Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of aerobic training and MitoQ supplementation on the gene expression of OPA1 and FIS1 in myocardial mitochondrial dynamic pathway in old male rats

Sadollah Salarmohammadi 1, Elham FarhadFar 2*, Zahra Sarlak 3

1. PhD. Student at Department of Physical Education and Sports Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant professor at Department of Physical Education and Sports Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran

3. Assistant professor at Department of Physical Education and Sports Sciences, Khodabande Branch, Islamic Azad University, Khodabande, Iran

* Corresponding author: Elham Farhad Far, Department of Physical Education and Sports Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran, Email: elhamfarhadfar@gamil.com, phone number: 09122579849.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

Abstract:

Background and Aim: One of the problems in most countries of the world is the aging of the population and its consequences are in the occurrence of cardiac diseases. The aim of this study is to investigate the effect of endurance training and MitoQ supplementation on the mitochondrial dynamic signaling pathway (OPA1 and FIS1) in the heart tissue of old male rats. **Materials and Methods:** In this experimental study, 28 old male Wistar rats were randomly divided into 4 groups of seven rats: control, endurance training, MitoQ supplement and endurance training + MitoQ supplement. After acquainting the animals with the environment for 8 weeks, they performed endurance training for eight weeks (5 days a week) with 70% Vmax. Also, MitoQ supplementation was done at the rate of 250 µM in drinking water for 8 weeks. Real-time PCR method was used to evaluate the variables. The statistical analysis of the data was performed using two-way ANOVA test with a significance level of less than 0.05. **Results:** Endurance training significantly reduced FIS1 gene expression in myocardial tissue (P = 0.006). MitoQ increased the expression of OPA1 gene in the heart tissue of old rats (P = 0.04), but it has no effect on the FIS1 gene expression (p = 0.006), In addition, the combination of MitoQ and exercise training significantly decreased the gene expression of FIS1 and OPA1 compared to the MitoQ group (P=0.02). **Conclusion:** MitoQ supplement as an advanced antioxidant can probably play a positive role in the mitochondrial dynamics of the aged cardiac muscle and affect the gene expression of the fusion process. However, the combination of endurance training and MitoQ can modulate the process of mitochondrial fusion and fission.

Keywords: Aerobic training, MitoQ supplement, myocardial tissue, mitochondrial biogenesis

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

اثر تمرین هوازی و مکمل‌دهی مایتوکیو (MitoQ) بر بیان ژن‌های OPA1 و FIS1 درگیر در مسیر دینامیک میتوکندریایی بافت میوکارد رت‌های نر پیر

سعد الله سالارمحمدی[۱]، الهام فرهاد فر [۲*]، زهرا سرلک [۳]

۱.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.

۳. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد خدابنده، دانشگاه آزاد اسلامی، خدابنده، ایران.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

چکیده:

زمینه و هدف: یکی از مشکلات در بیشتر کشورهای جهان، مسئله پیری جمعیت و پیامدهای ناشی از آن در بروز بیماری‌های قلبی است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر تمرین هوازی و مکمل‌دهی مایتوکیو بر عوامل درگیر در مسیر سیگنالینگ دینامیک میتوکندریایی شامل آتروفی اپتیک-۱ (OPA1) و پروتئین فیژن میتوکندریایی (FIS1) در بافت قلب موش‌های پیر نر است. **روش تحقیق:** در مطالعه تجربی حاضر، تعداد ۲۸ سر موش صحرایی نر پیر نژاد ویستار به صورت تصادفی در چهار گروه هفت‌تایی شامل کنترل، تمرین هوازی، مکمل مایتوکیو، و تمرین هوازی+مکمل مایتوکیو تقسیم شدند. حیوانات پس از آشناسازی با محیط به مدت هشت هفته (پنج روز در هفته) تمرین هوازی با شدت ۷۰ درصد سرعت بیشینه را انجام دادند. مکمل‌دهی مایتوکیو به مدت هشت هفته به صورت محلول در آب خوراکی با غلظت ۲۵۰ میکرومولار انجام شد. برای ارزیابی متغیرها در بافت قلب از روش Real-time PCR استفاده گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آزمون آنوای دو راهه و آزمون تعقیبی توکی و سطح معنی داری $p<۰/۰۵$ انجام گردید. **یافته ها:** تمرین هوازی به طور معنی داری میزان بیان ژن FIS1 را در بافت میوکارد کاهش داد ($p=۰/۰۰۶$). مایتوکیو میزان بیان ژن OPA1 را در بافت قلب موش‌های پیر را افزایش داد ($p=۰/۰۴$) اما بر بیان ژن FIS1 تاثیر معنی داری نداشت ($p=۰/۰۶$) و از طرفی، ترکیب مایتوکیو و تمرین، بیان ژن دو متغیر FIS1 و OPA1 را نسبت به گروه مایتوکیو به طور معنی داری کاهش داد ($p=۰/۰۲$). **نتیجه گیری:** مکمل مایتوکیو در نقش یک آنتی اکسیدان پیشرفته احتمالا می‌تواند در دینامیک میتوکندریایی عضله قلبی پیر نقش داشته باشد و بیان ژن فرآیند همجوشی را بهبود می بخشد. با این حال، ترکیب تمرین هوازی و مایتوکیو می تواند فرآیند همجوشی و شکافت میتوکندریایی را تعدیل کند.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، مکمل مایتوکیو، بافت میوکارد، بیوژنز میتوکندری

* نویسنده مسئول مقاله: دکتر الهام فرهادفر، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران – ایمیل: elhamfarhadfar@gamil.com،

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

مقدمه

پیری در انسان یک فرآیند پیچیده است که با کاهش عملکرد وابسته به زمان همراه است و در نتیجه منجر به کاهش کیفیت زندگی می‌شود (۱). سالمندی یک بار اجتماعی-اقتصادی جهانی و یک چالش مهم مراقبت‌های بهداشتی خواهد بود (۲). از طرفی، بیماری‌های قلبی-عروقی و نرخ مرگ و میر ناشی از آن در جمعیت سالخورده بیشتر است و پیری یکی از عوامل خطر اصلی در بروز بیماری‌های قلبی-عروقی است. با افزایش سن، هایپرتروفی پاتولوژیک، افزایش فیبروز بطن چپ و کاهش ظرفیت تمرینی رخ می‌دهد که متعاقبا میزان نرخ بیماری‌های قلبی-عروقی را افزایش می‌دهند (۶-۳).

میان عوامل مختلف ایجاد کننده پیری، مهمترین آنها استرس اکسیداتیو و التهاب است. در این راستا، میتوکندری‌ها منبع مهمی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] در داخل سلول‌ها هستند. ROS نه تنها باعث ایجاد اختلال در عملکرد میتوکندری می‌شود، بلکه به ماکرومولکول‌های سلولی مانند لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک نیز حمله می‌کند. تجمع متعاقب تغییرات مضر در سلول‌ها و بافت‌ها باعث ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی مرتبط با سن می‌شود (۷, ۸). افزایش استرس اکسیدتیو نقش مهمی در پیری قلب ایفا می‌کند و تولید ROS مکانسیم بسیار مهمی در حفظ فرآیندهای فیزیولوژیکی است. با این حال، عدم تعادل بین تولید ROS و دفاع آنتی اکسیدانی می‌تواند منجر به انباشت رادیکال‌های آزاد شود و به دنبال آن مسیرهای سیگنالینگی مرتبط با هایپرتروفی قلبی، فیبروز و التهاب شود.

در این بین، فرآیندهای درگیر در پویایی میتوکندری، از جمله شکافت و همجوشی، برای حفظ عملکرد میتوکندری ضروری است. دینامیک میتوکندری، از جمله شکافت (فیژن)[2] و همجوشی (فیوژن)[3] میتوکندری، توسط گوانوزین تری‌فسفاتازها (GTPases)[4] در خانواده داینامین تنظیم می‌شود (۱۱-۹). پروتئین های موجود در غشای خارجی میتوکندری، Mitofusin 1/2 (Mfn1/2)، و غشای میتوکندری داخلی، آتروفی اپتیک-۱ (Opa1)[5] ، همجوشی میتوکندری را تسهیل می‌کنند، در حالی که پروتئین مرتبط با Dynamin 1 (Drp1)[6] به پروتئین‌های گیرنده خود متصل می‌شود. غشای خارجی میتوکندری، از جمله پروتئین شکافت میتوکندری ۱ (MTFP1)[7]، (MFF)[8] و (Fis1) شامل می‌شود (۱۲).

مکمل مایتوکیو (MitoQ)[9] یک مکمل آنتی اکسیدانی پیشرفته است که از یک تری فنیل فسفونیوم (TPP+) و کوآنزیم Q10 تشکیل شده است و میزان انباشت آن در داخل میتوکندری ۷۰۰ تا ۸۰۰ برابر بیشتر از مکمل Q10 است. MitoQ به دلیل ظرفیت

1 Reactive Oxygen Species
2 Fission 1
3 Fusion
4 Guanosine triphosphate
5 Optic atrophy
6 Dynamin-related protein
7 Mitochondrial fission process protein 1
8 Mitochondrial fission factor
9 Mitoquinone mesylate

آنتی اکسیدانی بالای خود (۱۳)، نقش محافظتی در بیماری های مختلف مانند بیماری‌های عصبی، بیماری کلیوی دیابتی ایفا می‌کند (۱۴). مطالعات نشان می‌دهد که MitoQ عملکرد میتوکندری و تولید ROS را تغییر می‌دهد (۱۵). همچنین برای این مکمل نقش‌های ضد پیری نیز تعریف شده است. بنابراین، تعیین اینکه آیا مکمل آنتی اکسیدانی هدفمند میتوکندری می‌تواند عملکرد میتوکندری بافت و سطوح ROS را تغییر دهد، مهم است. قبلاً نشان داده شده است که مکمل MitoQ باعث کاهش افزایش آسیب محتوای DNA میتوکندری (mtDNA[1]) ناشی از ورزش در عضله اسکلتی انسان می‌شود (۱۶).

با افزایش سن و پیشی گرفتن تولید ROS در عضله قلبی نسبت به ظرفیت آنتی اکسیدانی، اختلال در سنتز پروتئین ها و متعاقبا کاهش کیفیت میتوکندریایی رخ می‌هد و می‌تواند منجر به کاهش توده عضله اسکلتی و قلبی شود که می‌تواند ناشی از عدم انجام فعالیت ورزشی باشد (۱۷). فعالیت بدنی از دیرباز نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و همچنین حفظ سلامتی و ارتقا کیفیت زندگی در افراد مسن داشته است (۱۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که حتی یک تا دو جلسه تمرین ورزشی در هفته می‌تواند طول عمر افراد را افزایش دهد و مشخص شده است سالمندانی که در طول زندگی خود از نظر فیزیکی فعال بوده‌اند، در مقایسه با افراد مسن غیرفعال، دارای سطوح بالاتری از سلامت متابولیک هستند (۱۹). تمرینات ورزشی منظم در سطح متوسط، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و در پیش‌گیری از آسیب اکسیداتیو به‌طور معنی‌داری مؤثر است (۲۰). در آخرین و تنها تحقیق انجام شده در زمینه اثر مکمل مایتوکیو و تمرین هوازی بر بافت قلب، محققان نشان دادند که تمرین هوازی و مکمل مایتوکیو می توانند اثرات مثبتی بر بهبود بیان AMPK[2] به عنوان سنسور انرژی سلول قلب و سسترین-۲[3] به عنوان یک فاکتور ضد پیری داشته باشند و همچنین مکمل مایتوکیو می تواند میزان فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پروکسیداز (GPx[4]) را عنوان یک شاخص آنتی اکسیدانی بهبود ببخشد (۱۷).

با این حال درک بیشتر از مسیر های سیگنالینگ مرتبط با میتوکندری در عضله قلبی به عنوان یک هدف درمانی برای کاهش آسیب بافت قلب به دنبال افزایش سن ضروری است و مطالعات بیشتری برای بررسی نقش عوامل درگیر در دینامیک میتوکندریایی که منجر به پاسخ محافظتی قلب می‌شوند لازم است. از طرفی، تمرینات هوازی می‌توانند اثرات مثبتی بر بیان ژن‌های درگیر در فرآیند فیژن-فیوژن میتوکندریایی داشته باشند و همچنین مکمل مایتوکیو به عنوان یک مکمل ضد پیری معرفی شده است که می تواند یکی از آنتی اکسیدان های موثر بر جلوگیری از پیشروی فرآیند پیری باشد. از آنجایی که تاکنون پژوهشی در مورد اثر تمرین هوازی و مکمل مایتوکیو بر دینامیک میتوکندریایی در عضله قلبی موش‌های پیر انجام نشده است. در تحقیق حاضر به دنبال، بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل آنتی اکسیدانی مایتوکیو بر فرآیند دینامیک میتوکندریایی در بافت قلب موش های نر پیر هستیم و همچنین به بررسی هم زمان اثر تمرینات هوازی و مصرف مکمل بر عوامل درگیر می‌پردازیم.

---

[1] Mitochondrial DNA

[2] Adenosine monophosphate-activated protein kinase

[3] Sestrin-2

[4] Glutathione peroxidase

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

روش تحقیق

نمونه‌ها و محیط پژوهش: در مطالعه تجربی حاضر، ۲۸ سر موش صحرایی پیر نر نژاد ویستار(۱±۲۲ ماه؛ ۱۵±۴۰۰ گرم) از مرکز تحقیقات فیزیولوژی کرمان خریداری و در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد و در چرخه نور تاریک ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند و وزن موش‌ها سه روز در هفته ثبت گردید. پس از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه (هر گروه هفت سر موش) کنترل، تمرین هوازی، مکمل مایتوکیو و تمرین هوازی + مکمل مایتوکیو تقسیم شدند. طرح حاضر دارای کد اخلاق به شماره IR-KHU.KRC.1000.250 از کمیته اخلاق پژوهشکده علوم حرکتی است.

نحوه اجرای برنامه تمرینی: در طی مرحله آشنایی، موش‌ها به مدت دو هفته روی نوارگردان با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه دویدند. برای محاسبه حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_{2max}) ، Vmax[1] را اندازه گیری شد. در ابتدا، از موش ها یک آزمون فزآینده برای به دست آوردن Vmax گرفته شد. آزمون فزآینده با گرم کردن ۱۰ متر در دقیقه آغاز شد که به تدریج (سه متر در دقیقه) تا زمان خستگی افزایش یافت. پس از پایان آزمون، سطوح لاکتات با استفاده از لاکتومتر اندازه گیری شد (شرکت لاکتات اسکات، کد ۳۷، ساخت آلمان[2] و مقادیر بالای شش میلی مول بر لیتر، شدت بالا در نظر گرفته شد. سپس VO_{2max} محاسبه شد. تمرین هوازی بر اساس جدول ۱ انجام شد و با توجه به رابطه بین حداکثر اکسیژن مصرفی محاسبه شده و سرعت نوارگردان، شدت متناسب با برنامه تمرینی با تنظیم سرعت نوارگردان تنظیم شد. گروه های کنترل و مکمل مایتوکیو در طول پروتکل تمرین نکردند و هر جلسه برای القای استرس روی نوارگردان قرار گرفتند (۱۷).

جدول ۱. جزئیات برنامه تمرینی اجراشده

پروتکل تمرینی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
شدت تمرین (درصد سرعت بیشینه)	۳۰	۴۰	۴۵	۵۰	۶۰	۷۰	۷۰	۷۰
زمان (دقیقه)	۱۰	۱۵	۱۸	۲۰	۲۲	۲۵	۳۰	۳۰

[1] Maximum Velocity

[2] Lactate Scout Company/Code: 37, Germany

نحوه مکمل دهی ماتیوکیو: مکمل مایتوکیو با خلوص بالای ۹۹ درصد از شرکت مایتوکیو در کشور نیوزلند خریداری شد (B18050، آوکلند، نیوزلند[1]) و سپس از طریق شرکت بوتیا طب کریمان وارد ایران شد. این مکمل طبق دستور العمل شرکت سازنده با دوز ۲۵۰ میکرومولار به صورت محلول در آب خوراکی (آب خوری) به مدت ۸ هفته به موش‌ها داده شد (۱۷).

نحوه استخراج بافت: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، نمونه های بافت قلب استخراج شد. برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوانات با زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند و عضله قلب برداشته شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و برای اندازه گیری های بیشتر به فریزر ۸۰- منتقل گردید (۱۷).

روش سنجش بیان ژن: استخراج RNA تام توسط کیت ستونی[2]طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (سیناپیور، شماره کیت: ۶۰۳۱). ابتدا، ۲۰ میلی گرم از بافت قلب برای استخراج RNA هموژن و طبق دستورالعمل کیت RNA تام استخراج شد. به منظور برداشتن اجـزای پروتئینی محصول حاصل در دور ۱۲۰۰۰ جی به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت برداشته و با نسبت ۱ به ۰/۵ با بافر کیت مخلوط و به مدّت ۱۵ ثانیـه به شدت تکـان داده شـد. محصـول در دمای ۴ درجه سانتی گراد و زمان ۱۵ دقیقه و با دور ۱۲۰۰۰ جی سانتریفیوژ و بخش معدنی و آبـی از هم جدا گردید. بخش محتوی RNA برداشته و با نسـبت ۱ بـه ۰/۵ با بافر شست و شو مخلوط و سـپس سـانتریفیوژ شـد. تیوب حـاوی RNA در اتـانول شستشـو و در ۲۰ لاندا آب مقطر حل گردید. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودارپ سنجیده و نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ بـین ۱/۸ تـا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. سنتز cDNA با استفاده از یک میکروگرم از RNA و با استفاده از پرایمر تصادفی هگزامر [3]و آنزیم ترانسکریپتاز برگشتی[4] انجام گرفت. برای سنتز cDNA، از ۱۰۰ نانوگرم RNA تام و کیت سنتز cDNA شرکت پارس توس (پارس توس، شماره کیت: ۱۰۱۱۶۱) استفاده شد. Real-time PCR توسط مسترمیکس های راکس انجام شد (امپلیکون، دانمارک[5]) و واکنش PCR همچنین حاوی پرایمرهای فوروارد و معکوس، آب استریل و ۱۰۰ نانوگرم cDNA بود. Real-time PCR با دستگاه استپ وان پلاس شرکت ABI آمریکا انجام شد. واکنش حرارتی به شرح زیر بود: مرحله ۱: دناتوراسیون، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله ۲: ۴۰ چرخه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و در نهایت، آنالیز منحنی مذاب انجام شد. از ۶۰ درجه سانتیگراد شروع شد و ۰,۳ درجه سانتیگراد افزایش یافت. پرایمرها از شرکت متابوین (Metabion، آلمان) خریداری شد (جدول ۲). در نهایت، سطح بیان ژن با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تعیین شد و 18S به عنوان ژن مرجع استفاده شد (۱۷).

جدول ۲. توالی پرایمرها

ژن	پرایمر رفت	پرایمر برگشت

[1] Auckland, New Zealand
[2] tRNA Mini-Preps Super Kit
[3] Random hexamer primer
[4] Reverse transcriptase
[5] Amliqon, Denmark

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

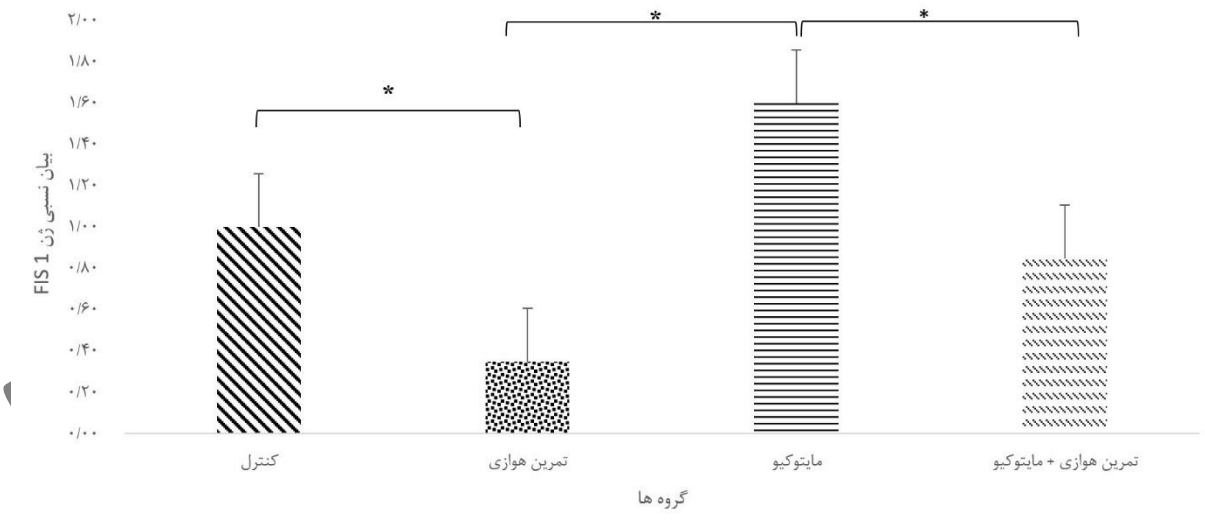
Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

FIS1	TGAAGCCAGAGAACGTGTTG	**CGAACCTCCGACTTTCGTTCT**
OPA1	CGAACCTCCGACTTTCGTTCT	**TGAAGCCAGAGAACGTGTTG**
18S	GAGGTGAAATTCTTGGACCGG	**CGAACCTCCGACTTTCGTTCT**

روش های تحلیل آماری: در پژوهش حاضر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شدند و بعد از بررسی نرمال بودن توزیع داده ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنف[1] از آنالیز آماری واریانس دو راهه و آزمون تعقیبی توکی[2]جهت مقایسه بیان ژن ها در گروه های پژوهش استفاده شد. برای آنالیزها داده ها از نرم افزار گراف پد پریزم و درسطح معنی داری p کمتر از ۵ صدم استفاده شد.

یافته ها

شکل ۱ نشان دهنده بیان ژن FIS1 در بافت قلب موش های نر پیر است. نتایج تحلیل واریانس دوطرفه نشان می دهد که تعامل متقابل معنی داری بین تمرین هوازی و مکمل وجود ندارد (**F**[۱،۲۴]=۰/۰۰۱ ، p=۰/۰۹) اما اثر معنی داری برای تمرین هوازی (**F**[۱،۲۴]=۲۶/۲۹ ، p<۰/۰۰۰۱) و اثر معنی دار برای مکمل مایتوکیو (**F**[۱،۲۴]=۱۲/۷۴ ، p=۰/۰۰۱) در مورد بیان ژن FIS1 مشاهده شد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که تمرین هوازی به طور معنی داری میزان بیان ژن FIS1 را در عضله قلبی نسبت به گروه کنترل کاهش داد (p=۰/۰۰۶). همچنین ترکیب تمرین هوازی و مکمل مایتوکیو منجر به کاهش معنی دار بیان ژن هدف در عضله قلبی نسبت به گروه کنترل مایتوکیو شد (p=۰/۰۰۷). ترکیب مایتوکیو و تمرین، بیان ژن دو متغیر FIS1 و OPA1 را نسبت به گروه مایتوکیو به طور معنی داری کاهش داد (p =۰/۰۲).

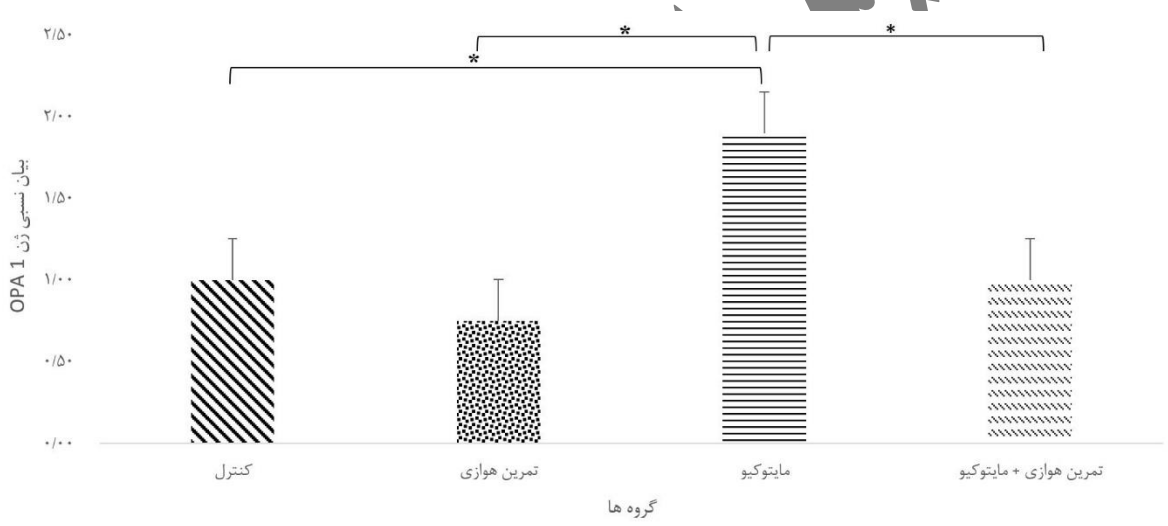


[1] Kolmogrov-Smirnov

[2] Tukey

شکل ۱. مقایسه اثر تمرین هوازی و مکمل دهی مایتوکیو بر بیان نسبی ژن FIS1 در عضله قلب موش های مسن. FIS1: Fission 1 ❋: نشانه تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل، £ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین هوازی، ¥ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه مایتوکیو؛ سطح معنی داری P ≤۰/۰۵.

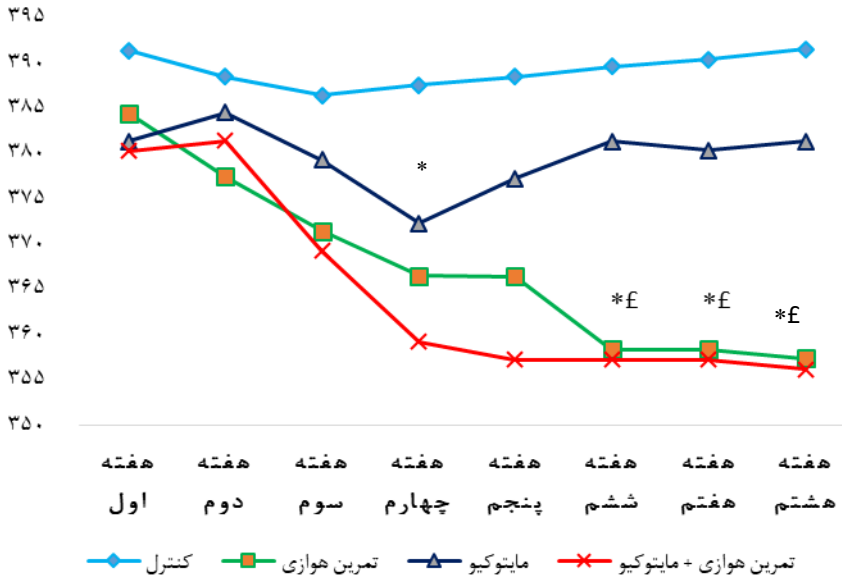
شکل ۲ نشان دهنده میزان بیان ژن OPA1 در عضله قلبی موش های نر پیر است. نتایج تحلیل واریانس دوطرفه نشان می دهد که تعامل متقابل معنی داری بین تمرین هوازی و مکمل وجود ندارد (p=۰/۲۶ ، ۱/۲۹=**F**[۱،۲۴]) اما اثر معنی داری بین تمرین هوازی (p=۰/۰۰۴ ، ۹/۸۷=**F**[۱،۲۴]) و مکمل مایتوکیو (p=۰/۰۰۸ ، ۱/۶۷=**F**[۱،۲۴]) در بیان ژن FIS1 وجود دارد. نتایج نشان می دهد که مکمل مایتوکیو به طور معنی داری میزان بیان ژن OPA1 را در عضله قلبی نسبت به گروه کنترل افزایش داد (p=۰/۰۴). همچنین ترکیب تمرین هوازی و مکمل مایتوکیو منجر به کاهش معنی دار بیان ژن هدف در عضله قلبی نسبت به گروه کنترل مایتوکیو شد (p=۰/۰۲).



شکل ۲. مقایسه اثر تمرین هوازی و مکمل دهی مایتوکیو بر بیان نسبی ژن OPA 1 در عضله قلب موش های مسن. OPA 1: Optic atrophy 1، ❋: نشانه تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل، £: نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین هوازی، ¥: نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه مایتوکیو؛ سطح معنی داری P ≤۰/۰۵.

نسخه پیش نشده

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport



شکل ۳. مقایسه تأثیر تمرینات هوازی و مکمل دهی مایتوکیو بر وزن موش‌های مسن در طول هشت هفته. *: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، £: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به هفته اول؛ سطح معنی داری P ≤۰/۰۵.

شکل ۳ نشان دهنده وزن موش ها طی ۸ هفته است. وزن موش‌ها پس از هفته ششم در پاسخ به تمرین هوازی به تنهایی و همراه با مکمل مایتوکیو به طور معنی‌داری کاهش یافت (p < ۰/۰۰۱). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، بیشترین کاهش وزن در گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی+ مایتوکیو در هفته‌های ششم، هفتم و هشتم رخ داد (p < ۰/۰۵).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که بعد از هشت هفته مکمل دهی مایتوکیو، بیان ژن OPA1 که در فرآیند فیوژن درگیر است در بافت قلب موش های پیر به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما بیان ژن FIS1 با توجه به ترند افزایشی، تفاوت معنی داری را از نظر آماری نشان نداد. پدیده همجوشی و شکافت به فرآیندهای کنترل کیفیت میتوکندری، از جمله بیوژنز میتوکندری و میتوفاژی کمک می کنند (۲۱). فرآیند شکافت، میتوکندری های آسیب دیده را برای میتوفاژی آماده می کند و سپس میتوکندری ها با میتوکندری های جدید جایگزین می شوند. Drp1، عضوی از خانواده بزرگ GTPase و آداپتورهای مربوط به آن در میتوکندری، اجزای اصلی شکافت میتوکندری هستند. پس از تغییرات پس از ترجمه در Drp1، از سیتوزول به غشای خارجی میتوکندری منتقل می شود، جایی که به پروتئین آداپتور شکافت میتوکندری (FIS1) متصل می شود و سپس، فرآیند شکافت میتوکندری آغاز می شود. پروتئین ها اجزای آسیب دیده میتوکندری که توسط شکافت از هم جدا شده اند در نهایت با میتوفاژی از بین می روند (۲۲). افزایش سن به طور قابل توجهی اثر بخشی مداخلات حفاظتی قلبی را کاهش می دهد، که به تغییرات درون سلولی منفی متعدد نسبت داده می شود. در این بین، تجویز ترکیبی از آنتی اکسیدان ها که به طور خاص میتوکندری را هدف قرار می دهد بسیار توصیه می شود ((۲۳، ۲۴). از این رو، افزایش قدرت مداخله‌های درمانی در شرایط پیری

ضروری می شود (۲۵). علاوه بر این، مایتوکیو از آسیب فرآیند دینامیک میتوکندری جلوگیری می کند، گردش میتوکندری را با افزایش اتوفاژی (میتوفاژی) و بیوژنز میتوکندری افزایش می دهد (۲۶, ۲۷)، که در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابه به دست آمد و مکمل مایتوکیو منجر به افزایش بیان ژن درگیر در فرآیند فیوژن میتوکندریایی شده است که نشان دهنده همراستا بودن تحقیق حاضر با سایر تحقیقات بوده است، با این تفاوت که در بافت قلب پیر منجر به این اثر بخشی شده است. همچنین، در مدل موش با فشار خون بالا، مایتوکیو عملکرد انقباضی قلب و یکپارچگی شبکه میتوکندری را بهبود بخشید (۲۸). در مدل حیوانی ایسکمی-ریپرفیوژن، مایتوکیو عملکرد میتوکندری و قلب را با کاهش ROS حفظ کرد (۲۹). مطالعه ای همچنین نشان داد که مایتوکیو عملکرد قلب را بهبود می بخشد و فیبروز، آسیب قلبی و التهاب را احتمالاً با بهبود تغییرات در سطوح MFN2، Fis-1 و PINK-1 کاهش می دهد (۳۰). نشان داده شده است که تعادل بین شکافت و همجوشی یک جنبه حیاتی برای حفظ عملکرد قلب است (۳۱). با این حال، نتایج مطالعات مختلف مشابه نیستند. تحقیقات در زمینه کشت سلول نشان می دهند که مایتوکیو هیچ اثری بر عملکرد میتوکندری مانند تولید ATP، پتانسیل غشا و یا تولید ROS ندارد، اما می تواند از آسیب اکسیداتیو میتوکندری تحت شرایط استرس اکسیداتیو جلوگیری کند که ممکن است به شرایط مختلف فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی و نوع بافت مربوط باشد (۳۲) و باید در این زمینه تحقیقات بیشتری چه در زمینه کشت سلولی و حیوانی انجام شود.

علاوه بر این، روند پیری با افزایش چربی بدن مشخص می شود (۳۳). یک تحقیق نشان داد که مایتوکیو بر وزن بدن در افراد مبتلا به فشار خون تأثیری نداشته است (۳۴) و به موازات این پروهش، در تحقیق حاضر نیز کاهش معنی داری در وزن موش‌های مسن در مقایسه با گروه کنترل (به جز در هفته چهارم) مشاهده نشد. علاوه بر این، نشان داده شده است که تمرینات ورزشی هوازی باعث کاهش وزن بدن و توده چربی در موش‌ها با افزایش توانایی آنها در اکسید کردن اسیدهای چرب می‌شود (۳۵). در مطالعه حاضر نیز تمرینات هوازی منجر به کاهش وزن بدن در گروه‌های تمرینی در طول پروتکل شد که احتمالاً به دلیل کاهش توده چربی بوده است. البته باید در نظر داشت که کاهش وزن بدن در موش هایی که مکمل مایتویکو و تمرین هوازی دریافت کرده بودند با شیب بیشتری در هفته چهارم رخ داده است و در هفته ششم، هفتم و هشتم کاهش در وزن بدن موش ها به طور یکسانی اتفاق افتاده است.

در تحقیق حاضر، تمرین هوازی به همراه مکمل مایتوکیو در مقایسه با گروهی که فقط مکمل مایتوکیو مصرف کرده بودند، کاهش معنی داری در بیان ژن های FIS1 و OPA1 در بافت قلب را نشان داد که احتمالا نشان دهنده اثر تعدیلی تمرین هوازی بر دینامیک میتوکندری است و به نحوی تمرین ورزشی سعی در تعدیل کردن اثرات مایتوکیو بر میتوکندری دارد و همچنین احتمالا با افزایش سطوح ROS حین انجام تمرینات ورزشی، مقداری از اثرات مکمل مایتوکیو در جهت تعدیل استرس های اکسیداتیو مصرف می شود و اثرات آن در جهت افزایش فیژن و فیوژن کاهش می یابد. با این حال، هنوز مکانسیم دقیق برای این اثر گزارش نشده است و به نوعی بررسی هر چه بیشتر استرس های اکسیداتیو به موازات بررسی دو فرآیند فیژن و فیوژن می تواند دید روشن تری را از فرآیند رخ داده در این قسمت فراهم کند. تحقیقات نشان می دهد که افزودن مایتوکیو به پروتکل تمرین ورزشی، تأثیر تمرین ورزشی را بر سطوح MFN2، FIS-1 و PINK-1 که در فرآیندهای همجوشی، شکافت و میتوفاژی نقش دارند، تقویت می کند (۳۰). مطالعه دیگری روی نمونه ای انسانی نشان داد که ترکیب تمرین و مایتوکیو اثرات افزایشی بر شاخص‌های عملکرد قلب دارد

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

و فشار خون را در بیماران مبتلا به فشار خون کاهش می‌دهد (۳۶). یافته ها همچنین نشان می دهد که تمرین تعادل اکسیدان/ آنتی اکسیدان را بهبود می بخشد. علاوه بر این، تمرین ورزشی احتمالاً اختلال عملکرد میتوکندری را با کاهش سطح FIS-1 بهبود می بخشد و سطوح بالاتر FIS-1 می تواند اتوفاژی (۳۷)، آزادسازی سیتوکروم c، آپوپتوز و انتشار Ca++ از ذخایر کلسیم ER را تحریک کند و از همجوشی GTPase، MFN1/2 و Opa1 (۳۸, ۳۹) جلوگیری کند. ورزش باعث کاهش سطح پروتئین FIS1 می شود که احتمالاً اثرات ثانویه به بهبود ساختار و عملکرد میتوکندری است. از محدودیت های تحقیق حاضر می توان به عدم اندازه گیری تعداد بیشتری از ژن ها و پروتئین های درگیر در فرآیند فیژن و فیوژن اشاره کرد و همزمان بررسی سطوح آنتی اکسیدان ها نیز می توانست دید روشن تری از اثرات تمرین و مکمل فراهم کند.

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل آنتی اکسیدانی مایتوکیو می تواند فرآیند فیژن میتوکندریایی را تحت تاثیر قرار دهد و از این طریق، دینامیک میتوکندری را در بافت قلب موش های پیر تغییر دهد. در این بین، تمرینات هوازی همراه با مصرف این مکمل می توانند اثرات تعدیلی بر این فرآیند داشته باشند که احتمالا می تواند مرتبط با استرس اکسیداتیوی باشد که به دنبال انجام تمرینات ورزشی رخ می دهد و به نوعی تمرینات ورزشی می توانند تعدیل کننده اثرات این مکمل بر فرآیند فیژن و فیوژن میتوکندیایی در بافت قلب باشند. مصرف مکمل مایتوکیو و تمرین هوازی احتمالا اثرات مثبتی بر دینامیک میتوکندریایی دارد اما باید تحقیقات بیشتری بر مکانیسم اثر مکمل مایتوکیو با هدف سنجش تغییرات دینامیک میتوکندیایی انجام شود تا اثرات احتمالی این مکمل روشن شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند هیچ گونه تعارض منافعی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

از پرسنل مرکز تحقیقات فیزیولوژی کرمان به جهت همکاری بی دریغ شان در انجام طرح تحقیقاتی حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

1. Leidal AM, Levine B, Debnath J. Autophagy and the cell biology of age-related disease. Nature cell biology. 2018;20(12):1338-48. http://doi.org/10.1038/s41556-018-0235-8.

2. Scott AJ, Ellison M, Sinclair DA. The economic value of targeting aging. Nature Aging. 2021;1(7):616-23. http://doi.org/10.1038/s43587-021-00080-0

3. Aman Y, Schmauck-Medina T, Hansen M, Morimoto RI, Simon AK, Bjedov I, et al. Autophagy in healthy aging and disease. Nature aging. 2021;1(8):634-50. http://doi.org/10.1038/s43587-021-00098-4

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

4. Bell CG, Lowe R, Adams PD, Baccarelli AA, Beck S, Bell JT, et al. DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations. Genome biology. 2019;20:1-24. http://doi.org/10.1186/s13059-019-1824-y

5. García-Prat L, Martínez-Vicente M, Perdiguero E, Ortet L, Rodríguez-Ubreva J, Rebollo E, et al. Autophagy maintains stemness by preventing senescence. Nature. 2016;529(7584):37-42. http://doi.org/10.1038/nature16187

6. Pouikli A, Parekh S, Maleszewska M, Nikopoulou C, Baghdadi M, Tripodi I, et al. Chromatin remodeling due to degradation of citrate carrier impairs osteogenesis of aged mesenchymal stem cells. Nature Aging. 2021;1(9):810-25. http://doi.org/10.1038/s43587-021-00105-8

7. Ortiz GG, Moisés FPP, Mireles-Ramírez M, Flores-Alvarado LJ, González-Usigli H, Sánchez-González VJ, et al. Oxidative stress: love and hate history in central nervous system. Advances in protein chemistry and structural biology. 2017;108:1-31. http://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2017.01.003

8. Sun J, Zhang L, Zhang J, Ran R, Shao Y, Li J, et al. Protective effects of ginsenoside Rg1 on splenocytes and thymocytes in an aging rat model induced by d-galactose. International Immunopharmacology. 2018;58:94-102. http://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.03.017

9. Li Y, Lin R, Peng X, Wang X, Liu X, Li L, et al. The role of mitochondrial quality control in anthracycline-induced cardiotoxicity: from bench to bedside. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2022;2022. http://doi.org/10.1155/2022/3659278

10. Tahrir FG, Langford D, Amini S, Mohseni Ahooyi T, Khalili K. Mitochondrial quality control in cardiac cells: Mechanisms and role in cardiac cell injury and disease. Journal of cellular physiology. 2019;234(6):8122-33. http://doi.org/10.1002/jcp.27597

11. Maneechote C, Palee S, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. Roles of mitochondrial dynamics modulators in cardiac ischaemia/reperfusion injury. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2017;21(11):2643-53. http://doi.org/10.1111/jcmm.13330

12. Cao K, Riley JS, Heilig R, Montes-Gómez AE, Vringer E, Berthenet K, et al. Mitochondrial dynamics regulate genome stability via control of caspase-dependent DNA damage. Developmental cell. 2022;57(10):1211-25. e6. http://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.03.019

13. Sun C, Liu X, Di C, Wang Z, Mi X, Liu Y, et al. MitoQ regulates autophagy by inducing a pseudo-mitochondrial membrane potential. Autophagy. 2017;13(4):730-8. http://doi.org/10.1080/15548627.2017.1280219

14. Xiao L, Xu X, Zhang F, Wang M, Xu Y, Tang D, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorated tubular injury mediated by mitophagy in diabetic kidney disease via Nrf2/PINK1. Redox biology. 2017;11:297-311. http://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.022

15. Chun OK, Floegel A, Chung S-J, Chung CE, Song WO, Koo SI. Estimation of antioxidant intakes from diet and supplements in US adults. The Journal of nutrition. 2010;140(2):317-24. http://doi.org/10.3945/jn.109.114413

16. Williamson J, Hughes CM, Cobley JN, Davison GW. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ, attenuates exercise-induced mitochondrial DNA damage. Redox biology. 2020;36:101673. http://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101673

17. Rouholamini FS, Aminaei M, Aminizadeh S. The effect of eight weeks of endurance training and MitoQ supplementation on antioxidant capacity and the expression of sestrin-2 and AMPK in cardiac tissue of aged rats. Exp Gerontol. 2024;196:112572. http://doi.org/10.1016/j.exger.2024.112572

18. Healy GN, Wijndaele K, Dunstan DW, Shaw JE, Salmon J, Zimmet PZ, et al. Objectively measured sedentary time, physical activity, and metabolic risk: the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study (AusDiab). Diabetes care. 2008;31(2):369-71. http://doi.org/10.2337/dc07-1795

19. Bangsbo J, Blackwell J, Boraxbekk C-J, Caserotti P, Dela F, Evans AB, et al. Copenhagen consensus statement 2019: physical activity and ageing. British Journal of Sports Medicine. 2019;53(14):856-8. http://doi.org/10.1136/bjsports-2018-100451

20. Kayacan Y, Çetinkaya A, Yazar H, Makaracı Y. Oxidative stress response to different exercise intensity with an automated assay: thiol/disulphide homeostasis. Archives of physiology and biochemistry. 2021;127(6):504-8. http://doi.org/10.1080/13813455.2019.1651868

21. Hernandez-Resendiz S, Prunier F, Girao H, Dorn G, Hausenloy DJ, Action ECC. Targeting mitochondrial fusion and fission proteins for cardioprotection. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2020;24(12):6571-85. http://doi.org/10.1111/jcmm.15384

22. Youle RJ, Van Der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science. 2012;337(6098):1062-5. http://doi.org/10.1126/science.1219855

23. Khalifa EA, Nabil Ahmed A, Hashem KS, Allah AG. Therapeutic effects of the combination of alpha-lipoic acid (ala) and coenzyme Q10 (CoQ10) on cisplatin-induced nephrotoxicity. International Journal of Inflammation. 2020;2020(1):5369797. http://doi.org/10.1155/2020/5369797

24. Feher J, Nemeth E, Nagy V, Lengyel G. The preventive role of coenzyme Q10 and other antioxidants in injuries caused by oxidative stress. Archives of Medical Science. 2007;3(4):305-14. http://doi.org/10.3390/nu14163265

25. Hosseini L, Vafaee MS, Badalzadeh R. Melatonin and nicotinamide mononucleotide attenuate myocardial ischemia/reperfusion injury via modulation of mitochondrial function and hemodynamic parameters in aged rats. Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics. 2020;25(3):240-50. http://doi.org/10.1177/1074248419882002

26. Feillet-Coudray C, Fouret G, Ebabe Elle R, Rieusset J, Bonafos B, Chabi B, et al. The mitochondrial-targeted antioxidant MitoQ ameliorates metabolic syndrome features in obesogenic diet-fed rats better than Apocynin or Allopurinol. Free radical research. 2014;48(10):1232-46. http://doi.org/10.3109/10715762.2014.945079

27. Yin X, Manczak M, Reddy PH. Mitochondria-targeted molecules MitoQ and SS31 reduce mutant huntingtin-induced mitochondrial toxicity and synaptic damage in Huntington's disease. Human molecular genetics. 2016;25(9):1739-53. http://doi.org/10.1093/hmg/ddw045

28. Goh KY, He L, Song J, Jinno M, Rogers AJ, Sethu P, et al. Mitoquinone ameliorates pressure overload-induced cardiac fibrosis and left ventricular dysfunction in mice. Redox biology. 2019;21:101100. http://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101100

29. Adlam VJ, Harrison JC, Porteous CM, James AM, Smith RA, Murphy MP, et al. Targeting an antioxidant to mitochondria decreases cardiac ischemia-reperfusion injury. The FASEB Journal. 2005;19(9):1088-95. http://doi.org/10.1096/fj.05-3718com

30. Rostamzadeh F, Najafipour H, Aminizadeh S, Jafari E. Therapeutic effects of the combination of moderate-intensity endurance training and MitoQ supplementation in rats with isoproterenol-induced myocardial injury: the role of mitochondrial fusion, fission, and mitophagy. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2024;170:116020. http://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.116020

31. Song M, Franco A, Fleischer JA, Zhang L, Dorn GW, 2nd. Abrogating Mitochondrial Dynamics in Mouse Hearts Accelerates Mitochondrial Senescence. Cell Metab. 2017;26(6):872-83 e5. http://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.023

32. Gioscia-Ryan RA, Battson ML, Cuevas LM, Eng JS, Murphy MP, Seals DR. Mitochondria-targeted antioxidant therapy with MitoQ ameliorates aortic stiffening in old mice. J Appl Physiol (1985). 2018;124(5):1194-202. http://doi.org/10.1152/japplphysiol.00670.2017

33. Ponti F, Santoro A, Mercatelli D, Gasperini C, Conte M, Martucci M, et al. Aging and Imaging Assessment of Body Composition: From Fat to Facts. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;10:861. http://doi.org/10.3389/fendo.2019.00861

34. Masoumi-Ardakani Y, Najafipour H, Nasri HR, Aminizadeh S, Jafari S, Moflehi D. Effect of Combined Endurance Training and MitoQ on Cardiac Function and Serum Level of Antioxidants, NO, miR-126, and miR-27a in Hypertensive Individuals. Biomed Res Int. 2022;2022:8720661. http://doi.org/10.1155/2022/8720661

35. Benito PJ, Lopez-Plaza B, Bermejo LM, Peinado AB, Cupeiro R, Butragueno J, et al. Strength plus Endurance Training and Individualized Diet Reduce Fat Mass in Overweight Subjects: A Randomized Clinical Trial. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(7). http://doi.org/10.3390/ijerph17072596

36. Masoumi-Ardakani Y, Najafipour H, Nasri HR, Aminizadeh S, Jafari S, Moflehi D. Effect of combined endurance training and MitoQ on cardiac function and serum level of antioxidants, NO, miR-126, and miR-27a in hypertensive individuals. BioMed Research International. 2022;2022(1):8720661. http://doi.org/10.1155/2022/8720661

37. James DI, Parone PA, Mattenberger Y, Martinou J-C. hFis1, a novel component of the mammalian mitochondrial fission machinery. Journal of Biological Chemistry. 2003;278(38):36373-9. http://doi.org/10.1074/jbc.M303758200

38. Morciano G, Boncompagni C, Ramaccini D, Pedriali G, Bouhamida E, Tremoli E, et al. Comprehensive analysis of mitochondrial dynamics alterations in heart diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(4):3414. http://doi.org/10.3390/ijms24043414

39. Yu R, Jin SB, Lendahl U, Nistér M, Zhao J. Human Fis1 regulates mitochondrial dynamics through inhibition of the fusion machinery. The EMBO journal. 2019;38(8):e99748. http://doi.org/10.15252/embj.201899748

پذیرش نشده