مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای تام و فسفریله پروتئین AMPKα1/2 در عضلهٔ اسکلتی نعلی موش‌های صحرایی دیابتی

سجاد میرزائی[۱]، حامد علیزاده پهلوانی*[۲]، اکبر قدرت‌نما[۱]، رضا مؤیدی[۱]

چکیده

مقدمه: پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK) یک تنظیم‌کنندهٔ کلیدی متابولیسم سلولی است و اختلال در تنظیم آن با بیماری‌های متابولیک مانند چاقی، التهاب، دیابت و سرطان مرتبط است. هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای تام و فسفریله پروتئین AMPKα1/2 در عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی است.

روش‌ها: در این مطالعهٔ تجربی، ۱۲ سر رت نر دو ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۳۰±۲۸۰ گرم انتخاب شدند. دیابت از طریق تزریق درون‌صفاقی با محلول استرپتوزوتوسین (با دوز ٦٥ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) به رت‌ها القاء شد. این رت‌ها به روش تصادفی به گروه تمرین دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند؛ گروه تمرین، MIIT را به مدت ٦ هفته با شدتی معادل ٥٥ تا ٧٥ درصد حداکثر سرعت انجام دادند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از طریق آزمون t-مستقل در نرم‌افزار گراف‌پد پریسم نسخهٔ ۱۰ انجام شد. سطح معناداری پژوهش P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: محتوای درون سلولی تام پروتئین AMPKα1/2 تغییر معنی‌داری را در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان نداد (P= ۰/۹٦). در مقابل محتوای درون سلولی فسفریله (P= ۰/۰۰۰۱) و نسبت فسفریله به تام (P= ۰/۰۰۲) پروتئین AMPKα1/2 افزایش معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: MIIT محتوای پروتئین AMPKα1/2 را در بافت عضلانی نعلی موش‌های دیابتی افزایش داد و این می‌تواند منجر به افزایش تولید و مصرف انرژی و بهبود سطوح گلوکز در آزمودنی‌های دیابتی شود.

واژگان کلیدی: پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPKα1/2)، تمرین تناوبی با شدت متوسط، عضله نعلی، دیابت

۱- گروه علوم ورزشی، مؤسسهٔ آموزش عالی آپادانا، شیراز، ایران

۲- گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران

***نشانی:** اصفهان، خیابان کاوه، دانشگاه فرهنگیان، تلفن: ۰۹۱٦۳۷۱۲۱۹۹، صندوق پستی: ۸۸۹-۱٤٦٦٥، پست الکترونیک: ha.alizadeh@cfu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۶ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۹/۲۸ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۱۰/۰۹

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیک است که بر نحوهٔ استفاده بدن از گلوکز، منبع اصلی انرژی برای سلول‌ها تأثیر می‌گذارد. در افراد مبتلا به دیابت، یا بدن به اندازه کافی انسولین تولید نمی‌کند (دیابت نوع یک) یا سلول‌ها به‌طور مؤثر به انسولین پاسخ نمی‌دهند (دیابت نوع دو). انسولین هورمونی است که با تسهیل جذب گلوکز از جریان خون به سلول‌ها برای تولید انرژی به تنظیم سطح قند خون کمک می‌کند. هنگامی که حساسیت به انسولین مختل می‌شود، همان‌طور که در دیابت نوع دو مشاهده می‌شود، سطح قند خون بالا باقی می‌ماند که منجر به عوارض مختلف سلامتی در طول زمان می‌شود [۱، ۲].

از طرفی ورزش نقش مهمی در مدیریت دیابت دارد و عوامل کلیدی در ارتباط بین ورزش و دیابت، آنزیم پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK)[1] است [۳]. AMPK از α کاتالیزوری، β تنظیمی و زیرواحد γ متصل شونده به نوکلئوتید تشکیل شده است [٤]. AMPK تغییرات سطوح سلولی AMP، ADP و ATP را از طریق یک فرآیند چند مرحله‌ای حس می‌کند. اول، اتصال AMP یا ADP به زیرواحد γ باعث افزایش فسفوریلاسیون ترئونین-۱۷۲ در زیرواحد α توسط کیناز بالادست سرنین ترونین کیناز (LKB1)[2] می‌شود و فعالیت AMPK را تا نزدیک ۱۰۰ برابر افزایش می‌دهد [۵]. دوم، اتصال AMP یا ADP به زیرواحد γ باعث تغییر ساختاری می‌شود که ترئونین-۱۷۲ را از دفسفوریلاسیون توسط پروتئین فسفاتازها محافظت می‌کند [٦]. در نهایت، اتصال AMP منجر به فعال شدن آلوستریک AMPK تا ۱۰ برابر می‌شود [۷]. در زمینهٔ دیابت، فعال‌سازی AMPK از طریق ورزش مزایای قابل توجهی در بهبود حساسیت به انسولین، جذب گلوکز و سلامت کلی متابولیک دارد [۸]. هنگامی که سطح انرژی سلولی پایین است، مانند هنگام ورزش که نیاز به انرژی زیاد است، AMPK برای تقویت تولید انرژی و حفظ هموستاز متابولیک فعال می‌شود [۹، ۱۰].

فعال‌سازی AMPK چندین اثر مثبت بر متابولیسم گلوکز در افراد مبتلا به دیابت دارد. اولاً، فعال‌سازی AMPK حساسیت انسولین را با ارتقاء جذب گلوکز به عضلات افزایش می‌دهد، جایی که می‌توان از آن برای تولید انرژی استفاده کرد. این به کاهش سطح قند خون و کاهش وابستگی به انسولین برای جذب گلوکز کمک می‌کند. ثانیاً، فعال‌سازی AMPK تولید میتوکندری، نیروگاه‌های انرژی سلول‌ها را تحریک می‌کند که نقش مهمی در متابولیسم گلوکز و اسیدهای چرب دارند. با افزایش بیوژنز میتوکندری، AMPK به بهبود سلامت متابولیک کلی و تولید انرژی کمک می‌کند [۱۱].

علاوه بر این، فعال‌سازی AMPK از طریق ورزش دارای اثرات ضد التهابی است که به‌طور ویژه به بیماری دیابت مرتبط است. التهاب مزمن درجه پایین یکی از ویژگی‌های رایج دیابت نوع دو است و با مقاومت به انسولین و سایر ناهنجاری‌های متابولیک همراه است. AMPK با مهار مسیرهای التهابی و ترویج آزادسازی سیتوکین‌های ضد التهابی به کاهش التهاب و بهبود سلامت متابولیک در افراد مبتلا به دیابت کمک می‌کند [۱۲]. علاوه بر اثرات آن بر متابولیسم گلوکز و التهاب، فعال‌سازی AMPK از طریق ورزش با بهبود متابولیسم لیپید مرتبط است. افراد مبتلا به دیابت اغلب دچار دیس لیپیدمی هستند که با سطوح بالای تری‌گلیسیرید و کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)[3] مشخص می‌شود که خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش می‌دهد. فعال‌سازی AMPK اکسیداسیون اسیدهای چرب را ترویج می‌کند و سنتز اسیدهای چرب را مهار می‌کند که منجر به کاهش سطح تری‌گلیسیرید در گردش و کلسترول LDL می‌شود [۱۳].

علاوه بر این، در طول ورزش، انقباضات عضلانی فعال شدن AMPK را تحریک می‌کند، که به نوبهٔ خود جذب گلوکز توسط سلول‌های عضلانی را افزایش می‌دهد تا انرژی مورد نیاز فعالیت بدنی را برآورده کند. این فرآیند به تخلیه ذخایر گلیکوژن در عضلات کمک می‌کند و فضایی را برای جذب و ذخیرهٔ گلوکز در طول ریکاوری پس از ورزش ایجاد می‌کند. با افزایش ظرفیت ذخیرهٔ گلیکوژن عضلانی، فعال‌سازی AMPK از طریق ورزش به بهبود هموستاز گلوکز و در دسترس بودن انرژی در افراد مبتلا به دیابت کمک می‌کند [١٤].

در نتیجه، فعالسازی AMPK ناشی از ورزش نقش مهمی در بهبود متابولیسم گلوکز، حساسیت به انسولین، التهاب، متابولیسم لیپید و ذخیره گلیکوژن عضلانی در افراد مبتلا به دیابت دارد. همچنین AMPK فرآیندهای سلولی مختلف را

[1] Adenosine monophosphate-activated kinase (AMPKα1/2)
[2] The serine/threonine kinase LKB1
[3] dense low-density lipoprotein (LDL)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

برای حفظ تعادل انرژی و هموستاز متابولیک در طول فعالیت بدنی هماهنگ می‌کند. گنجاندن ورزش منظم در برنامه‌های مدیریت دیابت می‌تواند به مهار اثرات مفید فعال‌سازی AMPK برای بهبود سلامت کلی متابولیک و کاهش خطر عوارض مرتبط با دیابت کمک کند [۱۵]. بنابراین، انواع فعالیت‌های ورزشی می‌توانند با تمرکز بر تقویت عملکردهای جسمانی راهکار درمانی یا پیش‌آگاهی مفیدی برای بیماران دیابتی باشد [۱٦]. از این‌رو هدف از مطالعهٔ حاضر تأثیر MIIT بر موش‌های صحرایی دیابتی است که به‌طور متناوب بین دوره‌های با شدت متوسط و کم در حال ورزش هستند.

روش‌ها

نمونه و نوع پژوهش

پژوهش حاضر به‌صورت تجربی-بنیادی است که در آن ۱۲ سر رت نر دو ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۳۰±۲۸۰ گرم شرکت داشتند. رت‌ها بعد از خریداری با چرخهٔ تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ و دمای هوای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد با رطوبت ٤۰-۵۰ درصد در آزمایشگاه مخصوص حیوانات نگه‌داری شدند. غذای حیوانات در قالب پَلت و آب در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری به‌صورت آزادانه و استاندارد در اختیار رت‌ها قرار داده شد.

روش القاء دیابت

برای ایجاد دیابت نوع یک، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[1] (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH =٤/۵) به‌صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ٦۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، از خون سیاهرگ دمی موش‌ها توسط دستگاه قند خون اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۲٦۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. پس از القای دیابت رت‌ها به‌صورت تصادفی به دو گروه: تمرین دیابتی (شش سر) و کنترل دیابتی (شش سر) تقسیم شدند [۱۷].

[1] Streptozotocin

برنامهٔ تمرینی MIIT

قبل از شروع برنامهٔ تمرین اصلی MIIT، اندازه‌گیری حداکثر سرعت بر روی گروه پایلوت جهت تنظیم و کنترل سرعت رت‌های گروه تمرین اصلی انجام گرفت که حدوداً یک هفته جلوتر از گروه تمرین اصلی بودند. این رت‌های گروه پایلوت با سرعت پنج متر بر دقیقه شروع به دویدن می‌کردند و هر سه دقیقه سرعت نوارگردان پنج متر بر دقیقه افزایش می‌یافت تا رت‌ها به خستگی برسند. معیار خستگی رت‌ها چسبیدن به انتهای تردمیل بود. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی می‌رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته می‌شد.

گروه MIIT به‌مدت ٦ هفته و هر هفته ٤ جلسه تمرین کردند. رت‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه گرم کردند. سپس برنامهٔ تمرینی شامل ٤ وهلهٔ ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۵ تا ۷۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای با شدت معادل ۳۵ تا ٤۵ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سرد کردند. شیب نوارگردان صفر درجه و در ٦ هفته تغییری نداشت.

روش بافت برداری

بعد از ۲٤ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از ۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کتامین و سه تا پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن زایلازین، بی‌هوش شدند. بعد از آن بافت عضلهٔ نعلی جدا و در سرم فیزیولوژیک جهت بر طرف کردن آلودگی‌های خونی و بافتی تمیز و درون میکروتیوب‌ها قرار داده شدند. سپس با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- منجمد شدند.

شناسایی و سنجش بیان پروتئین‌ها

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت عضلهٔ نعلی از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

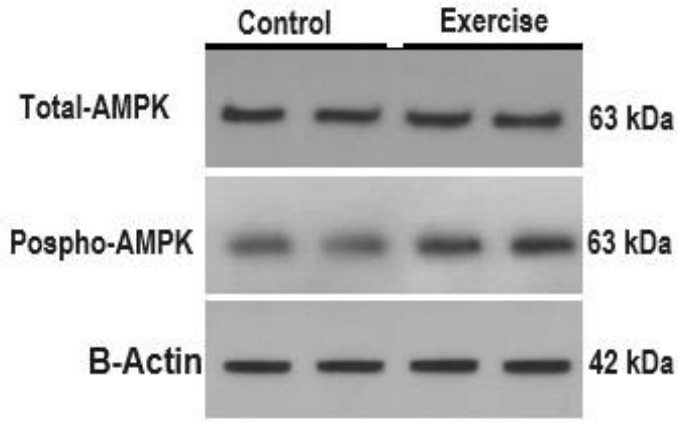
بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ٤ درجهٔ سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین کنندهٔ پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگه‌داری شد، سپس هموژن به‌دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونهٔ لودینگ بافر (mM50 تریس‌کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتامرکاپتواتانول 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 BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) 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) و با تجزیه‌وتحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخهٔ ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی اولیه AMPKα1/2 (D-6): sc-74461 و آنتی‌بادی‌های ثانویه m-IgGκ BP-HRP: sc-516102 و anti-rabbit IgG-HRP: sc-2357 از شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری شاپیرو-ویلک بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، متغیرهای تحقیق حاضر از طریق آزمون‌های آماری t-مستقل تجزیه‌وتحلیل شدند. بررسی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار گراف‌پد پریسم نسخهٔ ۱۰ انجام گرفت. سطح معناداری پژوهش حاضر، P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

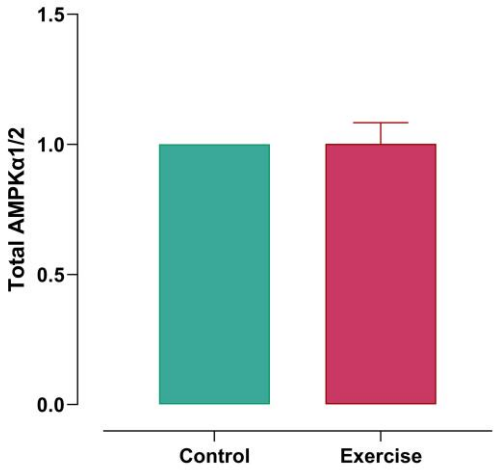
یافته‌ها

بررسی داده‌ها براساس آزمون آماری t-مستقل نشان داد، محتوای درون سلولی تام پروتئین AMPKα1/2 به‌دنبال ٦ هفته MIIT، تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان نداد (P= ۰/۹٦) (شکل ۱)(نمودار۱). در مقابل محتوای درون سلولی فسفریله پروتئین AMPKα1/2 به‌دنبال ٦ هفته MIIT، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان داد (P= ۰/۰۰۰۱) (شکل ۱)(نمودار۲). همچنین محتوای درون سلولی نسبت فرم فسفریله به تام پروتئین AMPKα1/2 به‌دنبال ٦ هفته MIIT، تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان داد (P= ۰/۰۰۲) (شکل ۱)(نمودار۳).

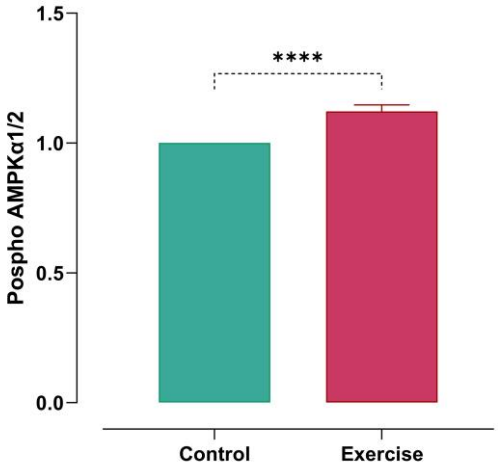


شکل ۱- تصاویر وسترن بلات برای انواع پروتئین‌های تام و فسفریلهٔ AMPKα1/2 همراه با بتا آکتین

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

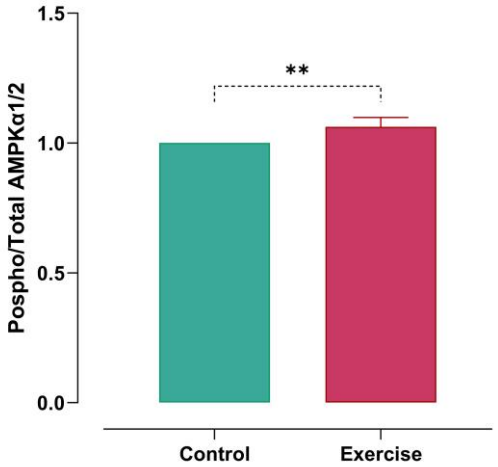


نمودار ۱- میانگین و انحراف استاندارد محتوای درون سلولی فرم تام پروتئین AMPKα1/2



نمودار ۲- میانگین و انحراف استاندارد محتوای درون سلولی فرم فسفریلۀ پروتئین AMPKα1/2

(*** وجود تفاوت معنی‌دار گروه تمرین نسبت به کنترل در سطح ۰/۰۰۰۱)



نمودار ۳- میانگین و انحراف استاندارد محتوای درون سلولی نسبت فرم فسفریلۀ به تام پروتئین AMPKα1/2

(** وجود تفاوت معنی‌دار گروه تمرین نسبت به کنترل در سطح ۰/۰۰۱)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

بحث

نتایج تحقیق حاضر تغییر معنی‌داری را در محتوای درون سلولی فرم تام پروتئین AMPKα1/2 پس از ٦ هفته MIIT در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان نداد. در مقابل محتوای درون سلولی فرم فسفریله و نسبت فرم فسفریله به تام پروتئین AMPKα1/2 پس از ٦ هفته MIIT افزایش معنی‌داری را در عضلهٔ اسکلتی نعلی نشان داد. AMPK در بسیاری از شرایط پاتولوژیک مانند التهاب، دیابت، پیری و سرطان مهار می‌شود، درحالی‌که فعال‌شدن بیش از حد AMPK در بسیاری از بیماری‌ها مانند مقاومت به انسولین، دیابت، چاقی، سرطان و آلزایمر اثرات مثبتی دارد [۱۸]. همچنین AMPK یک تنظیم‌کننده اصلی است که حالت انرژی را حس می‌کند، و متابولیسم را برای استفاده از گلوکز و اسیدهای چرب تقویت می‌کند و میانجی مفید سازگاری سلولی در بسیاری از بافت‌ها و اندام‌های حیاتی است [۱۹]. در تحقیقی توسط Chen و همکاران (۲۰۲۰) نشان داده شد که محتوای پروتئین‌های AMPKα1 و AMPKα2 پس از ٤ هفته تمرین ورزش هوازی در عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی افزایش می‌یابد. براساس این نتایج محققان بیان کردند که فعال‌سازی AMPKα1/2 منجر به افزایش متابولیسم لاکتات برای جلوگیری از اسیدوز لاکتیک در عضلهٔ اسکلتی موش‌های دیابتی می‌شود و اثر مثبتی بر مصرف گلوکز و کاهش دیابت دارد [۲۰]. همچنین نشان داده شده است که محتوای پروتئین AMPKα1/2 در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک و دو پس از انجام تمرین‌های هوازی از جمله استقامتی و تناوبی با شدت بالا افزایش می‌یابد [۲۳-۲۱]. علاوه بر این، نشان داده شده است که تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT)[1] محتوای کل و فسفریلهٔ AMPKα1/2 را در عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بی‌تحرک افزایش می‌دهد. در مجموع نتایج بالا نشان می‌دهند که MIIT و دیگر فعالیت‌های ورزشی هوازی ممکن است حساسیت به انسولین و هموستاز گلوکز را در موش‌های صحرایی دیابتی با فعال‌کردن مسیرهای سیگنالینگ AMPKα1/2 بهبود بخشد [٢٤]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که MIIT تنها محتوای فسفریله و نسبت فرم فسفریله به تام پروتئین AMPKα1/2 را در عضلهٔ اسکلتی نعلی افزایش می‌دهد، اما تأثیری بر محتوای کل آن ندارد. در مجموع ممکن است به بهبود حساسیت به انسولین و کنترل گلوکز خون کمک کند. از این‌رو نتایج تحقیق حاضر مشابه با نتایج گزارش شده در بالا است. بنابراین، می‌توان گفت که نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات بالا هم‌خوانی دارند و نشان می‌دهند MIIT و دیگر فعالیت‌های ورزشی هوازی می‌توانند مسیرهای سیگنالینگ AMPKα1/2 را در عضلهٔ اسکلتی موش‌های صحرایی دیابتی فعال کنند و به بهبود وضعیت متابولیکی آنها کمک کنند. در کل می‌توان گفت که نتایج تحقیق حاضر همراه با نتایج تحقیقات دیگر با وجود تفاوت در نوع تمرین، شدت تمرین، مدت زمان تمرین، نوع بافت عضلانی، نوع دیابت و عوامل دیگر هم‌راستا است.

از نظر سازِکارهای درون سلولی، به‌نظر می‌رسد اتصال AMP به AMPK باعث افزایش فعالیت AMPK توسط سه سازِکار می‌شود: ۱) فعال‌سازی مستقیم آلوستریک، ۲) تسهیل فسفوریلاسیون باقیمانده ترئونین-۱۷۲ و ۳) مهار دفسفوریلاسیون ترئونین-۱۷۲ [۲۵]. از طرفی دیگر AMPK انرژی سلولی را برای تعدیل کنترل کیفیت میتوکندری به‌منظور حفظ هموستاز پُرانرژی یک‌پارچه می‌کند [٢٦]. از این‌رو، در پاسخ به فعالیت‌های ورزشی، تقاضای انرژی در عضلات اسکلتی افزایش چشم‌گیری پیدا می‌کند که نیاز به افزایش گردش انرژی از طریق AMPK دارد. انقباضات عضلانی همچنین در حین فعالیت‌های ورزشی منجر به افزایش کلسیم، اکسید نیتریک، گونه‌های فعال اکسیژن و AMP/ADP به‌عنوان نشانه‌های استرس می‌شود، که به نوبه خود بسیاری از کینازها و مسیرهای سیگنال، مانند پروتئین کینازهای فعال‌شده با میتوژن (ERK، p38، JNK)، CaMKKs و AMPK را فعال می‌کند [۲۷]. فعال‌سازی این مسیرهای سیگنالینگ نه تنها به افزایش جذب گلوکز و اسیدهای چرب و اکسیداسیون به‌عنوان منبع سوخت برای حفظ فعالیت‌های ورزشی کمک می‌کند، بلکه به فرآیندهای تطبیقی که برای افزایش عملکردهای انقباضی و متابولیک عضلانی در طولانی مدت حیاتی است کمک می‌کند. به‌نظر می‌رسد AMPK به شدت در این فرآیندهای تنظیمی دخیل است، زیرا فعال شدن AMPK با افزایش فسفوریلاسیون ترئونین-۱۷۲ در حین و بلافاصله پس از فعالیت‌های ورزشی رخ می‌دهد [۱۹]. همچنین سایر یافته‌ها نشان می‌دهند که فعال‌سازی AMPK ناشی از فعالیت‌های ورزشی ممکن است باعث افزایش جذب گلوکز و اسیدهای چرب و اکسیداسیون در عضلات اسکلتی شود [۲۸].

[1] moderate-intensity continuous training (MICT)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

لذا در طول فعالیت‌های ورزشی، افزایش فوری جذب گلوکز توسط سلول‌های عضلانی به‌عنوان سوخت برای حفظ فعالیت‌های ورزشی انجام می‌شود. انقباضات عضلانی نیز انتقال ناقل گلوکز نوع ٤ (GLUT4) را از وزیکول‌های ذخیره به سطح سارکولما، غشای پلاسمایی عضله تحریک می‌کند، که امکان انتشار آسان گلوکز را به سمت غلظت پایین آن در داخل سلول‌های عضلانی می‌دهد (شکل ۱). از این‌رو، AMPK برای مدت طولانی به‌عنوان یک کیناز حیاتی در ترویج جذب گلوکز ناشی از فعالیت‌های ورزشی در نظر گرفته شده است. این موضوع توسط شواهدی مبنی بر فعال‌سازی دارویی AMPK تأیید شده است، که نشان می‌دهد AMPK برای القای انتقال GLUT4 به سارکولم کافی است و منجر به افزایش جذب گلوکز می‌شود [۳۰، ۲۹]. با این حال، شواهد برای نقش قطعی فعال‌سازی AMPK در جذب گلوکز ناشی از فعالیت‌های ورزشی تا حدودی متناقض است و منجر به اختلاف در نقش فعال‌سازی AMPK برای افزایش جذب گلوکز در طول فعالیت‌های ورزشی شده است [۳۱]. یک مطالعهٔ اولیه گزارش کرد در موش‌های با عضلهٔ فاقد AMPK پاکسازی گلوکز در طول فعالیت‌های ورزشی کاهش می‌یابد و این نشان می‌دهد فعال‌سازی AMPK برای افزایش جذب گلوکز توسط عضلهٔ اسکلتی مهم است [۳۲]. در مقابل، مطالعات جدیدتر نشان دادند که ناک‌اوت اختصاصی AMPKα1/2 عضله در موش‌های صحرایی برای جذب گلوکز ناشی از فعالیت ورزشی مورد نیاز نیست [۳۳، ۳٤]. همچنین برخی از محققان دریافتند که فعال‌سازی AMPK در جذب گلوکز ناشی از انقباض در انواع مدل‌های کاهش ژن AMPK مورد نیاز نیست [۳۵]، اما برخی دیگر دریافتند که جذب گلوکز ناشی از انقباض در عضلهٔ فاقد AMPKα2 مختل می‌شود [۳۵]. از این‌رو، مطالعات بیشتر در این زمینه مورد نیاز است.

با این حال، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که MIIT محتوای پروتئین AMPKα1/2 را در بافت عضلانی نعلی موش‌های دیابتی افزایش می‌دهد و این می‌تواند منجر به افزایش تولید و مصرف انرژی و بهبود سطوح گلوکز در آزمودنی‌های دیابتی شود. با این وجود با توجه به عملکردهای متفاوت پروتئین AMPK، افزایش بیش از حد آن می‌تواند منجر به ساختارهای سلولی و افزایش عوارض بیماری مانند افزایش مقاومت به انسولین و اختلال در عملکرد سلول‌های بتا شود. بنابراین، تنظیم مسیر سیگنالینگ AMPK توسط فعالیت‌های ورزشی ممکن است یک راهبرد امیدوارکننده برای پیشگیری و درمان دیابت و پیامدهای قلبی متابولیک آن باشد. با این حال، تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی شرایط فعالیت ورزشی مانند شدت، مدت، نوع، تعداد تکرارها، مدت زمان ریکاوری و غیره مورد نیاز است.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل تلاش نویسندگان این تحقیق است که با همکاری یکدیگر انجام شده است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

تعارض منافع

این مطالعه هیچگونه تضاد منافعی ندارد.

مآخذ

1. Williams JE, et al. Exercise considerations for type 1 and type 2 diabetes. *ACSM's Health & Fitness Journal*. 2018; 22(1):10-16.
2. Mirzaei S, et al. The Effect of Endurance Training On the Amount of Proteins Involved In the Regulation of Adipose Tissue Metabolism in Type 2 Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2022; 22(5):321-330.
3. Herzig S, and Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2018; 19(2):121-135.
4. Afinanisa Q, Cho MK, and Seong HA. AMPK localization: a key to differential energy regulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22(20):10921.
5. Xu X, et al. Regulation of AMPK activation by extracellular matrix stiffness in pancreatic cancer. *Genes & Diseases*. 2024; 11(3):101035.
6. Joseph BK, et al. Inhibition of AMP kinase by the protein phosphatase 2A heterotrimer, PP2APpp2r2d. *Journal of Biological Chemistry*. 2015; 290(17):10588-10598.
7. Lin SC, and Hardie DG. AMPK: sensing glucose as well as cellular energy status. *Cell metabolism*. 2018; 27(2):299-313.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

8. Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *The FASEB Journal*. 2018; 32:379.3-379.3.
9. Song F, et al. Acacetin attenuates diabetes-induced cardiomyopathy by inhibiting oxidative stress and energy metabolism via PPAR-α/AMPK pathway. *European Journal of Pharmacology*. 2022; 922:174916.
10. Jung SR, et al. Lithium and exercise ameliorate insulin-deficient hyperglycemia by independently attenuating pancreatic α-cell mass and hepatic gluconeogenesis. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2024; 28(1):31-38.
11. Marcinko K, and Steinberg GR. The role of AMPK in controlling metabolism and mitochondrial biogenesis during exercise. *Experimental physiology*. 2014; 99(12):1581-1585.
12. Salt IP, and Palmer TM. Exploiting the anti-inflammatory effects of AMP-activated protein kinase activation. *Expert opinion on investigational drugs*. 2012; 21(8):1155-1167.
13. Greene NP, et al. Regulators of blood lipids and lipoproteins? PPARδ and AMPK, induced by exercise, are correlated with lipids and lipoproteins in overweight/obese men and women. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2012; 303(10):E1212-E1221.
14. Janzen NR, Whitfield J, and Hoffman NJ. Interactive roles for AMPK and glycogen from cellular energy sensing to exercise metabolism. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19(11):3344.
15. Seaborne RA, and Sharples AP. The interplay between exercise metabolism, epigenetics, and skeletal muscle remodeling. *Exercise and sport sciences reviews*. 2020; 48(4):188-200.
16. Wu L, et al. GLP-1 regulates exercise endurance and skeletal muscle remodeling via GLP-1R/AMPK pathway. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2022; 1869(9):119300.
17. Sherafati-Moghadam M, et al. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on protein expression in Flexor Hallucis Longus (FHL) and soleus (SOL) in rats with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2022; 21(2):1499-1508.
18. Canbolat E, and Cakıroglu FP. The importance of AMPK in obesity and chronic diseases and the relationship of AMPK with nutrition: a literature review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023; 63(4):449-456.
19. Spaulding HR, and Yan Z. AMPK and the adaptation to exercise. *Annual Review of Physiology*. 2022; 84:209-227.
20. Chen CC, et al. Relationship between AMPK and Monocarboxylated Transporter in Skeletal Muscle of Diabetic Rats during Aerobic Exercise. *Adaptive Medicine*. 2020; 12(3):78-84,
21. Aghaei Bahmanbeglou N, Sherafati Moghadam M, and Amirahmadi M. The Effect of Ampk and P53 Proteins On Tor Pathway Following Endurance Training In The Left Ventricle Of The Heart Of Diabetic Rats By Streptozotocin And Nicotinamide. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2021; 21(1):13-23.
22. Jokar M, Sherafati Moghadam M, and Salesi M. The effect of endurance exercise on the content of ampk and pgc-1α proteins in the left ventricular heart tissue of rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2020; 19(5):252-260.
23. Jokar M, Sherafati Moghadam M, and Daryanoosh F. The effect of a period of high-intensity interval training on the content of AMPK and PGC-1α proteins in the heart muscle tissue of rats with type 2 diabetes. *Daneshvar Medicine*. 2021; 29(1):23-34.
24. Yu P, et al. Effects of high-intensity interval training, moderate-intensity continuous training, and guideline-based physical activity on cardiovascular metabolic markers, cognitive and motor function in elderly sedentary patients with type 2 diabetes (HIIT-DM): a protocol for a randomized controlled trial. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2023; 15.
25. Morales-Alamo D, and Calbet JA. AMPK signaling in skeletal muscle during exercise: Role of reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016; 98:68-77.
26. Drake JC, et al. Mitochondria-localized AMPK responds to local energetics and contributes to exercise and energetic stress-induced mitophagy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2021; 118(37):e2025932118.
27. Richter EA, and Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiological reviews*. 2013.
28. Hoffman NJ, et al. Global phosphoproteomic analysis of human skeletal muscle reveals a network of exercise-regulated kinases and AMPK substrates. *Cell metabolism*. 2015; 22(5): 922-935.
29. Myers RW, et al. Systemic pan-AMPK activator MK-8722 improves glucose homeostasis but induces cardiac hypertrophy. *Science*. 2017; 357(6350):507-511.
30. Cokorinos EC, et al. Activation of skeletal muscle AMPK promotes glucose disposal and glucose lowering in non-human primates and mice. *Cell metabolism*. 2017; 25(5): 1147-1159.
31. McConell GK. It's well and truly time to stop stating that AMPK regulates glucose uptake and fat oxidation during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2020; 318(4):E564-E567.
32. O'Neill HM, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) β1β2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011; 108(38):16092-16097.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

The Effect of Moderate Intensity Interval Training (MIIT) on the Total and Phosphorylated Content of Ampkα1/2 Protein in the Soleus Skeletal Muscle of Diabetic Rats

Sajad Mirzaei[1], Hamed Alizadeh Pahlavani[*2], Akbar Ghodratnama[1], Reza Moayedi[1]

1. Department of Sport Sciences, Apadana Institute of Higher Education, Shiraz, Iran
2. Department of Physical Education, Farhangian University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Adenosine monophosphate-activated kinase (AMPK) is a key regulator of cellular metabolism, and its dysregulation is associated with metabolic diseases such as obesity, inflammation, diabetes, and cancer. Therefore, the purpose of this research is the effect of moderate intensity interval training (MIIT) on the total and phosphorylated content of AMPKα1/2 protein in the skeletal muscle of diabetic rats.
Methods: In this experimental study, 12 two-month-old male Sprague Dawley rats with an average weight of 280±30 grams were selected. Diabetes was induced to rats through intraperitoneal injection of streptozotocin solution (with a dose of 65 mg per kg of body weight). These rats were randomly divided into two groups, diabetic training and diabetic control; The training group performed MIIT for 6 weeks at an intensity equal to 55-75% of maximum speed. Data analysis was done through independent t-test in GraphPad Prism version 10 software. The significance level of the current research is $P \leq 0.05$.
Results: Total intracellular content of AMPKα1/2 protein did not show significant changes in the training group compared to the control group in the soleus skeletal muscle (P= 0.96). In contrast, the phosphorylated intracellular content (P= 0.0001) and the ratio of phosphorylated to total form (P= 0.002) of AMPKα1/2 protein showed a significant increase.
Conclusion: MIIT increased the protein content of AMPKα1/2 in soleus muscle tissue of diabetic rats, and this could lead to increased energy production and consumption and improved glucose levels in diabetic subjects.

Keywords: Adenosine Monophosphate-activated Kinase (AMPKα1/2), Moderate Intensity Interval Training, Soleus Muscle, Diabetes

* Bahonar Branch, Farhangian University, Tarbiat Moalem St, Kaveh St, Isfahan, Iran. P.O. Box 14665-889, Tel: +989163712199, Email: ha.alizadeh@cfu.ac.ir

Copyright © 2025 Iranian 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 2025-04-20]