علوم زیستی ورزشی – بهار ۱۴۰۰
دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۱، ص:۳۸ – ۲۵
تاریخ دریافت : ۱۵ / ۱۰ / ۹۵
تاریخ پذیرش : ۰۴ / ۰۲ / ۹۶

تأثیر دوازده هفته تمرین تناوبی شدید بر پویایی میتوکندریایی میوسیت‌های قلبی رت‌های دیابتی نوع۲

ساقی زعفرانیه*[۱] – رحمان سوری [۲]

۱. کارشناس ارشد دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران ۲. استاد تمام دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن‌های DRP1, MFN2 و OPA1 در عضلهٔ قلبی رت‌های نر ویستار دیابتی نوع ۲ بود. بدین‌منظور ۲۰ سر رت ۱۰ هفته‌ای (با میانگین وزن ۲۰±۲۲۰ گرم) به‌صورت تصادفی به ۲ گروه ۱۰ تایی کنترل دیابتی و دیابتی با تمرین تناوبی شدید تقسیم شدند. برنامهٔ تمرینی به مدت ۱۲ هفته و هفته‌ای ۵ جلسه با مدت و سرعت مشخص اجرا شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی، عضلهٔ بطن قلب حیوانات از بطن جهت آزمایش‌های ژنتیک جدا شد. نتایج پژوهش با استفاده از آزمون T مستقل (P≤۰/۰۵) تجزیه‌وتحلیل شد. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در بیان ژن MFN2 میان گروه‌های کنترل دیابتی و دیابتی تمرینی وجود نداشت (P=۰/۳۳۷)، اما ۱۲ هفته تمرین به افزایش معنادار بیان ژن پروتئین‌های DRP1 (P=۰/۰۰۱) و OPA1 (P=۰/۰۰۱) در رت‌های دیابتی منجر شد. به‌طور کلی می‌توان گفت که تمرین ورزشی تناوبی شدید ممکن است بیان ژن‌های مربوط به پویایی میتوکندریایی را در بیماری دیابت به‌طور مثبتی تنظیم کند.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن، پویایی میتوکندری، تمرین تناوبی، دیابت.

* نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۲۲۴۵۵۳۳۹ Email:saghi.zafaranieh@ut.ac.ir

مقدمه

پویایی میتوکندریایی در عملکرد میتوکندری‌ها و متابولیسم سلولی نقش بسزایی دارد که با فرایندهای مستمر هم‌جوشی و شکافت و به‌واسطهٔ چندین GTPase[1] تنظیم می‌شود (۳-۱). میتوفیوزین ۲ (MFN2[2])، میتوفیوزین ۱ (MFN1[3]) و آتروفی بینایی ۱ (OPA1[4]) به هم‌جوشی منجر می‌شوند (۶-۴). درحالی‌که پروتئین وابسته به دینامین-۱ (DRP1[5]) به‌همراه پروتئین شکافت ۱(FIS1[6]) تقسیمات را پیش می‌برند (۲-۷). این دو فرایند در شرایط فیزیولوژیک متعادل هستند. در هموئوستاز میتوکندری‌ها از اهمیت زیادی برخوردارند (۸) و عملکردهای سلولی پایه مثل هموئوستاز کلسیم، پتانسیل غشا، تولید ATP و گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر را تنظیم کرده و در ریخت‌شناسی میتوکندریایی، توالی چرخهٔ سلولی، آپوپتوز و میتوفاژی نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۸-۱۰). پروتئین‌های درگیر در هم‌جوشی و شکافت دارای کدگذاری هسته‌ای هستند که خاموشی یا افزایش بیان ژن‌های آنها به عدم تعادل در این دو فرایند منجر می‌شود (۱۱). عدم تعادل در این دو فرایند سبب به‌هم‌ریختگی ساختاری میتوکندری‌ها، اختلالات متابولیسمی، تجزیهٔ میتوکندری‌ها و آپوپتوز می‌شود (۱۲-۱۳). اختلالات پویایی میتوکندرایی در بسیاری از بیماری‌های سرطانی، قلبی عروقی، تحلیل اعصاب و متابولیکی دیده شده است که دیابت نوع ۲ یکی از این بیماری‌هاست (۳).

در دیابت نوع ۲ بیان PGC1-α (که فعال‌کنندهٔ رونویسی MFN2 است) و ژن‌هایی که آنزیم‌های اساسی را در متابولیسم اکسیداتیو کدگذاری می‌کنند، کمتر است (۱۴-۱۵). کاهش تنظیمی پروتئین‌های هم‌جوشی و کاهش حجم میتوکندریایی در این بیماری مشاهده شده است (۱۶،۲). از آنجا که واسطه‌های هم‌جوشی علاوه‌بر اتصالات میتوکندری‌ها، متابولیسم میتوکندریایی را نیز تنظیم می‌کنند، کاهش تنظیمی آنها معمولاً با کاهش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری‌ها همراه است که ممکن است در مقاومت انسولینی نقش داشته باشد (۱۷-۱۸). کاهش بیان MFN2، تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر را افزایش می‌دهد، سیگنالینگ انسولین را دچار اختلال می‌کند و به عدم تحمل گلوکز منجر می‌شود (۱۸-۱۹). همچنین در موش‌هایی که OPA1 در سلول‌های بتای آنها حذف شده بود، ترشح انسولین کاهش و هایپرگلاسیمی

1. Guanosine triphosphatase
2. Mitofusin 2
3. Mitofusin 1
4. Optic Atrophy 1
5. Dynamin related protein 1
6. Fission 1

گسترش یافت. از طرفی در بیماری دیابت از دست رفتن شکل توبولی برخی سلول‌های بتا و عضلانی و افزایش شکافت در نورون‌ها و اندوتلیوم مدل‌های حیوانی گزارش شده است و در موش‌هایی که با مهارکنندهٔ DRP1 بررسی شدند، درصد میتوکندری‌های توبولی، پتانسیل غشا و استرس اکسیداتیو به مقادیر پایه بازگشت و برداشت گلوکز ناشی از انسولین آنها افزایش یافت (۱۹).

راه‌هایی که با استرس اکسیداتیو فعال می‌شوند نقش اساسی در بیماری‌زایی دیابت دارند (۲۰). ازاین‌رو دستکاری شاخص‌های پویایی میتوکندریایی از طریق بهبود مکانیسم‌های مولکولی و راه‌های سیگنالینگ از طرق مختلف مثل فعالیت ورزشی ممکن است آثار سودمندی به‌همراه داشته باشد. به‌نظر می‌رسد فعالیت ورزشی می‌تواند هم‌جوشی و شکافت را تنظیم کند. به‌طور مثال ۷ جلسه تمرین پرشدت تناوبی زیربخش‌های ATP سنتتاز (٪۳۹)، MFN1 (٪۳۵) و FIS1 (بیش از دو برابر) را افزایش داد، اما تأثیری بر MFN2 نداشت (۲۱). اما بو و همکاران (۲۰۱۰) افزایش بیان MFN1/2 و Fis1 را در طول یک جلسه فعالیت ورزشی طولانی‌مدت با مدت زمان‌های پیشرونده مشاهده کردند (۲۲). دینگ و همکاران (۲۰۱۰) به نتایجی غیرهمسو با دیگر تحقیقات دست یافتند که بیان ژن و سطوح پروتئین‌های MFN1/2 در پاسخ به یک وهله فعالیت ورزشی طولانی‌مدت نوار گردان کاهش می‌یابد، اما بیان ژن و پروتئین FIS1 افزایش چشمگیری پیدا می‌کند (۲۳). مطالعهٔ انجام‌گرفته روی سلول‌های میوکارد قلبی، نشان داد که رت‌ها پس از آنفارکتوس دچار اختلال پویایی و عملکرد میتوکندریایی شدند (کاهش هم‌جوشی و افزایش شکافت) و پس از ۸ هفته تمرین هوازی تناوبی روی تردمیل با ۵۵-۵۰ درصد VO_2max افزایش هم‌جوشی، کاهش شکافت و افزایش PGC1α هسته‌ای دیده شد. این داده‌ها نشان می‌دهد که تمرین هوازی تناوبی می‌تواند عملکرد میتوکندریایی را از طریق مهار تغییرات پاتولوژیک پویایی میتوکندریایی بازیابی کند (۱۶). بنابراین با توجه به مغایر و محدود بودن مطالعات در این زمینه، مطالعهٔ حاضر در نظر داشت که تغییرات ناشی از تمرین تناوبی را بر بیان ژن‌های MFN2، OPA1 و DRP1 در میوکارد قلبی رت‌های دیابتی نوع ۲ بررسی کند.

روش تحقیق

مطالعهٔ حاضر تجربی و از نوع بنیادی است که به شیوهٔ آزمایشگاهی انجام گرفته است. ۲۰ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن ۲۰±۲۲۰ گرم به‌منظور شرکت در مطالعه از دانشگاه علوم پزشکی

بقیه‌الله خریداری شدند. در ادامه رت‌های مورد مطالعه به شیوهٔ تصادفی در دو گروه قرار گرفتند. به هر دو گروه دیابت القا شد (گروه کنترل دیابتی n=10 و گروه دیابتی تمرینی n=10).

روش القای دیابت

در ابتدا رت‌ها به‌منظور آشنایی و سازگاری با محیط به مدت ۲ هفته در آزمایشگاه حیوانات نگهداری شدند. پس از یک شب ناشتایی برای القای دیابت نوع ۲، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ mg/kg و پس از ۱۵ دقیقه محلول STZ در بافر سیترات با PH=4/5 نیز به‌صورت صفاقی با دوز ۶۰ mg/kg تزریق شد. ۷۲ ساعت پس از القای دیابت گلوکز ناشتا خون اندازه‌گیری شد و قند خون بالای ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۴).

روش اجرا

برنامهٔ تمرینی گروه تجربی ۱۲ هفته تمرین تناوبی، به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب دویدن روی نوار گردان با تکرارهای یک‌دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای بین هر تکرار با رعایت اصل اضافه بار بود. سرعت برنامهٔ تمرینی هفته‌های اول و دوم از ۱۶ متر در دقیقه آغاز شد و از ابتدای هفته‌های دهم تا دوازدهم به ۳۶ متر در دقیقه رسید (جدول ۱) (۲۵-۲۷). ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی به‌منظور از بین رفتن پاسخ حاد آخرین جلسهٔ فعالیت ورزشی رت‌های مورد مطالعه در هر گروه به‌واسطهٔ تزریق صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد با دوز ۵۰ mg/kg و زایلوزین ۲ درصد با دوز ۱۰ mg/kg بی‌هوش شدند (۲۸). سپس قفسهٔ سینه حیوان شکافته شد، نمونهٔ خون به‌طور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد و در ادامه بافت عضلانی بطنی قلب رت‌ها نمونه‌برداری شد و پس از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک در مایع RNA Later ™ RNA Stabilization reagent 50mL با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور شد و به‌منظور آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری گلوکز از روش گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون – تهران و برای اندازه‌گیری انسولین از روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری Elisa Demedetic diagnostic insulin ساخت آلمان استفاده شد. به‌منظور بررسی بیان ژن‌های MFN2، OPA1 و DRP1 از روش Real Time PCR استفاده شد (جدول ۲). پرایمر معکوس در کیت وجود دارد ازاین‌رو ابتدا پرایمر Forward ژن‌ها طراحی می‌شود. در واقع پرایمر Forward همان توالی بالغ میکرو RNA است، لیکن باید از لحاظ دمای ذوب بررسی شود، به‌طوری‌که در صورت هماهنگ نبودن دمای ذوب آن با پرایمر معکوس تغییراتی در ساختار آن داده شود. افزون‌بر این از ژن RNA Polymrase II سلولی به‌عنوان ژن خانه‌دار استفاده شد. سپس RNA استخراج شد و از RT-PCR

به‌وسیلهٔ سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک‌مرحله‌ای SYBR TAKARA مطابق با دستورالعمل شرکت جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخهٔ PCR به‌منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخهٔ حرارتی مورد استفاده دستگاه روتوژن در Real time-PCR شامل ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ سیکل با ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از انجام PCR ، به‌منظور مطالعهٔ ویژگی پرایمرها، از دماهای ۵۰ تا ۹۹ درجهٔ سانتی‌گراد برای تهیهٔ منحنی ذوب استفاده شد. به‌منظور کمی‌سازی بیان ژن‌ها از روش $\Delta\Delta CT$ مقایسه‌ای استفاده شد.

روش آماری

از آزمون کولموگروف اسمیرنف و شاپیرو ویلک به‌منظور اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها و از آزمون لوین برای اطمینان از همگن بودن واریانس‌ها استفاده شد. برای توصیف داده‌ها و رسم نمودارها از آمار توصیفی و برای مقایسهٔ گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از تست T مستقل استفاده شد. سطح معناداری برای آزمون‌های آماری $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. پروتکل گروه تمرینی تناوبی شدید (مدت زمان کل =۳۰، مدت زمان وهله تمرین=۱ دقیقه، مدت زمان استراحت فعال=۲ دقیقه)

	سرعت تکرارهای یک‌دقیقه‌ای (متر / دقیقه)	سرعت استراحت فعال دودقیقه‌ای (متر/دقیقه)
هفتهٔ اول	۱۶	۱۰
هفته‌های دوم و سوم	۲۰	۱۰
هفته‌های چهارم و پنجم	۲۵	۱۲
هفته‌های ششم و هفتم	۳۰	۱۲
هفته‌های هشتم و نهم	۳۳	۱۴
هفته‌های دهم تا دوازدهم	۳۶	۱۴

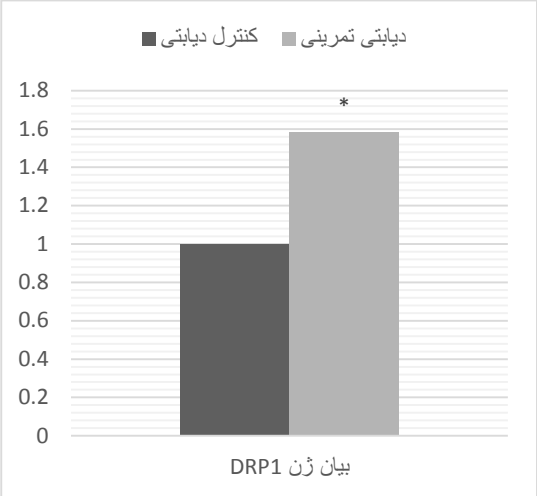
نتایج و یافته‌های تحقیق

در جدول ۲ اختلاف میانگین و خطای استاندارد دو گروه دیابتی و دیابتی تمرینی نشان داده شده است. نتایج آزمون t مستقل در گروه‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که با توجه به مقدار P =۰۱/۰۰۱ مقادیر بیان ژن DRP1 در گروه دیابتی تمرینی نسبت به گروه دیابتی به‌طور معناداری بالاتر است.

جدول ۲. مقایسهٔ بیان ژن‌ها بین گروه کنترل دیابتی و دیابتی تمرینی

آماره / متغیر	اختلاف میانگین	اختلاف خطای استاندارد	نسبت t	df	سطح معناداری
DRP1	-۰/۴۹۲	۰/۰۹۷	-۵/۰۶۵	۸.	*۰/۰۰۱
OPA1	-۰/۵۸۲	۰/۱۱۰	-۵/۲۷۰	۸.	*۰/۰۰۱
MFN2	-۰/۰۹۲	۰/۰۹۰	-۱/۰۲۱	۸.	۰/۳۳۷

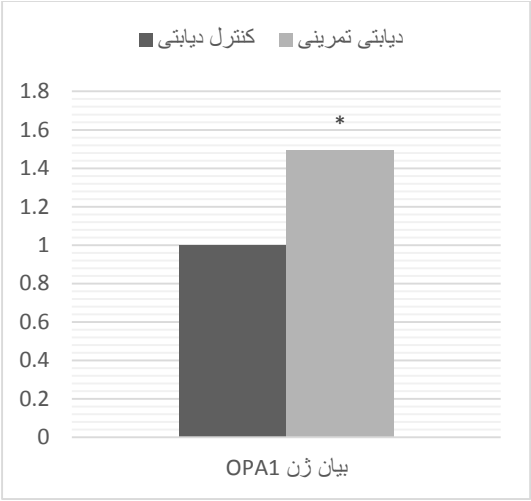
* تفاوت معناداری در سطح P <۰/۰۵



شکل ۱. تغییرات بیان ژن DRP1 در گروه دیابتی تمرینی نسبت به دیابتی کنترل

* تفاوت معناداری در سطح P <۰/۰۵

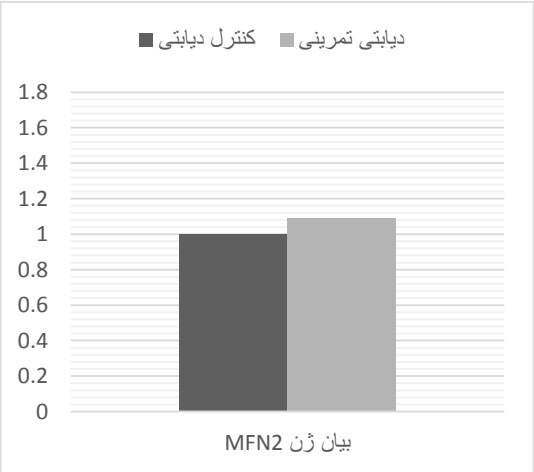
جدول ۲ و شکل ۲ نشان می‌دهند که با توجه به مقدار P=۰/۰۰۱، مقادیر بیان ژن OPA1 در گروه دیابتی تمرینی نسبت به گروه دیابتی به‌طور معناداری بالاتر است.



شکل ۲.تغییرات بیان ژن OPA1 در گروه دیابتی تمرینی نسبت به گروه دیابتی کنترل

* تفاوت معناداری در سطح P <۰/۰۵

با توجه به جدول ۲ مقادیر p=۰/۳۳۷ نشان‌دهندهٔ معنادار نبودن تفاوت مقادیر بیان ژن MFN2 در گروه‌های مورد بررسی است. همان‌طورکه در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، میانگین گروه دیابتی تمرینی نسبت به گروه دیابتی بالاتر است، اما این افزایش معنادار نبوده است.



شکل ۳. تغییرات بیان ژن MFN2 در گروه دیابتی تمرینی نسبت به گروه دیابتی کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

یافتهٔ اصلی تحقیق حاضر این بود که انجام ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید سبب افزایش معنادار حدود ۷۱ درصدی و ۵۰ درصدی به‌ترتیب در بیان ژن OPA1 و DRP1 در مقایسه با گروه کنترل دیابتی می‌شود، درحالی‌که بیان ژن MFN2 حدود ۸ درصد افزایش یافت که این افزایش معنادار نبود. ما بر این فرض بودیم که اختلالاتی که در پویایی میتوکندریایی رخ می‌دهد، پس از فعالیت ورزشی معکوس می‌شوند، به‌گونه‌ای که بیان ژن MFN1 و MFN2 که عامل هم‌جوشی و تشکیل توبول‌ها هستند، دوباره افزایش و بیان ژن DRP1 که عامل شکافت و تلاشی میتوکندریایی است، کاهش می‌یابد.

مطالعات قبلی در این زمینه نتایج ضد و نقیضی را گزارش کرده‌اند. در مطالعه روی افراد دیابتی، جورج و همکاران (۲۰۱۳) با این نتیجه رسیدند که بیان MFN2 با القای دیابت در موش‌ها کاهش می‌یابد و ۸ هفته تمرین استقامتی روی تردمیل این بیان را تعدیل می‌کند (۲۹). فیلی و همکاران (۲۰۱۴) افزایش تنظیمی OPA1 را در بیماران دیابتی پس از ۱۲ هفته تمرین ۶۰ دقیقه‌ای با ۸۵-۸۰ درصد ضربان قلب حداکثر نشان دادند (31). همچنین جالب است که بیان یکی از پروتئازهای میتوکندریایی که فراخوان پردازش OPA1 است (PSARL)، در مدل‌های حیوانی دیابت ۵۰ درصد کاهش می‌یابد و ۳ هفته فعالیت ورزشی دویدن ۱ ساعته در روز سطوح mRNA PSARL را تا ۴۰ درصد به حالت اولیه بازگرداند که هم‌جهت با افزایش پروتئین‌های مربوط به هم‌جوشی پس از فعالیت ورزشی در افراد دیابتی است (۳۰). اما آلوارز (۲۰۱۰) عدم تغییر MFN2 را پس از ۳ ماه فعالیت ورزشی (13) و فیلی و همکاران (۲۰۱۴) گرایش غیرمعناداری را به سمت افزایش میتوفیوزین‌ها پس از ۱۲ هفته فعالیت ۸۵-۸۰ درصد Vo2max نشان دادند، اما همین نوع تمرین به افزایش MFN2 در افراد چاقی منجر شد که دیابتی نبودند که احتمالاً به‌دلیل تغییر در راه‌های تنظیمی بیان PGC1α و MFN2 در بیماران دیابتی است (۲۰). از طرف دیگر یک وهله فعالیت ورزشی حاد با ۷۰ درصد Vo2max به عدم تغییر PGC1α و حتی کاهش MFN2 در بیماران دیابتی منجر شد که ممکن است به‌دلیل ناتوانی در فعالیت ورزشی حاد برای تحریک فعالیت AMPK و ازاین‌رو PGC1α باشد (۱۳). اما تنها بررسی صورت‌گرفته روی پروتئین مخصوص شکافت DRP1 در افراد دیابتی کاهش فسفریلاسیون DRP1 را پس از ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته، فعالیت ۱ ساعته ۸۰-۸۵ درصد Vo2max نشان داده است که مخالف یافتهٔ تحقیق حاضر است (۳۱). همان‌طورکه دیدیم در تحقیقات مختلف نتایج متفاوتی به‌دست آمده و این موضوع به‌ویژه زمانی واضح‌تر است که انواع تمرینات

بدنی با شدت‌ها و پروتکل‌های مختلف مقایسه شود. علاوه‌بر این تاکنون به بافت عضلۀقلب کمتر توجه شده و بیشتر مطالعات بر عضلۀ اسکلتی تمرکز داشته‌اند.

در این میان مدت زمان و شدت تمرین به نظر از مهم‌ترین عوامل هستند، چراکه کوتاه بودن دورۀ تمرین (یک وهله فعالیت ورزشی) می‌تواند تغییری در این فاکتورها ایجاد نکند یا این اثر گذرا باشد و طولانی بودن بیش از حد دورۀ تمرین ممکن است سازگاری ایجاد کند که بدن به آن استرس فعالیت ورزشی دیگر پاسخگو نباشد. فعالیت ورزشی سنگین حتی می‌تواند به تلاش شبکۀ میتوکندریایی و اختلال در اکسیداسیون فسفریلاتیو منجر شود.

شایان توجه‌ترین یافتۀ تحقیق حاضر افزایش سطوح نسبی بیان ژن DRP1 پس از تمرین ورزشی تناوبی شدید بود. ممکن است شدت تمرین HIIT برای بیماران دیابتی بسیار زیاد باشد که به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنشی، استرس اکسیداتیو و افزایش فرایند شکافت و آپوپتوز منجر شود. علاوه‌بر این آسیب‌های ریز میکروسکوپی عضله و میتوکندری‌ها در اثر نبود اکسیژن کافی و اختلال فسفریلاسیون اکسیداتیو، تجمع ROSها و عدم تعادل بین پروتئین‌های اکسیداتیو و غیر اکسیداتیو ممکن است عاملی برای افزایش سطوح بیان ژن DRP1 باشد. با این حال به‌نظر می‌رسد که یک سیستم تنظیم‌کنندۀ بهینه باید بتواند ارگان‌ها و اجزای سلولی آسیب‌دیده را حذف کند تا هموستاز سلولی حفظ شود. مدارک نشان می‌دهد که اتوفاژی و میتوفاژی نقشی اساسی در هموستاز عضله و در پاسخ به استرس بازی می‌کند (۳۳-۳۲). میتوکندری‌ها نیز مانند باقی اندامک‌ها در معرض آسیب هستند و DNAهای میتوکندریایی بر اثر استرس اکسیداتیو دچار تغییر شده و حذف می‌شوند. پس به‌نظر می‌رسد با اینکه افزایش میتوکندری‌های جدید و ایجاد شبکه‌های متصل از طریق فعالیت ورزشی و افزایش سطوح بیان ژن پروتئین‌های هم‌جوشی حائز اهمیت است، حفظ میتوکندری‌های سالم نیز به همان میزان و حتی بیشتر مهم است. همجوشی و شکافت متعادل به سلول‌های سالم و فعال متابولیکی اجازه می‌دهد شبکه‌ای متصل‌تر از میتوکندری‌ها را برای به اشتراک گذاشتن محتویات (پروتئین‌ها، سوپستراها و DNA میتوکندریایی) و حذف بخش‌های دارای اختلال عملکرد تشکیل دهند که نشان‌دهندۀ کیفیت و کمیت عملکرد میتوکندری‌هاست (۳۴). گونه‌های اکسیژن واکنشی (ROS) به‌طور مداوم در سلول‌ها به‌عنوان فراورده جانبی متابولیسم اکسیژن و در پاسخ به فعالیت ورزشی تولید می‌شوند (۳۵). این گونه‌های اکسیژنی در سطوح فیزیولوژیک مولکول‌های مهمی در سیگنالینگ سلول هستند و میزان کم آنها نه‌تنها سبب آسیب سلولی نمی‌شود، بلکه می‌تواند پاسخ‌های سازگار سلولی را تحریک کند و مقاومت ارگانیسم را به استرس‌های قوی‌تر بعدی افزایش دهد

(۳۶). کمبود انرژی، هایپوکسی و ایسکمی، اتوفاژی را به‌طور مثبت تنظیم می‌کند تا پروتئین‌ها و اندامک‌های آسیب‌دیده را حذف کنند. این فرایند همچنین آمینواسیدها را برای تولید انرژی و عملکردهای سلولی بازیابی می‌کند (۳۵). حذف اتوفاژیک میتوکندری‌های معیوب می‌تواند گامی کنترلی و ضروری در حفظ کیفیت میتوکندریایی باشد که پس از میتوکندری‌های دپولاریزه و معیوب از طریق فرایند همجوشی و شکافت رخ می‌دهد. شکافت میتوکندریی برای میتوفاژی ضروری است و مهار شکافت به قطع میتوفاژی و انباشت میتوکندری‌های معیوب منجر می‌شود (۳۵). فعالیت ورزشی علاوه‌بر تنظیم پروتئین‌های هم‌جوشی و شکافت از طریق دو راه AMPK، mTOR نیز بر اتوفاژی مؤثر واقع می‌شود. حذف هر دو MFN1 و MFN2 در قلب انسان بالغ، اختلال قلبی و تلاشی میتوکندریایی را بدون میتوفاژی همراه تشدید می‌کند که بیانگر ضرورت MFN1 و MFN2 در مکانیزم میتوفاژیک است (۱۴-۳۶). MFN2 همچنین در تنظیم هم‌جوشی اتوفاگوسوم – لیزوزوم کاردیو مایوسیت‌ها دخیل است (۳۷). از طرفی بیان بیش از حد MFN2 بیان آپوپتوز را در کاردیومایوسیت‌های در معرض استرس اکسیداتیو تشدید می‌کند (۳۸). پس شاید افزایش نسبی MFN2 به نفع بهبود پویایی میتوکندریایی در تحقیق حاضر بوده است. در نهایت ممکن است افزایش بیان ژن DRP1 و افزایش شکافت برای شکل‌دهی مجدد یا توسعهٔ شبکه در حین تکثیر یا برای جدا ساختن بخش‌هایی از شبکه به قطعاتی برای تغییر مکان و هم‌جوشی به دیگر قسمت‌های شبکه نیاز باشد. با توجه به نبود تأیید بصری از ریخت‌شناسی میتوکندریایی در تحقیق حاضر می‌توانیم با توجه به داده‌های قبلی افزایش تشکیل شبکه از طریق افزایش معنادار بیان ژن OPA1 و افزایش حدودی بیان MFN2 را انتظار داشته باشیم و نتیجه بگیریم که تعادل بین فرایندهای هم‌جوشی و شکافت و سیگنال‌های مسئول تنظیم آنها برای حفظ این شبکه حائز اهمیت است.

در انتها با توجه به تغییرات در پویایی و متابولیسم میتوکندری‌ها بر اثر فعالیت ورزشی تناوبی شدید، این‌گونه فعالیت در افراد دیابتی با در نظر گرفتن محدودیت‌های فردی می‌تواند کارا باشد. اما با توجه به محدود بودن مطالعات صورت‌گرفته در زمینهٔ اثر فعالیت ورزشی بر پویایی میتوکندریایی، بررسی انواع فعالیت‌های ورزشی و پروتکل‌های متفاوت با شدت‌ها و مدت زمان‌های متفاوت می‌تواند اطلاعات بیشتری را در این زمینه در اختیار قرار دهد. همچنین داده‌هایی که در این تحقیق تجزیه‌وتحلیل شد، صرفاً بر بیان ژن فاکتورهای موردنظر تأکید داشت، ازاین‌رو اندازه‌گیری مستقیم پروتئین‌ها در سطح سلولی می‌تواند سبب به‌دست آمدن اطلاعات جامع‌تر و دقیق‌تری شود.

منابع و مآخذ

1. Zorzano A, Liesa M, Palacín M. Role of mitochondrial dynamics proteins in the pathophysiology of obesity and type 2 diabetes. Int J Biochem Cell Biol [Internet]. 2009;41(10):1846–54. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272509000764
2. Ishihara N, Otera H, Oka T, Mihara K. Regulation and Physiologic Functions of GTPases in Mitochondrial Fusion and Fission in Mammals. Antioxid Redox Signal. 2012;19(4):121001062245003.
3. Archer SL. Mitochondrial dynamics--mitochondrial fission and fusion in human diseases. N Engl J Med [Internet]. 2013;369(23):2236–51. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24304053
4. 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(2):189–200.
5. Cipolat S, Martins de Brito O, Dal Zilio B, Scorrano L. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(45):15927–32.
6. Santel A, Fuller MT. Control of mitochondrial morphology by a human mitofusin. J Cell Sci [Internet]. 2001;114(Pt 5):867–74. Available from:http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink. fcgi?dbfrom=pubmed&id= 11181170&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/uuid/9C312C9A-C5D5-46CF-8244-7264815A8EDB
7. 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 [Internet]. 2003;23(15):5409–20. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12861026%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC165727
8. Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science (80-) [Internet]. 2012;337(6098):1062–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=22936770
9. Kirkwood SP, Munn EA, Brooks GA. Mitochondrial reticulum in limb skeletal muscle. Am J Physiol [Internet]. 1986;251(3 Pt 1):C395-402. Available from: http://ajpcell.physiology.org/content/251/3/C395.abstract
10. Bakeeva LE, Chentsov YS, Skulachev VP. Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle. BBA - Bioenerg. 1978;501(3):349–69.
11. Wai T, Langer T. Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation. Trends Endocrinol Metab [Internet]. 2016;27(2):105–17. Available from: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276015002362
12. Lee Y, Jeong S, Karbowski M, Smith C, Youle R. Roles of the mammalian mitochondrial fission and fusion mediators Fis1, Drp1, and Opa1 in apoptosis. Mol Biol Cell. 2004;15(11):5001–15.

13. Hernandez-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-1{alpha}/Mitofusin-2 regulatory pathway in response to physical activity. Diabetes Care [Internet]. 2010;33(3):645–51. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20032281
14. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF. PGC-1α-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. … Genet [Internet]. 2003;34(3):267–73. Available from: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng1180%5Cnpapers3://publication/doi/10.1038/ng1180
15. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2003;100(14):8466–71. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166252&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
16. 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(4):5304–22.
17. Bach D, Naon D, Pich S, Soriano FX, Vega N, Rieusset J, et al. Expression of Mfn2, the Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Type 2A Gene, in Human Skeletal Muscle. Diabetes [Internet]. 2005;54(9):2685–93. Available from: http://diabetes.diabetesjournals.org/content/54/9/2685.abstract
18. Bach D, Pich S, Soriano FX, Vega N, Baumgartner B, Oriola J, et al. Mitofusin-2 determines mitochondrial network architecture and mitochondrial metabolism: A novel regulatory mechanism altered in obesity. J Biol Chem. 2003;278(19):17190–7.
19. Sebastián D, Hernández-Alvarez MI, Segalés J, Sorianello E, Muñoz JP, Sala D, et al. Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2012;109(14):5523–8. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3325712&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
20. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress - Activated signaling pathways mediators of insulin resistance and β-cell dysfunction? Vol. 52, Diabetes. 2003. p. 1–8.
21. Perry CGR, Lally J, Holloway GP, Heigenhauser GJF, Bonen A, Spriet LL. Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. J Physiol [Internet]. 2010;588(Pt 23):4795–810. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3010147&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
22. Bo H, Zhang Y, Ji LL. Redefining the role of mitochondria in exercise: A dynamic remodeling. In: Annals of the New York Academy of Sciences. 2010. p. 121–8.

23. Ding H, Jiang N, Liu H, Liu X, Liu D, Zhao F, et al. Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle. Biochim Biophys Acta - Gen Subj. 2010;1800(3):250–6.
24. Pierre W, Gildas AJH, Ulrich MC, Modeste W-N, Benoît NT, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2012;12:264. Available from:http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3546073&tool= pmcentrez &rendertype=abstract
25. Ghardashi Afousi A, Choobineh S, Gaeini AA, Javidi M, Fallahi AA. High Intensity Interval Training(HIIT):Beneficial or Harmful?An investigation of bone mass density changes after high intensity interval training in adult male wistar rats. J Sport Biosci. 2015;7(2):211–23. (inpersian)
26. Mogharnasi M, Gaeini AA, Sheikholeslami Vatani D. The effect of a period of detraining followed by aerobic exercise on novel inflammatory markers. Res Sport Sci. 1388;3(24). (inpersian)
27. Lawler JM, Powers SK, Hammeren J, Martin AD. Oxygen cost of treadmill running in 24-month-old Fischer-344 rats. Med Sci Sports Exerc. 1993;25(11):1259–64.
28. Gaeini AA, Bahramian A, Javidi M. The effect of eight weeks of resistance training on stimulatory and inhibitory factors of cardiac microvascular injuries in wistar diabetic rats. JME. 2013;3(1):21–32. (inpersian)
29. Jorge L, Paulini J, Silva C, Rampaso R, Luiz R, Lima W, et al. Exercise Training Improves Cardiac Mitofusin 2 Expression In Diabetes. Hypertension. 2013;62:613.
30. 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(3):459–68.
31. Fealy CE, Mulya A, Lai N, Kirwan JP. Exercise Training Decreases Activation of the Mitochondrial Fission Protein Dynamin-Related Protein-1 in Insulin Resistant Human Skeletal Muscle. J Appl Physiol [Internet]. 2014; Available from: http://www.ncbi.nlm. nih.gov/pubmed/24947026
32. Pautasso M, Sciarretta S, Zhai P, Volpe M, Sadoshima J, Perrotta I, et al. Pharmacological Modulation of Autophagy During Cardiac Stress. J Cardiovasc Pharmacol. 2013;9(3):7–10.
33. Wang K, Klionsky DJ. Mitochondria removal by autophagy. Vol. 7, Autophagy. 2011. p. 297–300.
34. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced Regulation of Mitochondrial Quality. Exerc Sport Sci Rev [Internet]. 2012;40(3):159–64. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732425%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/ articlerender.fcgi?artid=PMC3384482%5Cnhttp://content.wkhealth.com/linkback/openurl ?sid=WKPTLP:landingpage&an=00003677-900000000-99952

35. Ikeda Y, Sciarretta S, Nagarajan N, Rubattu S, Volpe M, Frati G, et al. New insights into the role of mitochondrial dynamics and autophagy during oxidative stress and aging in the heart. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014.
36. Chen Y, Liu Y, Dorn GW. Mitochondrial fusion is essential for organelle function and cardiac homeostasis. Circ Res. 2011;109(12):1327–31.
37. Zhao T, Huang X, Han L, Wang X, Cheng H, Zhao Y, et al. Central role of mitofusin 2 in autophagosome-lysosome fusion in cardiomyocytes. J Biol Chem. 2012;287(28):23615–25.
38. Shen T, Zheng M, Cao C, Chen C, Tang J, Zhang W, et al. Mitofusin-2 is a major determinant of oxidative stress-mediated heart muscle cell apoptosis. J Biol Chem. 2007;282(32):23354–61.

The Effect of 12 Weeks of High Intensity Interval Training on Mitochondrial Dynamics in Cardiac Myocytes of Type 2 Diabetic Rats

Saghi Zaferanieh*[1] - Rahman Soori[2]
1.M.Sc., Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran, 2. Professor, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
(Received: 2017/01/04; Accepted: 2017/04/24)

Abstract
The aim of this study was to investigate the effect of 12 weeks of high intensity interval training (HIIT) on gene expression of DRP1, MFN2 and OPA1 in cardiac muscle of type 2 diabetic male Wistar rats. Therefore, 20 rats (age: 10 weeks old and mean weight: 220±20 g) were divided randomly into 2 groups: diabetic control (n=10) and diabetic HIIT (n=10). The training protocol was performed for 12 weeks, 5 days a week with specific duration and intensity. 48 hours after the last training session, ventricular cardiac samples were obtained for further genetic experiments. Independent t test was used for data analysis ($P \leq 0.05$). The results showed no significant difference in MFN2 gene expression between diabetic control and diabetic HIIT groups (P=0.337). But 12 weeks of training significantly increased gene expression of DRP1 (P=0.001) and OPA1 (P=0.001) proteins in diabetic rats. It can be generally stated that HIIT may positively regulate gene expression of mitochondrial dynamics in diabetes.

Keywords
Diabetes, gene expression, interval training, mitochondrial dynamics.

* Corresponding Author: Email: saghi.zafaranieh@ut.ac.ir Tel: 09122455339