مجله دیابت و متابولیسم ایران. خرداد- تیر ۱۳۹۹؛ دوره ۱۹ (شماره ۵) ۲۶۰-۲۵۲

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو

مسعود جوکار*[1]، محمد شرافتی مقدم[2]، محسن ثالثی[3]

چکیده

مقدمه: یکی از مسیرهای بیولوژیکی مهم درگیر در حفظ هموستاز انرژی، مسیر AMPK/PGC-1α است. فعال‌شدن این مسیر از طریق تمرین ورزشی می‌تواند در تنظیم فرآیندهای بایوژنز میتوکندری و حفظ تعادل انرژی در افراد دیابتی مهم باشد؛ بنابراین، هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تمرین ورزشی بر میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزنی ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی و کنترل دیابتی (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین ٤ روز در هفته به‌مدت ۸ هفته شامل ۳۰ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t-مستقل در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد.

یافته‌ها: افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین‌های AMPK (P=۰/۰۰۲) و PGC-1α (P=۰/۰۰۰۱) در گروه تمرین استقامتی نسبت به کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج تحقیق حاضر، تمرین استقامتی توانست میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α را افزایش معنی‌داری دهد؛ بنابراین، به احتمال زیاد افزایش این پروتئین‌ها می‌تواند منجر به تولید انرژی و افزایش بیوژنز میتوکندریایی شود.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، بطن چپ قلب، پروتئین AMPK، پروتئین PGC-1α، دیابت نوع دو

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- گروه عمومی و پایه، واحد هشتگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران

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

* ***نشانی***: تهران، خیابان مفتح جنوبی، دانشگاه خوارزمی، مدیریت تربیت بدنی، کدپستی: ۱۵۷۱۹۱۴۹۱۱، صندوق پستی: ۱۵۸۱۵۳۵۸۷، نمابر: ۰۲۱۸٦۰۷۲٦۹۹، تلفن: ۰۹۱۲۵۸٤۱۷۱۲، پست الکترونیک: m.jokar742@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۵ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۰۴/۰۸** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۵**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

مقدمه

افراد دیابتی از عوارض قلبی-عروقی مختلفی از جمله بیماری عروق کرونر، فشار خون بالا و بیماری کلیوی رنج می‌برند. به این ترتیب، افراد مبتلا به دیابت مستعد نارسایی قلبی بیشتر از ۲۰ تا ٤۰ درصد هستند [۱]. علاوه بر بیماری‌های قلبی‌عروقی، کاردیومیوپاتی دیابتی مشخصه‌ی خاصی از بیماری‌های قلبی-عروقی است که توسط فیبروز قلبی، اختلال در عملکرد دیاستولیک با کاهش کسر خروجی و هیپرتروفی بطن چپ (LVH)[1] مشخص می‌شود [۲، ۳]. کاردیومیوپاتی دیابتی به‌طور غیر طبیعی منجر به رسوب در ماتریس، افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب، ایجاد اختلال در میتوکندری و تغییر در تولید انرژی و سوخت و ساز بدن می‌شود [٤]. میتوکندری به‌عنوان «نیروگاه انرژی» در نظر گرفته می‌شود که برای تولید ATP در قلب وجود دارند. میتوکندری تقریباً ۳۰ درصد از حجم قلب بالغ را اشغال می‌کند. همچنین، علاوه بر متابولیسم اکسیداتیو، میتوکندری تنظیم‌کننده‌ی چند مسیر سیگنالینگ فیزیولوژیکی برای واکنش‌های بیوشیمیایی و انتقال سیگنالینگ است [۵]. اختلال در میتوکندری به‌طور گسترده در قلب‌های بیماران قلبی مشاهده شده است. بنابراین، تمرکز بر میتوکندری می‌تواند یک انتخاب خوب برای بازگرداندن تعادل انرژی در بیماران قلبی باشد [٦].

مسیرهای بیولوژیکی که در حفظ هموستاز انرژی درگیر هستند، برای درمان‌های دارویی و مبارزه با مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی هدف‌گذاری شده‌اند. یکی از مسیرهای بیولوژیک، پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK)[2] است که به‌عنوان یک آنزیم کلیدی در تنظیم متابولیسم شناخته می‌شود [۷].

AMPK، یک پروتئین کیناز به شکل کمپلکس است و متشکل از سه زیر واحد می‌باشد؛ ۱) زیر واحد کاتالیکی α، یک کیناز واقعی که فعالیت آن به‌وسلیه فسفریله شدن Thr172 تنظیم می‌شود. ۲) زیر واحد β، محل نگه‌داری آنزیم‌ها و حس‌گر گلیکوژن است. ۳) زیر واحد γ، متصل شونده است و می‌تواند نسبت‌های AMP/ADP/ATP را حس کند [۸]. فعال‌سازی AMPK اثرات متفاوتی در بافت‌های مختلف دارد، به‌طوری که در عضلات اسکلتی و عضله‌ی قلبی باعث تحریک برداشت گلوکز، اکسیداسیون FAA، جابجایی و فعال‌سازی انتقال‌دهنده‌ی گلوکز نوع ٤ (GULT4)[3] و بیوژنز میتوکندریایی می‌شود و مهار سنتز پروتئین و گلیکوژن را در پی دارد [۹].

پروتئین گیرنده‌ی فعال‌کننده‌ی تکثیر پراکسیزوم گاما هماهنگ‌کننده-۱ آلفا (PGC-1α)[4] به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ی اصلی بیوژنز میتوکندری و همچنین عامل مهم در کنترل رونویسی سلولی برای تنظیم عملکرد میتوکندریایی در پاسخ به محرک‌های متابولیکی مختلف شناخته شده است. فسفوریلاسیون و دآسیلاسیون[5] PGC-1α برای تنظیم افزایشی PGC-1α و ژن‌های میتوکندری ضروری است [۱۰]. PGC-1α یکی از مهم‌ترین کواکتیویتورهای (هماهنگ‌کننده‌های) رونویسی است که به‌طور مثبتی بیان ژن‌های مرتبط با سازگاری‌های متابولیکی و میتوکندریایی را تنظیم می‌کند و در نتیجه بر انتخاب سوبسترای قلبی، عملکرد میتوکندری، ظرفیت تولید ATP و نیز تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS)[6] تأثیر می‌گذارد [۱۱].

در کل، سازوکارهای سلولی و مولکولی تغییرات در عملکرد بافت قلبی به‌دنبال تمرینات ورزشی به درستی بررسی و درک نشده است، که این درک ضعیف نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. فعالیت‌های ورزشی را می‌توان به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفت. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که هنگام فعالیت ورزشی، تغییرات ساختاری و عملکردی بطنی نسبت به سایر بخش‌های قلب بیشتر است [۱۲].

فعالیت ورزشی منظم و فعالیت جسمانی به‌عنوان راهبردی مؤثر برای پیشگیری و درمان بیماری چاقی و دیابت در نظر گرفته می‌شود [۱۳]. هر چند متغیرهای برنامه‌ی تمرینی مانند نوع، شدت و مدت فعالیت ورزشی نیز می‌تواند آثار متفاوتی بر دیابت و چاقی داشته باشند [۱٤]. حجم فعالیت ورزشی، مشخص کننده‌ی

[1] Left Ventricular Hypertrophy
[2] AMP-activated protein kinase

[3] Glucose Transporter Type4
[4] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α)
[5] Deacylation
[6] Reactive oxygen species

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

مصرف انرژی است که این نیز بستگی به‌مدت زمان و شدت آن دارد. با توجه به کالج پزشکی ورزشی آمریکا (ACSM)[1]، کالج اروپایی علوم ورزشی[2]، کالج متخصصان قلب آمریکا[3] و نیروی کار انجمن قلب آمریکا[4]، فعالیت ورزشی مداوم حدود ۱۵۰ دقیقه فعالیت ورزشی با شدت متوسط در هفته بدون محدودیت غذایی ممکن است منجر به کاهش وزن و افزایش عملکرد شود [۱۵].

در تحقیقی Ma و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر تمرین هوازی شنا بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی پرداخته‌اند. میزان پروتئین AMPK در هفته‌ی دوم و چهارم در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته بود [۱۶]. در تحقیقی Baghadam و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن PGC-1α بافت قلب در رت‌های دیابتی شده پرداختند. مدت و شدت فعالیت از ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع و به‌صورت تدریجی به ۴۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه در هفته هشتم رسید. تمرین هوازی موجب افزایش معنی‌دار غلظت PGC-1α بافت قلب شد [۱۷].

در طول سال‌های گذشته، تحقیقات اساسی یک شبکه‌ی پیچیده از ساز و کارهای تنظیمی از مسیرها و پروتئین‌ها را نشان داده‌اند که در کنترل آبشار سیگنالینگ انسولین بسیار مهم هستند. شناسایی رفتار پروتئین‌ها در هیپرتروفی قلب برای آریتمی، نارسایی قلبی و مرگ ناگهانی مفید است. هدف قرار دادن عملکردهای این پروتئین‌ها به‌دنبال تمرینات ورزشی مبهم است که شناسایی این عوامل مبهم می‌تواند یک ابزار قدرتمند در درمان بیماری قلبی فراهم کند. از طرفی دیگر بیماران دیابتی مستعد عارضه‌ی کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی در قلب خود هستند. بنابراین، تمرینات ورزشی می‌تواند عامل غیردارویی مهمی به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفته شود. تحقیقات بسیار کمی، نقش سازوکار سلولی پروتئین‌های AMPK و PGC-1α را در قلب افراد مبتلا به دیابت نوع دو بررسی کرده‌اند؛ بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع دو است.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به‌صورت گروه تمرین و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و چرخه‌ی 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. 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.

بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[5] (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵) به‌صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید [۱۸]. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه‌ی خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی اندازه‌گیری شد. قند خون بالای ۱۳۰ تا ۲۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع دو در نظر گرفته شد [۱۹].

پس از القای دیابت، موش‌های صحرایی به روش تصادفی به دو گروه: تمرین دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند (هر گروه ۶ سر). موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند.

[1] American College of Sports Medicine (ACSM)
[2] European College of Sport Science
[3] American College of Cardiology
[4] American Heart Association task force
[5] Streptozotocin

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

برنامه‌ی گروه تمرین به‌مدت ۸ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. موش‌های گروه تمرین در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی اصلی شامل ۳۰ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد کردند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ٤۲ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت [۲۰]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند.

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 [۲۱].

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 جلسه‌ی 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 بطن چپ قلبی از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد شده و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد فریزر شد [۲۲].

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت بطن چپ قلب از بافر RIPA[1] حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس[2] (pH=۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد اتیلن گلیکول تتراستیک اسید (EGTA)[3]، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)[4] به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ساخت شرکت سیگما[5]) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت قلب در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن و نیم ساعت در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد. سپس در یک سانتریفیوژ یخچال‌دار (Bo, sw14rfroil) در دور ۱۲ هزار و ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری‌شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad، ساخت آمریکا) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگه‌داری شد، سپس هموژن به‌دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه‌ی لودینگ بافر (mM50 تریس-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید.

در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به‌مدت ۱ ساعت در ۵ درصد سرم آلبومین گاوی (BSA)[6] در بافر تریس سالین[7] و ۰/۱ درصد بافر تریس سالین توئین-۲۰ (TBST)[8] مسدود و در آنتی‌بادی اولیه (۵۰۰:۱) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ٤ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL)[9] و تجزیه و تحلیل چگالی‌سنجی[10] با نرم‌افزار Image J (نسخه 1.8.0_112) اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی اولیه و ثانویه anti-AMPKα1/2 (D-6) (Sc-74461) (شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا) و anti- PGC-1α (ab54481) (شرکت abcam ساخت کشور آمریکا) مورد استفاده قرار گرفتند [۲۳].

از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS)[11] برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌ها استفاده و باتوجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک تی مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شده

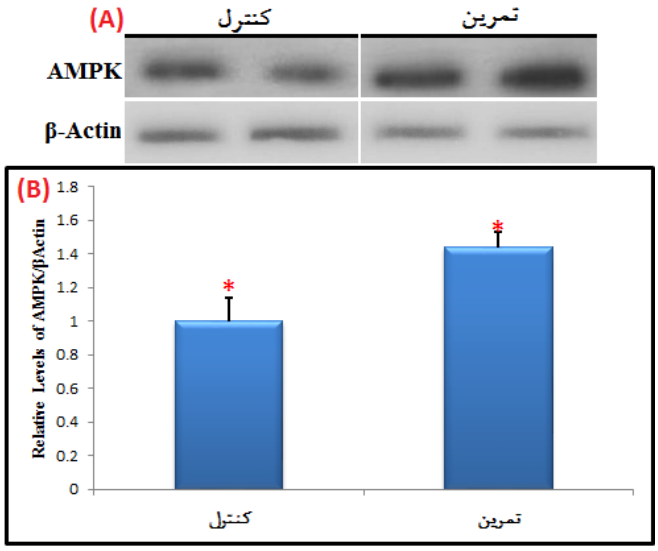
[1] Radioimmunoprecipitation Assay Buffer
[2] Tris
[3] Ethylene Glycol Tetraacetic Acid (EGTA)
[4] Sodium dodecyl sulfate (SDS)
[5] Sigma
[6] Bovine Serum Albumin (BSA)
[7] Tris-Buffered Saline
[8] Tris-Buffered Saline-Tween
[9] Chemiluminescence (ECL)
[10] Densitometry
[11] Kolmogorov–Smirnov test

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ نجام گرفت. سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

به‌دنبال ۸ هفته تمرین استقامتی، افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین AMPK بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ قلبی وجود داشت (P=۰/۰۰۲) (شکل ۱، A و B). همچنین، ۸ هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین PGC-1α بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ قلبی شد (P=۰/۰۰۰۱)(شکل ۲، A و B).

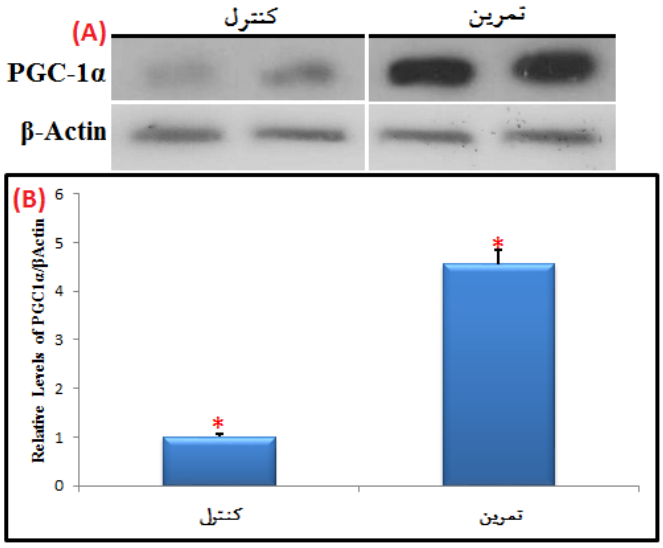


شکل ۱- مقایسه میزان پروتئین AMPK در گروه‌های مورد مطالعه.

A: تصاویر وسترن‌بلات پروتئین AMPK و بتا-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی در بافت عضله‌ی قلب.

B: میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین AMPK در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به‌صورت چند برابر از گروه شاهد ارائه شده است.

(*وجود تفاوت معنی‌داری بین پروتئین‌ها در سطح ۰/۰۵)



شکل ۲- مقایسه میزان پروتئین PGC-1α در گروه‌های مورد مطالعه.

A: تصاویر وسترن‌بلات پروتئین PGC-1α و بتا-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی در بافت عضله‌ی قلب.

B: میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده‌ی باندهای پروتئین PGC-1α در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به‌صورت چند برابر از گروه شاهد ارائه شده است.

(*وجود تفاوت معنی‌داری بین پروتئین‌ها در سطح ۰/۰۵)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل شد.

نقص‌های قلبی از جمله کاردیومیوپاتی قلب یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. یک آرایه‌ی وسیعی از حوادث پاتوفیزیولوژیک و مولکولی منجر به توسعه و در نهایت بدتر شدن نقص‌های قلبی می‌شود. نقص در فرآیند متابولیک جهت تولید ATP منجر به نقص در حفظ عملکرد انقباضی می‌شود و یکی از عوامل اصلی بروز نقص قلبی است. عامل اصلی در تنظیم سوخت و ساز میوکارد، AMPK است که یک کیناز عمده‌ی نظارتی و مسؤول کنترل مسیرهای متابولیکی متعدد است [۲٤].

در اینجا، ما به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب پرداختیم. در راستای تحقیق انجام شده Sun و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به اسکمی پرداختند. موش‌ها تمرین ورزشی دویدن روی تردمیل با مدت زمان ۱۰ ، ۳۰ و ٦۰ دقیقه با سرعت ۰/٦ مایل در ساعت، ۱۲/۵ درصد را انجام دادند. میزان پروتئین AMPK در زمان‌های ۱۰، ۳۰، ٦۰ دقیقه نسبت به زمان صفر افزایش معنی‌داری یافته بود [۲۵]. نتایج تحقیق Sun و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است؛ زیرا در هر دو تحقیق تمرین ورزشی منجر به افزایش میزان پروتئین AMPK شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تمرین هر دو تحقیق از نوع استقامتی بوده است و با توجه به این که در تحقیق Sun و همکاران تمرین استقامتی در یک جلسه بوده است که میزان پروتئین AMPK در سه زمان افزایش یافته بود. نتایج هر دو تحقیق نشان دهنده‌ی این مطلب است که احتمالاً تمرین استقامتی با توجه به شدت و مدت زمان آن می‌تواند بر میزان AMPK تأثیرگذار باشد.

یکی از اقدامات فیزیولوژیکی AMPK که باعث بهبود فرآیندهای کاتابولیک می‌شود تولید بیشتر ATP است. سنتز پروتئین بخشی از فرآیندهایی است که منجر به مصرف ATP می‌شود. میانجی کلیدی هیپرتروفی قلبی، سنتز پروتئین توسط فرآیند مصرف انرژی است که از کشیدگی پپتید زنجیره‌ای در ریبوزوم کنترل می‌شود [۲٦]. AMPK قادر به فسفریله کردن تعدادی زیادی آنزیم می‌شود و از این طریق سنتز پروتئین را مهار می‌کند. فعال‌سازی دارویی یا درون‌زا AMPK می‌تواند هیپرتروفی قلبی (پاتولوژیک) را معکوس کند [۲۷]. یکی از این مسیرهای مهم مسیر mTORC1 است که نقش بسیار مهمی در سنتز پروتئین دارد. بنابراین، پروتئین AMPK با مهار این مسیر از هیپرتروفی قلبی جلوگیری می‌کند. همچنین مسیر mTORC1 در دیابت نوع دو از طریق فعال‌سازی پروتئین ULK1 منجر به مرگ سلولی (اتوفاژی) بیش از اندازه‌ی سلول‌های قلبی می‌شود، که فعال‌شدن پروتئین AMPK منجر به مهار مسیر mTORC1 و در نتیجه مهار پروتئین ULK1 و اتوفاژی می‌گردد [۲۸].

عمل AMPK برای تنظیم متابولیسم سلولی بسیار مربوط به بیماری‌های قلبی است، که در آن اختلال در تعادل انرژی می تواند به اختلال در عملکرد انقباضی قلب و مرگ سلولی منجر شود. به‌طور معمول، قلب در حفظ هموستاز انرژی برای تولید ATP، در درجه‌ی اول وابسته به اکسیداسیون مواد میتوکندری است [۲۹]. فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی موجب افزایش مصرف ATP می‌گردد و مصرف ATP در عضلات، خود کاهش نسبت ATP/AMP و افزایش فعالیت AMPK را به‌دنبال دارد. نتیجه‌ی این واکنش‌ها، افزایش جابجایی GLUT4 از درون سلول به سطح غشاء است. آنزیم هتروتریمریک AMPK، از طریق افزایش جابجایی و بیان GLUT4 به بهبود برداشت گلوکز کمک می‌کند [۳۰].

علاوه بر این فعال‌سازی AMPK می‌تواند به‌طور مستقیم منجر به تنظیم فاکتورهای رونویسی مانند پروتئین‌های FOXO و PGC-1α شود که نقش مهمی در تنظیم هموستاز قلبی در افزایش انرژی دارند. PGC-1α یک عامل کلیدی رونویسی است که مسؤول هماهنگی گسترده‌ی برنامه‌های ژنتیکی مانند پیدایش حیات سلولی میتوکندری، دینامیک میتوکندری، حمل و نقل سوخت و/یا مصرف و رگزایی است [۳۱]. در تحقیقی

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

Wang و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی هوازی بر روی پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت پرداختند. تمرین ورزشی به مدت ۱۶ هفته با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای یک ساعت در هفته بود. میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در گروه تمرین دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی یافته بود [۳۲]. نتایج تحقیق Wang و همکاران با نتایج تحقیق حاضر همسو است، زیرا در هر دو تحقیق افزایش میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α مشاهده می‌شود. از عوامل مهم، نوع تمرین ورزشی استفاده شده و دیابتی بودن آزمودنی‌ها در هر دو تحقیق است. شایان ذکر است که در تحقیق Wang و همکاران مدت زمان تمرین ورزشی ۱۶ هفته و در تحقیق حاضر هشت هفته بوده است که با این وجود در هر دو افزایش پروتئین‌های AMPK و PGC-1α دیده می‌شود.

از جمله سازوکارهای احتمالی این است که فعالیت ورزشی منجر به فعال شدن AMPK می‌شود که این امر می‌تواند به صورت مستقیم PGC-1α را فسفریله کند و این عمل برای القاء PGC-1α از پیش‌ساز آن ضروری است [۳۳]. فعالیت ورزشی همچنین باعث تحریک فعال‌سازی گیرنده‌های β2 آدرنرژیکی توسط کاتکولامین‌ها می‌شود؛ این امر منجر به افزایش cAMP و در نتیجه فعال شدن فاکتورهای رونویسی CREB می‌شود و در نهایت بیان PGC-1α را افزایش می‌دهند. افزایش بیان PGC-1α احتمالاً سازوکاری برای تعدیل جریان‌های متابولیکی در پاسخ به کاهش سطوح ATP و دگرگونی نیازهای سوختی ناشی از فعالیت ورزشی یا محدودیت کالری است [۳٤].

البته، سنجش پروتئین‌های AMPK و PGC-1α به تنهایی برای ارزیابی تغییرات قلبی در پاسخ به بیماری دیابت که منجر به کاردیومیوپاتی قلبی می‌شوند و همچنین در پاسخ به تمرین استقامتی کافی نیست؛ به‌نظر می‌رسد که نقش سایر پروتئین‌های درگیر در سلول‌های قلبی قابل توجه باشند. همچنین در زمینه‌ی تنظیم سطوح انرژی، سایر سازوکارها مانند تعداد میتوکندری نیز می‌تواند دخیل باشند.

در نهایت، نتایج این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در آزمودنی‌های دیابتی می‌شود. افزایش این پروتئین‌ها می‌تواند به افزایش تولید ATP، افزایش بیوژنز میتوکندریایی، مهار اتوفاژی و جلوگیری از کاردیومیوپاتی منجر شود؛ بنابراین، تمرین استقامتی می‌تواند یک مداخله‌ای درمانی برای آزمودنی‌های دیابتی باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل تلاش نویسندگان در دانشگاه علوم پزشکی شیراز و دانشگاه شیراز است. سپاسگزار تمام افرادی هستیم که در این امر ما را یاری کردند.

مآخذ

1. Greene SJ, Vaduganathan M, Khan MS, Bakris GL, Weir MR, Seltzer JH, et al. Prevalent and incident heart failure in cardiovascular outcome trials of patients with type 2 diabetes. *Journal of the American College of Cardiology* 2018; 71(12):1379-90.
2. Borghetti G, von Lewinski D, Eaton DM, Sourij H, Houser SR, Wallner M. Diabetic cardiomyopathy: current and future therapies. *Beyond glycemic control. Frontiers in physiology* 2018; 9:1514.
3. Tate M, Grieve DJ, Ritchie RH. Are targeted therapies for diabetic cardiomyopathy on the horizon?. *Clinical Science* 2017; 131(10):897-915.
4. De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, Brunetti A, Indolfi C, Foti DP. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: genetic and epigenetic links. *Frontiers in endocrinology* 2018; 9:2.
5. Raimundo N. Mitochondrial pathology: stress signals from the energy factory. *Trends in molecular medicine* 2014;20(5):282-92.
6. Li X, Liu J, Lu Q, Ren D, Sun X, Rousselle T, et al. AMPK: a therapeutic target of heart failure—not only metabolism regulation. *Bioscience reports* 2019; 39(1) BSR20181767.
7. Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy* 2014;7:241.
8. Kim J, Yang G, Kim Y, Kim J, Ha J. AMPK activators: mechanisms of action and physiological

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

activities. *Experimental & molecular medicine* 2016; 48(4):e224.
9. Carling D. AMPK signaling in health and disease. *Current opinion in cell biology* 2017; 45:31-7.
10. Tabari E, Mohebbi H, Karimi P, Moghaddami K, Khalafi M. The effects of a 12 weeks interval training with high and moderate intensity on PGC-1α of skeletal muscle in type 2 diabetic male rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (4) :179-188
11. Damirchi A, Ebadi B. The effects of the intensity of interval training on mitochondrial dynamics-related proteins in the heart of male rats with myocardial infarction. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2019; 14(28): 159-172.
12. Mohammadi R, Matin Homaee H, Azarbayjani MA, Baesi K. The Effects of 12 week Endurance Training on glucose amount, Blood insulin and Heart Structure in type 2 diabetic Rats. *Community Health journal* 2015; 9(3): 29-36.
13. Thackray AE, Deighton K, King JA, Stensel DJ. Exercise, appetite and weight control: are there differences between men and women?. *Nutrients* 2016; 8(9):583.
14. Douglas JA, Deighton K, Atkinson JM, Sari-Sarraf V, Stensel DJ, Atkinson G. Acute exercise and appetite-regulating hormones in overweight and obese individuals: A meta-analysis. *Journal of obesity* 2016; 1-12.
15. Swift DL, McGee JE, Earnest CP, Carlisle E, Nygard M, Johannsen NM. The effects of exercise and physical activity on weight loss and maintenance. *Progress in cardiovascular diseases* 2018; 61(2):206-13.
16. Ma X, Fu Y, Xiao H, Song Y, Chen R, Shen J, et al. Cardiac fibrosis alleviated by exercise training is AMPK-dependent. *PloS one* 2015; 10(6): e0129971.
17. Baghadam M, Mohamadzadeh salamat K, Azizbeidi K, Baesi K. The effect of 8 weeks aerobic training on cardiac PGC-1α gene expression and plasma irisin in STZ-induced diabetics' rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (5) :228-235.
18. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 2018; 22(5):493-501.
19. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of Asian natural products research* 2017; 19(10):1011-21.
20. Shadmehri S, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Aghaei bahmanbeglou N. The Effect of Endurance Exercise on mTORC1 Marker Pathway in the Soleus Muscles of Type 2 Diabetic Rats. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences* 2019; 23 (2) :92-103.
21. 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.
22. Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. The Effect of 4 Weeks of High Intensity Interval Training on the Content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in Soleus Skeletal Muscle of Rats with Type 2 Diabetes: An Experimental Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2018; 17 (9):843-854.
23. Aghaei N, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Shadmehri S, Jahani Golbar S. The effect of 4 weeks' aerobic training on the content of mTORC1 signaling pathway proteins in heart tissue of type 1 diabetes rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (3) :116-125
24. Kim TT, Dyck JR. Is AMPK the savior of the failing heart?. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2015;26(1):40-8.
25. Sun XL, Lessard SJ, An D, Koh HJ, Esumi H, Hirshman MF, Goodyear LJ. Sucrose nonfermenting AMPK- related kinase (SNARK) regulates exercise- stimulated and ischemia- stimulated glucose transport in the heart. *Journal of cellular biochemistry* 2019 Jan;120(1):685-96.
26. Fassett JT, Hu X, Xu X, Lu Z, Zhang P, Chen Y, et al. AMPK attenuates microtubule proliferation in cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2013; 304(5):H749-58.
27. Xie Z, He C, Zou MH. AMP-activated protein kinase modulates cardiac autophagy in diabetic cardiomyopathy. *Autophagy* 2011; 7(10):1254-5.
28. Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell* biology 2018;19(2):121.
29. Qi D, Young LH. AMPK: energy sensor and survival mechanism in the ischemic heart. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2015; 26(8):422-9.
30. Arshadi S, Hassan Qomi M, Banayifar A, Kazemzadeh Y. The Effect of Eight Weeks Aerobic and Resistance Training on AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Gene Expression in Soleus Muscle and Insulin Resistance of STZ-Induced Diabetic Rat. *Journal of Medical Council of Iran* 2019; 37(2): 81-87.
31. Kubli DA, Gustafsson ÅB. Cardiomyocyte health: adapting to metabolic changes through autophagy. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2014;25(3):156-64.
32. Wang SY, Zhu S, Wu J, Zhang M, Xu Y, Xu W, et al. Exercise enhances cardiac function by

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

improving mitochondrial dysfunction and maintaining energy homoeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine* 2020:1-7.

33. Shirvani H, Aslani J. The effects of high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training on serum irisin and expression of skeletal muscle PGC-1α gene in male rats. *Tehran University Medical Journal TUMS Publications* 2017; 75(7):513-20.
34. Novelle MG, Contreras C, Romero-Picó A, López M, Diéguez C. Irisin, two years later. *International journal of endocrinology* 2013; 1-8.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]

THE EFFECT OF ENDURANCE EXERCISE ON THE CONTENT OF AMPK AND PGC-1A PROTEINS IN THE LEFT VENTRICULAR HEART TISSUE OF RATS WITH TYPE 2 DIABETES

Masoud Jokar[*1], Mohammad Sherafati Moghadam[2], Mohsen Salesi[3]

1. *Department of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran*
2. *Department of pure and basic science, Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran*
3. *Department of Exercise Physiology, School of Education and Psychology, University of Shiraz, Shiraz, Iran*

ABSTRACT

Background: One of the most important biological pathways involved in maintaining energy homeostasis is the AMPK PGC-1α pathway. Activation of this pathway through exercise can be important in regulating mitochondrial biogenesis processes and maintaining energy balance in diabetics. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of endurance exercise on the content of AMPK and PGC-1α proteins in the left ventricular heart tissue of male rats with type 2 diabetes.
Methods: In this experimental study, 12 two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270±20 g were selected. After diabetic induction with STZ and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, training diabetic and control diabetic (6 heads in group each). The training group performed 4 days a week for 8 weeks, including 30 minutes of endurance training with an intensity of about 50 to 70% of the maximum speed; While the control group did not have any training program. Also, rats did not receive any insulin treatment during the study period. The independent t-test was used in SPSS software version 21 to analyze the data.
Results: A significant increase was observed in the content of AMPK (P=0.002) and PGC-1α (P=0.0001) proteins in the endurance exercise group compared to control.
Conclusion: Based on the results of the present study, endurance exercise was able to significantly increase the content of AMPK and PGC-1α proteins. Therefore, it is possible that an increasing these proteins can lead to energy production and increase mitochondrial biogenesis.

Keywords: Endurance Training, Left Ventricular Heart, Protein AMPK, Protein PGC-1α, Type 2 Diabetes

* Tehran-South Mofteh Street-Kharazmi University-Physical Education Management, Postal Code: 1571914911, Postal Box: 158153587, Fax: 02186072699, Phone: 09125841712, Email: m.jokar742@gmail.com

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-01-31]