



The effect of four weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the Left ventricular muscle tissue of the heart obese rats with type 2 diabetic

Neda Aghaei Bahman Beglou¹, Saeedeh Shadmehri^{2*}, Shiva Jahani Golbar²,
Mohammad Sherafati Moghadam³

¹ Department of Physical Education and Sport Sciences, AliabadKatoul Branch, Islamic Azad University, AliabadKatul, Iran

² Department of Physical Education and Sport Sciences, Yadegar-e-imam Khomeini (RAH) Shahr-e Ray Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³ Department of Sport Sciences, Apadana Institute of Higher Education, Shiraz, Iran

Original Article

Abstract

Purpose: The pathway for a Rapamycin target in mammals (mTORC1) is one of the important pathways for protein synthesis in the heart, and diabetes can lead to disorder of this pathway. The aim of this study was to investigate the effect of four weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the left ventricular muscle tissue of the heart obese rats with type 2 diabetic.

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

Results: There was no significant difference change the total form content of the AKT1 proteins ($p=0.56$), mTOR ($p=0.50$), P70S6K1 ($p=0.99$) and 4E-BP1 ($p=0.32$) in the training group compared to the control group; Also, the HIIT training did not significantly changed the phosphorylated form content of AKT1ser473 ($p=0.25$), mTORser2448 ($p=0.74$), P70S6K1Thr389 ($p=0.37$) and 4E-BP1Thr37/46 ($p=0.38$) proteins in the training group compared to the control group.

Conclusion: HIIT training has not significantly changed the total and phosphorylated form content of the AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the left ventricle of heart tissue obese rats with type 2 diabetic.

Keywords: High-intensity interval training, Heart tissue, mTORC1 pathway, Type 2 diabetes

How to cite this article: Aghaei Bahman Beglou N, Shadmehri S, Jahani Golbar S, Sherafati Moghadam M. The effect of four weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of AKT1, mTOR, P70S6K1, 4EBP1 proteins in the Left ventricular muscle tissue of the heart obese rats with type 2 diabetic. Sport and Exercise Physiology 2021;14(1): 85-94

*Corresponding Author; E-mail: sshadmehri@iausr.ac.ir
DOI: 10.52547/joeppa.14.1.85



تأثیر چهار هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های AKT1، P70S6K1، mTOR، 4EBP1 در بافت عضلانی بطن چپ قلب موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲

ندا آقایی بهمن بگلو^۱، سعیده شادمهری^{۲*}، شیوا جهانی گلبار^۳، محمد شرافتی مقدم^۲

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

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

۳ گروه علوم ورزشی، مؤسسه آموزش عالی آیدانا، شیراز، ایران

مقاله پژوهشی

چکیده

هدف: مسیر کمپلکس یک هدف رایامایسین در پستانداران (mTORC1) از مسیرهای مهم سنتز پروتئین در قلب است که بیماری دیابت می‌تواند به اختلال در این مسیر منجر شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های AKT1، P70S6K1، mTOR، 4EBP1 در بافت عضلانی بطن چپ قلب موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی (با میانگین وزن 30 ± 2 گرم) انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القای STZ و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به دو گروه تمرین دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند؛ گروه تجربی ۴ روز در هفته مطابق برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته به تمرین ورزشی HIIT پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t-مستقل استفاده شد.

نتایج: میان محتوای تام پروتئین‌های AKT1 ($P=0/56$)، mTOR ($P=0/50$)، P70S6K1 ($P=0/99$) و 4E-BP1 ($P=0/32$) گروه‌های تمرین و کنترل تفاوت معناداری مشاهده نشد. همچنین بین محتوای فسفریله پروتئین‌های AKT1^{ser473} ($P=0/25$)، mTOR^{ser2448} ($P=0/74$)، P70S6K1^{Thr389} ($P=0/37$) و 4E-BP1^{Thr37/46} ($P=0/38$) گروه‌های تمرین و کنترل تفاوت معناداری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: برنامه HIIT بر محتوای تام و فسفریله پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1، 4EBP1 بطن چپ قلب موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ اثر معناداری ندارد.

واژه‌های کلیدی: بافت قلب، تمرین تناوبی شدید، دیابت نوع ۲، مسیر mTORC1

* نویسنده مسئول: رایانامه: sshadmehri@iausr.ac.ir

مقدمه

دیابت با بیماری قلبی-عروقی که شایع‌ترین علت مرگ در بیماران دیابتی است، مرتبط است. اگرچه سازوکارهای پاتولوژیک نامشخص است، تحقیق در مورد تأثیر سوخت‌وساز غیرطبیعی سلول‌های قلب انجام گرفته است (۱). نشان داده شده است که مسیر کمپلکس یک هدف رایپامایسین در پستانداران^۱ (mTORC1) ممکن است برای پیام‌رسانی انسولین در بیماران دیابتی حیاتی باشد (۲). پروتئین کیناز mTOR به‌عنوان یکپارچه‌کننده مرکزی مسیرهای پیام‌رسانی تغذیه‌ای عمل می‌کند و فعالیت آن در بافت قلبی بیماران مبتلا به اختلالات سوخت‌وساز مانند چاقی، دیابت نوع ۲ و سندروم سوخت‌وساز افزایش می‌یابد (۳-۵). mTORC1 یک حسگر اصلی سلولی به‌منظور در دسترس بودن مواد مغذی است که رشد و تفکیک سلولی را تنظیم می‌کند. فعال‌سازی mTORC1 توسط پروتئین کیناز^B (AKT) انجام می‌گیرد (۶). همچنین دو سوبسترا پایین دست mTORC1، پروتئین ریبوزومی S6 کیناز (S6K)^۲ و عامل شروع کننده ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین ۱ (4EBP1)^۴ هستند (۷). فسفوریلاسیون S6K در مسیر mTORC1 به فعال شدن آن منجر می‌شود، درحالی‌که فسفوریلاسیون 4EBP1 مانع توانایی eIF4E می‌شود (۸،۹). فعال شدن پیام‌رسانی mTORC1 با افزایش مواد مغذی مصرفی و کاهش اتوفاژی همراه است که اغلب در بسیاری از سرطان‌ها و اختلالات سوخت‌وسازی مانند دیابت نوع ۲ دیده می‌شود (۱۰). برعکس، کاهش فعالیت mTORC1 از طریق محدودیت کالری، درمان رایپامایسین یا دستکاری ژنتیکی، طول عمر و احتمالاً مدت کاهش بیماری‌ها حاصل می‌شود (۱۱). با این حال، سوبستراهای پایین دست و بافت‌های مهمی که از طریق کاهش پیام‌رسانی mTORC1 این مزایا را فراهم می‌کنند، هنوز مشخص نشده است.

کمپلکس‌های mTOR به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های حیاتی رشد، هومئوستاز و سازگاری قلبی-عروقی با فشار تبدیل شده‌اند به طوری که mTORC1 برای حفظ ساختار قلب، رشد و یکپارچگی عروقی ضروری است، همچنین برای سازگاری قلب به فشار مکانیکی، کمک به توسعه هیپرتروفی جبرانی و محدود کردن مرگ‌ومیر کاردیومیوسیت نیاز است (۱۱). نشان داده شده است که فعال شدن mTORC1 در قلب هنگام فشار مزمن

به تأثیرات ناسازگار چندگانه مانند افزایش هیپرتروفی پاتولوژیک، انباشت پروتئین و فشار انرژی منجر می‌شود (۱۲). در واقع، مهار جزئی فعالیت mTORC1 برای کاهش آسیب قلبی-عروقی در پاسخ به فشار بیش از حد، آسیب‌های ایسکمیک، پیری، کاردیومیوپاتی ژنتیکی و متابولیکی نشان داده شده است (۱۲). mTOR تنظیم‌کننده رشد و عملکرد قلب است. با توجه به عملکردهای متعدد آن، عدم تنظیم پیام‌رسانی mTOR می‌تواند به ایجاد آسیب‌های متعدد مانند سندروم سوخت‌وساز و بیماری‌های قلبی-عروقی منجر شود (۱۳). حذف عمومی اجزای mTORC1 موش چندین اختلال قلبی و عروقی را نشان می‌دهد (۱۴). به همین ترتیب، موش‌های دارای اختلال در ژن mTOR دارای انسداد قلب، نارسایی قلبی و اختلالات سوخت‌وسازی هستند (۱۵).

تمرینات ورزشی می‌تواند با تغییرات روی پروتئین‌ها و مسیرهای سلولی-مولکولی به بهبود عملکرد بافت‌های مختلف بدن کمک کند. در همین زمینه گزارش شده است که ۱۲ هفته تمرین هوازی به افزایش در بیان ژن‌های AKT1 و mTORC1 در موش‌های دیابتی نوع ۲، همچنین ایجاد تغییرات مطلوب در ساختار قلب این موش‌ها منجر می‌شود (۱۶). همچنین نشان داده شده است که فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی به افزایش معنادار محتوای پروتئین AKT، پروتئین mTOR و پروتئین P70S6K1 منجر می‌شود؛ اما محتوای پروتئین 4EBP1 در تمرینات استقامتی، ابتدا کاهش و سپس افزایش چشمگیری یافت و در تمرینات مقاومتی تفاوت معناداری را نشان نداد (۱۷). با این حال، ناگاتا و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تمرینات ورزشی (۱ ساعت شنا در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۹ هفته) تأثیر معناداری بر فسفوریلاسیون کیناز P70S6 در قلب موش‌های صحرایی نداشت (۱۸). در کل فعالیت ورزشی از روش‌های اصلی کنترل دیابت است. تأثیرات مفید فعالیت ورزشی بر سلامت افراد شامل بهبود در کنترل گلیسمی، عمل انسولین، آمادگی قلبی-عروقی، التهاب عمومی، پیامدهای تندرستی مرتبط با دیابت و سلامت روانی است. با توجه به تأثیرات مثبت فعالیت ورزشی بر سلامت، مهم است که بیماران دیابتی به‌طور منظم فعالیت بدنی انجام دهند. در واقع، توصیه به فعالیت بدنی بخش مهمی از مراقبت‌های مؤثر برای بیماران

با کمک گلوکومتر و نمونه خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها قند خون اندازه‌گیری شد. قند خون از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۲۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۴). پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به دو گروه، گروه تمرین (۸ سر) و کنترل (۸ سر) تقسیم شدند.

پروتکل پژوهش: موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان (مدل A1400Y10، شرکت پیشرو اندیشه صنعت، ساخت ایران) به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت ۴ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه روی نوارگردان ۴۴ دقیقه، شامل ۶ دقیقه گرم کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۵ نوبت تمرین ۴ دقیقه‌ای با تناوب شدید (۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت)، ۴ نوبت تمرین ۳ دقیقه‌ای با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت) و ۶ دقیقه سرد کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) بود. شیب نوارگردان صفر درجه بود و در ۴ هفته تغییری نداشت. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند (۲۵). 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، به عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (جدول ۱) (۲۶).

روش‌های آزمایشگاهی: موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین در طول دوره پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای کنترل‌نشده فشارآزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ قلب از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده شد، سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های

مبتلا به دیابت است (۱۹). تمرین تناوبی شدید (HIIT) از انواع مختلف فعالیت‌های ورزشی و شامل دوره‌های تمرین تناوبی همراه با دوره‌های ریکاوری است که همه افراد به‌ویژه بیماران قلبی و دیابتی را قادر به افزایش شدت تمرینات ورزشی می‌کند (۲۱، ۲۰). این نوع تمرین اغلب به وهله‌های تکراری یا فعالیت‌های تناوبی نسبتاً کوتاه با شدت بالا همراه با وهله‌های استراحت گفته می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده است که این نوع تمرینات موجب افزایش ظرفیت سوخت‌وسازی، بهبود دستگاه‌های هوازی و بی‌هوازی و همچنین افزایش کارایی ورزشی و سوخت‌وساز انرژی می‌شود (۲۲). بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های 4EBP1، P70S6K1، mTOR، AKT1 در بافت عضلانی بطن چپ قلب موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت. در این پژوهش، ۱۶ سر موش صحرایی نر ۳ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن 300 ± 20 گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد ویژه حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه 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. برای ایجاد دیابت نوع ۲ در موش‌ها، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با $pH=4/5$) به صورت 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 شد (۲۳). به منظور اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق

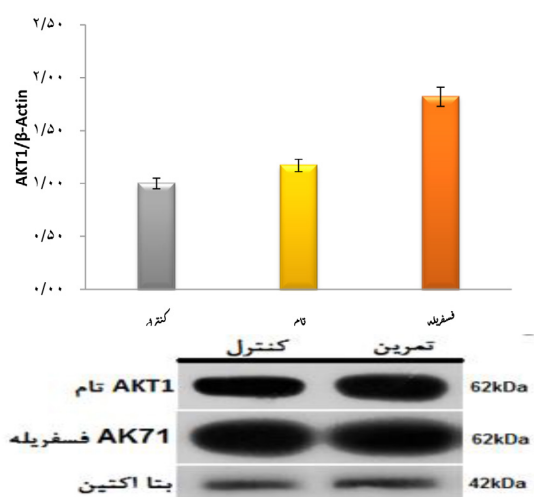
جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شدید چهار هفته‌ای موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲

هفته	تکرارهای ۴ دقیقه‌ای	وهله‌های تمرینی	تمرین با شدت کم (سه دقیقه‌ای)	وهله‌های تمرینی
اول	۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت	۵	۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت	۴
دوم	۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت	۵	۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت	۴
سوم	۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت	۵	۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت	۴
چهارم	۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت	۵	۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت	۴

شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع نمرات در متغیرها، از آزمون پارامتریک t مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. سطح معناداری تجزیه و تحلیل آماری در تحقیق حاضر $P \geq 0.05$ بود.

نتایج

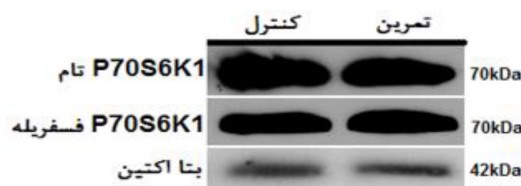
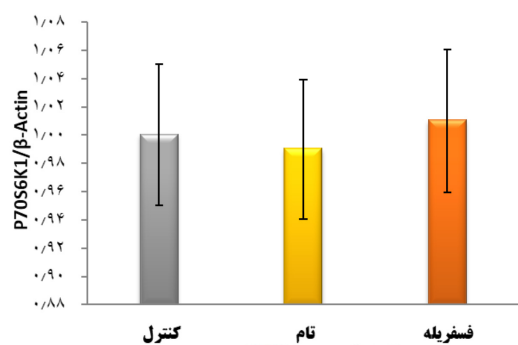
نتایج آزمون t -مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای تام پروتئین AKT1 ندارد ($t_{(df)} = 0.624$ ، $P = 0.56$). همچنین نتایج آزمون t -مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای فسفریله پروتئین AKT1^{ser473} نداشت ($t_{(df)} = 1.329$ ، $P = 0.25$) (شکل ۱).



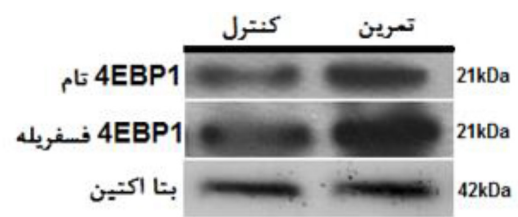
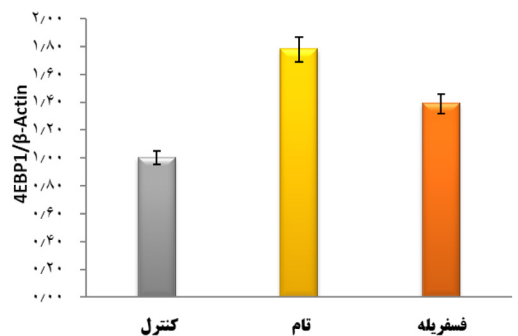
شکل ۱. مقایسه محتوای تام و فسفریله پروتئین‌های AKT1 بافت عضلانی بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ در پی ۴ هفته تمرین تناوبی شدید. تصاویر ایمنوبلاتینگ پروتئین‌های AKT1 و β -actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضلانی بطن چپ ارائه شده است.

بعدی با دمای ۸۰- نگهداری شد (۲۷). با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا هموژنه بافت بطن چپ قلب در لیز بافر RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفیوژ 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 روی غشا ترانسفر شده (غشای دیفورید پلی‌وینیلیدین Polyvinylidene difluoride membrane sigma) و بعد از بلوکه کردن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه با آنتی بادی اولیه خرگوشی تام‌ها anti-AKT1 (sc-135829)، anti-mTOR (sc- anti-P70S6K1 (sc-230) و anti-4EBP1 (sc-1550-R)، فسفریله‌ها anti-AKT1 (sc-52940)، anti-mTOR (sc-9977) anti-4EBP1 (sc-11759) و anti-P70S6K1 (sc-293133) (#-2855) رقیق شده (۱/۵۰۰) در محلول بلاکینگ به مدت یک شب در دمای ۴ درجه نشاندار (پروپ) شدند. پس از سه بار شست‌وشو با بافر فسفات نمکی توین‌دار با آنتی بادی ثانویه ضد خرگوشی کونژوگه با HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور شدند. ایمون کمپلکس‌های ایجاد شده با روش کمی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. چگالی باندها به وسیله نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل لودینگ کنترل (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شد (۲۸).

تحلیل آماری: ابتدا از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین توزیع طبیعی داده‌های پژوهش استفاده

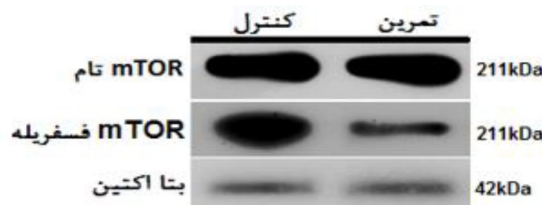
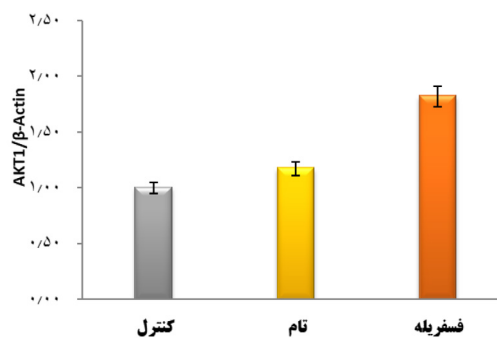


شکل ۳. مقایسه محتوای تام و فسفریله پروتئین های P70S6K1 بافت عضلانی بطن چپ قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ در پی ۴ هفته تمرین تناوبی شدید. تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین های P70S6K1 و β-actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضلانی بطن چپ ارائه شده است.



شکل ۴. مقایسه محتوای تام و فسفریله پروتئین های 4EBP1 بافت عضلانی بطن چپ قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ در پی ۴ هفته تمرین تناوبی شدید. تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین های 4EBP1 و β-actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضلانی بطن چپ ارائه شده است.

نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای تام پروتئین mTOR ندارد (P=0/50, t_(df)=0/735). همچنین نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای فسفریله پروتئین mTOR^{ser2448} ندارد (P=0/74, t_(df)=0/342). (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه محتوای تام و فسفریله پروتئین های mTOR بافت عضلانی بطن چپ قلب موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ به دنبال ۴ هفته تمرین تناوبی شدید. تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین های mTOR و β-actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضلانی بطن چپ ارائه شده است.

نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که چهار هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای تام پروتئین P70S6K1 ندارد (P=0/99, t_(df)=0/006). همچنین نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای فسفریله پروتئین P70S6K1^{Thr389} ندارد (P=0/38, t_(df)=0/979). (شکل ۳).

نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای تام پروتئین 4EBP1 ندارد (P=0/32, t_(df)=1/126). همچنین نتایج آزمون t-مستقل نشان داد که چهار هفته تمرین HIIT تأثیر معناداری بر محتوای فسفریله پروتئین 4E-BP1^{Thr37/46} ندارد (P=0/37, t_(df)=0/997). (شکل ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات نتایج نشان می‌دهد خطر ابتلا به چاقی ممکن است با بیش از حد فعال شدن مسیر پیام‌رسانی mTOR-S6K1 و کاهش محتوای AKT همراه باشد. در همین خصوص، لیائو و ژو (۲۰۱۱) پیام‌رسانی mTOR/S6K1 را در موش‌های مبتلا به چاقی ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا بررسی کردند و افزایش معنادار S6K1 را در عضلات نشان دادند (۳۵). علاوه بر این، خامزینا و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که افزایش ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا در فعالیت mTORC1 دلیل افزایش فسفوریلاسیون S6K1 است (۳۶). گزارش شده است که سنتز پروتئین با مسیر پیام‌رسانی mTOR رابطه نزدیکی دارد (۳۷). از طرفی، به نظر می‌رسد تأثیرات مضر اختلال mTORC1 قلبی تا حدودی با انباشت 4EBP1، در نتیجه اختلال در رونویسی و کمبود تولید پروتئین پایه در کاردیومیوسیت‌ها تعدیل می‌شود (۳۸). نقش تنظیمی مهم تمرین‌های ورزشی بر مسیر AKT/mTOR، افزایش سنتز پروتئین و کاهش تجزیه پروتئین را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد مسیر mTOR نقش اصلی در توسعه هیپرتروفی قلبی داشته باشد. تغییرات هیپرتروفی قلبی فرایندی است که به افزایش چشمگیری در سنتز پروتئین‌های سارکومری نیاز دارد و مسیر mTOR پروتئین پروموتور اصلی است. درباره سازوکارهای اثرگذار بر پروتئین‌های هدف بافت قلبی نشان داده شده است که فعالیت mTORC1 در پاسخ به هیپرتروفی کاردیومیوسیت‌ها به تحریک بتا-آدرنرژیک، آنژیوتانسین II و IGF-1 افزایش می‌یابد و مهار mTORC1 موجب مهار توسعه هیپرتروفی می‌شود (۳۹). در همین زمینه گزارش شده است که گیرنده نوع ۱ آنژیوتانسین ۲ در فعال‌سازی مسیر AKT/mTOR و ERK 1/2 پس از تمرین ورزشی نقش دارد، به طوری که پس از یک جلسه تمرین مقاومتی شامل ۴ نوبت با ۱۲ تکرار و ۸۰ درصد بار کار، فسفوریلاسیون AKT افزایش یافت. همچنین تمرین مقاومتی فسفوریلاسیون mTOR و ERK 1/2 را افزایش داد. با این حال در پروتئین P70S6K، تغییری مشاهده نشد (۴۰). mTORC1 طی هیپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرین ورزشی و طی هیپرتروفی پاتولوژیک ناشی از تنگی آئورت و فشار خون خودبه‌خودی فعال می‌شود. با این حال، شواهدی وجود دارد که mTORC1 بعدها غیرفعال می‌شود، زمانی که عملکرد قلب بدتر و نارسایی قلبی ایجاد می‌شود (۴۱). مسیر PI3K/AKT به‌طور

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۴ هفته تمرین HIIT، بر محتوای تام پروتئین‌های mTOR، AKT1، mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 تأثیر معناداری ندارد. همچنین اثر تمرین HIIT، بر محتوای فسفریله پروتئین‌های AKT1^{ser473}، mTOR^{ser2448}، P70S6K1^{Thr389} و 4EBP1^{Thr37/46} معنادار نبود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج برخی مطالعات قبلی همسوست. در همین زمینه، لیائو و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که تمرینات با شدت متوسط به فعال‌سازی معنادار mTOR، AKT و P70 (S6K) منجر می‌شود، اما در گروه تمرین با شدت بالا تغییری در فعال‌سازی معنادار AKT، mTOR و P70 (S6K) بافت قلب موش‌های اسپراگوداولی مشاهده نشد (۲۹). گزارش شده است فعالیت mTOR ناشی از ورزش هوازی موجب افزایش سوخت‌وساز می‌شود (۳۰). انجام تمرین هوازی ممکن است با تنظیم کاهشی مسیر mTOR-Raptor-S6K1 و افزایش محتوای AKT همراه باشد. ویلیامسون و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که دلیل کاهش S6K1 ناشی از فعالیت ورزشی هوازی است (۳۱). در حالی که کاهش غلظت پروتئین مربوط به پیام‌رسانی mTOR با توجه به تمرین هوازی ممکن است منعکس‌کننده تأثیرات منفی آن بر سوخت‌وساز و سنتز پروتئین در عضله باشد و طبیعی‌سازی پیام‌رسانی غیرطبیعی ناشی از چاقی را نشان دهد (۳۲). در مطالعه حاضر تفاوت معناداری در پروتئین‌های بافت قلب در پاسخ به تمرین HIIT وجود نداشت؛ به نظر می‌رسد تمرین HIIT بر مسیر کمپلکس یک هدف راپاماسین در پستانداران (mTORC1) اثرگذار نیست و این مسیر به‌ویژه در بافت قلب به فعالیت هوازی بیشتر پاسخ می‌دهد. از طرفی احتمالاً عدم پاسخ‌دهی مسیر mTORC1 به تمرین HIIT در تحقیق حاضر، به شرایط آزمودنی‌ها یعنی دیابتی بودن آن‌ها مربوط باشد. مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که AKT به‌طور نزدیکی با تنظیم مقادیر mTOR و سطح S6K1 رابطه دارد و افزایش بیان AKT موجب بهبود چاقی ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا و افزایش آنابولیسم عضله می‌شود (۳۳). همچنین به نظر می‌رسد که چاقی عامل اصلی فعالیت S6K1 است. در مطالعات قبلی تأیید شده است که فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی S6K1 نه تنها با سنتز پروتئین بلکه همچنین با چاقی مرتبط است (۳۴).

هوای انجام گرفت. از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر پروتئین‌های درگیر در مسیر پیام‌رسانی mTOR در عضلات قلبی اشاره کرد. اندازه‌گیری مسیرهای پیام‌رسانی همچون مسیر ERK 1/2 و پیام‌رسانی اکسید نیتریک و همچنین گیرنده‌های آدرنژیک نیز می‌تواند تأثیرات فعالیت بدنی بر عوامل درگیر در عضله قلبی در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت را به‌طور روشن‌تری نشان دهد. به هر حال در این زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

با توجه به نتایج، ۴ هفته تمرین HIIT موجب تغییر معنادار محتوای پروتئین‌های mTOR، AKT1، P70S6K1، 4EBP1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع ۲ نمی‌شود. بنابراین با اندکی احتیاط می‌توان گفت تمرین HIIT بر مسیرهای سنتز پروتئین در بافت قلب تأثیری ندارد.

پی‌نوشت‌ها

- 1 The mammalian target of rapamycin complex 1
- 2 Protein kinase
- 3 Ribosomal protein S6 kinase beta-1 (S6K1)
- 4 Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1
- 5 High-intensity interval training

منابع

1. Filippo CD, Cuzzocrea S, Rossi F, Marfella R, D'Amico M. Oxidative stress as the leading cause of acute myocardial infarction in diabetics. *Cardiovascular Drug Reviews*. 2006;24(2):77-87.
2. Chong ZZ, Maiese K. Mammalian target of rapamycin signaling in diabetic cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11: 45-56.
3. Zoncu R., Efeyan A., Sabatini D. M., "MTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 12, no. 1, pp. 21-35, 2011.
4. Hannan R. D., Jenkins A., Jenkins A. K., Brandenburger Y., "Cardiac hypertrophy: a matter of translation," *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 30, no. 8, pp. 517-527, 2003.
5. Gul R., DeMarco V. G., Sowers J. R., Whaley-Connell A., Pulakat L., "Regulation of over-nutrition-induced cardiac inflammatory mechanisms," *Cardiorenal Medicine*, vol. 2, no. 3, pp. 225-233, 2012.
6. Menon S, Dibble CC, Talbott G, Hoxhaj G, Valvezan AJ, Takahashi H, et al. Spatial control

چشمگیری به فعال شدن mTORC1 در طول توسعه هیپرتروفی قلبی، به‌ویژه در پاسخ به ورزش کمک می‌کند (۴۲). با این حال، پیام‌رسانی بتا-آدرنژیک، مسیر ERK و پیام‌رسانی اکسید نیتریک نیز در فعال‌سازی mTORC1 در طول توسعه هیپرتروفی قلب دخیل‌اند (۴۳). ناگاتا و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تمرینات ورزشی (۱ ساعت شنا در روز، ۵ روز در هفته به مدت ۹ هفته) موجب افزایش فسفوریلاسیون AKT و هدف رایامایسین در پستانداران در قلب موش‌های صحرایی شد، درحالی‌که از کاهش غلظت ژن نیتریک اکساید سنتز اندوتلیال در این حیوانات جلوگیری کرد. همچنین فسفوریلاسیون کیناز P70S6 در قلب موش‌های صحرایی افزایش یافت، اما تمرینات ورزشی تأثیر معناداری بر فسفوریلاسیون کیناز P70S6 نداشت. نتایج آنها نشان داد که تمرینات ورزشی تأثیر مثبتی بر بازسازی قلب دارد (۱۸). علاوه بر این، فعال‌سازی بیوشیمیایی کانال‌های TRPC و کیناز چسبان موضعی موجب فعال شدن mTORC1 هنگام اضافه‌بار فشاری و تجمع گلوکز ۶-فسفات موجب فعال شدن mTORC1 در قلب تحت اضافه‌بار فشاری می‌شود (۴۴). بنابراین، یک شبکه پیچیده از پیام‌های مکانیکی، بیوشیمیایی و سوخت‌وسازی از طریق پیام‌رسانی mTORC1 طی اضافه‌بار فشاری قلب حس می‌شود. نتایج تحقیق حاضر مبنی بر عدم تغییر معنادار محتوای تام و فسفریله پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 با یافته‌های برخی مطالعات قلبی همخوان نیست (۱۶، ۴۵). میرسپاسی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین هوای به افزایش در بیان ژن‌های AKT1 و mTORC1 در موش‌های دیابتی نوع ۲ منجر شد (۱۶). همچنین مدوریس و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر ۱۲ هفته شنا در موش‌های چاق، ناشی از رژیم غذایی با چربی بالا بر مسیر mTOR را بررسی کردند. نتایج نشان داد تمرینات ورزشی از طریق بهبود عمل انسولین، فسفوریلاسیون مولکول‌های درون‌سلولی مانند AKT را افزایش می‌دهد. تمرینات ورزشی موجب افزایش فعالیت مسیرهای رونویسی سنتز پروتئین وابسته به انسولین شد. همچنین افزایش فسفوریلاسیون P70S6k و فسفوریلاسیون 4EBP1 نشان داده شد (۴۵). احتمالاً ناهم‌سویی نتایج این تحقیق با یافته‌های مذکور را بتوان به نوع تمرین نسبت داد؛ در پژوهش حاضر تمرین HIIT بررسی شد، اما در پژوهش‌های مذکور تمرین

- Taylor A, Shoemaker P, Ignaszewski AP, Chan SY. Effectiveness of high-intensity interval training for the rehabilitation of patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2005; 95:108–1084.
21. Liu JX, Zhu L, Li PJ, Li N, Xu YB. Effectiveness of high-intensity interval training on glycaemic control and cardiorespiratory fitness in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Aging Clin Exp Res.* 2018; 30-44.
 22. Gibala MJ, MC Gee S. Metabolic adaptations to Short- term high- intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc Sport ci ReV.* 2008;36(2): 58 – 63.
 23. Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, azTélesphore Benoit N, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine* 2012;12(1):264.
 24. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *Journal of ethnopharmacology* 2006; 107(2):285-90.
 25. Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO₂⁻, NO₃⁻). *Iran J Public Health* 2015;44 (9):1270-6.
 26. 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):64-78.
 27. 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
 28. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 α content and endurance exercise performance in rats. *J Int Soc Sports Nutr.* 2017; 14 (1): 1-8.
 29. Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. Regulation of mTOR Pathway in Exercise-induced Cardiac Hypertrophy. *Int J Sports Med.* 2015;36(5):343-50.
 30. Rivas DA, Lessard SJ, Coffey VG. mTOR function in skeletal muscle: a focal point for overnutrition and exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2009, 34: 807–816.
 31. Williamson DL, Kubica N, Kimball SR. Exercise-induced alterations in extracellular signal-regulated kinase 1/2 and mammalian target of the TSC complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. *Cell.* 2014;156(4):771-85.
 7. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaeberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature.* 2013;493(7432):338–345.
 8. Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(5):307–318.
 9. Polak P, Hall MN. mTOR and the control of whole-body metabolism. *Curr Opin Cell Biol.* 2009;21(2):209–218.
 10. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span — from yeast to humans. *Science.* 2010;328(5976):321–326.
 11. Stanfel MN, Shamieh LS, Kaeberlein M, Kennedy BK. The TOR pathway comes of age. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(10):1067–1074.
 12. Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. New Insights into the Role of mTOR Signaling in the Cardiovascular System. *Circ Res.* 2018;122(3):489-505.
 13. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell.* 2012; 149:274–293.
 14. Zhu Y, Pires KM, Whitehead KJ, Olsen CD, Wayment B, Zhang YC, et al. Mechanistic target of rapamycin (mTOR) is essential for murine embryonic heart development and growth. *PLoS One.* 2013;8: e54221.
 15. Guertin DA, Stevens DM, Thoreen CC, Burds AA, Kalaany NY, Moffat J, et al. Ablation in mice of the mTORC components raptor, rictor, or mLST8 reveals that mTORC2 is required for signaling to Akt-FOXO and PKC α , but not S6K1. *Dev Cell.* 2006; 11:859–871.
 16. Mirsepasi M, Banaeifar A, Azarbayjani M, Arshadi S. The Effect of 12 Weeks Aerobic Training on Expression of AKT1 and mTORc1 genes in the Left Ventricle of Type 2 Diabetic Rats. *IJDO.* 2018;10(3) :137-143.
 17. Camera DM, Edge J, Short MJ, Hawley JA, Coffey VG. Early time course of Akt phosphorylation after endurance and resistance exercise. *Medicine and science in sports and exercise.* 2010; 42(10):1843-52.
 18. Nagata K, Miyachi M, Mayuko FK, Hiroki Y, Masafumi O, Koji T, et al. Exercise Training Alters Left Ventricular Geometry and Improves Heart Failure in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats: Role of PI3K p110 α / γ -Akt-mTOR-Mediated Activation of Proangiogenic Signaling. *Circulation.* 2018;118: 11-23.
 19. Colberg SR. Encouraging patients to be physically active: what busy practitioners need to know, *Clin Diab* 2008; 26:1 23–127.
 20. Warburton DE, McKenzie DC, Haykowski MJ,

- igf-1-induced protein synthesis associated with hypertrophy in cultured neonatal rat ventricular myocytes. *FEBS Lett.* 1998; 422:193–196.
40. Melo SFS, Amadeu MA, Fernandes T, Crivoi Carmo E, Magalhães FC, Diego Lopes MB. A session of strength exercise induced cardiac hypertrophy by AT1 receptor-AKT-mTOR signaling pathway *The FASEB Journal.* 2010; 24:31-42 .
 41. 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. *J Cell Physiol.* 2008; 214:316–321.
 42. Proud CG. Ras, pi3-kinase and mTOR signaling in cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res.* 2004; 63:403–413.
 43. Zhang P, Xu X, Hu X, van Deel ED, Zhu G, Chen Y. Inducible nitric oxide synthase deficiency protects the heart from systolic overload-induced ventricular hypertrophy and congestive heart failure. *Circ Res.* 2007; 100:1089–1098.
 44. Sen S, Kundu BK, Wu HC, Hashmi SS, Guthrie P, Locke LW, et al. Glucose regulation of load-induced mTOR signaling and er stress in mammalian heart. *Journal of the American Heart Association.* 2013; 2: e004796.
 45. Medeiros C, Frederico MJ, da Luz G, Pauli JR, Silva AS, Pinho RA, et al. Exercise training reduces insulin resistance and upregulates the mTOR/p70S6k pathway in cardiac muscle of diet-induced obese rats. *J Cell Physiol.* 2011;226(3):666-74.
 - of rapamycin (mTOR) signalling to regulatory mechanisms of mRNA translation in mouse muscle. *J Physiol.* 2006;573: 497–510
 32. Jin HW, Ki OS, Yul HL, Ki SJ, Ju Yong B, Hee TR. Effects of treadmill exercise on skeletal muscle mTOR signaling pathway in high-fat diet-induced obese mice. *J Phys Ther Sci.* 2016;28(4):1260–1265.
 33. Wu M, Falasca M, Blough ER. Akt/protein kinase B in skeletal muscle physiology and pathology. *J Cell Physiol.* 2011;226: 29–36.
 34. Um SH, D'Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell Metab.* 2006;3:393–402.
 35. Liao B, Xu Y. Exercise improves skeletal muscle insulin resistance without reduced basal mTOR/S6K1 signaling in rats fed a high-fat diet. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111: 2743–2752.
 36. Khamzina L, Veilleux A, Bergeron S. Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: possible involvement in obesity-linked insulin resistance. *Endocrinology,* 2005;146: 1473–1481.
 37. Shamim BJ, Hawley A, Camera DM. Protein availability and satellite cell dynamics in skeletal muscle. *Sports Med.* 2018; 48:1329–1343.
 38. Zhang D, Contu R, Latronico MV. MTORC1 regulates cardiac function and myocyte survival through 4E-BP1 inhibition in mice. *J Clin Invest.* 2010; 120:2805–2816.
 39. Lavandero S, Foncela R, Perez V, Sapag-Hagar M. Effect of inhibitors of signal transduction on