علوم زیستی ورزشی – پاییز ۱۴۰۰
دورهٔ ۱۳، شمارهٔ ۳، ص: ۳۱۲ – ۳۰۱
نوع مقاله : علمی – پژوهشی
تاریخ دریافت : ۰۴ / ۱۲ / ۹۹
تاریخ پذیرش : ۰۲ / ۰۶ / ۱۴۰۰

تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن Drp1 وCyp1a1 و پروتئین CYP1A1 عضلهٔ نعلی رت های نر دیابتی

مهدی مقامی[۱] – سعید کشاورز *[۲] – روح الله حق شناس [۳] – الهام افتخاری [۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران۲. استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی و مرکز تحقیقات طب ورزش، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران۳. استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران۴. استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی و مرکز تحقیقات طب ورزش، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران

چکیده

تنظیم نامناسب در پویایی میتوکندری با اختلال در تنظیم متابولیسم همراه است و به بیماری‌های متابولیکی منجر می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن Drp1، Cyp1a1 و بیان پروتئین CYP1A1 عضلهٔ نعلی رت‌های نر دیابتی است. در این مطالعهٔ تجربی ۲۴ سر رت نر ویستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه دیابت (D)، گروه کنترل (Ct)، و گروه تمرین+دیابت (ED) تقسیم شدند. مدل دیابت در رت‌ها با تزریق STZ القا شد. گروه ED به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته پروتکل تمرین هوازی را اجرا کردند. پس از اتمام پروتکل، عضلهٔ نعلی رت‌ها استخراج، و از روش RT-PCR، برای سنجش بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 و از روش الایزا برای سنجش بیان پروتئین CYP1A1 استفاده شد. میزان RNA با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه و سپس داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس تجزیه‌وتحلیل شد. نتایج تفاوت معناداری را بین گروه‌ها در بیان ژن Drp1 (P≤۰/۰۰۱) و Cyp1a1 (P≤۰/۰۱۷)، بیان پروتئین CYP1A1 (P=۰/۰۲۸) و گلوکز (P≤۰/۰۰۱) نشان داد. دیابت بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 و بیان پروتئین CYP1A1 را در عضلهٔ اسکلتی افزایش داد. این در حالی است که تمرین فقط بیان ژن Drp1 را کاهش داد (P=۰/۰۱۳). دیابت به افزایش گلوکز، بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 و بیان پروتئین CYP1A1 در عضلهٔ اسکلتی منجر می‌شود. اما تمرین، تنها از افزایش بیان ژن Drp1 پیشگیری کرد.

واژه‌های کلیدی

دیابت، عضله، میتوکندری، ورزش.

* **نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۹۱۳۲۷۰۴۶۸۳** **Email:** keshavarz1357@gmail.com

مقدمه

شواهد بسیار زیادی از تأثیرات محافظتی ورزش و ترکیب بدن در مقابله با خطرهای سلامتی در تمام سنین افراد جامعه و از جمله افراد دیابتی حمایت می‌کند و درک عمیقی از تأثیرات مفید ورزش بر دیابت وجود دارد (۳-۱). با وجود این هنوز درمان قطعی برای این بیماری شناسایی نشده است و ابهامات بسیار زیادی در این رابطه وجود دارد و شناسایی هرچه بیشتر مسیرهای پیام‌رسانی سلولی و مولکولی درگیر در این بیماری می‌تواند گامی رو به جلو در جهت پیشگیری یا حتی درمان این بیماری باشد. عضلهٔ اسکلتی محل جذب و متابولیسم گلوکز است و مقاومت انسولینی پیرامونی که از عضلهٔ اسکلتی نشأت می‌گیرد، عامل اصلی دیابت نوع ۲ است (۴). ورزش از طریق هر دو سازوکار وابسته به انسولین و مستقل از انسولین جذب گلوکز عضله را افزایش می‌دهد و سبب بهبود پایدار در حساسیت انسولین و دفع گلوکز می‌شود (۵). تنظیم نامناسب در پویایی میتوکندری با اختلال در تنظیم متابولیسم همراه است و نشان داده شده است که بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم ۳۰ درصد محتوای میتوکندری در عضلهٔ اسکلتی کمتری دارند (۶). فرایندهای مختلفی همجوشی و شکافت[1]ریخت‌شناسی و عملکرد میتوکندری را تنظیم می‌کنند و نشان داده شده است که تمرین هوازی محتوی میتوکندری عضلهٔ اسکلتی و آنزیم‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهد و با افزایش بیان پروتئین‌های درگیر در پیام‌رسانی انسولین، به بهبود چشمگیر اکسیداسیون گلوکز و اسیدهای چرب منجر می‌شود (۷). مولکول‌های زیادی در میتوکندری نقش ایفا می‌کنند که اختلال در هر کدام از آنها می‌تواند پیامدهای ناگواری در پی داشته باشد. از جملهٔ آنها پروتئین ۱ وابسته به دینامین (DRP1)[2]است که با حرکت از سیتوزول روی غشای خارجی میتوکندری در فرایند شکافت میتوکندری، نقش ایفا می‌کند (۸، ۹). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که شکافت میتوکندری به‌واسطهٔ DRP1 در میوکارد موش‌های دیابتی افزایش می‌یابد و DRP1 ممکن است یکی از مولکول‌های مهم مرتبط با دیابت و بیماری‌های ایسکمی قلبی باشد (۸). بالا بودن سطح گلوکز فعالیت DRP1 را افزایش می‌دهد و به اختلال در عملکرد میتوکندری منجر می‌شود. عدم تعادل هموستاز میتوکندری به‌واسطهٔ DRP1 به اختلال در عملکرد سلول و از جمله متابولیسم گلوکز و در نهایت تمام این اتفاقات به کاهش DRP1 منجر می‌شود، بنابراین DRP1 یک هدف بالقوهٔ درمانی در بیماری دیابت معرفی شده است (۱۰). از آنجا که ورزش و فعالیت بدنی عامل مهمی در پیشگیری و درمان بیماری دیابت

1 . Fusion and Fission
2. Dynamin-related protein 1

است، بنابراین یکی از مسیرهای احتمالی که می‌تواند از طریق آن نقش ایفا کند،DRP1 است. نشان داده شده که ورزش DRP1 سلول‌های مغزی موش‌های مسن و نه جوان را افزایش می‌دهد (۱۱) و بیان شده است که ورزش بدون تغییر در بیوژنز میتوکندریایی و از طریق تأثیر بر عملکرد زنجیرهٔ انتقال الکترونی و پویایی میتوکندری عملکرد میتوکندری‌های مغز را بهبود می‌بخشد. سرکوب DRP1 و کاهش آن نیز به کاهش عملکرد استقامت عضلانی منجر می‌شود (۱۲). با وجود ایفای نقش ورزش از طریق عضلات اسکلتی، کمتر مطالعه‌ای به بررسی تغییراتDRP1 و دیگر مولکول‌های مرتبط در این زمینه، در اثر ورزش پرداخته است. یکی دیگر از مولکول‌های مرتبط در همین زمینه، آنزیم سیتوکروم P450 [1](CYP1A1) است که ضمن ایفای نقش در زنجیرهٔ انتقال الکترونی به‌عنوان یکی از منابع ROS احتمالاً در پاتوژنز تصلب شرایین و بیماری قلبی عروقی و دیابت نقش دارد و با وجود الل C در افراد سیگاری زمینه را برای بیماری قلبی عروقی و دیابت نوع ۲ افزایش می‌دهد (۱۳). CYP1A1 هموپروتئین‌های غشایی‌اند که در غشای داخلی میتوکندری بافت‌های استروئیدزایی مانند کبد، روده، قشر آدرنال، بیضه، تخمدان، پستان و جفت وجود دارند و نقش اساسی در سنتز و تخریب هورمون‌های استروئیدی درون‌زا، سم‌زدایی از بیوتیک‌ها، سوخت‌وساز سلولی و هموستاز دارند. علاوه‌بر این، آنزیم‌های CYP نقش عمده‌ای در سوخت‌وساز ویتامین‌ها، اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده و بیوسنتز کلسترول دارند (۱۴، ۱۵). القا یا مهار آنزیم‌های CYP زمینه‌ساز تداخلات دارویی است (۱۶)، بنابراین CYPها نقشی اساسی در سوخت‌وساز سلولی دارند و هموستاز سلولی را حفظ می‌کنند. افزایش بیان ژن CYP1A1 در کبد موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب مشاهده شده و تمرین استقامتی نیز از این افزایش جلوگیری کرده است (۱۷). از طرفی افزایش فعالیت CYP1A1 پس از ورزش شنا و مصرف اتانول در موش‌ها گزارش شده است، اما ورزش و یا مصرف اتانول به‌تنهایی تأثیر چندانی نداشت (۱۸). عدم تغییر در CYP1A1 پلاسما پس از یک جلسه ورزش وامانده‌ساز نیز گزارش شده، ولی بیان شده است که این مسیر می‌تواند با بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط باشد (۱۹). ولی اینکه در مجموع در افراد دیابتی چه تغییراتی در هر دو متغیر DRP1 وCYP1A1 در اثر ورزش در عضلهٔ اسکلتی اتفاق می‌افتد، مورد بحث و بررسی است و از آنجا که دانش در مورد بسترها، القاکننده‌ها و مهارکننده‌های ایزوفرم‌های CYP می‌تواند برای استراتژی درمانی و تعیین دوزهای دارویی استفاده شود و اهمیت نقش مثبت ورزش در پیشگیری و درمان بیماری دیابت، محقق

1 . Cytochrome P450

به‌دنبال بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر Drp1، Cyp1a1 و CYP1A1 رت‌های نر مبتلا به دیابت است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که پس از طرح و تصویب در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان در سال ۱۳۹۹ به شمارهٔ IR.SEMUMS.REC.1399.301، تعداد ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار، با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از مؤسسهٔ رازی تهران خریداری و پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، مدل دیابت در رت‌ها با تزریق درون‌صفاقی STZ به مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد (۲۰). از اندازه‌گیری قند خون با استفاده از خون‌گیری از دم حیوان، ۳ روز پس از تزریق برای تعیین و تشخیص مدل ایجادشدهٔ دیابت، استفاده شد. پس از تأیید مدل دیابت (قند خون بالاتر از ۱۵۰ mg/dl) (۲۰)، رت‌ها، به ۳ گروه کنترل (n=۸) (C)، گروه دیابت (n=۸) (D) و گروه دیابت+تمرین (n=۸) (ED) (تقسیم‌بندی گروه‌های دیابت براساس شاخص قند خون صورت گرفت) تقسیم شدند. رت‌ها در قفس پلی‌کربنات شفاف و تحت چرخهٔ روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۵± ۶۵٪ و درجهٔ حرارت ۲±۲۵°C نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. به‌منظور آشناسازی با پروتکل تمرین رت‌های گروه تمرین به مدت ۲ هفته روی نوار گردان قرار گرفتند و آموزش‌های لازم به آنها داده شد. سپس رت‌ها به مدت ۸ هفته پروتکل تمرین هوازی را به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح طبق جدول ۲ اجرا کردند (جدول ۲). برای رعایت اصل اضافه‌بار به‌صورت هفتگی به‌طور میانگین ۶ دقیقه (هر روز یک دقیقه) به مدت تمرین و ۲ متر در دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین در هفتهٔ هشتم به ۵۹ دقیقه و حداکثر سرعت ۲۶ متر بر دقیقه برسد (جدول ۱) (۲۱، ۲۲).

عمل بافت‌برداری، در پایان هفتهٔ هشتم و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، پس از بی‌هوشی با گاز CO2 انجام گرفت. همچنین عضلهٔ نعلی رت‌ها استخراج و پس از شست‌وشو با سرم فیزیولوژی و جدا کردن قسمت‌های زائد، به نیتروژن مایع انتقال یافت و سپس در دمای منفی ۸۵ درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش، نگهداری شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی

	آشنا سازی با محیط و پروتکل تمرین	هفتهٔ اول	هفتهٔ دوم	هفتهٔ سوم	هفتهٔ چهارم	هفتهٔ پنجم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ هفتم	هفتهٔ هشتم
(متر بر سرعت* دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۲۶
مدت زمان کل تمرین (با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد (دقیقه) کردن)	۱۵	۲۳	۲۹	۳۵	۴۱	۴۷	۵۳	۵۹	۵۹

در روز آزمایش، بافت موردنظر، با نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین[1] هموژنه[2] شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای سنجش شاخص‌های موردنظر استفاده شد. برای بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت پانکراس طبق پروتکل شرکت سازنده و پرایمر طراحی‌شده انجام گرفت. برای استخراج mRNA، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد با روش هموژنیزه کردن مواد استفاده شد. به‌منظور جداسازی mRNA، از کیت RNA-PLUS شرکت CinnaGen، طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و سپس محلول RNA استخراج‌شده، با استفاده از کیت RNAseDnaseI از شرکت Fermentas آلمان، از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کنندهٔ RNA پاکسازی شد. با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر درجه خلوص نمونه RNA به‌صورت کمی به‌دست آمد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شده و سپس cDNA سنتزشده به‌منظور انجام واکنش رونویسی معکوس به‌کار رفت. ابتدا پرایمرهای طراحی‌شده، مربوط به ژن Drp1 و Cyp1a1 بررسی شد (جدول ۲)، سپس بررسی بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 با استفاده از روش کمی Q-RT PCR انجام گرفت. میزان RNA با استفاده از فرمول $\mathbf{2^{-\Delta\Delta CT}}$

1. phosphat salin
2. homogenates

محاسبه و سپس داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس تجزیه‌وتحلیل شد. برای اندازه‌گیری سطح پروتئین CYP1A1 نیز از کیت الایزا مخصوص اندازه‌گیری CYP1A1 رت و موش ساخت شرکت zelbio آلمان طبق دستورالعمل این کیت استفاده شد. گلوکز خون نیز با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون اندازه‌گیری شد.

جدول ۲. توالی پرایمر Drp1 و Cyp1a1 و ژن مرجع Gap

rGap-R	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C
rGap-F	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
DRP-F	AGTTGAAGCAGAAGAATGGGGT
DRP-R	GAGAAAACCTTGAGATGGATTGG
Cyp1a1-F	5′-GTCCCGGATGTGGCCCTTCTCAAA-3′
Cyp1a1-R	5′-TAACTCTTCCCTGGATGCCTTCAA-3′

روش آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها و تأیید نرمال بودن داده و پیش‌فرض‌های تحلیل واریانس، از نرم‌افزار SPPS نسخهٔ ۲۵ و آزمون تحلیل واریانس و آزمونی تعقیبی توکی به‌منظور تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد. سطح معناداری در تمامی مراحل P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ویژگی‌های توصیفی و نتایج تحلیل واریانس در جدول ۳ گزارش شده است که پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس، نتایج این تحلیل تفاوت معناداری را بین گروه‌ها در بیان ژنDrp1 (P≤۰/۰۰۱) و Cyp1a1 (P≤۰/۰۱۷)، بیان پروتئین CYP1A1 (P=۰/۰۲۸) و گلوکز (P≤۰/۰۰۱) نشان داد (جدول ۳). در ادامه برای مقایسهٔ دو به دو گروه‌ها و مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد و همان‌طورکه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، دیابت بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 و بیان پروتئین CYP1A1 را در عضلهٔ نعلی افزایش می‌دهد. این در حالی است که تمرین فقط بیان Drp1 را توانست کاهش دهد (P=۰/۰۱۳) ولی نتوانست آن را به حد گروه کنترل برساند (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس و ویژگی‌های توصیفی متغیرهای گلوکز، بیان ژن های Drp1 و Cyp1a1 و بیان پروتئینCYP1A1

متغیر	شاخص / گروه	میانگین (انحراف معیار)	معناداری‡
Drp1	دیابت†	۳/۹۹ (۱/۴۷)	<۰/۰۰۱
	کنترل*	۱/۱۳ (۰/۶۵)	
	دیابت+ورزش	۲/۲۷ (۰/۹۴)	
Cyp1a1	دیابت	۳/۲۳ (۱/۶۸)	۰/۰۱۷
	کنترل*	۱/۰۶ (۰/۳۷)	
	دیابت+ورزش	۲/۰۲ (۱/۶۶)	
CYP1A1 (ng/ml)	دیابت	۸/۶۷ (۱/۰۷)	۰/۰۲۸
	کنترل*	۷/۱۸ (۰/۷۱)	
	دیابت+ورزش	۷/۸۲ (۱/۲۳)	
گلوکز (mg/dl)	دیابت	۲۵۲/۵۰ (۲۷/۱۰)	<۰/۰۰۱
	کنترل*†	۸۶/۷۵ (۴/۳۰)	
	دیابت+ورزش	۱۸۵/۷۵ (۱۱/۴۲)	

* معنادار نسبت به گروه دیابت، † معنادار نسبت به گروه دیابت+ورزش، ‡ معنادردر سطح (P<۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیماری دیابت به افزایش گلوکز، بیان ژن Drp1 و Cyp1a1 و بیان پروتئین CYP1A1 در عضلهٔ نعلی رت‌های نر نژاد ویستار منجر می‌شود. اما تنها در متغیر Drp1 تمرین استقامتی توانست از این افزایش پیشگیری کند، هرچند این امر در حدی نبود که Drp1 را در سطح گروه کنترل نگه‌دارد. این یافته همراستا با تحقیق جئو[1] و همکاران (۲۰۲۰) است که گزارش کردند دیابت سطح DRP1 را افزایش می‌دهد (۱۰). تحقیقات نشان داده‌اند که روند اختلال در میتوکندری، از طریق ورزش به‌وسیلهٔ بهبود سوخت‌وساز میتوکندری و بیوژنز میتوکندری، به تأخیر می‌افتد. ورزش از طریق مکانیسم‌های اصلاح پس‌ترجمه، عملکرد پروتئین‌های تنظیم‌کنندهٔ پویایی میتوکندری را تعدیل می‌کند

1 . Guo

(۲۳). یافته‌های پژوهش حاضر همسو با تحقیق پیروی[1] و همکاران (۲۰۲۰) است که افزایش Drp1 را با دیابت، و کاهش آن را با شیوه‌ها و شدت‌های مختلف تمرینات استقامتی گزارش کرده‌اند (۲۴). تحقیقات دیگر نیز نشان داده است که ورزش می‌تواند بیان Drp1 را کاهش و بیان Mfn1 و Mfn2 را افزایش دهد (۲۵). Mfn1/2 برای همجوشی غشای خارجی میتوکندری لازم است، Drp1 و پروتئین شکافت ۱ (Fis1) نیز در غشای خارجی میتوکندری به‌کار می‌روند تا تقسیم میتوکندری را القا کنند (۸). گزارش شده است که عدم تعادل در عملکرد میتوکندری می‌تواند به بیماری‌های متابولیکی منجر شود و مورفولوژی میتوکندری افراد دیابتی با افراد سالم متفاوت است (۲۶، ۲۷). همان‌طورکه یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد، اعمال تغییرات مناسب در میتوکندری می‌تواند هم در پیشگیری و هم در درمان بیماری دیابت، نقش بسزایی ایفا می‌کند و توجه بیشتر به این اندامک سلولی و مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط، احتمالاً نتایج ارزشمندتری را حاصل خواهد کرد. همان‌طورکه در نتایج جدول ۲ مشاهده می‌شود ،دیابت هم بیان ژن Cyp1a1 و هم بیان پروتئین CYP1A1 عضلهٔ نعلی را افزایش داده است. CYP1A1 از اصلی‌ترین آنزیم‌های سیتوکروم P450 است و ضمن مقابله با عوامل مختل‌کنندهٔ هموستاز سلولی، از طریق گیرندهٔ اریل هیدروکربن[2](AHR) نقش مهمی در سم‌زدایی مواد سرطان‌زای محیطی و فعال‌سازی مسیرهای متابولیکی در پیشگیری از سرطان و دیابت دارد (۲۸). کودسن و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند رژیم غذایی پرچرب بیان Cyp1a1 را افزایش می‌دهد و ورزش این اتفاق را برعکس می‌کند و از افزایش Cyp1a1 جلوگیری می‌کند (۱۷). اما همان‌طورکه در نتایج پژوهش حاضر مشاهده می‌شود، ورزش اثری بر تغییرات ناشی از دیابت برCYP1A1 نداشته است که احتمالاً یکی از دلایل افزایش CYP1A1 در رت‌های دیابتی ناشی از اثر سمی STZ باشد که تمرین استقامتی نیز نتوانسته است تغییر معناداری در این متغیر ایجاد کند. مطالعات دیگر نیز افزایش CYP1A1 را در رت‌های دیابتی با تزریق STZ گزارش و سعی کرده‌اند با گیاهان دارویی همچون زرشک هندی یا داروهایی مانند متفورمین، CYP1A1 کبد را سرکوب کنند و این متغیر را کاهش دهند و تا حدودی نیز موفق بوده‌اند (۲۹). در پژوهش حاضر Drp1 و CYP1A1 در عضلهٔ نعلی اندازه‌گیری و بررسی شد و به‌نظر می‌رسد اثرپذیری این دو متغیر در بافت‌ها و اندام‌های مختلف بدن، در اثر ورزش یا داروها و مواد دیگر متفاوت باشد. احتمالاً در شرایطی که فرد مبتلا به دیابت در معرض آلاینده‌های محیطی یا سمی باشد، ورزش به‌تنهایی کارایی چندانی نداشته و نیاز به روش‌های کمک‌درمانی

1. Peyravi
2 . Aryl hydrocarbon receptor

دیگر به‌ویژه توجه به رژیم غذایی و گیاهان دارویی لازم باشد. از آنجا که فرایندهای شکافت، همجوشی و بیوژنز میتوکندری به یکدیگر وابسته‌اند، استراتژی‌هایی با هدف افزایش بقا و فعالیت میتوکندری ممکن است در مبارزه با بیماری‌های مرتبط با اختلال عملکرد متابولیک و از جمله دیابت مؤثر باشند. همسو با نتایج پژوهش حاضر فیلی[1] و همکاران (۲۰۱۴) کاهش فعالیت Drp1 در اثر ورزش را در عضلهٔ اسکلتی افراد با مقاومت انسولینی بالا گزارش کرده‌اند (۲۵). تمرین استقامتی برای القای تغییراتی در چرخهٔ بقای میتوکندری از جمله پیام‌رسانی شکافت میتوکندری از طریق Drp1 لازم است و عدم Drp1 سبب کاهش عملکرد ورزشی و تغییر در سازگاری ناشی از تمرین می‌شود. در مدل‌های حیوانی، عدم کارایی مناسب شکافت-همجوشی، با اختلال در جریان دینامیکی بازسازی میتوکندری و در نتیجه اختلال در سوخت‌وساز و حساسیت به انسولین ارتباط دارد (۱۲). نکتهٔ شایان توجه در این زمینه افزایش Drp1 در اثر ابتلا به دیابت و کاهش آن در اثر تمرین استقامتی است و احتمالاً این پدیده در نمونه‌های سالم متفاوت باشد. به‌نظر می‌رسد در فرایند ابتلا به دیابت سلول سعی می‌کند با تغییر در Drp1 و سایر مولکول‌های مرتبط در این مسیر، بیوزنز میتوکندری را افزایش دهد و با بالا بردن هزینهٔ انرژی بدن، با افزایش سطح قند خون مقابله کند که در طول زمان این سازوکار از کنترل خارج شده و سازوکار بدن با اختلال روبه‌رو می‌شود. چنانکه سو[2] و همکاران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند، دو ماه تمرین مقاومتی بیان ژن را افزایش و شش ماه تمرین مقاومتی بیان این ژن را کاهش داده است که نشان می‌دهد مدت زمان تمرینات و نوع تمرین نیز می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر این ژن داشته باشد (۳۰). البته در این پژوهش بیان پروتئین Drp1 و تأثیر خالص تمرین بر متغیرها اندازه‌گیری نشد و از محدودیت‌های تحقیق حاضر است. همچنین چنانچه در پژوهش‌های آینده دیگر ژن‌های تنظیم‌کنندهٔ مرتبط با Drp1 بررسی و آزمایش شوند، احتمالاً نتایج ارزشمندی حاصل خواهد شد. در کل نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هر دو متغیر Drp1 و CYP1A1 تحت تأثیر بیماری دیابت قرار دارند و تمرین استقامتی به‌تنهایی فقط بر Drp1 در عضلهٔ اسکلتی تأثیرگذار است و برای تغییر در CYP1A1 نیاز به روش‌های درمانی دیگر احساس می‌شود، که باید در تحقیقات آینده بررسی شود.

1 . Fealy
2 . Su

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از شرکت فن آوران بافت و ژن، به‌سبب انجام امور آزمایشگاهی و حمایت‌هایشان کمال سپاس و قدردانی را دارند.

منابع و مآخذ

1. Sobhani F, Haghshenas R, Rahimi M. Effect of eight weeks aerobic training and supplementation of green tea on apelin plasma levels and insulin resistance in elderly women with type 2 diabetes. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2019;28(170):84-93.
2. Codella R, Terruzzi I, Luzi L. Why should people with type 1 diabetes exercise regularly? Acta diabetologica. 2017;54(7):615-30.
3. Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Hadaegh F, Azizi F, Khalili D. Anthropometric indices as predictors of coronary heart disease risk: Joint modeling of longitudinal measurements and time to event. Iranian journal of public health. 2017;46(11):1546.
4. Kirwan JP, Sacks J, Nieuwoudt S. The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. Cleveland Clinic journal of medicine. 2017;84(7 Suppl 1):S15.
5. Hawley JA, Lessard S. Exercise training-induced improvements in insulin action. Acta physiologica. 2008;192(1):127-35.
6. Asmann YW, Stump CS, Short KR, Coenen-Schimke JM, Guo Z, Bigelow ML, et al. Skeletal muscle mitochondrial functions, mitochondrial DNA copy numbers, and gene transcript profiles in type 2 diabetic and nondiabetic subjects at equal levels of low or high insulin and euglycemia. Diabetes. 2006;55(12):3309-19.
7. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee I-M, et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. Medicine and science in sports and exercise. 2011;43(7):1334-59.
8. Smirnova E, Griparic L, Shurland D-L, Van Der Bliek AM. Dynamin-related protein Drp1 is required for mitochondrial division in mammalian cells. Molecular biology of the cell. 2001;12(8):2245-56.
9. Mears JA, Lackner LL, Fang S, Ingerman E, Nunnari J, Hinshaw JE. Conformational changes in Dnm1 support a contractile mechanism for mitochondrial fission. Nature structural & molecular biology. 2011;18(1):20.
10. Guo J, Ye F, Jiang X, Guo H, Xie W, Zhang Y, et al. Drp1 mediates high glucose-induced mitochondrial dysfunction and epithelial-mesenchymal transition in endometrial cancer cells. Experimental cell research. 2020;389(1):111880.

11. 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.
12. 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.
13. Wang XL, Greco M, Sim AS, Duarte N, Wang J, Wilcken DE. Effect of CYP1A1 MspI polymorphism on cigarette smoking related coronary artery disease and diabetes. Atherosclerosis. 2002;162(2):391-7.
14. Omura T. Forty years of cytochrome P450. Biochemical and biophysical research communications. 1999;266(3):690-8.
15. Hasler JA, Estabrook R, Murray M, Pikuleva I, Waterman M, Capdevila J, et al. Human cytochromes P450. Molecular aspects of medicine. 1999;20(1-2):1-137.
16. Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: a review. Current drug targets. 2018;19(1):38-54.
17. Knudsen JG, Bertholdt L, Gudiksen A, Gerbal-Chaloin S, Rasmussen MK. Skeletal muscle interleukin-6 regulates hepatic cytochrome P450 expression: effects of 16-week high-fat diet and exercise. Toxicological Sciences. 2018;162(1):309-17.
18. Ardies CM, Zachman EK, Koehn BJ. Effect of swimming exercise and ethanol on rat liver P450-dependent monooxygenases. Medicine and science in sports and exercise. 1994;26(12):1453-8.
19. Gollasch B, Dogan I, Rothe M, Gollasch M, Luft FC. Maximal exercise and plasma cytochrome P450 and lipoxygenase mediators: A lipidomics study. Physiological reports. 2019;7(13):e14165.
20. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. Current protocols in pharmacology. 2015;70(1):5.47. 1-5.. 20.
21. Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. Iranian journal of basic medical sciences. 2014;17(4):237.
22. Haghshenas R, Gilani N, Jafari M. Effect of 16 weeks endurance training and high fat diet on plasma level of interleukins-6, 10 and nesfatin-1 of rats. Sport Physiol. 2015;6(24):49-61.
23. Tanaka T, Nishimura A, Nishiyama K, Goto T, Numaga-Tomita T, Nishida M. Mitochondrial dynamics in exercise physiology. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2020;472(2):137-53.
24. Peyravi A, Yazdanpanahi N, Nayeri H, Hosseini SA. The effect of endurance training with crocin consumption on the levels of MFN2 and DRP1 gene expression and glucose and insulin indices in the muscle tissue of diabetic rats. Journal of food biochemistry. 2020;44(2):e13125.

25. 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. Journal of Applied Physiology. 2014;117(3):239-45.
26. Züchner S, Mersiyanova IV, Muglia M, Bissar-Tadmouri N, Rochelle J, Dadali EL, et al. Mutations in the mitochondrial GTPase mitofusin 2 cause Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2A. Nature genetics. 2004;36(5):449-51.
27. 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: effects of type 2 diabetes, obesity, weight loss, and the regulatory role of tumor necrosis factor α and interleukin-6. Diabetes. 2005;54(9):2685-93.
28. Androutsopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Cytochrome P450 CYP1A1: wider roles in cancer progression and prevention. BMC cancer. 2009;9(1):1-17.
29. Chatuphonprasert W, Nemoto N, Sakuma T, Jarukamjorn K. Modulations of cytochrome P450 expression in diabetic mice by berberine. Chemico-biological interactions. 2012;196(1-2):23-9.
30. Su Y-H, Yuan Q-K, Xiao R, Chen J, Li Q, Zhang S-C. Effects of resistance training on mitochondrial function in skeletal muscle of aging rats. Chinese Journal of Applied Physiology. 2020;36(2):165.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

Effect of aerobic exercise on gene expression of Drp1 and Cyp1a1 and protein expression of CYP1A1 in the soleus muscle of male diabetic rats

Mahdi Maghami[1] - Saeed Keshavarz[2] - Rouhollah haghshenas[3] - Elham Eftekhari[4]**

1.PhD candidate of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sports Sciences, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran 2.Assistance Professor of Exercise Physiology, Department of Sports Sciences and Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran3.Assistance Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran4.Assistance Professor of Exercise Physiology, Department of Sports Sciences and Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran

(Received : 22/02/2021;Accepted:29/08/2021)

Abstract

Improper regulation of mitochondrial dynamics is associated with dysregulation of metabolism and can lead to metabolic diseases. This study aimed to investigate the effect of aerobic training on gene expression of Drp1 and Cyp1a1 and protein expression of CYP1A1 in soleus muscle of male diabetic rats. In this experimental study, 24 male Wistar rats were randomly divided into 3 groups: diabetes (D), control (Ct), and exercise + diabetes (ED) group. The diabetic model was induced in rats by STZ injection. The ED group performed an aerobic training protocol five times a week for eight weeks. After the end of the protocol, rat soleus muscle was extracted, and gene expression of Drp1 and Cyp1a1 RT-PCR and protein expression of CYP1A1 were measured using ELIZA. RNA was calculated using the formula $\mathbf{2^{-\Delta\Delta CT}}$ and then the data were analyzed using ANOVA. The results showed a significant difference between groups in the gene expression of Drp1 (P≤0.001) and Cyp1a1 (P=0.017), protein expression of CYP1A1 (P=0.028), and glucose (P≤0.001). Diabetes increases the gene expression of Drp1 and Cyp1a1 and the protein expression of CYP1A1 in skeletal muscle. However, exercise could only reduce gene expression of Drp1 (P=0.013). Diabetes leads to increased glucose, gene expression of Drp1 and Cyp1a1, and protein

* Corresponding Author:Email: keshavarz1375@gmail.com ; Tel: +989132704673

expression of CYP1A1 in skeletal muscle. But the exercise could prevent only increase of gene expression of Drp1.

Keyword

Exercise, Diabetes Mellitus, Muscle, Mitochondria.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی