مجله دیابت و متابولیسم ایران. آذر و دی ۱۴۰۱؛ دوره ۲۲ (شماره ۵) ۳۴۱-۳۳۱

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های ULK1 و FIP200 در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع یک

فریده مرادی[۱]، ندا آقایی بهمن‌بگلو[۱*]، حبیب اصغرپور[۱]، سعیده شادمهری[۲]

چکیده

مقدمه: پروتئین کیناز فعال‌کننده‌ی اتوفاژی-۱ شبه Unc-52 (ULK1) و پروتئین تعامل‌کننده با خانواده کینازهای چسبان مرکزی با وزن ۲۰۰ کیلودالتون (FIP200) نقشی اساسی در کنترل اتوفاژی و حجم عضلانی دارند. هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های ULK1 و FIP200 در بطن چپ رت‌های مبتلا به دیابت نوع یک است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۸ سر رت نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۳۰۰ گرم انتخاب شدند. ۱۲ سر از رت‌ها از طریق تزریق درون صفاقی محلول‌های استرپتوزوتوسین دیابتی شدند. این رت‌ها به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی و کنترل دیاب‌تی (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل سالم (٦ سر) نیز در نظر گرفته شد. گروه تمرینی ٤ روز در هفته، به‌مدت ٦ هفته به تمرین استقامتی پرداختند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ و آزمون‌های آنوای یک‌طرفه و تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: محتوای ULK1 (افزایش) و FIP200 (کاهش) به‌دنبال تمرین استقامتی، در بین گروه‌های تحقیق در بطن چپ تغییر معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی، گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به سالم و همچنین گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به سالم است (P≤۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی نشان داد که می‌تواند با افزایش ULK1 و کاهش FIP200 ماهیتی دوگانه برای کنترل اتوفاژی در آزمودنی‌های دیابتی داشته باشد. در کل، نیاز به بررسی‌های بیشتر در زمینه‌ی فیزیولوژی ورزشی بر پروتئین‌های مسئول اتوفاژی به‌ویژه در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک است.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، بطن چپ، پروتئین کیناز فعال‌کننده‌ی اتوفاژی-۱ شبه Unc-52، پروتئین تعامل‌کننده با خانواده کینازهای چسبان مرکزی با وزن ۲۰۰ کیلودالتون، دیابت نوع یک

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

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

***نشانی:** گلستان، شهرستان علی‌آباد کتول، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول، کد پستی: ٤٩٤١٧٩٣٤٥١، تلفن: ٠٩١٩١٩٩٢٩٩٦، پست الکترونیک: nedaghaei@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۱/۰۹/۱۴ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۰/۱۰

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

مقدمه

ارتباط دیابت با افزایش خطر ابتلا به نارسایی‌های قلبی از نظر بالینی آشکار شده است. دیابت به‌علت افزایش انفارکتوس قلبی و مشکلات دیاستولیک و سیستولیک عملکرد خاص عضلات قلبی را کاهش می‌دهد، که به‌صورت بالینی به‌عنوان کاردیومیوپاتی دیابتی شناخته می‌شود [۱]. کاردیومیوپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین عوارض ناشی از دیابت است. کاردیومیوپاتی دیابتی را به‌عنوان بیماری ویژه‌ی عضله‌ی قلب می‌دانند [۲]. این بیماری علت مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی است که در دیابت نوع یک یا نوع دو اتفاق می‌افتد. این عارضه توسط مجموعه‌ای از ناهنجاری‌های ساختاری و عملکردی در قلب بیماران دیابتی از جمله اختلال در انقباض دیاستولیک و سیستولیک، هایپرتروفی کاردیومیوسیت، اتوفاژی، آپوپتوز و فیبروز قلبی مشخص می‌شود [۲]. در بررسی‌های اخیر بر روی افراد مبتلا به دیابت نشان داده شده است که قلب این افراد بر اثر کاردیومیوپاتی دیابتی منجر نارسایی قلبی می‌شود و در بافت قلبی آنها اتوفاژی، نکروز و آپوپتوز (مرگ‌های سلولی) افزایش می‌یابد [٤].

بیماری‌های قلبی معمولاً با ضایعات در میوکارد و عروق قلبی همراه است. همه ساله تلاش‌های بی‌شماری برای روشن شدن سازکارهای مولکولی بیماری‌های قلبی انجام شده است [۵]. کیناز فعال‌کننده‌ی اتوفاژی-۱ شبه Unc-52 (ULK1)[1] یک کمپلکس ماکرومولکولار مورد نیاز برای فعال‌سازی اتوفاژی است [٦]. ULK1 یک پروتئین کیناز سرین/ترئونین و ارتولوژ پستانداران از مخمر ATG1 است. پنج همولوگ ULK1 وجود دارد که شامل ULK1، ULK2، ULK3، ULK4 و STK36[2] است؛ از این پنج همولوگ، تنها ULK1 و ULK2 در سیگنالینگ اتوفاژی دخیل هستند. در اکثر سلول‌ها، از دست دادن ULK1 کافی است تا باعث اختلال در اتوفاژی شود [۷]؛ یک رویداد اصلی مهم در اتوفاژی، تشکیل اتوفاگوزوم است. این مرحله توسط ULK1 و به‌واسطه‌ی تشکیل کمپلکس با سه پروتئین دیگر شامل پروتئین تعامل‌کننده با خانواده‌ی کینازهای چسبان مرکزی با وزن ۲۰۰ کیلودالتون (FIP200)[3]، پروتئین وابسته به اتوفاژی-۱۳ (ATG13) و ۱۰۱ (ATG101) انجام می‌شود [۸]. پروتئین FIP200 (RB1CC1) با وزن ملوکولی ۲۰۰ کیلودالتون و ۱۵۹۱ اسیدآمینه یک تنظیم‌کننده‌ی بحرانی ماکرواتوفاژی ابتدایی (شروع کننده) است و همچنین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی حیاتی از اتوفاژی انتخابی و همچنین فرآیندهای التهابی شناخته می‌شود. مطالعات اولیه نشان داده است که FIP200 می‌تواند تعدادی از مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی را از طریق تعامل با پروتئین‌های دیگر برای اتوفاژی تنظیم کند [۹].

فعالیت‌ها و تمرین‌های ورزشی منظم اقدامات مهمی برای بهبود آمادگی جسمانی و حفظ سلامت در طول زندگی هستند. شواهد جامعی وجود دارد که فعالیت‌های ورزشی یک راهبرد پیشگیرانه‌ی مؤثر در برابر حداقل ۲۵ بیماری بالینی، از جمله بیماری‌های قلبی و عروقی، سکته‌ی مغزی، پُرفشاری خون، انواع سرطان‌ها و دیابت است. به‌طور سنتی، تمرین‌های استقامتی برای بهبود نتایج مربوط به سلامت، شامل شدت کم تا متوسط است. با این حال، شواهد رو به رشد نشان می‌دهد که شدت تمرین‌ها بالاتر ممکن است نسبت به شدت متوسط برای به حداکثر رساندن نتایج سلامتی برتر باشد [۱۰]. فعالیت‌های ورزشی می‌تواند اثرات مفیدی را برای سلامت قلبی-عروقی از جنبه‌های مختلف ایجاد کند. از نظر فیزیولوژیکی، فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش فعالیت سمپاتیک و در عین حال کاهش فعالیت پاراسمپاتیک می‌شود. این فرآیند می‌تواند ضربان قلب و عملکرد انقباض قلبی را افزایش دهد [۱۱]. به‌علاوه فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش جریان خون به قلب می‌شود که منجر به افزایش حجم دیاستولیک بطن چپ و نیروی انقباض (سازکار فرانک استارلینگ) می‌شود. روی هم رفته، این تغییرات فیزیولوژیکی منجر به افزایش حجم ضربه‌ای، ضربان قلب و برون‌ده قلبی در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی می‌شود [۱۲].

[1] Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase-1
[2] Serine / Threonine Kinase 36
[3] FAK Family Kinase-Interacting Protein of 200 kDa

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

در ارتباط با متغیرهای تحقیق حاضر در تحقیقی Liu و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تمرین ورزشی بر ترویج اتوفاژی در قلب رت‌های پرداختند. برنامه‌ی تمرینی شامل دویدن بر روی تردمیل با سرعت ۲۵ تا ۳۵ متر در دقیقه در حدود ۷۵ درصد Vo_2max تا خستگی بود. نتایج نشان داد محتوای تام پروتئین ULK1 در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل تغییری نکرده است؛ اما محتوای فسفریله‌ی پروتئین ULK1 در جایگاه سرین ۷۵۷ و همچنین نسبت محتوای فسفریله پروتئین ULK1 نسبت به محتوای تام پروتئین ULK1 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. این محققان بیان کردند تمرین ورزشی از طریق فعال کردن مسیر AMPK-mTOR-ULK1، اتوفاژی را ارتقا می‌دهد [۱۳]. همچنین در تحقیقی دیگر Møller و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که فعالیت ورزشی سیگنالینگ اتوفاژیک را از طریق پروتئین ULK1 در عضلات اسکلتی انسان افزایش می‌دهد. در این تحقیق تمرین ورزشی استقامتی به‌مدت ٦٠ دقیقه کار بر روی دوچرخه‌ی ارگونومتر با ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی مردان سالم فعال انجام شد. محتوای پروتئین ULK1 در دو جایگاه سلولی یعنی سرین ۵۵۵ و سرین ۷۵۷ در عضله‌ی اسکتی انجام شد. افزایش معنی‌داری در جایگاه سرین ۵۵۵ مشاهده شد، اما درجایگاه سرین ۷۵۷ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. محققان این تحقیق بیان کردن که سیگنالینگ اتوفاژی پس از ٦٠ دقیقه تمرین ورزشی، به‌طور مستقل از وضعیت تغذیه، در عضله‌ی اسکلتی انسان فعال می‌شود و نشان می‌دهد که شروع اتوفاژی، یک پاسخ فیزیولوژیکی مهم به فعالیت‌های ورزشی در انسان است [١٤].

تمرین استقامتی مانند شمشیری دو لبه عمل می‌کند که می‌تواند بسیاری از عوارض مربوط به دیابت مانند مقاومت به انسولین، هیپرانسولینمی، فشارخون، نقص در ترشح انسولین و دیگر عوارض مرتبط با دیابت را بهبود بخشد؛ اما دیگر شرایط سلولی مانند اتوفاژی یا آپوپتوز که می‌تواند از طریق تمرین‌های ورزشی مانند تمرین استقامتی بیش از حد فعال‌شده و منجر به نقص قلبی شود به درستی بررسی نشده است. در این تحقیق محتوای پروتئین‌های ULK1 و FIP200 از طریق انجام تمرین استقامتی بررسی می‌شود که می‌تواند دریچه‌ای از شناخت سازکارهای سلولی درگیر در تنظیم سلولی قلبی در آزمودنی‌های دیابتی باشد. از طرفی دیگر محققان تحقیق حاضر مطالعه‌ای که فعالیت‌های ورزشی را بر محتوای پروتئین FIP200 سنجیده باشند، مشاهده نکرده‌اند. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های ULK1 و FIP200 در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع یک است.

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۸ سر رت نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۳۰۰ گرم انتخاب شدند. رت‌ها در آزمایشگاه مخصوص حیوانات با دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ٤٠-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگه‌داری شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آنها قرار داده شد.

روش القاء دیابت

برای ایجاد دیابت نوع یک در رت‌ها، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[1] (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=٤/۵) 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 رت‌ها، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ از نمونه خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی رت‌ها توسط دستگاه تست قند خون (اکیوچک) اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع یک در نظر گرفته شد [۱۵]. پس از القای دیابت رت‌ها (۱۲

[1] Streptozotocin

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

سر) به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (٦ سر) و کنترل دیابتی (٦ سر) تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل سالم (٦ سر) نیز در نظر گرفته شد.

تمرین استقامتی

رت‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به‌مدت ٦ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. رت‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم (به‌مدت ٦ دقیقه) کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی اصلی شامل ۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز رت‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه (به‌مدت ٦ دقیقه) سرد کردند. کل مدت زمان دویدن رت‌ها در هر جلسه بر روی نوارگردان ٤٤ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ٦ هفته تغییری نداشت [١٦].

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی (چسبیدن رت‌ها به انتهای تردمیل) برسند. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۱۷].

روش بافت برداری

در مدت انجام برنامه‌ی تمرین استقامتی، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین رت‌ها 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 برنامه تمرینی، بعد از ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، رت‌ها 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)، در زمان صبح بی‌هوش شدند. سپس بطن چپ قلب از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- فریزر شد [۱۸].

روش آزمایشگاهی وسترن بلات

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا مخلوط بافت بطن چپ قلب در لیزکننده RIPA حاوی آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ (مدل اپندروف 5415 R) در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از طریق روش بردفورد غلظت پروتئین تعیین شد. ازBSA به عنوان پروتئین استاندارد برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. نمونه‌های پروتئینی تهیه شده قبل از ریخته شدن در چاهک هم غلظت شده و با بافر نمونه مخلوط و به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد جوشانده شدند. سپس ژل SDS page از پلیمرآکریل آمید ساخته و بیس آکریل آمید این پلیمر را به‌صورت عرضی به هم مرتبط شد. مواد لازم برای تهیه‌ی محلول‌های استوک اکریل آمید، بافر ژل پایین، بافر ژل بالا و بافر ژل تانک الکتروفوز انجام شد. سپس الکتروفوز بر ژل SDS page انجام شد. بعد از اتمام الکتروفوز ژل به آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار داده شد. سپس کاغذ PVDF به اندازه‌ی ژل بریده و برای فعال‌شدن به مدت ۱ دقیقه در متانول شیک و با آب مقطر شسته شد و درون بافر انتقال قرار گرفت. انتقال پروتئین از ژل به کاغذ در دستگاه وسترن‌بلات صورت گرفت. در مرحله‌ی بلاکینک، محلول Blocking به‌منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیر اختصاصی آنتی بادی اولیه به‌کار رفت. برای ساختن این محلول ۲ درصد شیر خشک بدون چربی در بافر TBS–T اضافه شد. پس از اتمام انتقال پروتئین‌ها بر سطح کاغذ PVDF کاغذ به‌مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق با محلول بلاتینگ شیک می‌شود. سپس مرحله‌ی انکوبه کردن با آنتی‌بادی اولیه انجام شد. پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای که با محلول بلاکینگ به

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

مقدار معین آنتی‌بادی اولیه مخلوط و رقیق شده است، به‌مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه شد. بعد از آن مرحله‌ی انکوبه کردن با آنتی‌بادی ثانویه صورت گرفت. پس از اتمام مرحله‌ی قبل کاغذ ۳ بار و هر بار به‌مدت ۱۵ دقیقه با بافر TBS-T شست‌وشو داده شد. سپس کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه Anti Rabbit با غلظت (1:1000) برای تمام آنتی‌بادی‌های اولیه به‌مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد. در پایان این مرحله نیز کاغذ سه بار و هر بار به‌مدت ۱۵ دقیقه با بافر TBS-T شست‌وشو داده شد. سپس دقیق‌ترین و حساس‌ترین تکنیک‌های آشکارسازی باند پروتئینی مورد نظر انجام گرفت. برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست را بستیم. پس از خارج کردن فیلم از کاست آن را ابتدا در تشتک حاوی محلول ظهور به‌مدت ۲۰ ثانیه قرار دادیم تا باندها ظاهر شوند. سپس در تشتک آب فیلم را به‌مدت ۲۰ ثانیه شستیم و بعد از آن به‌مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان دادیم. سپس مجدداً فیلم را با آب جاری شسته و با گیره آویزان کردیم تا خشک شود [۱۹].

روش‌های آماری

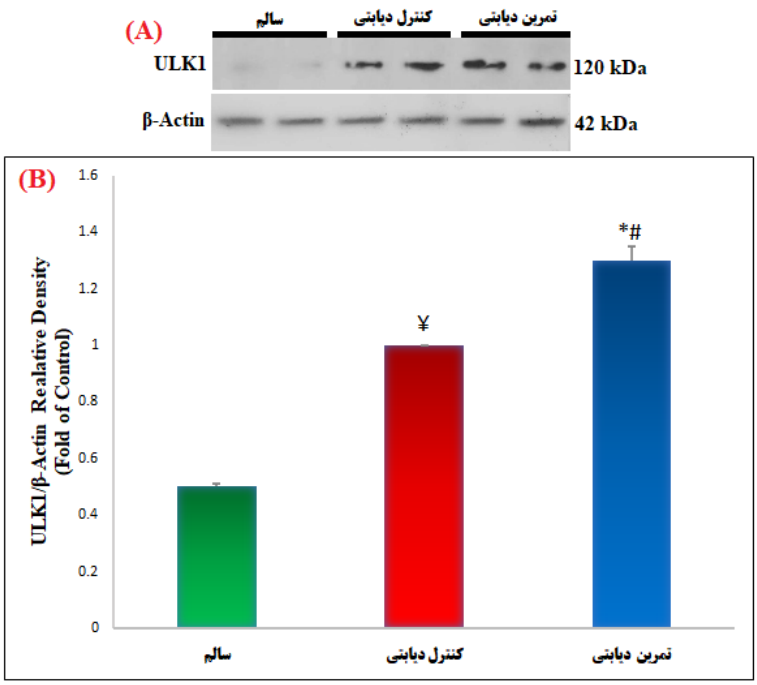
ابتدا از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک آنوای-یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس آزمون آماری آنوای-یک‌راهه نشان داد، محتوای درون سلولی پروتئین ULK1 به‌دنبال ۶ هفته تمرین استقامتی، در بین گروه تمرین دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم در بطن چپ تغییر معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۱، A و B). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (افزایش) (P=۰/۰۴۰)، بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم (افزایش) (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین جفت گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم (افزایش) است (P=۰/۰۰۲) (شکل ۱، A و B).

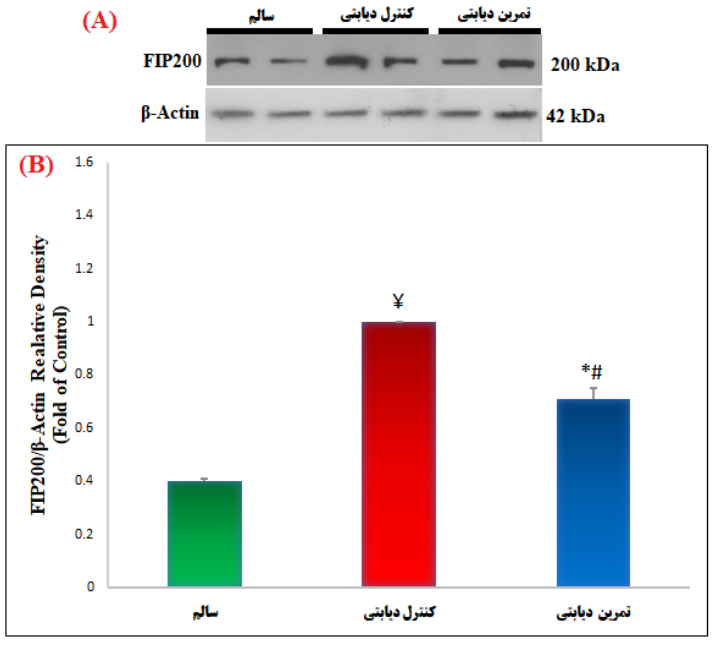
همچنین محتوای درون سلولی پروتئین FIP200 به‌دنبال ۶ هفته تمرین استقامتی، در بین گروه تمرین دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم در بطن چپ تغییر معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۲، A و B). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (کاهش) (P=۰/۰۰۰۱)، بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم (افزایش) (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین جفت گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم (افزایش) است (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۲، A و B).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]



شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین ULK1 در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین ULK1 و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بطن چپ (B). نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمّی شده‌ی باندهای محتوای پروتئین ULK1 در مقابل کنترل داخلی (* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی) (# اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم) (¥ اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل)



شکل ۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین FIP200 در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین FIP200 و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بطن چپ (B). نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمّی شده‌ی باندهای محتوای پروتئین FIP200 در مقابل کنترل داخلی (* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی) (# اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم) (¥ اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

بحث

محتوای پروتئین‌های ULK1 (افزایش) و محتوای پروتئین FIP200 (کاهش) به‌دنبال ٦ هفته تمرین استقامتی، در بین گروه‌های تحقیق در بطن چپ تغییر معنی‌داری را نشان داد. آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل سالم و همچنین جفت گروه‌های کنترل دیابتی و کنترل سالم است.

در ارتباط با فعال شدن مسیر سیگنالینگ ULK1، در تحقیقی Liu و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تمرین ورزشی هوازی بر ترویج اتوفاژی در قلب رت‌ها پرداختند. برنامه‌ی تمرینی شامل دویدن بر روی تردمیل با سرعت ۲۵ تا ۳۵ متر در دقیقه در حدود ۷۵ درصد Vo_2max تا خستگی بود. در این تحقیق محتوای تام پروتئین ULK1 در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل تغییری نکرده بود؛ اما محتوای فسفریله‌ی پروتئین ULK1 در جایگاه سرین ۷۵۷ و همچنین نسبت محتوای فسفریله پروتئین ULK1 نسبت به محتوای تام پروتئین ULK1 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد [۱۳]. نتایج تحقیق Liu و همکاران با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو است؛ زیرا در تحقیق Liu و همکاران ما شاهد کاهش محتوای پروتئین ULK1 هستیم، اما در تحقیق حاضر ما شاهد افزایش محتوای پروتئین ULK1 بودیم. از عوامل تأثیرگذار می‌توان به شدت تمرین اشاره کرد که در تحقیق Liu و همکاران با شدت بالا و در تحقیق حاضر با شدت زیربیشینه بوده است. افزایش پروتئین ULK1 در تحقیق حاضر احتمالاً می‌تواند از طریق فعال شدن مسیر AMPK/TSC باشد که با غیر فعال کردن مسیر mTOR، در نهایت منجر به اتوفاژی در سلول‌های قلبی بیماران مبتلا به دیابت نوع یک شود. نشان داده شده است که آبشار سیگنالینگ AMPK با تمرین‌های هوازی به خصوص استقامتی همبستگی دارد و تمرین‌های استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین AMPK می‌شود [۲۲-۲۰]. در این راستا در تحقیق Liu و همکاران محتوای پروتئین AMPK نیز اندازه‌گیری شده بود که نتایج نشان داد محتوای پروتئین AMPK افزایش یافته است. شایان ذکر است که باید شرایط آزمودنی‌ها از قبیل بیمار یا سالم بودن، سن، جنسیت و... را مد نظر قرار داد.

در تحقیقی دیگر Laker و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی حاد و داوطلبانه بر محتوای پروتئین ULK1 در عضله‌ی اسکلتی رت‌ها پرداختند. در مرحله‌ی اول رت‌ها بر روی چرخ گردان به‌صورت داوطلبانه به‌مدت ٤ هفته قرار گرفتند. در مرحله‌ی دوم بعد از آشناسازی رت‌ها با تردمیل، رت‌ها ورزش حاد را در یک جلسه با ۱۳ متر بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، ١٦ متر بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۱۹ متر بر دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه و ۲۱ متر بر دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه را انجام دادند. شیب تردمیل ۵ درصد بود. تفاوت معنی‌داری در محتوای پروتئین ULK1 در زمان‌های صفر، ۳، ٦، ۱۲ و ٢٤ ساعت پس از فعالیت ورزشی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. این محققان بیان کردند که فعال‌سازی ULK1 وابسته به AMPK است. علاوه بر این، سازگاری متابولیک ناشی از تمرین نیاز به ULK1 دارد. این یافته‌ها شواهد مستقیم از میتوفاژی ناشی از ورزش را نشان می‌دهد و اهمیت سیگنالینگ AMPK-ULK1 را در عضلات اسکلتی نشان می‌دهد [۲۳]. در تحقیقی دیگر Møller و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که فعالیت ورزشی سیگنالینگ اتوفاژیک را از طریق پروتئین ULK1 در عضلات اسکلتی انسان افزایش می‌دهد. در این تحقیق تمرین ورزشی استقامتی به‌مدت ٦۰ دقیقه کار بر روی دوچرخه‌ی ارگونومتر با ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی مردان سالم فعال انجام شد. محتوای پروتئین ULK1 در دو جایگاه سلولی یعنی سرین ۵۵۵ و سرین ۷۵۷ در عضله‌ی اسکتی انجام شد. افزایش معنی داری در جایگاه سرین ۵۵۵ مشاهده شد، اما در جایگاه سرین ۷۵۷ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. محققان این تحقیق بیان کردن که سیگنالینگ اتوفاژی پس از ٦۰ دقیقه تمرین ورزشی، به‌طور مستقل از وضعیت تغذیه، در عضله‌ی اسکلتی انسان فعال می‌شود و نشان می‌دهد که شروع اتوفاژی، یک پاسخ فیزیولوژیکی مهم به فعالیت‌های ورزشی در انسان است [١٤]. محتوای پروتئین ULK1 در تحقیق حاضر به‌دنبال تمرین استقامتی افزایش یافته است. این

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

درحالی است که در تحقیق Laker و همکاران محتوای پروتئین ULK1 تغییر معنی‌داری را نشان نداد و در تحقیق Møller و همکاران محتوای پروتئین ULK1 افزایش معنی‌داری در جایگاه سرین ۵۵۵ نشان داد و در مقابل درجایگاه سرین ۷۵۷ تغییر معنی‌داری را نشان نداد. در تحقیق حاضر تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین ULK1 شده است، که نشان می‌دهد تمرین استقامتی می‌تواند منجر به فعال کردن سیگنالینگ مربوط به شروع اتوفاژی در بیماری دیابت شود. عواملی مانند مدت زمان، نوع و شدت فعالیت‌های ورزشی باید مد نظر قرار گیرد. علاوه بر این عوامل مهم، آزمودنی‌هایی که تمرین‌های ورزشی بر روی آنها انجام می‌شود نیز باید بررسی شود. در تحقیق حاضر آزمودنی‌ها مبتلا به دیابت نوع یک بودند که تمرین هوازی منجر به افزایش محتوای پروتئین ULK1 در بطن چپ شده است.

محققان تحقیق حاضر تاکنون تحقیقی که محتوای پروتئین FIP200 را به‌دنبال تمرین‌های ورزشی اندازه‌گیری کرده باشند مشاهده نکرده‌اند؛ بنابراین می‌توان گفت این تحقیق به‌عنوان اولین تحقیقی خواهد بود که محتوای پروتئین FIP200 را همراه با پروتئین دیگر مسئول اتوفاژی یعنی ULK1 اندازه‌گیری می‌کند. در کل بیشتر تحقیقات نشان می‌دهند که فعال شدن مسیر AMPK می‌تواند فرآیند اتوفاژی را فعال کند و این فعال شدن در افراد دیابتی بیشتر از افراد سالم است. با فعال شدن مسیر AMPK کمپلکس ULK/FIP200 فعال می‌شود. تشکیل اتوفاگوزوم با تولید یک غشای جداسازی به نام فاگوفور آغاز می‌شود، که معمولاً از شبکه آندوپلاسمی (ER) یا از انواع دیگر غشاها (به‌عنوان مثال سارکولما، گلژی یا میتوکندری) سرچشمه می‌گیرد [۲٤]. این مرحله توسط کمپلکس ماکرومولکولی ULK، متشکل از ATG13، ULK1/2، FIP200 و ATG101 تسهیل می‌شود [۲۵]. پس از فعال‌سازی کمپلکس ULK، ATG9 برای جذب هسته‌ای به سایت مونتاژ فاگوفور تحریک می‌شود تا هسته اتوفاگوزوم را شروع کند. پس از آن، کمپلکس ULK یک مجموعه ماکرومولکولی دیگر را که در مرحله‌ی شروع تشکیل اتوفاگوزوم دخیل است، تشکیل می‌دهد؛ این کمپلکس متشکل از Beclin-1، ATG14L، پروتئین‌های VPS15 و VPS34. فسفوریلاسیون Beclin-1 توسط ULK1/2، کمپلکس VPS را فعال می‌کند که منجر به تشکیل فسفاتیدیلینوزیتول ۳-فسفات (PI3P) می‌شود، که به نوبه خود باعث کشیدگی غشایی می‌شود که به اتوفاگوزوم تبدیل می‌شود [۲۸-۲٦]. همچنین هنگامی که کمپلکس mTOR مهار شود، اتوفسفریله شدن ULK1/2 و متعاقباً فسفریله‌ی ATG13 و FIP200 را آغاز می‌کند و تشکیل فاگوفور را آغاز می‌کند [۲٦]. بنابراین، مجموعه ULK-ATG13-FIP200 یک هدف مستقیم mTOR است و به‌عنوان یکپارچه‌ساز سیگنال های اتوفاژی در پایین دست mTORC1 عمل می‌کند [۲۹].

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که به‌دنبال ٦ هفته تمرین استقامتی محتوای پروتئین ULK1 افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند از طریق فعال شدن آبشار سیگنالینگ AMPK/TSC/ULK باشد. فعال شدن کمپلکس ULK1 می‌تواند فرایند اتوفاژی را در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک شروع یا افزایش دهد، که منجر به کاهش عملکرد و کارآیی قلب می‌شود. در مقابل تمرین استقامتی محتوای پروتئین FIP200 را کاهش داد که با توجه به نبود تحقیقات فیزیولوژیکی بر روی این پروتئین امکان مقایسه وجود ندارد و بنابراین باید مطالعات بیشتری بر روی این پروتئین و مسیر اتوفاژی انجام شود.

سپاسگزاری

نتایج گزارش شده حاصل تلاش نویسندگان این مقاله است که در دانشگاه علی‌آباد کتول انجام شده است. از تمام افرادی که در انجام و جمع‌آوری این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

مآخذ

1. Dewanjee S, Vallamkondu J, Kalra RS, John A, Reddy PH, Kandimalla R. Autophagy in the diabetic heart: A potential pharmacotherapeutic target in diabetic cardiomyopathy. *Ageing Research Reviews*, 2021; 68:101338.
2. Miki T, Yuda S, Kouzu H, Miura T. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart Failure Reviews*, 2013; 18(2):149-66.
3. Chavali V, Tyagi SC, Mishra PK. Predictors and prevention of diabetic cardiomyopathy. *Diabetes Metabolic Syndrome and Obesity*. 2013;6:151-160.
4. Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacology & Therapeutics*, 2014; 142(3):375-415.
5. Sciarretta S, Maejima Y, Zablocki D, Sadoshima J. The role of autophagy in the heart. *Annual Review Of Physiology*, 2018; 80:1-26.
6. Park JM, Jung CH, Seo M, Otto NM, Grunwald D, Kim KH, et al. The ULK1 complex mediates mTORC1 signaling to the autophagy initiation machinery via binding and phosphorylating ATG14. *Autophagy*, 2016; 12(3):547-64.
7. Zachari M, Ganley IG. The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation. *Essays in Biochemistry*, 2017; 61(6):585-96.
8. Zarzuelo MJ, López-Sepúlveda R, Sánchez M, Romero M, Gómez-Guzmán M, Ungvary Z, et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging. *Biochemical Pharmacology*, 2013; 85(9):1288-96.
9. Yeo SK, Wang C, Guan JL. Role of FIP200 in inflammatory processes beyond its canonical autophagy function. *Biochemical Society Transactions*, 2020; 48(4):1599-607.
10. Karlsen T, Aamot IL, Haykowsky M, Rognmo Ø. High intensity interval training for maximizing health outcomes. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 2017; 60(1):67-77.
11. Rivera-Brown AM, Frontera WR. Principles of exercise physiology: responses to acute exercise and long-term adaptations to training. *Physical Medicine and Rehabilitation*, 2012; 4(11):797-804.
12. Chen WJ, Mat Ludin AF, Farah NM. Can Acute Exercise Lower Cardiovascular Stress Reactivity? Findings from a Scoping Review. *Journal of Cardiovascular Development and Disease* 2022; 9(4):106.
13. Liu HT, Pan SS. Late exercise preconditioning promotes autophagy against exhaustive exercise-induced myocardial injury through the activation of the AMPK-mTOR-ULK1 pathway. *BioMed Research International*, 2019; 2019.
14. Møller AB, Vendelbo MH, Christensen B, Clasen BF, Bak AM, Jørgensen JO, et al. Physical exercise increases autophagic signaling through ULK1 in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 2015; 118(8):971-9.
15. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Amirahmadi M. The effect of high intensity interval training on myostatin and SMAD2/3 proteins in the left ventricular tissue of the heart muscle of type 1 diabetic rats. *Daneshvar Medicine*, 2021; 29(2):21-30.
16. Ghodratnama A, Shabani M, Sherafati Moghadam M. The Effect of Endurance and High-Intensity Interval Training on the Content MSTN and Follistatin Proteins in the Left Ventricular Tissue of The Heart of Type 1 and 2 Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2022; 21(5):287-97.
17. Shabani M, Sherafati Moghadam M, Moghaddami K. The effect of endurance training on protein kinase-b and mechanical target of rapamycin in the left ventricle of the heart of diabetic rats induced by streptozotocin and nicotinamide. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2020; 19(6):309-317
18. Zarei F, Sherafati Moghadam M, Shabani M, Jokar M. the effects of 4 weeks high intensity interval training on mammalian rapamycin target protein (mTOR) and sterol transcription factor regulatory protein-1 (srebp1) proteins content in diabetics obese rats adipose tissue. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2020; 19(1):26-35.
19. Jokar M, Sherafati Moghadam M. High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3a and Beclin-1 proteins. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 2019; 18(6):292-9.
20. 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.
21. Xie Z, He C, Zou MH. AMP-activated protein kinase modulates cardiac autophagy in diabetic cardiomyopathy. *Autophagy*, 2011; 7(10):1254-5.
22. Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018; 19(2):121-35.
23. Laker RC, Drake JC, Wilson RJ, Lira VA, Lewellen BM, Ryall KA, et al. Ampk phosphorylation of Ulk1 is required for targeting of mitochondria to lysosomes in exercise-induced mitophagy. *Nature Communications*, 2017; 8(1):1-3.
24. Zech AT, Singh SR, Schlossarek S, Carrier L. Autophagy in cardiomyopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2020; 1867(3):118432.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

25. Ghosh R, Pattison JS. Macroautophagy and chaperone-mediated autophagy in heart failure: the known and the unknown. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018; 1-22.
26. Maejima Y, Isobe M, Sadoshima J. Regulation of autophagy by Beclin 1 in the heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2016; 95:19-25.
27. Park JM, Seo M, Jung CH, Grunwald D, Stone M, Otto NM, et al. ULK1 phosphorylates Ser30 of BECN1 in association with ATG14 to stimulate autophagy induction. *Autophagy*, 2018; 14(4):584-97.
28. Russell RC, Tian Y, Yuan H, Park HW, Chang YY, Kim J, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase. *Nature Cell Biology*, 2013; 15(7):741-50.
29. Jung CH, Jun CB, Ro SH, Kim YM, Otto NM, Cao J, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Molecular Biology of the Cell*, 2009; 20(7):1992-2003.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]

THE EFFECT OF ENDURANCE TRAINING ON THE INTRACELLULAR CONTENT OF ULK1 AND FIP200 PROTEINS IN THE LEFT VENTRICULAR OF RATS WITH TYPE 1 DIABETES

Farideh Moradi[1], Neda Aghaei Bahmanbeglou[1*], Habib Asgharpour[1], Saeedeh Shadmehri[2]

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase-1 (ULK1) and FAK Family Kinase-Interacting Protein of 200 kDa (FIP200) play an essential role in controlling autophagy and muscle volume. The aim of this research is to investigate the effect of endurance training on the intracellular content of ULK1 and FIP200 proteins in the left ventricular of rats with type 1 diabetes.
Methods: In this experimental study, 18 rats 2-month-old male Sprague-Dawley rats with a mean weight of 300±20g were selected. 12 rats became diabetic by intraperitoneal injection of Streptozotocin solutions. These rats were randomly divided into 2 groups: diabetic training and diabetic control (6 heads per group); A healthy control group (6 heads)was also considered. The training group practiced endurance training 4 days a week for 6 weeks. Data were analyzed using SPSS software version 23 and one-way ANOVA and Tukey post hoc tests.
Results: The content of ULK1 (increase) and FIP200 (decrease) after endurance training showed a significant change among the research groups in the left ventricular (P=0.0001). Tukey's post hoc test showed that this change is significant between the pair of diabetic training groups to diabetic control, diabetic training to healthy groups, and also diabetic control to healthy groups (P≤0.05).
Conclusion: Endurance training showed that it can have a dual nature to control autophagy in diabetic subjects by increasing ULK1 and decreasing FIP200. There is a need for more investigations in the field of exercise physiology on the proteins responsible for autophagy, especially in type 1 diabetes subjects.

Keywords: Endurance training, Left Ventricle, Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase-1, FAK Family Kinase-Interacting Protein of 200 kDa, Type 1 Diabetes

*Islamic Azad University, Aliabad Katoul Branch, University Blvd, Aliabad Katoul, Golestan, Iran. Postal Code: 4941793451, Tel: +989191992996, Email: nedaghaei@gmail.com

Copyright © 2023Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-21]