

The effect of a period of aerobic training on the levels of mitochondrial proteins FIS1 and MFN1 in muscle tissue of diabetic male Wistar rats

Mahmoud Ayoubi¹, Mehdi Bostani^{1*}

Receive 2023 February 24; Accepted 2023 April 30

Abstract

Aim: Impaired mitochondrial function in skeletal muscles is often associated with many metabolic diseases such as diabetes. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of aerobic training on the levels of Mfn1 and FIS1 proteins in the gastrocnemius muscle tissue of diabetic rats. **Methods:** 18 male Wistar rats, eight weeks old and weighing 220±15 g, were randomly assigned to three groups: healthy control, diabetic control, and diabetic training. Type 2 diabetes was induced by a combination of a high-fat diet and streptozotocin injection. the aerobic training program was carried out for eight weeks based on the principle of gradual overload from 15 m/min for 30 minutes in the first week to 25 m/min for 60 minutes in the eighth week. 48 hours after the last training session, the gastrocnemius muscle tissue was extracted and stored at -80°C. Mfn1 and FIS1 protein levels were measured by Western blotting. One-way analysis of variance (ANOVA) with Tukey's post hoc test at a significance level of 0.05 was used for statistical analysis SPSS-23 software. **Results:** Diabetes induced by a combination of a high-fat diet and streptozotocin injection resulted in a significant decrease in Mfn1 protein and a significant increase in FIS1 protein in the gastrocnemius muscle tissue of diabetic mice ($P < 0.05$). However, eight weeks of aerobic training resulted in a significant increase in Mfn1 protein and a significant decrease in FIS1 protein in the gastrocnemius muscle tissue of diabetic mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** According to the results of the present study, it is concluded that physical activity should be considered as a useful and non-pharmacological strategy to maintain mitochondrial dynamics and, consequently, its optimal function in skeletal muscles in diabetes.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1- Department of Physical Education, Ahv.C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*(corresponding author)
(mehdi.boustani@iau.ac.ir)

Keywords: Aerobic Training, MFN1, FIS1, diabetes.

Cite as: Ayoubi, Mahmoud. Bostani, Mehdi. The effect of a period of aerobic training on the levels of mitochondrial proteins FIS1 and MFN1 in muscle tissue of diabetic male Wistar rats. Applied Health Studies in Sport Physiology. ????; ?(In press): ?-?.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6307

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

DOR:

Extended abstract

Background

Mitochondria are the foundation of cellular homeostasis through their multiple functions in energy production, biosynthesis, calcium regulation and signaling, redox balance, and production of reactive oxygen species. Increasing evidence suggests that mitochondrial dysfunction is associated with various diseases, including diabetes. Mitochondria are constantly undergoing changes in shape and number through two opposing processes: fission and fusion. Fine-tuning the fusion-fission balance is essential for optimal mitochondrial function. Mitofusion proteins 1 (MFN1) and mitochondrial fission protein-1 (FIS1) have potent regulatory effects on the balance between mitochondrial fusion and fission. Previous studies have shown that exercise regulates the function of proteins that regulate mitochondrial dynamics. However, the effect of exercise on proteins related to mitochondrial dynamics in type 2 diabetes has been less studied. Therefore, in the present study, the effect of eight weeks of aerobic training on the levels of Mfn1 and FIS1 proteins in the gastrocnemius muscle tissue of type 2 diabetic mice was studied.

Materials and Methods

The research was a fundamental and experimental research in terms of the method. The statistical sample of this study was 18 Wistar rats with an average weight of 220 ± 15 gr at 8 weeks old that were purchased from Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences Research Center and transferred to animal laboratory.

Experimental design

Rats were randomly divided into three groups: 1) healthy control group, 2) diabetic control group and 3) diabetic training group (each group consisted of 6 rats). All animal experiments were done according to ethical guidelines and license of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences with ID number. IR.IAU.AHVAZ.REC.1403.327 is done.

Training protocol

The training program lasted for eight weeks and based on the principle of gradual overload, from 15 m/min for 30 minutes in the first week to 25 m/min for 60 minutes in the eighth week. To achieve a uniform state, all training variables were kept constant in the final two weeks.

Induction of diabetes: Diabetic rats were fed a high-fat, high-calorie diet with a total caloric intake of 40 kJ/kg (20% fat, 45% carbohydrate, 22% protein). At the end of the fourth week, all rats in the diabetic groups were given a single dose of streptozotocin (STZ; Sigma-Aldrich, St Louis, MO) (30 mg/kg, dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer at pH 4.4) intraperitoneally. After one week, blood glucose was measured using a glucometer (Accu-Chek Performa; Roche Diagnostics, USA). Rats whose blood glucose levels were less than 16.7 mmol/L or 300 mg/dL received a second dose of streptozotocin at the same dose as the previous dose. Healthy control rats were simultaneously given citrate buffer (0.25 ml/kg). The diets were continued until the end of the eighth week in the manner described above. At the end of the eighth week, the blood glucose concentration of the rats was measured again, and rats with glucose concentrations above 300 mg/dL were considered diabetic.

Extraction of laboratory animal tissue: To collect the samples, the animals were anesthetized with a combination of xylazine (10 mg/kg) and ketamine (80 mg/kg) by intraperitoneal injection. Then the Gastrocnemius muscle tissue was removed with utmost care and then washed in physiological serum. The other samples were immediately frozen using liquid nitrogen and transferred to the freezer at -80 for further measurements.

Statistical analysis

After collecting data and calculating the mean and standard deviation of data using descriptive statistics, Shapiro Wilk test was used to determine the normal distribution of data. In the related variables, one-way ANOVA test was used for comparison between groups and control group and then Tukey's post hoc test was used to compare the differences between groups.

Results

The results of one-way analysis of variance for MFN1 variable showed that there was a significant difference between the studied groups ($F=59.87$ and $P=0.0001$). The results of one-way analysis of variance for FIS1 variable showed that there was a significant difference between the studied groups ($F=199.315$ and $P=0.0001$). Based on the results of Tukey's post hoc test, The Comparison of the healthy control and diabetic control groups showed that induced diabetes resulted in a significant decrease in Mfn1 protein levels and a significant increase in FIS1 in the muscle tissue of diabetic rats ($P < 0.05$). However, the comparison of the diabetic control and diabetic training groups showed that eight

weeks of aerobic training resulted in a significant increase in MFN1 protein and a significant decrease in FIS1 protein levels in the muscle tissue of trained diabetic mice ($P < 0.05$).

Discussion

Previous studies have reported that decreased levels of fusion-related proteins and increased levels of mitochondrial fission-related proteins are closely associated with insulin resistance and type 2 diabetes. It has been shown that exercise training, by promoting mitochondrial adaptation, leads to improved mitochondrial dynamics and clearance and increased biogenesis. It has also been shown that muscular activity, especially regular activity, increases the ratio of fusion/fission proteins and leads to the formation of reticular mitochondria, while muscle disuse leads to a decrease in this ratio and ultimately leads to the formation of fragmented organelles and, consequently, mitochondrial dysfunction. The main reason for the decrease in the level of this protein in diabetes is attributed to the increased production of ROS caused by hyperglycemia. The main mechanisms by which exercise can reduce mitochondrial dysfunction caused by diabetes include increased expression of some proteins important in mitochondrial function, such as PPAR γ , PGC-1 α , HSPs, and UCP3. Also, regular exercise plays an important role in increasing mitochondrial fusion by increasing the levels of antioxidant enzymes in skeletal muscle mitochondria. In addition, increased fusion caused by exercise training increases the mitochondrial network and is associated with improved metabolism and mitochondrial function. Exercise-induced AMPK activation plays an important role as a key upstream regulator for fission and fusion events.

Article message

According to the research findings, exercise can be considered as a beneficial and non-pharmacological strategy by creating a balance between fusion-fission and thus mitochondrial dynamic homeostasis, reducing the mitochondrial complications of diabetes in skeletal muscle.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال ؟، شماره ؟

؟ و ؟؟؟؟؛ صفحات ۱-۳

Open Access

مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین هوازی بر سطوح پروتئین‌های میتوکندریایی FIS1 و MFN1 در بافت عضله موش‌های نر ویستار دیابتی

محمود ایوبی^۱، مهدی بوستانی^{۱*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۰

چکیده

هدف: اختلال در عملکرد میتوکندری عضلات اسکلتی اغلب با بسیاری از بیماری‌های متابولیک مانند دیابت در ارتباط است. از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر سطوح پروتئین‌های FIS1 و Mfn1 در بافت عضله دوقلوی موش‌های دیابتی بود. **روش شناسی:** تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هشت هفته و وزن 220 ± 15 گرم به طور تصادفی در سه گروه سالم کنترل، دیابت کنترل و دیابت تمرین قرار گرفتند. القای دیابت نوع دو به روش ترکیب رژیم غذایی پرچرب و تزریق استریوتوزوسین انجام شد. برنامه تمرین هوازی به مدت هشت هفته و بر اساس اصل اضافه بار تدریجی از ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول به ۲۵ متر بر دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بعد از بی‌هوش کردن موش‌ها، بافت عضله دوقلو استخراج و در دمای ۸۰- نگهداری شد. سطوح پروتئین‌های FIS1 و Mfn1 به روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) با آزمون پیگردی توکی در سطح معنی‌داری ۰.۰۵ و به کمک نرم افزار SPSS-23 استفاده شد. **یافته‌ها:** دیابت القا شده منجر به کاهش معنی‌دار Mfn1 و افزایش معنی‌دار FIS1 در بافت عضله دوقلو موش‌های دیابتی شد ($P < 0.05$). با این حال هشت هفته تمرین هوازی منجر به افزایش معنی‌دار MFN1 و کاهش معنی‌دار FIS1 در بافت عضله دوقلو موش‌های دیابتی تمرین شد ($P < 0.05$). **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج پژوهش حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که فعالیت‌های بدنی بعنوان راهبردی مفید و غیردارویی جهت حفظ پویایی میتوکندری و در نتیجه عملکرد مطلوب آن در عضلات اسکلتی در دیابت باید مورد توجه قرار بگیرند. **واژه‌های کلیدی:** تمرین هوازی، پروتئین شکافت میتوکندری^۱، میتوفیوژن^۱، دیابت

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید.

۱. گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی

واحد اهواز، اهواز، ایران.

(نویسنده مسئول):

(mehdi.boustani@iau.ac.ir)

نحوه ارجاع: ایوبی، محمود، بوستانی، مهدی. "تأثیر یک دوره تمرین هوازی بر سطوح پروتئین‌های میتوکندریایی FIS1 و MFN1 در بافت عضله موش‌های نر ویستار دیابتی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ؟؟؟؟؟؟ (؟)؟-؟.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2023.28273.1543

DOR: 20.1001.

مقدمه

عضله اسکلتی یک بافت کلیدی درون ریز متابولیکی است که در حالت استراحت ۳۰ درصد و در طول ورزش بیشینه تا ۹۰ درصد از متابولیسم کل بدن را تشکیل می‌دهد [۱]. در واقع، هنگام ورزش، سنتز ATP میتوکندریایی در عضله اسکلتی برای حفظ هموستاز انرژی که تقاضای انرژی زیستی تقریباً ۱۰۰ برابر افزایش می‌یابد حیاتی است [۲]. میتوکندری‌ها از طریق اعمال متعدد در تولید انرژی، بیوسنتز، تنظیم کلسیم و سیگنالینگ، تعادل ردوکس و تولید گونه‌های اکسیژن فعال، پایه و اساس هموستاز سلولی محسوب می‌شوند. شواهد در حال افزایش نشان می‌دهد که اختلال عملکرد میتوکندری با بیماری‌های متفاوتی از جمله پیری [۳]، بیماری‌های تخریب عصبی [۴]، بیماری‌های میتوکندری [۵]، چاقی، دیابت و سرطان [۶] در ارتباط است.

به کمک دو فرآیند متضاد شکافت^۱ و همجوشی^۲، میتوکندری‌ها دائماً دستخوش تغییرات شکل و تعداد می‌شوند [۷]. تنظیم دقیق تعادل همجوشی- شکافت برای عملکرد مطلوب سلولی در پاسخ به محرک‌های خارج سلولی و استرس محیطی بسیار ضروری است [۸]. بنابراین، تغییرات تعادل همجوشی-شکافت منجر به استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندری و تغییرات متابولیکی سلول می‌شود. پروتئین‌های میتوفیوژن ۱ (MFN1) و پروتئین شکافت میتوکندری- (FIS1) دارای اثرات تنظیمی قوی در تعادل همجوشی و شکافت میتوکندری هستند [۹، ۱۰]. FIS1 در غشای داخلی میتوکندری قرار دارد و مهمترین پروتئین مرتبط با شکافت میتوکندری است، درحالی‌که MFN1 که در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد یکی از مهمترین پروتئین‌های مرتبط با همجوشی میتوکندری است [۱۱].

یکی از بیماری‌های مرتبط با اختلال عملکرد میتوکندری دیابت نوع دو (T2D) می‌باشد. عوارض بالینی T2D شامل دیس‌لیپیدمی، هیپرگلیسمی، مقاومت به انسولین و نقص در ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس است [۱۲]. علت اصلی این عوارض افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)^۳ در میتوکندری به واسطه هایپرگلیسمی است [۱۳]. یک مشخصه مشترک مورفولوژی میتوکندری در T2D افزایش تکه تکه شدن^۴ میتوکندری است که از طریق فعال سازی و بیش‌تنظیمی FIS1 و کاهش سطوح پروتئین‌های مرتبط با

همجوشی میتوکندری بویژه MFN1 رخ می‌دهد [۱۴]. علاوه بر این، اختلال همجوشی میتوکندریایی با مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی [۱۵] و با عدم تحمل گلوکز و افزایش گلوکوتروژن کبدی در موش‌های با حذف MFN1 ویژه کبد مشاهده شد [۱۶]. حذف MFN1 منجر به افزایش تولید ROS، فعال‌سازی JNK^۵ و پاسخ استرس شبکه آندوپلاسمی^۶ شد. مطالعات در مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد بیش‌تنظیمی MFN1 باعث بهبود حساسیت به انسولین و کاهش واسطه‌های لیپیدی در عضله اسکلتی [۱۷] و کبد [۱۸] می‌شود. علاوه بر این، نشان داده شده است که در مدل‌های دیس‌لیپیدی T2D، شکافت میتوکندری افزایش یافته است. افزایش تکه‌تکه شدن میتوکندری همراه با افزایش سطوح پروتئین FIS1 میتوکندری در سلول‌های عضلانی دیابتی مشاهده شده است [۱۹]. شکافت میتوکندری ناشی از افزایش FIS1 نقش مهمی در پاتوژن عوارض دیابت مانند نفروپاتی [۲۰]، رتینوپاتی [۲۱]، نوروپاتی، سکنه مغزی و ایسکمی میوکارد [۲۲] بازی می‌کند. به طور خاص، دیابت نوع ۲ (T2D) با کاهش بیان MFN1 مرتبط است که به کاهش فسفوریلاسیون اکسایشی و اختلال در همجوشی میتوکندری در عضلات اسکلتی منجر می‌شود [۲۳، ۲۴]. هنگامی که هموستاز میتوکندری در عضله اسکلتی مختل می‌شود، مجموعه‌ای از سیگنال‌های آتروفیک فعال می‌شوند که باعث تخریب میوفیبرها می‌شوند [۲۵].

مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت‌های ورزشی با بهبود متابولیسم میتوکندری، پیوژن و کنترل کیفیت، از پیشرفت اختلال عملکرد میتوکندری جلوگیری کرده و آن را به تاخیر می‌اندازد. ورزش عملکرد پروتئین‌های تنظیم‌کننده داینامیک میتوکندری را از طریق مکانیسم‌های تعدیل پس از ترجمه تنظیم می‌کند [۲۶]. با وجود انجام مطالعات مختلف با موضوعات ورزش و عملکرد میتوکندری، با این حال تاثیر ورزش بر پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری در دیابت نوع دو کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. از این رو در پژوهش حاضر تاثیر هشت هفته تمرین هوازی بر سطوح پروتئین‌های Mfn1 و FIS1 در بافت عضله دوقلوی موش‌های دیابتی نوع دو مورد مطالعه قرار گرفت.

روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی و از نظر هدف بنیادی می‌باشد و با دریافت کد اخلاق (IR.IAU.AHV.AZ.REC.1403.327) توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز مورد تایید قرار گرفته است. تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن بدن ۱۵±۲۲۰ گرم در قفس‌های استاندارد پلی پروپیلن (سه موش در هر

^۱- fission^۲- fusion^۳- Mitofusin-1^۴-fission protein 1^۵ type 2 diabetes^۶reactive oxygen species^۷- fragmentation^۸- c-jun N-terminal kinase^۹- endoplasmic reticulum

جدول ۱: برنامه تمرین هوازی در هشت هفته			
هفته	شدت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	تواتر در هفته
آشنایی	۱۰	۵	۵
اول	۱۵	۳۰	۵
دوم	۱۶	۳۵	۵
سوم	۱۸	۴۰	۵
چهارم	۲۰	۴۵	۵
پنجم	۲۱	۵۰	۵
ششم	۲۳	۵۵	۵
هفتم	۲۵	۶۰	۵
هشتم	۲۵	۶۰	۵

Table 1: Aerobic exercise program in eight weeks

تشریح

تمامی موش‌های سه گروه، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و همزمان با هم ابتدا با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلانین (۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. سپس بافت عضله دوقلو^۱ توسط متخصص استخراج و با PBS شست‌وشو داده شد. سپس بافت عضله استخراج شده در نیتروژن مایع قرار داده شد و تا زمان بررسی آزمایشات نهایی در دمای ۸۰- نگهداری شد.

وسترن بلات

برای اندازه‌گیری سطوح پروتئین‌های MFN1 و FIS1 از روش وسترن بلات و با استفاده از آنتی بادی‌های مخصوص FIS1 (GTX111010)، MFN1 (GTX17218) و B-actin (ab181602) انجام شد. به این صورت که نمونه‌های بافت عضله دوقلو ابتدا در بافر لیزکننده هموژن شدند (لایزبس بافر شامل تریس پایه ۵۰ میلی مولار (۰/۳ گرم)، کلرید سدیم ۱۵۰ میلی مولار (۰/۴۳ گرم)، تریتون x100 ۰/۱ درصد (۰/۰۲ میلی لیتر)، سدیم دِاکسی کولات ۰/۲۵ درصد (۰/۰۵ گرم)، SDS ۰/۱ درصد (۰/۰۲ گرم) و EDTA (۵/۸۴ گرم) در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و pH آن بر روی ۷/۴ تنظیم شده و هموژن شدند (۱۴۰۰۰ rpm و بمدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد). به ازای هر ۱۰ میلی لیتر از محلول یک قرص مهارکننده پروتئاز استفاده شد.

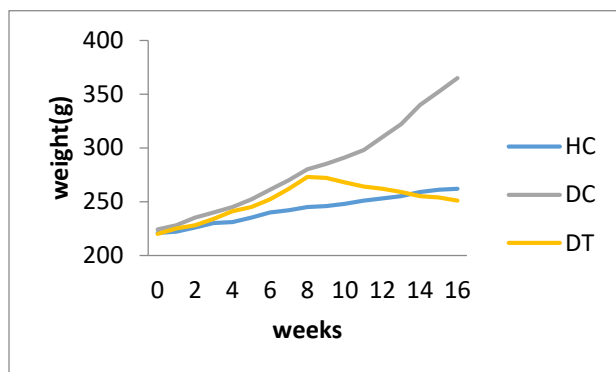
قفس) تحت یک چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعت/۱۲ ساعت و دمای محیط ۲۲-۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. موش‌ها به صورت تصادفی به سه گروه سالم کنترل، دیابتی کنترل و دیابتی تمرین تقسیم شدند. دیابت نوع ۲ به اساس پروتکل ژانگ^{۱۲} و همکاران [۲۷] و لیو^{۱۱} و همکاران [۲۸] القا شد. موش‌های گروه نرمال با یک رژیم غذایی استاندارد با حجم کل کالری ۲۰ کیلوژول بر کیلوگرم (۵٪ چربی، ۵۲٪ کربوهیدرات، ۲۰٪ پروتئین) تغذیه شدند، در حالی که موش‌های گروه دیابتی تحت رژیم غذایی پرچرب با کالری بالا با حجم کل کیلوکالری ۴۰ کیلوژول بر کیلوگرم (۲۰٪ چربی، ۴۵٪ کربوهیدرات، ۲۲٪ پروتئین) قرار گرفتند. هر سه گروه به مدت هشت هفته رژیم غذایی خود را حفظ کردند، در پایان هفته چهارم، به همه موش‌های گروه‌های دیابتی، یک مرحله استرپتوزوتوسین (STZ; Sigma-Aldrich, St Louis, MO) با دوز کم (۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم، محلول در بافر سیترات سدیم ۰/۱ مولار در pH 4.4) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از یک هفته، قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر (Accu-Chek Performa; Roche Diagnostics, USA) اندازه‌گیری شد. موش‌هایی که سطح گلوکز خون آن‌ها کمتر از ۱۶/۷ میلی‌مول بر لیتر یا ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود، برای بار دوم با همان دوز مرحله قبل استرپتوزوتوسین دریافت کردند. به موش‌های گروه سالم کنترل به طور همزمان بافر سیترات (۰/۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) تزریق شد. رژیم‌های غذایی تا پایان هفته هشتم به روشی که در فوق شرح داده شد ادامه یافتند. در پایان هفته هشتم مجدداً غلظت گلوکز خون موش‌ها اندازه‌گیری شد و موش‌های با غلظت گلوکز بالای ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر بعنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

برنامه تمرین هوازی

بعد از تثبیت دیابت نوع دو در گروه‌های دیابتی، گروه دیابتی تمرین به مدت هشت هفته تمرین هوازی بر اساس پروتکل روشا^{۱۳} و همکاران [۲۹] انجام دادند. بر اساس این پروتکل جهت آشنایی حیوان با تردمیل، یک هفته تمرین با شدت ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه با تواتر ۵ جلسه در هفته انجام شد. سپس برنامه تمرینی به مدت هشت هفته و بر اساس اصل اضافه بار تدریجی از ۱۵ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در هفته اول به ۲۵ متر بر دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هفته هشتم رسید. جهت رسیدن به حالت یکنواخت، تمام متغیرهای تمرین در دو هفته پایانی ثابت نگه داشته شدند. همچنین جهت اطمینان از عدم بازگشت دیابت در گروه دیابتی، غلظت گلوکز خون و نیز وزن بدن موش‌ها در پایان هر هفته اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

^{۱۲} Zhang^{۱۱} Liu^{۱۳} - Rocha

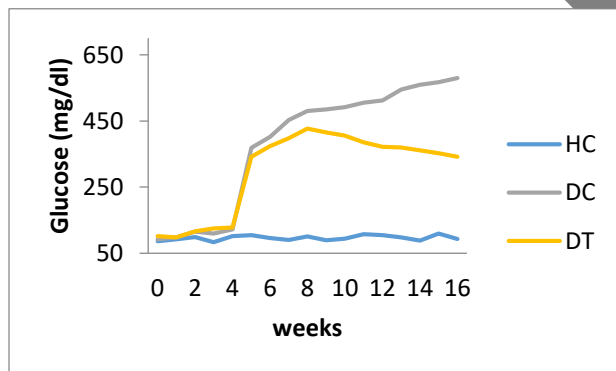
¹ - Gastrocnemius
¹ - Ethylenediaminetetraacetic acid



شکل ۱: تغییرات وزن موش های سه گروه در ۱۷ هفته مختلف

Figure 1: Weight changes of rats in three groups in 17 different weeks

تغییرات گلوکز خون: سطح گلوکز خون، از ابتدای مداخله در گروه های پرچرب روند افزایشی داشت و از هفته چهارم به بعد با تزریق استرپتوزوتوسین از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر عبور کرد و تا پایان هفته هشتم نیز روند افزایشی خود را حفظ کرد. از هفته نهم و با شروع تمرینات هوازی در گروه دیابتی تمرین، سطح گلوکز خون تا پایان هفته شانزدهم روند کاهشی پیدا کرد و با گروه دیابت کنترل تفاوت معنی داری داشت ($P < 0.05$)، ولی همچنان میزان گلوکز خون در گروه دیابت تمرین نیز بیشتر از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. در گروه سالم کنترل سطوح گلوکز خون در کل دوره مداخله، نسبت به سطح اولیه تغییر معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). در شکل ۲، تغییرات گلوکز خون موش ها در گروه های مورد مطالعه در پایان هر هفته از مداخله آورده شده است.



شکل ۲: تغییرات سطح گلوکز خون موش های سه گروه در ۱۷ هفته مختلف

Figure 2: Changes in the blood glucose of rats in three groups in 17 different weeks

تغییرات پروتئین های MFN1 و FIS1 در دیابت:

جهت مقایسه پروتئین های MFN1 و FIS1 بافت عضله دوقلو در گروه های مختلف از آزمون تحلیل واریانس یک راهه همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها با آزمون تحلیل

غلظت سوپرنتانت بدست آمده به وسیله کیت بردفورت مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین ها با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل SDS-PAGE (۱۰٪) بارگذاری شدند (ابتدا در ولتاژ ۶۰ به مدت ۱۵ دقیقه و سپس در ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد). سپس پروتئین ها طی فرآیند انتقال روی کاغذ نیتروسلولوز به مدت ۱۰۵ دقیقه انتقال داده شدند و سپس کاغذ یک شب با آنتی بادی های اولیه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سه مرتبه و هر بار پنج دقیقه با محلول PBS شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت با آنتی بادی ثانویه انکوبه شد. باندهای پروتئین در دستگاه پردازشگر X-RAY (LD-14، چین) با استفاده از کیت ECL ظاهر شدند. سپس با استفاده از دستگاه اسکنر JS 2000 دانسیته باندها محاسبه گردید.

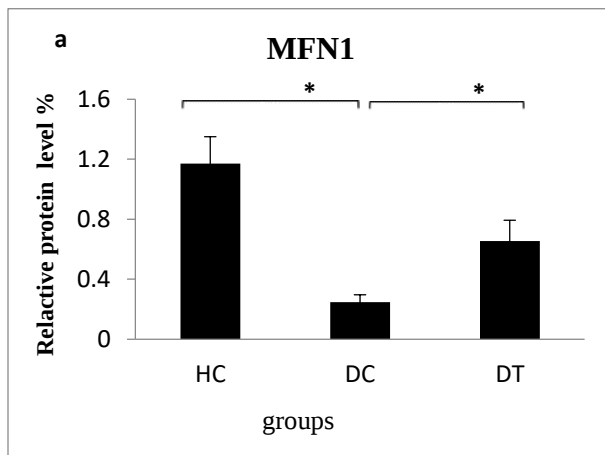
روش های آماری

در پژوهش حاضر برای توصیف داده ها از میانگین $\pm$ انحراف معیار استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون شاپرو و ویلک بررسی شد. همچنین جهت مقایسه متغیرها در گروه های مورد مطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (آنوا) همراه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده ها توسط نرم افزار SPSS-23 با سطح معنی داری ۰.۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

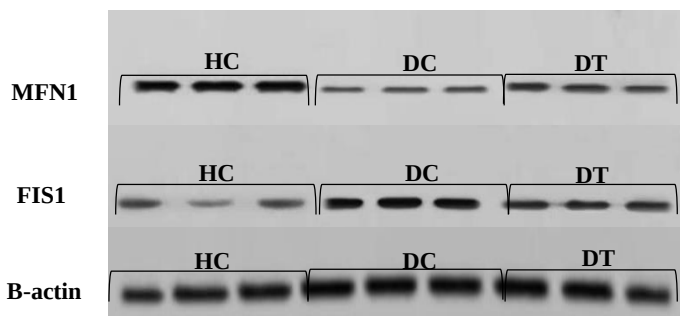
تغییرات وزن بدن: برای بررسی تغییرات وزن موش های صحرایی در گروه ها (شکل شماره ۱)، با توجه به اینکه اندازه گیری ها در ۱۷ زمان مختلف (قبل از شروع مداخله و در پایان هر هفته از مداخله) انجام شد، جهت مقایسه وزن موش ها در گروه ها از آزمون تحلیل واریانس با اندازه گیری های مکرر استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که اختلاف معنی داری در وزن اولیه موش ها در گروه های مورد مطالعه وجود نداشت ($P = 0.251$)، اما در پایان هفته هشتم، میانگین تغییرات وزن گروه های دیابتی نسبت به وزن اولیه آنها به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.001$). همچنین میانگین وزن این دو گروه نسبت به گروه سالم کنترل نیز افزایش معنی داری داشت. اما در گروه سالم کنترل تفاوت معنی داری بین وزن موش ها در پایان هفته هشتم با وزن اولیه آنها وجود نداشت ($P > 0.001$). افزایش وزن موش های گروه کنترل دیابت تا هفته شانزدهم به طور خطی افزایش یافت اما در گروه دیابت تمرین که به مدت هشت هفته تمرین هوازی انجام دادند از هفته نهم تا شانزدهم کاهش معنی داری مشاهده شد ($P < 0.001$). یعنی اینکه تمرین هوازی مانع افزایش وزن بیشتر موش ها در گروه دیابت تمرین شد. در شکل ۱، تغییرات وزن موش ها در گروه های مورد مطالعه در پایان هر هفته از مداخله آورده شده است.

protein levels and a significant increase in FIS1 protein. Whereas eight weeks of aerobic training (DT) significantly increased MFN1 protein levels and decreased FIS1 protein levels.



شکل ۳: تغییرات پروتئین‌های MFN1 و FIS1 در دیابت و ورزش. سطوح (a) MFN1 و (b) FIS1. القای دیابت (DC) منجر به کاهش معنی‌دار سطوح پروتئین MFN1 و افزایش معنی‌دار در پروتئین FIS1 گردید. درحالی‌که هشت هفته تمرین هوازی (DT) به طور معنی‌داری سطوح پروتئین MFN1 را افزایش و سطوح پروتئین FIS1 را کاهش داد.

Figure 3: Changes in MFN1 and FIS1 proteins in diabetes and exercise. MFN1 (a) and FIS1 (b) levels. Diabetes induction (DC) resulted in a significant decrease in MFN1



شکل ۴: مقایسه میزان بیان پروتئین‌های MFN1 و FIS1 در بافت عضله دوقلوی گروه‌های مختلف

Figure 4: Comparison of the expression levels of MFN1 and FIS1 proteins in gastrocnemius muscle tissue of different groups.

میتوکندریایی میانجی‌گری می‌شود. فیلی^۱ و همکاران [۳۸] نشان دادند که تولید ROS بیش از حد، ترشح FIS1 را جهت انتقال به غشای میتوکندری و در نتیجه فعال سازی شکافت میتوکندری تحریک می‌کند. این تحریک FIS1 مسئول کاهش پتانسیل غشاست و ورود ROS به درون میتوکندری را تسهیل می‌کند و در نتیجه منجر به اختلال در مسیر پیام‌رسانی انسولین می‌شود. نشان داده شده است که فعالیت ورزشی با ارتقاء سازگاری میتوکندری منجر به بهبود دینامیک و پاکسازی میتوکندری و افزایش بیوژنز می‌شود [۱۱]. البته سازگاری‌های تمرین ورزشی به نوع تمرین، شدت، مدت و نوع فیبر عضلانی بستگی دارد [۳۹، ۴۰]. بر اساس مطالعات قبلی، دینامیک میتوکندری عضلات اکسیداتیو ممکن است در نتیجه تمرین ورزشی بیشتر از عضلات گلیکولیتیک تغییر کند [۱۱]. عمدتاً عضلات کندانقباض (اکسیداتیو) نسبت به عضلات تند انقباض (گلیکولیتیک) میتوکندری‌های بزرگتر و بیشتر، سرعت انقباض کندتر، اتکای بیشتر به فسفوریلاسیون اکسیداتیو و مقاومت بالاتر در برابر خستگی دارند [۴۱]. دینامیک میتوکندری به توزیع نوع فیبر در عضله بستگی دارد،

بحث

در مطالعات قبلی نشان داده شده است که تمرین هوازی باعث ایجاد انواع سازگاری‌ها در عضلات اسکلتی می‌شود تا به افزایش تقاضای انرژی پاسخ دهد [۳۰]. از جمله این سازگاری‌ها تغییرات در پارامترهای میتوکندری می‌باشد که ظرفیت اکسیداتیو و عملکرد ورزشی را افزایش می‌دهد. این تغییرات در میتوکندری عضله اسکلتی شامل افزایش بیوژنز میتوکندری، کارایی، پویایی و میتوفاژی است [۳۱-۳۳]. مطالعات قبلی در انسان [۱۹] و مدل‌های حیوانی [۳۴، ۳۵] گزارش کرده‌اند که کاهش سطوح پروتئین‌های مرتبط با همجوشی و افزایش پروتئین‌های مرتبط با شکافت میتوکندری ارتباط نزدیکی با مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو دارد. این عدم تعادل بین همجوشی و شکافت در چاقی و دیابت نوع دو احتمالاً به انتشار بیش از حد H_2O_2 میتوکندری در ارتباط است که عامل اولیه اختلال در پویایی میتوکندری نیز محسوب می‌شود و منجر به اختلال در مسیر پیام‌رسانی انسولین می‌شود [۳۶]. لین و همکاران [۳۷] نشان دادند که ارتباط بین پویایی میتوکندری و مقاومت به انسولین توسط ROS

^۱- Fealy

از مکانیسم های اصلی که توسط آنها ورزش می تواند به کاهش اختلالات میتوکندری ناشی از دیابت منجر شود، می توان به افزایش بیان برخی از پروتئین های مهم در عملکرد میتوکندری مانند **HSPs**, **PPARg**, **PGC-1 α** و **UCP3** اشاره کرد [۴۷]. همچنین، ورزش منظم با افزایش میزان آنزیم های آنتی اکسیدانی در میتوکندری های عضله اسکلتی نقش مهمی در افزایش همجوشی میتوکندری ایفا می کند [۴۸]. علاوه بر این، افزایش همجوشی ناشی از تمرین ورزشی، شبکه میتوکندری را افزایش می دهد و با بهبود متابولیسم و عملکرد میتوکندری مرتبط است [۴۹]. فعال سازی **AMPK** ناشی از ورزش به عنوان یک تنظیم کننده کلیدی با لادست برای رویدادهای شکافت و همجوشی نقش مهمی ایفا می کند [۵۰]. ورزش هوازی طولانی مدت با بهبود هموستاز گلوکز و انسولین، استفاده از سوبسترا و کاهش قطعه قطعه شدن میتوکندری منجر به تنظیم پویایی میتوکندری می شود [۵۱]. پری و همکاران [۴۳]، چهار ساعت پس از یک جلسه تمرین تناوبی با شدت بالا (**HIIT**) در انسان، عدم تغییر پروتئین های **MFN1/2** و **FIS1** را گزارش کردند که به نظر می رسد نوع تمرینات و نوع بررسی (حاد یا مزمن) از علل عدم همخوانی نتایج مطالعه حاضر با مطالعه پری و همکاران است.

همسو با نتایج پژوهش حاضر، کونوپکا و همکاران [۵۲] افزایش میزان بیان پروتئین های MFN1 و MFN2 عضلات اسکلتی در افراد جوان و مسن بعد از ۱۲ هفته تمرین ورزشی هوازی گزارش کردند. دینگ و همکاران [۴۴] نیز نشان دادند که محتوای پروتئین MFN1 و FIS1 به ترتیب متناسب با مدت زمان ورزش در عضله اسکلتی موش ها کاهش و افزایش می یابد.

همچنین آکسلرود^۷ و همکاران [۵۳] گزارش کردند که برنامه تمرین هوازی ۱۲ هفته‌ای منجر به کاهش محتوای پروتئین شکافت FIS1 شده است.

مطالعات بسیار محدودی در زمینه آثار تمرینات ورزشی بر دینامیک میتوکندری وجود دارد. به طوریکه مکانیسم دقیق کنترل بازسازی میتوکندری به وضوح مشخص نیست. با اینحال، به نظر می‌رسد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) نقش تنظیم‌کنندگی مهمی در این فرایند داشته باشند. ROS میتوکندریایی ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند به تغییر سریع در بیان پروتئین‌های همجوشی و شکافت میتوکندریایی منجر شود [۵۴]. به طوریکه شواهد اخیر نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو منجر به شکافت میتوکندریایی می‌شود [۵۵] و

به طوری که مشخص شده است سرعت همجوشی میتوکندری با ظرفیت اکسیداتیو در سطح فیبرهای عضلانی مرتبط است. در این زمینه، فیبرهای وابسته به اکسیداتیو حاوی شبکه‌های میتوکندریایی طولی با سرعت همجوشی بالاتر هستند [۴۱]. همچنین مشخص شده است که فعالیت عضلانی بویژه فعالیت منظم، نسبت پروتئین‌های همجوشی/شکافت را افزایش می‌دهد و منجر به تشکیل میتوکندری‌های شبکه‌ای می‌شود، در حالی که عدم استفاده از عضلات منجر به کاهش این نسبت و در نهایت منجر به تشکیل اندامک‌های تکه‌تکه شده و در نتیجه اختلال عملکرد میتوکندری می‌شود [۴۲]. هئو و همکاران [۳۶] نشان دادند که تمرین هوازی متوسط می‌تواند پروتئین‌های مرتبط با همجوشی میتوکندری از قبیل MFN1 را افزایش دهد و پروتئین‌های مرتبط با شکافت مانند FIS1 را کاهش دهد. این تغییرات در پروتئین‌های مرتبط با پویایی میتوکندری بر اثر تمرینات هوازی به کاهش انتشار H_2O_2 از میتوکندری متعاقب این تمرینات نسبت داده شده است. در پژوهش حاضر مشاهده شد که سطوح پروتئین MFN1 در بافت عضله دوقلو در گروه دیابت به طور معنی‌داری کاهش یافت، درحالی‌که بر اثر هشت هفته تمرین هوازی میزان این پروتئین در گروه دیابت-تمرین به طور معنی‌داری افزایش یافت. علت اصلی کاهش سطح این پروتئین در دیابت به افزایش تولید ROS ناشی از هایپرگلیسمی نسبت داده می‌شود [۱۳]. پری^۱ و همکاران [۴۳] نشان دادند که هفت جلسه تمرین تناوبی با شدت بالا به تدریج محتوای پروتئین MFN1 را افزایش می‌دهد. همچنین دینگ^۲ و همکاران [۴۴] نشان دادند که یک جلسه دویدن روی تردمیل در موش‌ها باعث افزایش mRNA MFN1 برای ۲۴ ساعت پس از تمرین شد. ورزش هوازی می‌تواند بیان mRNA و پروتئین PGC-1 α را افزایش دهد تا سطح پروتئین MFN1 را بهبود بخشد و همجوشی میتوکندری را تقویت کند [۴۵]. کارتونی^۳ و همکاران [۴۶] نشان دادند که بیان mRNA مربوط به MFN1،2، دو ساعت پس از یک جلسه تمرین شدید بدون تغییر است، اما در ۲۴ ساعت پس از تمرین افزایش می‌یابد. آنها گزارش کردند که این امر توسط دو فعال‌کننده مهم رونویسی و پاسخ‌دهنده به ورزش، PGC1 α و گیرنده مرتبط با استروژن ($ERR\alpha$)، که بیوژنز میتوکندری را هدایت می‌کنند، واسطه‌گری می‌شود.

- Perry

Ding

³-Cartoni[‡]- estrogen-related receptor α ^Δ- high intensity interval training ε -ding^y- Axelrod

گرفته شود. همچنین عوامل دیگری از جمله ROS، JNK، ERK، PKA و mTOR نیز ممکن است بر پویایی میتوکندری تأثیر داشته باشند که ما اندازه‌گیری نکردیم و پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده مورد مطالعه قرار بگیرند.

نتیجه‌گیری

هنگامی که هموستاز میتوکندری در عضله اسکلتی مختل می‌شود، مجموعه‌ای از سیگنال‌های آتروفیک فعال می‌شوند که باعث تخریب سلول‌های عضلانی می‌شوند. عدم تعادل در فعالیت همجوشی و شکافت، نمونه‌ای از این اختلال هموستازی است که در برخی از میوپاتی‌های انسانی مانند دیابت نوع ۲ مشاهده می‌شود. با توجه به نقش مهم میتوکندری در تولید انرژی، دفاع آنتی‌اکسیدانی و حتی عملکردهای شناختی بدن، عملکرد بهینه این اندامک ضروری است. از سوی دیگر، ورزش می‌تواند به عنوان یک استراتژی مفید و غیر دارویی از طریق ایجاد تعادل بین همجوشی-شکافت و در نتیجه هموستاز پویایی میتوکندری در نظر گرفته شود و عوارض میتوکندریایی دیابت را در عضلات اسکلتی کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از تمامی آزمودنی‌های شرکت کننده و کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ تضاد منافی از انتشار آن ندارند.

ورزش هوازی با شدت متوسط می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش شکافت میتوکندری و پروتئین‌های مرتبط با آن شود. از دیگر یافته‌های پژوهش حاضر افزایش پروتئین مرتبط با شکافت میتوکندری یعنی پروتئین FIS1 در دیابت و کاهش معنی دار آنها بر اثر هشت هفته تمرین هوازی بود. همسو با نتایج پژوهش حاضر، نشان داده شده است که دوازده هفته تمرین هوازی سطوح FIS1 عضلانی را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد [۵۳]. اختلال در پویایی میتوکندری در بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت نوع دو نشان داده شده است [۵۶]. افزایش FIS1 ناشی از دیابت ممکن است منجر به کاهش پتانسیل غشا از طریق حساس شدن منافذ نفوذپذیری میتوکندری (mPTP) و در نتیجه افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال شود [۵۷]. مطالعات قبلی نشان داده اند که فعالیت‌های ورزشی شکافت میتوکندری را در عضلات دیابتی و مقاوم به انسولین کاهش می‌دهند و منجر به بهبود اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش حساسیت به انسولین می‌شوند [۳۸].

در نهایت، ثابت شده است که فعالیت‌های بدنی از طریق افزایش پروتئین‌های مرتبط با همجوشی مانند MFN1، MFN2 و OPA-1 و کاهش پروتئین‌های مرتبط با شکافت مانند Drp1 و FIS1 نقش مهمی در بهبود متابولیسم و جذب گلوکز در عضلات اسکلتی و در نتیجه بهبود مقاومت به انسولین در دیابت نوع ۲ دارند [۵۸]. با این حال، یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر، عدم ارزیابی بافت‌شناسی عضله بود که پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده، بافت‌شناسی عضله نیز هنگام بررسی پروتئین‌های مرتبط با دینامیک میتوکندری در نظر

Reference

1. Zurlo, F., et al., *Skeletal muscle metabolism is a major determinant of resting energy expenditure*. The Journal of clinical investigation, 1990. 86(5): p. 1423–1427.
2. Weibel, E.R. and H. Hoppeler, *Exercise-induced maximal metabolic rate scales with muscle aerobic capacity*. Journal of Experimental Biology, 2005. 208(9): p. 1635–1644.
3. Theurey, P. and P. Pizzo, *The aging mitochondria*. Genes, 2018. 9(1): p. 22.
4. Arun, S., L. Liu, and G. Donmez, *Mitochondrial biology and neurological diseases*. Current neuropharmacology, 2016. 14(2): p. 143–154.
5. Alston, C.L., et al., *The genetics and pathology of mitochondrial disease*. The Journal of pathology, 2017. 241(2): p. 236–250.
6. de Mello, A.H., et al., *Mitochondrial dysfunction in obesity*. Life sciences : ۹۲. ۲۰۱۸, p. 26–32.
7. Otera, H. and K. Mihara, *Molecular mechanisms and physiologic functions of mitochondrial dynamics*. The Journal of Biochemistry, 2011. 149(3): p. 241–251.
8. Ranieri, M., et al., *Mitochondrial fusion proteins and human diseases*. Neurology research international, 2013. 2013(1): p. 293893.
9. Alghamdi, A., *A detailed review of pharmacology of MFN1 (mitofusion-1)-mediated mitochondrial dynamics: Implications for*

18. Gan, K.-X., et al., *Mitofusin-2 ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance in liver of rats*. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2013. 19(10): p. 1572.
19. Jheng, H.-F., et al., *Mitochondrial fission contributes to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle*. Molecular and cellular biology, 2012. 32(2): p. 309–319.
20. Wang, W., et al., *Mitochondrial fission triggered by hyperglycemia is mediated by ROCK1 activation in podocytes and endothelial cells*. Cell metabolism, 2012. 15(2): p. 186–200.
21. Zhong, Q. and R.A. Kowluru, *Diabetic retinopathy and damage to mitochondrial structure and transport machinery*. Investigative ophthalmology & visual science, 2011. 52(12): p. 8739–8746.
22. Ding, M., et al., *Inhibition of dynamin-related protein 1 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic mice*. Cardiovascular diabetology, 2017. 16(1): p. 19.
23. Zorzano, A., M. Liesa, and M. Palacín, *Mitochondrial dynamics as a bridge between mitochondrial dysfunction and insulin resistance*. Archives of physiology and biochemistry, 2009. 115(1): p. 1–12.
24. Kelley, D.E., et al., *Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes*. Diabetes, 2002. 51(10): p. 2944–2950.
25. Ji, L.L. and D. Yeo, *Mitochondrial dysregulation and muscle disuse atrophy*. F1000Research, 2019. 8: p. F1000 Faculty Rev–1621.
26. Tanaka, T., et al., *Mitochondrial dynamics in exercise physiology*. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2020. 472(2): p. 137–153.
27. Zhang, M., et al., *The characterization of high-fat diet and multiple low-dose cellular health and diseases*. Saudi Pharmaceutical Journal, 2024. 32(4): p. 102012.
10. Yu, R., et al., *Human Fis1 regulates mitochondrial dynamics through inhibition of the fusion machinery*. The EMBO journal, 2019. 38(8): p. e99748.
11. Chen, W., H. Zhao, and Y. Li, *Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets*. Signal transduction and targeted therapy, 2023. 8(1): p. 333.
12. Farmaki, P., et al., *Complications of the type 2 diabetes mellitus*. Current cardiology reviews, 2020. 16(4): p. 249–251.
13. Basit, F., et al., *Mitochondrial complex I inhibition triggers a mitophagy-dependent ROS increase leading to necroptosis and ferroptosis in melanoma cells*. Cell death & disease, 2017. 8(3): p. e2716–e2716.
14. García-Peña, L.M., E.D. Abel, and R.O. Pereira, *Mitochondrial dynamics, diabetes, and cardiovascular disease*. Diabetes, 2024. 73(2): p. 151–161.
15. Zhang, X., et al., *Mitofusion-2-mediated alleviation of insulin resistance in rats through reduction in lipid intermediate accumulation in skeletal muscle*. Journal of Biomedical Science, 2013. 20:(1)p. 45.
16. Sebastián, D., et al., *Mitofusin 2 (Mfn2) links mitochondrial and endoplasmic reticulum function with insulin signaling and is essential for normal glucose homeostasis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012. 109(14): p. 5520–5525.
17. Zhang, Y., et al., *MicroRNA-106b induces mitochondrial dysfunction and insulin resistance in C2C12 myotubes by targeting mitofusin-2*. Molecular and cellular endocrinology, 2013. 381(1-2): p. 230–240.

muscle of high-fat diet-induced obese mice. The FASEB Journal, 2021. 35(2): p. e21340.

37. Lin, H.-Y., et al., *The causal role of mitochondrial dynamics in regulating insulin resistance in diabetes: link through mitochondrial reactive oxygen species*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018. 2018(1): p. 7514383.

38. Fealy, C.E., et al., *Mitochondrial dynamics in skeletal muscle insulin resistance and type 2 diabetes*. Translational Research, 2018. 202: p. 69–82.[In Persian].

39. Barone, R., et al., *Structural analysis of rat patellar tendon in response to resistance and endurance training*. Scandinavian journal of medicine & science in sports, 2009. 19(6): p. 782–789.

40. Pengam, M., et al., *Moderate intensity continuous versus high intensity interval training: Metabolic responses of slow and fast skeletal muscles in rat*. Plos one, 2023. 18(10): p. e0292225.

41. Mishra, P., et al., *Mitochondrial dynamics is a distinguishing feature of skeletal muscle fiber types and regulates organellar compartmentalization*. Cell metabolism, 2015. 22(6): p. 1104–1113.

42. Iqbal, S., et al., *Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse*. Muscle & nerve, 2013. 48(6): p. 963–970.

43. Perry, C.G., et al., *Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle*. The Journal of physiology, 2010. 588(23): p. 4795–4810.

44. Ding, H., et al., *Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle*.

streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. Journal of Diabetes Research, 2008. 2008(1): p. 704045.

28. Liu, Z., et al., *Antidiabetic effects of malonyl ginsenosides from Panax ginseng on type 2 diabetic rats induced by high-fat diet and streptozotocin*. Journal of Ethnopharmacology, 2013. 145(1): p. 233–240.

29. Rocha-Rodrigues, S., et al., *Effects of physical exercise on myokines expression and brown adipose-like phenotype modulation in rats fed a high-fat diet*. Life sciences, 2016. 165: p. 100–108.

30. Egan, B. and J.R. Zierath, *Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation*. Cell metabolism, 2013. 17(2): p. 162–184.

31. Booth, F.W., et al., *Endurance exercise and the regulation of skeletal muscle metabolism*. Progress in molecular biology and translational science, 2015. 135: p. 129–151.

32. Drake, J.C., R.J. Wilson, and Z. Yan, *Molecular mechanisms for mitochondrial adaptation to exercise training in skeletal muscle*. The FASEB Journal, 2015. 30(1): p. 13.

33. Zoladz, J.A., et al., *Endurance training increases the efficiency of rat skeletal muscle mitochondria*. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 2016. 468(10): p. 1709–1724.

34. Leduc-Gaudet, J.P., et al., *The impact of a short-term high-fat diet on mitochondrial respiration, reactive oxygen species production, and dynamics in oxidative and glycolytic skeletal muscles of young rats*. Physiological Reports, 2018. 6(4): p. e13548.

35. Liu, R., et al., *Impaired mitochondrial dynamics and bioenergetics in diabetic skeletal muscle*. PloS one, 2014. 9(3): p. e92810.

36. Heo, J.W., et al., *Moderate aerobic exercise training ameliorates impairment of mitochondrial function and dynamics in skeletal*

- Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences, 2014. 69(4): p. 371–378.
53. Axelrod, C.L., et al., *Exercise training remodels human skeletal muscle mitochondrial fission and fusion machinery towards a pro-elongation phenotype*. Acta Physiologica, 2019. 225(4): p. e13216.
54. Yu, T., J.L. Robotham, and Y. Yoon, *Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. 103(8): p. 2653–2658.
55. Gomez-Lazaro, M., et al., *6-Hydroxydopamine (6-OHDA) induces Drp1-dependent mitochondrial fragmentation in SH-SY5Y cells*. Free Radical Biology and Medicine, 2008. 44(11): p. 1960–1969.
56. Holmström, M.H., et al., *Tissue-specific control of mitochondrial respiration in obesity-related insulin resistance and diabetes*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2012. 302(6): p. E731–E739.
57. Yu, T., et al., *Mitochondrial fission mediates high glucose-induced cell death through elevated production of reactive oxygen species*. Cardiovascular research, 2008. 79(2): p. 341–351.
58. Lee, H. and W. Song, *Exercise and mitochondrial remodeling in skeletal muscle in type 2 diabetes*. Journal of obesity & metabolic syndrome, 2018. 27(3): p. 150.
59. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 2010. 1800(3): p. 250–256.
45. Moore, T.M., 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: p. 51–67.
46. Cartoni, R., et al., *Mitofusins 1/2 and ERRα expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise*. The Journal of physiology, 2005. 567(1): p. 349–358.
47. Lumini, J.A., et al., *Beneficial effects of exercise on muscle mitochondrial function in diabetes mellitus*. Sports medicine, 2008. 38(9): p. 735–750.
48. Gram, M., et al., *Skeletal muscle mitochondrial H₂O₂ emission increases with immobilization and decreases after aerobic training in young and older men*. The Journal of physiology, 2015. 593(17): p. 4011–4027.
49. Ritenis, E.J., et al., *The acute and chronic influence of exercise on mitochondrial dynamics in skeletal muscle*. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2025. 328(2): p. E198–E209.
50. Laker, R.C., et al., *Ampk phosphorylation of Ulk1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy*. Nature communications, 2017. 8(1): p. 548.
51. Rueggsegger, G.N., et al., *High-intensity aerobic, but not resistance or combined, exercise training improves both cardiometabolic health and skeletal muscle mitochondrial dynamics*. Journal of Applied Physiology, 2023. 135(4): p. 763–774.
52. Konopka, A.R., et al., *Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training*. Journals of Gerontology