ, et al. Mitochondrial fission contributes to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle. Molecular and Cellular Biology 2012; 32: 309-19.
42. Yeo D, Zhang T, Liu T, Zhang Y, Kang C, Ji LL. Protective effects of extra virgin olive oil and exercise training on rat skeletal muscle against high-fat diet feeding. J Nutr Biochem 2022; 100: 108902.
43. Houzelle A, Jörgensen JA, Schaart G, Daemen S, van Polanen N, Fealy CE, et al. Human skeletal muscle mitochondrial dynamics in relation to oxidative capacity and insulin sensitivity. Diabetologia 2021; 64: 424-36.

Original Article

The Effect of Six Weeks of Endurance Training on Mitochondrial Level of OPA-1 Quadriceps in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Koohi P, Bostani M

Department of Physical Education, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, I.R. Iran

e-mail: bostanim@yahoo.com

Received: 21/05/2022 **Accepted**: 20/07/2022

Abstract

Introduction: Mitochondrial dynamic disorders are attributed to many diseases such as diabetes. MFN2 and OPA-1 proteins are the main regulators of fusion, and DRP1 is the essential protein regulating mitochondrial fission. Increasing or decreasing the expression of relevant genes will cause an imbalance between these two processes. This study evaluated the effect of six weeks of aerobic training on mitochondrial levels of the OPA-1 quadriceps muscle in Streptozotocin-induced diabetic rats. Materials and Methods: In this study, 32 rats were randomly divided into four groups (n=8): healthy-control, healthy-exercise, diabetes-control, and diabetes-exercise. The animals ran on a treadmill according to the endurance training protocol five sessions per week for six weeks. Diabetes was induced by injecting Streptozotocin (50 mg/kg) solution. After the last training session, the rats were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine (90 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), and quadriceps muscle tissue was removed and maintained according to standard conditions. One-way ANOVA test was used to compare the groups at a significance level of 0.05, and the Tukey post hoc test was used to examine the differences between the means of the two groups. Results: Induction of diabetes significantly reduced OPA-1 levels in the quadriceps muscle tissue of the diabetic rats (p=0.012). Also, six weeks of aerobic training significantly increased the OPA-1 protein level in the quadriceps muscle of the trained diabetic rats (p=0.016). Conclusion: Induced diabetes reduces the OPA-1 protein level, but aerobic exercise increases its level in diabetic rats, leading to increased fusion and thus improved mitochondrial function in the muscle tissue of rats.

Keywords: Diabetes, Aerobic exercise, Mitochondrial dynamics, OPA-1 protein, Rat