مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن- اسفند ۱۳۹۷؛ دوره ۱۸ (شماره ۳) ۱۲۵-۱۱۶

مقاله پژوهشی

تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی بر محتوای پروتئین‌های مسیر سیگنالینگ mTORC1 در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک

ندا آقایی[۱]، محمد شرافتی‌مقدم[۲]، فرهاد دریانوش*[۳]، سعیده شادمهری[٤]، شیوا جهانی‌گلبر[٤]

چکیده

مقدمه: مسیر mTORC1 از مسیرهای مهم سنتز پروتئین در قلب است که می‌تواند منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک یا پاتولوژیک شود. دیابت می‌تواند منجر به نقص در این مسیر شود. هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر ٤ هفته تمرین هوازی بر محتوای پروتئین‌های مسیر سیگنالینگ mTORC1 در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ١٦ سر موش صحرایی نر ۳ ماهه نر از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۳۰۰ گرم انتخاب شدند و پس از دیابتی شدن نوع یک از طریق محلول استرپتوزوتوسین، به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی (۸ سر) و کنترل دیابتی (۸ سر) تقسیم شدند؛ گروه تمرینی ٤ روز در هفته مطابق با برنامه‌ی تمرینی (هر جلسه ٤۲ دقیقه و از سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر بر دقیقه) به‌مدت ٤ هفته به تمرین هوازی پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از آزمون‌های t–وابسته و t–مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری، P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها: افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های AKT1 (P<۰/۰۱۵)، mTOR (P<۰/۰۰۱)، P70S6K1 (P<۰/۰۰٦)، 4EBP1 (P<۰/۰۵) در گروه تمرین هوازی نسبت به کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی به‌مدت ٤ هفته توانست مسیر AKT1/mTOR/P70S6K1 و AKT1/mTOR/4E-BP1 را در مسیر mTORC1 فعال کند؛ بنابراین، با توجه به عوارض قلبی در افراد دیابتی نوع یک، تمرین هوازی می‌تواند از طریق مسیر mTORC1 منجر به سنتز پروتئین و هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی شود.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، AKT1، بافت قلبی، mTOR، P70S6K1، دیابت نوع یک، 4EBP1

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد هشتگرد، البرز، ایران

۳- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

٤- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

***نشانی:** شیراز، میدان ارم، دانشگاه شیراز، مدیریت تربیت بدنی، نمابر: ۰۷۱۳٦۲۷۲۷٤۸، تلفن: ۰۷۱۳٦۱۳٥۲٥۰، پست الکترونیک: daryanoosh@shirazu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۸ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۷/۱۱/۱۳ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۱۲/۰۳

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

مقدمه

دیابت شایع‌ترین اختلال متابولیک است که به‌طور کلی به دو نوع دیابت نوع یک و نوع دو تقسیم می‌شود. هر دو نوع دیابت ارتباط بسیار زیادی با بیماری‌های قلبی-عروقی دارند [۱]. عوارض دیابت همراه با میزان مرگ‌ومیر و هزینه‌های بهداشت، سلامت و درمان بسیار مهم و تعیین‌کننده‌ی علت کیفیت ضعیف زندگی مرتبط با سلامت است [۲]. نارسایی قلبی در بیماران دیابتی شیوع بیشتری دارد که از طریق افزایش آترواسکلروز و فشار خون بالا موجب اختلال در انقباض میوکارد می‌گردد [۳]. اما، امروزه بررسی‌های بالینی و آزمایشگاهی به‌خوبی نشان داده‌اند که دیابت جدای فشارخون بالا و بیماری عروق کرونر، می‌تواند به‌طور مستقیم بر ساختار و عملکرد قلب تأثیر گذارد و عارضه‌ای را که کاردیومیوپاتی دیابتی نام گرفته است به‌دنبال داشته باشد. این بیماری با نارسایی بطنی، در غیاب فشار خون بالا و آترواسکلروز مشخص می‌شود. این اختلال در قلب کامل، بافت و میوسیت‌های ایزوله‌شده از بیماران دیابتی مشاهده شده است [٤]. تمرین هوازی به‌عنوان یک عامل اساسی در راستای درمان بیماری، در کنار مداخلات دیگر نظیر کنترل رژیم غذایی و راهبردهای دارویی در نظر گرفته می‌شود [۵].

سازوکار دقیق بروز کاردیومیوپاتی دیابتی به‌خوبی شناخته نشده است؛ اما سازوکارهای متعددی از جمله نقص در بیان پروتئین‌های مسیر هدف راپامایسین در پستانداران (mTOR) [٦]، اختلال متابولیسم در انسولین [۷] و ناهنجاری‌های میوفیلامنت‌ها در بروز این عارضه را دخیل می‌دانند [۸]. اختلال در سوخت و ساز سیگنالینگ انسولین در قلب، کلید اصلی در پاتوفیزیولوژیک اختلال مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی است. اختلال سیگنالینگ در مسیرهای مرتبط با سیگنالینگ انسولین می‌تواند مسیر بسیار مهمی مانند mTOR را دچار اختلال کند [۷، ۸].

رشد کاردیومیوسیت همراه با افزایش سنتز پروتئین یا کاهش تخریب پروتئین است. mTOR یک سرین-ترئونین پروتئین کیناز است که عملکرد آن در دو کمپلکس mTORC1 و mTORC2 متفاوت است. سیگنالینگ فاکتورهای رشدی (انسولین و IGF-1)، در دسترس بودن مواد مغذی (اسیدهای آمینه)، سوخت و ساز سلول بر عملکرد mTOR در سنتز پروتئین و رشد تأثیرگذار است [۹]. افزایش فعالیت mTORC1 منجر به هر دو هیپرتروفی فیزیولوژیک و پاتولوژیک در پاسخ به سیگنالینگ بیوشیمیایی-مکانیکی و سوخت و ساز می‌شود. mTOR در کمپلکس mTORC1 منجر به فعال‌شدن پروتین‌های پایین‌دست خود یعنی پروتئین‌های p70 ریبوزومی S6 پروتئین کیناز ۱ (p70S6K1) و عامل شروع کننده‌ی ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین ۱ (4E-BP1) می‌شود. فعال‌شدن این دو پروتئین منجر به سنتز پروتئین و هیپرتروفی قلبی می‌شود [۱۰].

mTOR می‌تواند به‌واسطه تمرینات ورزشی فعال شود. مسیر سیگنالینگ mTORC1 در پاسخ به تغذیه و تمرین ورزشی در کنترل سنتز پروتئین بافت‌های عضلانی نقش دارد [۱۱]. مشخص شده است که ارتباط بسیار قوی بین بار مکانیکی حاصل از تمرین ورزشی و فعال‌سازی مسیر mTORC1 وجود دارد [۱۲].

تمرین هوازی بهترین مدل تمرینی مورد مطالعه در مداخلات مرتبط با بیماران دیابتی است. این مدل تمرینی، با به‌کارگیری گروه‌های عضلانی بزرگ می‌تواند بسیاری از عوارض جانبی مرتبط با این بیماری را نظیر نوروپاتی محیطی، کلیوی، میوپاتی عضلانی و عوارض مرتبط با مشکلات قلبی-عروقی مانند هیپرتروفی پاتولوژیک را بهبود بخشد [۱۳]. تمرین هوازی منظم باعث افزایش برداشت گلوکز در یک غلظت ثابت انسولین می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که سازوکار اثر تمرین هوازی بر هموستاز گلوکز و عمل انسولین تا حدودی زیادی به عملکرد عضلات برمی‌گردد. عضلات تقریباً بیش از نیمی از وزن بدن را تشکیل می‌دهند و اصلی‌ترین جایگاه مصرف گلوکز است. انقباض در عضلات دارای نقش شبه انسولینی بوده و موجب می‌شود تا مقدار زیادی گلوکز به سلول وارد شود و صرف تولیدی انرژی گردد [١٤].

در زمینه‌ی ورزشی مطالعات اندکی انجام شده است که در تحقیقی Ma و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرین شنا بر

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

هیپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT/mTOR در موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج افزایش معنی‌داری را در محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR نشان دادند [۱۵]. در تحقیقی Kemi و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی فعالیت ورزشی بر بیان ژن پروتئین‌های AKT، P70S6K1 و 4EBP1 عضله‌ی قلبی موش‌های صحرایی پرداختند. در قلب هیپرتروفی فیزیولوژیک پس از تمرین، بیان ژن AKT، P70S6K1 و 4EBP1 افزایش معنی‌داری یافته بود [۱۶]. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که هیپرتروفی فیزیولوژیک عضله‌ی قلبی در پاسخ به انواع تمرین ورزشی (مقاومتی و هوازی) نتایج متفاوتی را در پی دارد. همچنین بعضی از پژوهش‌ها تمرین هوازی را به‌عنوان یک عامل مهم توسعه دهنده حجم عضله و عملکرد قلبی در نظر گرفته‌اند؛ اما، تاکنون به خوبی تأثیر تمرین هوازی بر مسیر سیگنالینگ mTORC1 که یکی از مسیرهای مهم سنتز و هیپرتروفی قلبی است بررسی نشده است. بر این اساس، هدف اولیه تحقیق حاضر تعیین نقش تمرین هوازی در سنتز پروتئین از طریق مسیر mTORC1 است که آیا پروتئین‌های مهم این مسیر توسط تمرین هوازی فعال می‌شوند و در افراد دیابتی منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی می‌شود. بنابراین، این تحقیق جنبه‌های متفاوتی از قبیل تأثیر تمرین هوازی بر مسیر mTORC1 در بافت قلبی و همچنین، جنبه‌های دیابت نوع یک و تاثیر تمرین هوازی بر این مسیر را بررسی خواهد کرد.

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۶ سر موش صحرایی نر ۳ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۳۰۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز (دانشکده‌ی پزشکی بخش فارماکولوژی) با دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگه‌داری شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آنها قرار داده شد [۱۷]. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.SUMS.REC.1396.S1062) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

روش ایجاد دیابت

برای ایجاد دیابت نوع یک در موش‌ها، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵) به‌صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek، ساخت آلمان) و نمونه‌ی خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۱ در نظر گرفته شد [۱۸، ۱۹].

پروتکل تمرینی

پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۸ سر) و کنترل دیابتی (۸ سر) تقسیم شدند. سپس موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان (مدل A1400Y10، شرکت پیشرو اندیشه صنعت، ساخت ایران) به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند.

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای تردمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۲۰].

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

برنامه‌ی گروه تمرینی به‌مدت ٤ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ٤٢ دقیقه، شامل ٦ دقیقه گرم کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۳۰ دقیقه تمرین تداومی (سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه) و ٦ دقیقه سرد کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ٤ هفته تغییری نداشت [۲۱]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند.

روش‌های آزمایشگاهی

موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت عضله‌ی قلبی از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد (از بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد) و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر (مدل AFR-80، شرکت آرمینکو، ساخت ایران) نگه‌داری شد [۲۲].

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا هموژنه‌ی بافت عضله‌ی قلبی در لیز بافر RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با سمپل لودینگ بافر، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشاء ترانسفر شده (غشاء دیفورید پلی‌وینیلیدین Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane sigma) و بعد از بلوکه‌کردن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به‌مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه با آنتی‌بادی اولیه‌ی خرگوشی فرم تام‌ها anti-AKT1 (sc-135829)، anti-mTOR (Sc-1550-R)، anti-P70S6K1 (Sc-230) و anti-4E-BP1 (Sc-9977) فرم فسفریله‌ها anti-AKT1 (sc-52940)، anti-mTOR (Sc-293133)، anti-P70S6K1 (Sc-11759) و anti-4E-BP1 (#-2855) رقیق‌شده (۱/۵۰۰) در محلول بلاکینگ به‌مدت یک شب در دمای ٤ درجه پروب شدند. پس از سه بار شستشو با بافر فسفات نمکی توین‌دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی کونژوگه با HRP (sc-2004) در دمای اتاق به‌مدت یک ساعت مجاور گردیدند. ایمیون کمپلکس‌های ایجاد شده با روش کمی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل لودینگ کنترل (بتا اکتین) به‌صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شدند [۲۳].

تحلیل آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع نمرات در متغیرها، از آزمون پارامتریک t-وابسته و t-مستقل برای مقایسه گروه‌ها استفاده شده است. اطلاعات در قالب جدول مربوطه ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

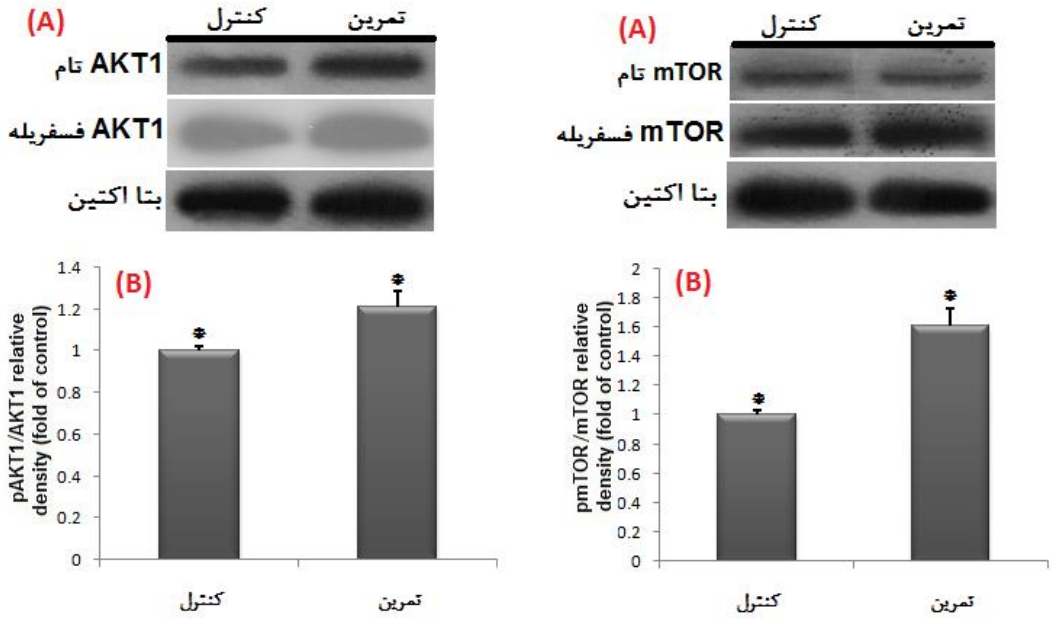
در پایان پژوهش، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که وزن (گرم) موش‌های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول کاهش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۰۰۱$)؛ همچنین، وزن موش‌های گروه تمرین به‌دنبال ٤ هفته تمرین هوازی، نسبت به هفته‌ی اول کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۱$). از طرفی، قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) موش‌های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۰۱$)؛ همچنین، قند خون موش‌های گروه تمرین به‌دنبال ٤ هفته تمرین هوازی، نسبت به هفته اول افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۳$) (جدول ۱).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

جدول ۱- نتایج آماری t-وابسته برای متغیرهای وزن (گرم) و قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)

متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار t	سطح معناداری
وزن (گرم)	کنترل (هفته‌ی اول)	۳۱۶/۰۰	۲۳/۳۷	۱۱/۵۷	۰/۰۰۰۱
	کنترل (هفته‌ی چهارم)	۱۹۳/۰۰	۸/۶۸		
	تمرین (هفته‌ی اول)	۳۲۲/۶۰	۱۷/۷۰	۸/۱۸	۰/۰۰۱
	تمرین (هفته‌ی چهارم)	۲۳۶/۸۰	۲۱/۵۵		
قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کنترل (هفته‌ی اول)	۳۳۹/۰۰	۲۰/۹۸	۹/۱۳	۰/۰۰۱
	کنترل (هفته‌ی چهارم)	۵۰۲/۸۰	۲۶/۷۵		
	تمرین (هفته‌ی اول)	۳۲۱/۲۰	۲۲/۷۶	۶/۴۱	۰/۰۰۳
	تمرین (هفته‌ی چهارم)	۴۸۸/۴۰	۱۳/۵۰		

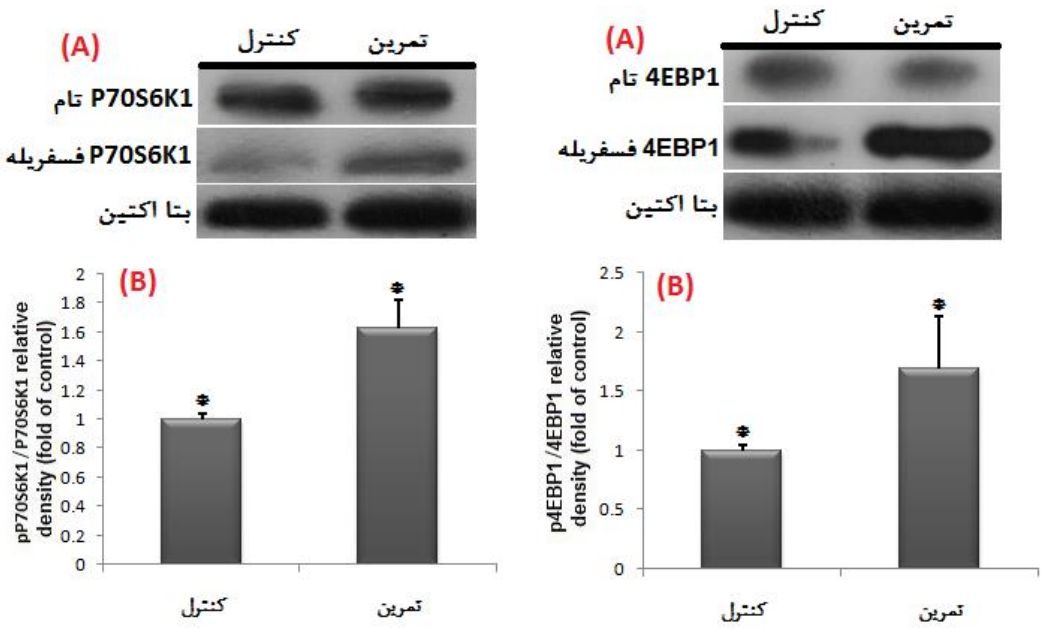
بعد از تحلیل و تجزیه داده‌های متغیرهای اصلی تحقیق، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به‌دنبال ٤ هفته تمرین هوازی، افزایش معنی‌داری میان محتوای پروتئین‌های p-AKT1^{ser473}/AKT1 (P<۰/۰۱۵)، p-mTOR^{ser2448}/mTOR (P<۰/۰۰۱)، p-P70S6K1^{Thr389}/P70S6K1 (P<۰/۰۰٦) و پروتئین p-4E-BP1$^{Thr37/46}$/4E-BP1 (P<۰/۰۵) در بین گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل وجود دارد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱- مقایسه محتوای پروتئین‌های AKT1 و mTOR در گروه‌های مورد مطالعه

(A)، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین‌های AKT1 و mTOR و بتا-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی (بتا-اکتین) در بافت عضله‌ی قلب. (B)، نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین AKT1 و mTOR در مقابل کنترل داخلی که به‌صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است. (* وجود سطح معنی‌داری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]



شکل ۲- مقایسه محتوای پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 در گروه‌های مورد مطالعه.

(A)، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 و β-actin به‌عنوان کنترل داخلی (بتا-اکتین) در بافت عضله قلب. (B)، نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان دهنده‌ی مقادیرکمی شده باندهای پروتئین P70S6K1 و 4EBP1 در مقابل کنترل داخلی که به‌صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است. (* وجود سطح معنی‌داری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج افزایش معنی‌داری را به‌دنبال ٤ هفته تمرین هوازی در محتوای پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1، 4EBP1 در گروه تمرین نسبت به کنترل نشان داد.

امروزه نشان داده شده است که تمرین هوازی یک راهبرد مفید غیردارویی برای درمان بیماری‌های قلبی و عروقی است. تمرین هوازی نه تنها در ارتباط با کاهش عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی است، بلکه در ارتباط با هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب به واسطه مسیرهای سلولی و سازوکارهای مولکولی در مقابل هیپرتروفی پاتولوژیک است [٢٤]. هنوز به درستی این مسیرها و سازوکارهای سلولی و مولکولی درک نشده است و مطالعات اندکی در این زمینه وجود دارد.

در تحقیقی Liao و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تنظیم مسیر mTOR در هیپرتروفی قلبی ناشی از تمرین هوازی در موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین هوازی به‌مدت ۸ هفته، ٤ روز در هفته با شدت‌های بالا و متوسط انجام شد. محتوای پروتئین AKT تنها در زمان ٦ ساعت پس از تمرین هوازی، محتوای پروتئین mTOR تنها در زمان ٦ و ۱۲ ساعت پس از تمرین هوازی در گروه تمرین با شدت متوسط افزایش معنی‌داری را نشان داد و در دیگر زمان‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد. محتوای پروتئین P70S6K1 در زمان ۱۲ و ٢٤ ساعت پس از تمرین هوازی در گروه تمرین با شدت متوسط و زمان ٢٤ ساعت پس از تمرین هوازی در گروه تمرین با شدت بالا معنی‌دار بود و در دیگر زمان‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد [۲۵]. در تحقیق Liao و همکاران نتایج متفاوتی در محتوای پروتئین‌های AKT، mTOR و P70S6K1 در زمان‌های متفاوت و تمرین‌های ورزشی با شدت متوسط و بالا گزارش شده است، که در بعضی از زمان‌ها با محتوای پروتئین‌های تحقیق حاضر هم‌سو و در بعضی از زمان‌ها ناهم‌سو است. نتایج تحقیق حاضر ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی ورزشی اندازه‌گیری شده است که محتوای پروتئین‌های AKT، mTOR و P70S6K1 در گروه تمرین هوازی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد. از دیگر دلایل احتمالی بیمار بودن آزمودنی‌های تحقیق حاضر است که مبتلا به دیابت نوع

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

یک بودند. همچنین، می‌توان به‌شدت تمرین ورزشی اشاره کرد. از دیدگاه مولکولی، تمرین هوازی با شدت بالا در مقایسه با تمرین هوازی با شدت پایین تا متوسط ممکن است بر سیگنالینگ‌های مولکولی تأثیرات متفاوتی داشته باشد. به‌عنوان مثال، نشان داده شده است که فعالیت تنظیم‌کننده‌های منفی مسیر mTOR، مانند AMPK با تمرینات هوازی با شدت‌های مختلف، کاهش یا افزایش می‌یابد [۲۶].

در تحقیقی دیگر Ma و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرین شنا بر هیپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT/mTORدر موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج افزایش معنی‌داری را در محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR نشان دادند. محققان این پژوهش گزارش کردند که این یافته‌ها با یک مدل سازگار است و در آن تمرین ورزشی ممکن است باعث هیپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنالینگ PIK3/AKT/mTOR شود [۱۵]. چنانچه که از نتایج تحقیق حاضر و دیگر محققان مانند Liao و همکاران و Ma و همکاران مشخص می‌شود تمرین ورزشی می‌تواند با فعال کردن فاکتورهای رشدی (انسولین (IGF-1/از طریق مسیر PI3K-AKTمنجر به تنظیم mTORC1 در بافت قلب شود [۲۵، ۱۵]. پروتئین AKT از طریق غیر فعال‌کردن کمپلکس تیوبروز اسکلروز ۱/۲ (TSC1/2) و فعال‌کردن پروتئین Rheb مسیر mTORC1را تنظیم و فعال می‌کند [۲۷].

مسیر سیگنالینگ mTORC1 سنتز پروتئین را از طریق تغییرات فسفریلاسیون پروتئین‌های بالادست مانند انسولین IGF-1/ و AKT و پروتئین‌های پایین دست مانندP70S6K ، 4EBP1 تنظیم می‌کند [۲۸]. بنابراین تمرین‌های متداول ورزشی یک محرک قوی است که قادر به ایجاد تغییرات در انتقال سیگنال و متابولیسم سلولی است که با شدت، نوع و مدت زمان تمرین ورزشی تغییر می‌کند؛ بنابراین، انتخاب تمرین‌های ورزشی با شرایط (شدت، نوع و مدت زمان) متفاوت جهت سازگاری بیوشیمیایی و مورفولوژیکی خاص مهم است [۲۹].

در تحقیقی دیگر Bacurau و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تمرین هوازی بر محتوای پروتئین‌های AKT و P70S6K1 و EBP1 ٤ در موش‌های دارای نقص قلبی پرداختند. تمرین هوازی به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته با مدت زمان ٦۰ دقیقه در هر تمرین با ٦۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. نتایج افزایش معنی‌داری را در محتوای پروتئین AKT در گروه تمرین+نقص‌قلبی و کاهش معنی‌داری را در گروه نقص قلبی تنها نسبت به گروه کنترل نشان داد. محتوای پروتئین P70S6K1 در گروه تمرین+نقص قلبی بدون تغییر و کاهش معنی‌داری را در گروه نقص قلبی تنها نسبت به گروه کنترل نشان داد. محتوای پروتئین EBP1 ٤ کاهش معنی‌داری را در گروه تمرین+نقص قلبی و گروه نقص قلبی تنها نسبت به گروه کنترل نشان داد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Bacurau و همکاران در محتوای پروتئین AKT هم‌راستا است. زیرا در هر دو تحقیق محتوای پروتئین AKT از طریق تمرین هوازی افزایش یافته است. اما در محتوای پروتئین‌های P70S6K1 و EBP1 ٤ هم‌راستا نیست. زیرا در تحقیق حاضر محتوای این دو پروتئین افزایش معنی‌داری یافته است. اما در تحقیق Bacurau و همکاران محتوای پروتئین P70S6K1 در گروه تمرین+نقص قلبی بدون تغییر و محتوای پروتئین EBP1 ٤ کاهش معنی‌داری یافته بود [۳۰]. از سازوکارهای احتمالی که به تازگی ارائه شده است نظریه‌ی گیرنده‌های مکانیکی در سطح سلول مانند انتگرین، دسیتروفن و کانال‌های فعال‌شده از طریق کشش است. بنابراین، می‌توان گفت که تمرین ورزشی با تأثیر بر بعضی از پروتئین‌ها و سازوکارها می‌تواند به‌صورت مستقل منجر به فعال‌شدن mTOR شود [۳۱].

یکی از سازوکارهای احتمالی تاثیرگذار دیگر بر مسیر mTORC1 بیماری دیابت است. اعتقاد بر این است دیابت، عامل شروع کننده‌ای است که به‌تدریج منجر به اختلال در عملکرد سلول β و در نهایت مرگ سلول β می‌شود [۳۲]. مسیر mTOR بسته به شرایط پاتولوژیک می‌تواند رفتارهای متفاوتی نشان دهد. mTOR می‌تواند سازگاری سلول‌های β را به قند خون تنظیم کند و همچنین می‌تواند عوارض را بیشتر کند، اما مشخص‌شده است که مهار مزمن مسیر mTOR نیز می‌تواند دیابت را القاء کند [۳۳]. علاوه بر این، در سلول‌های عضلانی قلبی، مهار mTOR نیز منجر به مقاومت به انسولین توسط اختلال در سیگنالینگ AKT شده است که باعث کاهش انتقال

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

گلوکز در سراسر غشای پلاسمایی می‌شود [۳٤]. نتایج دیگر تحقیقات نشان داده‌اند فعال‌شدن mTORC1 توسط اختلال در پروتئین TSC2 در سلول‌های β منجر به هیپرانسولینمی، گسترش جرم سلولβ، کاهش سطح گلوکز خون و بهبود تحمل گلوکز می‌شود. با این حال، به‌نظر می‌رسد اختلال در سیگنالینگ mTORC1/S6K1 منجر به تشدید مقاومت به انسولین و در نتیجه توسعه‌ی دیابت می‌شود [۳۵].

در بالا ذکر شد که پروتئین AKT با مهار کمپلکس توبروز اسکلروز ۱ و ۲ (TSC1/2) سیگنالینگ وابسته به mTORC1 را کنترل می‌کند. پروتئین AKT به‌طور مستقیم TSC2 را در دو محل سرین ۹۳۹ و ترئونین ۱٤٦۲ فسفریله می‌کند. این امر در نتیجه اجازه می‌دهد Rheb به شکل متصل به GTP فعال شود، به‌طوری که سپس منجر به فعال‌شدن mTORC1 و عوامل پایین‌دست آن یعنی پروتئین‌های p70S6K1 و ٤ E-BP1 می‌شود [۳٦]. در تحقیق Bacurau و همکاران تمرین هوازی محتوای پروتئین AKT را در افراد دیابتی افزایش داد؛ اما نتوانست محتوای پروتئین‌های p70S6K1 و ٤ E-BP1 را افزایش معنی‌داری دهد [۳۰]. اما در تحقیق حاضر ما مشاهده کردیم که تمرین هوازی علاوه بر افزایش محتوای پروتئین AKT محتوای دو پروتئین پایین‌دست p70S6K1 و ٤ E-BP1 را افزایش معنی‌داری داده است که می‌توان گفت فعال‌شدن این مسیر منجر به سنتز پروتئین از طریق تمرین ورزشی شده است. البته محدودیت‌های تحقیق حاضر نیز حائز اهمیت است. به‌عنوان مثال اندازه‌گیری مسیر آتروفی که بر خلاف مسیر سنتز یعنی mTORC1 بود مانند مسیر mTORC2 یا مسیر FOXO بسیار می‌توانست در روشن شدن عوامل تأثیرگذار باشد.

در نهایت، نتایج تحقیق حاضر به‌دنبال ٤ هفته تمرین هوازی منجر به فعال‌شدن سیگنالینگ AKT1/mTOR/P70S6K1 و AKT1/mTOR/4E-BP1 در مسیر mTORC1 بافت عضله‌ی قلب در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع یک شده است؛ بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر تمرین هوازی منجر به سنتز پروتئین از طریق مسیر mTORC1 شده است. این احتمالاً می‌تواند هیپرتروفی فیزیولوژیک از طریق تمرین هوازی را افزایش دهد که این امر می‌تواند از هیپرتروفی پاتولوژیک یا کاردیومیوپاتی دیابتی جلوگیری کند.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل تلاش نویسندگان این تحقیق است که در دانشگاه علوم پزشکی شیراز و دانشگاه شیراز انجام شده است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

مآخذ

1. Atkins RC, Zimmet P. Diabetic kidney disease: act now or pay later. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2010; 25(2):331-3.
2. Foos V, Varol N, Curtis BH, Boye KS, Grant D, Palmer JL, et al. Economic impact of severe and non-severe hypoglycemia in patients with Type 1 and Type 2 diabetes in the United States. *Journal of medical economics* 2015; 18(6):420-32.
3. Kanamori H, Takemura G, Goto K, Tsujimoto A, Mikami A, Ogino A, et al. Autophagic adaptations in diabetic cardiomyopathy differ between type 1 and type 2 diabetes. *Autophagy* 2015; 11(7):1146-60.
4. Hölscher M, Bode C, Bugger H. Diabetic cardiomyopathy: does the type of diabetes matter?. *International journal of molecular sciences* 2016; 17(12): 1-10.
5. Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M, et al. Treadmill Training Modifies KIF5B Moter Protein in the STZ-induced Diabetic Rat Spinal Cord and Sciatic Nerve. *Archives of Iranian Medicine* 2015; 18(2) 94-101.
6. Kim JA, Jang HJ, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. Activation of mTOR/p70S6 kinase by ANG II inhibits insulin-stimulated endothelial nitric oxide synthase and vasodilation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2011; 302(2): 201-8.
7. Jia G, Habibi J, DeMarco VG, Martinez-Lemus LA, Ma L, Whaley-Connell AT, et al. Endothelial mineralocorticoid receptor deletion prevents diet-

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

induced cardiac diastolic dysfunction in females. *Hypertension* 2015; 66 (6): 1159-67.
8. Jia G, DeMarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. *Nature Reviews Endocrinology* 2016; 12(3):144-53.
9. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell* 2017; 168(6):960-76.
10. Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. New insights into the role of mTOR signaling in the cardiovascular system. *Circulation research* 2018; 122(3):489-505.
11. Hoppeler H, Baum O, Lurman G, Mueller M. Molecular mechanisms of muscle plasticity with exercise. *Comprehensive Physiology* 2011; 1: 1383-1412
12. Klossner S, Durieux AC, Freyssenet D, Flueck M. Mechano-transduction to muscle protein synthesis is modulated by FAK. *European journal of applied physiology* 2009; 106(3):389-98.
13. Yang Z, Scott CA, Mao C, Tang J, Farmer AJ. Resistance exercise versus aerobic exercise for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Sports medicine* 2014; 44(4):487-99.
14. Azari N, Rahmati M, Fathi M. The effects of endurance exercise on blood, glucose, insulin and insulin resistance in patients with type II diabetes: a systematic review and meta-analysis of studies in iran. *Iranian journal of diabetes and Metabolism* 2018; 17 (2) :65-78.
15. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *European journal of applied physiology* 2013; 113(10):2473-86.
16. Kemi OJ, Ceci M, Wisloff U, Grimaldi S, Gallo P, Smith GL, et al. Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *Journal of cellular physiology* 2008; 214(2):316-21.
17. Zarei F, Shadmehri S, Daryanoosh F, Sherafati Moghadam M, Mahmoodi M T. The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on the serum levels of chemerin, omentin-1 and apelin on overweight female Sprague-Dawley rats**.** Journal of Shahid Sadoughi University **of** Medical Sciences 2018; 26 (6) :473-82.
18. Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, Nargis S, Chattopadhyay M. Effect of exercise on neurogenic inflammation in spinal cord of Type 1 diabetic rats. *Brain research* 2016; 1642:87-94.
19. Moradi M, Ravasi A, Khalafi M, Talebi V. The Effect Of A High Intensity Interval Exercise (Hiie) On Hypothalamic Nesfatin-1 Gene Expression Of Diabetic Male Rats. *Iranian journal of diabetes and Metabolism* 2018; 17 (3) :117-24.
20. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr-/- mice: role of aerobic exercise training. *American journal of cardiovascular disease* 2017; 7(2):64-71.
21. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. *Proteomics* 2009; 9(1): 106-15.
22. Shabani M, Daryanoosh F, Salesi M, Kooshki Jahromi M, Fallahi AA. Effect of continuous training on the level of PPAR-γ and PRDM16 proteins in adipose tissue in overweight diabetes rats. *J Qazvin Univ Med Sci* 2018; 22 (3) :4-12.
23. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1α content and endurance exercise performance in rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14 (1): 1-8.
24. Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1α and Akt activation. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015; 35(6):2159-68.
25. Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. Regulation of mTOR pathway in exercise-induced cardiac hypertrophy. *International journal of sports medicine* 2015; 36(05):343-50.
26. Rose AJ, Bisiani B, Vistisen B, Kiens B, Richter EA. Skeletal muscle eEF2 and 4EBP1 phosphorylation during endurance exercise is dependent on intensity and muscle fiber type. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2009; 296(2):R326-33.
27. Menon S, Dibble CC, Talbott G, Hoxhaj G, Valvezan AJ, Takahashi H, et al. Spatial control of the TSC complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. *Cell* 2014; 156(4):771-85.
28. Showkat M, Beigh MA, Andrabi KI. mTOR signaling in protein translation regulation: implications in cancer genesis and therapeutic interventions. *Molecular biology international* 2014; 1-14.
29. Coffey VG, Jemiolo B, Edge J, Garnham AP, Trappe SW, Hawley JA. Effect of consecutive repeated sprint and resistance exercise bouts on acute adaptive responses in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2009; 297(5): 1441-51.
30. Bacurau AV, Jannig PR, de Moraes WM, Cunha TF, Medeiros A, Barberi L, et al. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice. *International journal of cardiology* 2016; 214:137-47.
31. Pankov R, Cukierman E, Clark K, Matsumoto K, Hahn C, Poulin B, Yamada KM. Specific β1 integrin

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

site selectively regulates Akt/protein kinase B signaling via local activation of protein phosphatase 2A. *Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(20):18671-81.

32. Suryawan A, O'Connor PM, Bush JA, Nguyen HV, Davis TA. Differential regulation of protein synthesis by amino acids and insulin in peripheral and visceral tissues of neonatal pigs. *Amino acids* 2009; 37(1):97-104.
33. Xie J, Herbert TP. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in the regulation of pancreatic β-cell mass: implications in the development of type-2 diabetes. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2012; 69(8):1289-304.
34. Yang SB, Lee HY, Young DM, Tien AC, Rowson-Baldwin A, Shu YY, et al. Rapamycin induces glucose intolerance in mice by reducing islet mass, insulin content, and insulin sensitivity. *Journal of molecular medicine* 2012; 90(5):575-85.
35. Shigeyama Y, Kobayashi T, Kido Y, Hashimoto N, Asahara SI, Matsuda T, et al. Biphasic response of pancreatic β-cell mass to ablation of tuberous sclerosis complex 2 in mice. *Molecular and cellular biology* 2008; 28(9):2971-9.
36. Wallace MA, Hughes DC, Baar K. mTORC1 in the Control of Myogenesis and Adult Skeletal Muscle Mass. *In Molecules to Medicine with mTOR* 2016; 37-56.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]

THE EFFECT OF 4 WEEKS' AEROBIC TRAINING ON THE CONTENT OF MTORC1 SIGNALING PATHWAY PROTEINS IN HEART TISSUE OF TYPE 1 DIABETES RATS

Neda Aghaei[1], Mohammad Sherafati Moghadam[2], Farhad Daryanoosh[*3], Saeedeh Shadmehri[4], Shiva Jahani Golbar[4]

1. *Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, AliabadKatoul Branch, Iran*
2. *Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran*
3. *Department of exercise physiology, Faculty of Education and Psychology, University of Shiraz, Iran*
4. *Department of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Yadegar-e-imam Khomeini (RAH) Shahr-e Ray Branch, Tehran, Iran*

ABSTRACT

Background: The mTORC1 pathway is one of the important pathways for protein synthesis in the heart, which can lead to physiological or pathological hypertrophy. Diabetes can lead to defects in this pathway. The aim of this study was to examine the effect of 4 weeks' aerobic training on the content of mTORC1 signaling pathway proteins in heart tissue of type 1 diabetes rats.

Methods: In this experimental study, 16 Sprague-Dawley male rats (mean weight of 300 ± 20 gr) were selected and after induction of diabetes by STZ was randomly assigned into two groups: diabetic training and diabetic control. The experimental group performed HIIT training for 4 weeks' accordance with the training program (each session 42 minutes, 10-20 m/m) for 4 weeks, while the control group did not have any training program. Dependent t-test and independent T-test were used to analyze the data.

Results: Significant increase was observed in the content of AKT1 ($p<0.015$), mTOR ($p<0.001$), P70S6K1 ($p<0.006$), 4EBP1 ($p<0.05$) proteins in the aerobic training group compared to control group.

Conclusion: Aerobic training for 4 weeks enabled to activate the pathway AKT1/mTOR/P70S6K1 and AKT1/mTOR/4E-BP1 in mTORC1 pathway; therefore, due to cardiac complications in type 1 diabetic patients, aerobic training can lead to protein synthesis and physiological cardiac hypertrophy through mTORC1 pathway.

Keywords: Aerobic Training, AKT1, Heart Tissue, mTOR, P70S6K1, Type 1 Diabetes, 4EBP1

[*] Physical Education Management, Shiraz University Shiraz, Eram Square, Shiraz, Iran. Fax: +987136272748, Tel: +987136135250, Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-07-05]