

# تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر مسیر کمپلکس یک هدف راپامایسین در پستانداران (mTORC1) در عضله اسکلتی خم کننده طویل انگشتان پا (FHL) موش های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

نویسندگان: محمد شرافتی مقدم، فرهاد دریانوش\*، محسن ثانی، علی اصغر فلاحی، محمد همتی نفر

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

E-mail: daryanoosh@shirazu.ac.ir

\*نویسنده مسئول: فرهاد دریانوش

## چکیده

مقدمه و هدف: شناخته شده ترین مکانیسم تنظیم کننده فعالیت مسیر mTORC1 در عضله اسکلتی مسیر وابسته به انسولین/IGF-1 است. هنوز نقش تمرین HIIT بر این مسیر مهم در سنتز پروتئین در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی نشده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر مسیر کمپلکس یک هدف راپامایسین در پستانداران (mTORC1) در بافت عضله FHL موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۱۶ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن  $20 \pm 26$  گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء STZ و نیکوتین آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین (۸ سر) و کنترل (۸ سر) تقسیم شدند؛ گروه تمرینی ۴ روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته به فعالیت ورزشی پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش های صحرایی هیچ گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون t-مستقل استفاده شد.

نتایج: افزایش معناداری در محتوای پروتئین های AKT1 ( $p < 0.005$ )، mTOR ( $p < 0.001$ )، P70S6K1 و 4E-BP1 ( $p < 0.001$ ) در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده شد.

نتیجه گیری: تمرین HIIT منجر به افزایش محتوای پروتئین های mTOR، AKT1، P70S6K1 و 4EBP1 در بافت عضله اسکلتی FHL آزمودنی های دیابتی تحقیق حاضر شد؛ بنابراین، با توجه به نقش های مهم این پروتئین ها در سنتز پروتئین، فعالیت ورزشی HIIT می تواند یک مکانیسم مهم برای افزایش سنتز پروتئین یا هیپرتروفی عضلانی باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، مسیر سیگنالینگ mTORC1، عضله اسکلتی FHL، دیابت نوع ۲

دانشور  
پژوهشی

دوماهنامه علمی-پژوهشی  
دانشگاه شاهد  
سال بیست و هفتم - شماره ۱۴۰  
اردیبهشت ۱۳۹۸

دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۵

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۸/۰۱/۱۹

پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۲

## مقدمه

دیابت نوع ۲، اختلال متابولیکی شایعی است که سابقاً آن را دیابت شیرین غیروابسته به انسولین یا دیابت بزرگسالان می‌نامیدند و نوعی اختلال در سوخت‌وساز بدن است که با بالا بودن گلوکز خون در شرایط مقاومت در مقابل انسولین و کمبود نسبی انسولین شناسایی می‌شود (۱). شیوع این بیماری در سطح جهان در حال افزایش است. امروزه، صنعتی شدن به همراه فعالیت کم بدنی به گسترش و پیشرفت این بیماری دامن زده است. دیابت نوع ۲ با سه ناهنجاری پاتولوژیک اختلال در انسولین، مقاومت محیطی به انسولین و تولید بیش از حد گلوکز کبدی مشخص می‌شود (۲،۳).

از بین رفتن توده عضلانی (آتروفی) یکی از عواقب معمول دیابت است. در این شرایط، تجزیه پروتئین افزایش و سنتز آن کاهش می‌یابد. از آنجا که انواع مختلفی از عوامل بر آتروفی از نظر سازگاری‌های رونویسی تأثیرگذار است، به نظر می‌رسد محرک‌های شروع‌کننده و پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سنتز و مسیرهای آتروفی از مکانیسم‌های مسیرهای سیگنالینگ اصلی در از دست دادن توده عضلانی باشد. میزان پایین انسولین و احتمالاً IGF-1 همراه با افزایش میزان گلوکوکورتیکوئیدها از دست دادن پروتئین عضلانی در دیابت را تحریک می‌کنند (۴).

یکی از مسیرهای اصلی در سنتز پروتئین مسیر سیگنالینگ هدف راپامایسین در پستانداران (mTOR) است. این مسیر توسط عوامل مختلفی فعال می‌شود. برخی از مولکول‌هایی بالادست مسیر mTOR که منجر به فعال شدن این کمپلکس می‌شوند توسط تأثیرات مربوط به سیگنال پروتئین کیناز B (PKB/AKT) است که از طریق سرکوب کردن فعالیت کمپلکس ۲ تیوپروز اسکروز (TSC2) منجر به افزایش فعالیت mTOR می‌شوند (۵). پروتئین AKT جزئی از خانواده بزرگ کینازهای AGC است. AKT، همچنین به عنوان PKB شناخته می‌شود. یک پروتئین سرین/ترئونین کیناز خاص است که نقش کلیدی در فرآیندهای سلولی متعدد از

جمله رشد و بقای سلول، تکثیر و سوخت‌وساز بدن ایفا می‌کند (۶).

mTOR یک سرین/ترئونین کیناز بزرگ به شدت حفاظت‌شده است که ۲۸۹ کیلو دالتون وزن دارد. mTOR از ۲۵۴۹ اسیدآمینو تشکیل شده است و توسط چندین ساختار دُمین حفظ می‌شود (۷). از لحاظ ساختاری mTOR به شکل دو کمپلکس (mTORC1 و mTORC2) است که هر کدام از کمپلکس‌ها به صورت چند پروتئینی تشکیل شده‌اند و عملکردهای مجزایی دارند (۸). mTORC1 ترجمه mRNA را تنظیم می‌کند. بهترین سوبستراهای مشخص شده پایین دست mTORC1، p70 ریوزومی S6 پروتئین کیناز ۱ و ۲ (p70S6K1/2) و عامل شروع‌کننده پروتئین‌های یوکاریوتی 4E- (4E-BPs) هستند (۵).

پروتئین ریوزومی S6 کیناز (S6K)، همچنین به عنوان p70S6 کیناز (p70-S6K, p70S6K) شناخته شده است و یک آنزیم (به طور خاص، یک پروتئین کیناز) است که در انسان توسط ژن RPS6KB1 کدگذاری شده است (۹). این پروتئین عضوی از خانواده پروتئین کینازهای AGC است و با فسفریله کردن چندین سوبسترا، mRNA را افزایش می‌دهد (۱۰). عامل‌های شروع‌کننده ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین (4E-BPs) پیام‌رسان‌های خاص هستند که نقش‌های مهمی در فرآیندهای سلولی مختلف از جمله توسعه و شکل‌پذیری سیناپسی و سنتز پروتئین دارند (۱۱). در حال حاضر سه همولوگ 4E-BPs در بافت خاص متمایز پستانداران بیان و کشف شده است که شامل 4E-BP1، 4E-BP2 و 4E-BP3 است (۱۲). عامل شروع‌کننده ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین ۱ (4E-BP1) بهترین عضو درک شده از خانواده 4E-BPs در پستانداران است که هفت سایت فسفوریلاسیون سرین/ترئونین در انسان دارد و به طور مستقیم توسط mTORC1 تنظیم می‌شود (۱۳).

تمرینات ورزشی منظم، مداخله غیر دارویی کارآمدی برای کنترل و درمان دیابت و بهبود حساسیت انسولینی

اغلب به عنوان تمرینات قدرتی یا استقامتی طبقه‌بندی می‌شود و هنوز ماهیت تمرینات HIIT برای تأثیر بر مسیر پیام‌رسانی انسولین و مسیر سیگنالینگ mTOR به خوبی در افراد دیابتی مشخص نشده است؛ بنابراین هدف از تحقیق حاضر، تأثیر HIIT بر مسیر کمپلکس یک هدف راپامایسین در پستانداران (mTORC1) در عضله اسکلتی FHL موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۶ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن  $260 \pm 20$  گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز (دانشکده پزشکی بخش فارماکولوژی) با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص 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 گردید (۱۹). جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق 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

است. نکته مهم، حجم و شدت تمرین‌ها است (۱۴). امروزه تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) به عنوان یکی از روش‌های تمرینی سودمند مورد توجه است. همچنین هنوز سازگاری‌های فیزیولوژیکی این گونه تمرینات که به واسطه‌ی آن‌ها عملکرد بهبود می‌یابد، به خوبی درک نشده است (۱۵). تمرین HIIT برخی اوقات معادل فعالیت ورزشی مقاومتی یا قدرتی قرار می‌گیرد و در چندین مطالعه مشخص شده است که منجر به تغییراتی در بیان پروتئین‌های AKT یا اهداف پایین دست مرتبط با سنتز پروتئین‌هایی مانند mTOR، p70S6K و 4E-BP1 می‌شود (۱۶). با این حال، تأثیر فیزیولوژیک تمرینات HIIT بر مسیر سیگنالینگ mTOR به درستی درک نشده است. در مطالعه‌ای Chavanelle و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اثرات تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) و متوسط (MICT) بر روی میزان پروتئین AKT عضله اسکلتی موش‌های دیابتی پرداختند. این مطالعه افزایش معناداری را در بیان پروتئین AKT در عضله دوقلو و نعلی توسط تمرین HIIT نشان داد و در مقابل این تفاوت در گروه تمرینی MICT معنادار نبود (۱۷). از طرفی در تحقیقی Gibala و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی تأثیر تمرینات تناوبی با شدت بالا بر روی عضله اسکلتی عضله پهن میانی مردان جوان پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که فسفوریلاسیون AKT در ترئونین ۳۰۸ و سرین ۴۷۳ تمایل به کاهش دارد و در مقابل پروتئین‌های p70S6K و 4E-BP1 پس از تمرین و ریکاوری بدون تغییر بودند (۱۸).

مسیر سیگنالینگ mTORC1 و پروتئین‌های بسیار مهم این مسیر در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۲ بسیار مهم هستند. همچنین بیماری دیابت نوع ۲ می‌تواند اختلال‌هایی (عملکرد سلول‌های  $\beta$  و کاهش سنتز پروتئین) را در مسیر mTORC1 ایجاد کند. از طرفی نشان داده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند تنظیم‌کننده این مسیر باشد که این فعال شدن توسط فعالیت‌های ورزشی گوناگون نتایج متناقضی را به دنبال داشته است. از طرفی از جنبه پیام‌رسانی سلولی فعالیت ورزشی

دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۰).

پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۸ سر) و کنترل دیابتی (۸ سر) تقسیم شدند. 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 بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه، شامل ۶ دقیقه گرم کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۵ دوره تمرین ۴ دقیقه‌ای با تناوب شدید (۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت)، ۴ دوره تمرین ۳ دقیقه تمرین 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 و در ۴ هفته تغییری نداشت (۲۱).

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت ترمیم ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای ترمیم) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (۲۲).

در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها 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 (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت عضله اسکلتی خم‌کننده طویل انگشتان پا (Flexor hallucis longus; FHL) 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 (۲۳).

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا هموژنه‌ی بافت عضله اسکلتی FHL در لیز بافر RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با سمپل لودینگ بافر، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا (Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane; sigma) ترانسفیر شده و بعد از بلوکه کردن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه با آنتی‌بادی اولیه‌ی خرگوشی فرم تام‌ها anti-anti-mTOR (Sc-1550-R)، AKT1 (sc-135829)، anti-anti-4E-BP1 (Sc-9977) و P70S6K1 (Sc-230) فرم فسفریله‌ها anti-AKT1 (sc-52940)، anti-mTOR (Sc-293133)، anti-P70S6K1 (Sc-11759) و anti-4E-BP1 (#-2855) رقیق شده (۱/۵۰۰) در محلول بلاکینگ به مدت یک شب در دمای ۴ درجه پروب شدند. پس از سه بار شستشو با بافر فسفات نمکی توین دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی کونژوگه با HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور گردیدند. ایمون کمپلکس‌های ایجاد شده با روش کمی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل لودینگ کنترل (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شدند (۲۴).

ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع نمرات در متغیرها، از آزمون پارامتریک t مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شده است. اطلاعات در قالب جدول مربوطه ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار

۴ هفته تمرین HIIT، نسبت به هفته اول تغییر معنی داری را نشان نداد ( $p < 0/68$ ). همچنین قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر) موش های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول افزایش معنی داری داشت ( $p < 0/0001$ )؛ از طرفی قند خون موش های گروه تمرین به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، نسبت به هفته اول تغییر معنی داری را نشان نداد ( $p < 0/14$ ) (جدول ۱).

SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفته است. سطح معنی داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $p \leq 0/05$  در نظر گرفته شده است.

### نتایج

در پایان پژوهش، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که وزن (گرم) موش های صحرایی گروه کنترل در هفته چهارم نسبت به هفته اول افزایش معنی داری داشت ( $p < 0/01$ )؛ از طرفی وزن موش های گروه تمرین به دنبال

جدول ۱. نتایج آماری t-وابسته برای متغیرهای وزن (گرم) و قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)

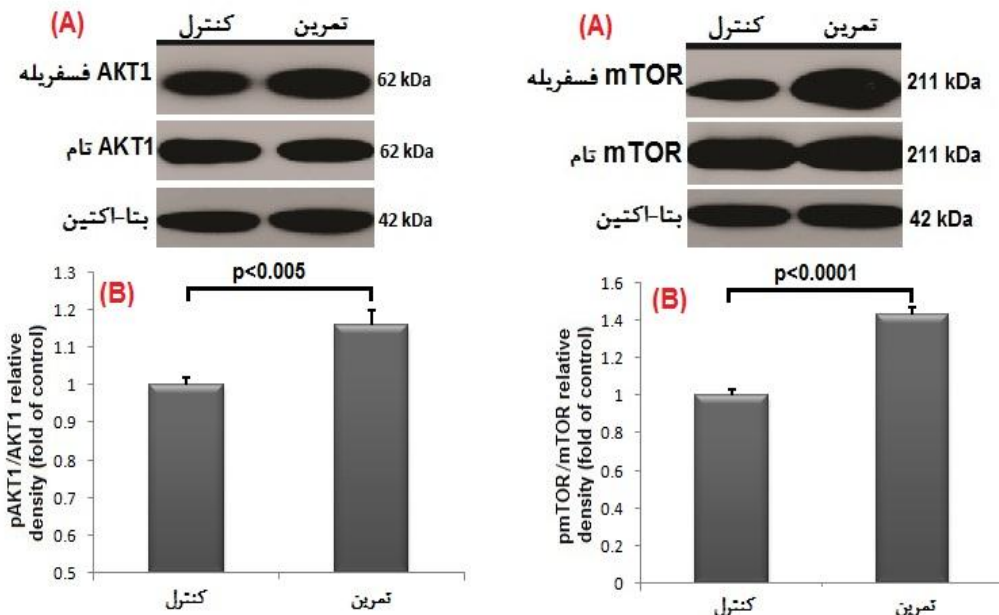
متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار t	سطح معناداری
وزن (گرم)	کنترل (هفته اول)	۲۶۱/۸۳	۱۲/۴۶	۳/۴۰	۰/۰۱
	کنترل (هفته چهارم)	۳۱۵/۰۰	۲۷/۹۲		
	تمرین (هفته اول)	۲۸۰/۳۳	۳۸/۶۸	۰/۴۳۱	۰/۶۸
	تمرین (هفته چهارم)	۲۷۳/۶۷	۱۰/۸۱		
قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)	کنترل (هفته اول)	۲۲۴/۱۷	۲۱/۳۶	۱۳/۷۱	۰/۰۰۰۱
	کنترل (هفته چهارم)	۳۲۸/۵۰	۱۹/۷۵		
	تمرین (هفته اول)	۲۳۵/۵۰	۱۹/۸۵		
	تمرین (هفته چهارم)	۲۴۴/۱۷	۱۶/۴۳	۱/۷۱	۰/۱۴

بعد از تحلیل و تجزیه داده های متغیرهای اصلی تحقیق، افزایش معنی داری به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، میان محتوای پروتئین های  $pAKT1^{ser473}/AKT1$  ( $p < 0/0001$ )،  $pmTOR^{ser2448}/mTOR$  ( $p < 0/005$ )،  $p4E-BP1$  ( $p < 0/008$ ) و  $pP70S6K1^{Thr384}/P70S6K1$  ( $p < 0/001$ ) در بین گروه های تمرین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (جدول ۲ و شکل ۱).

جدول ۲. نتایج آماری t-مستقل برای متغیرهای  $4EBP1$  و  $P70S6K1$  mTOR،  $AKT1$

جدول ۲. نتایج آماری t-مستقل برای متغیرهای  $4EBP1$  و  $P70S6K1$  mTOR،  $AKT1$

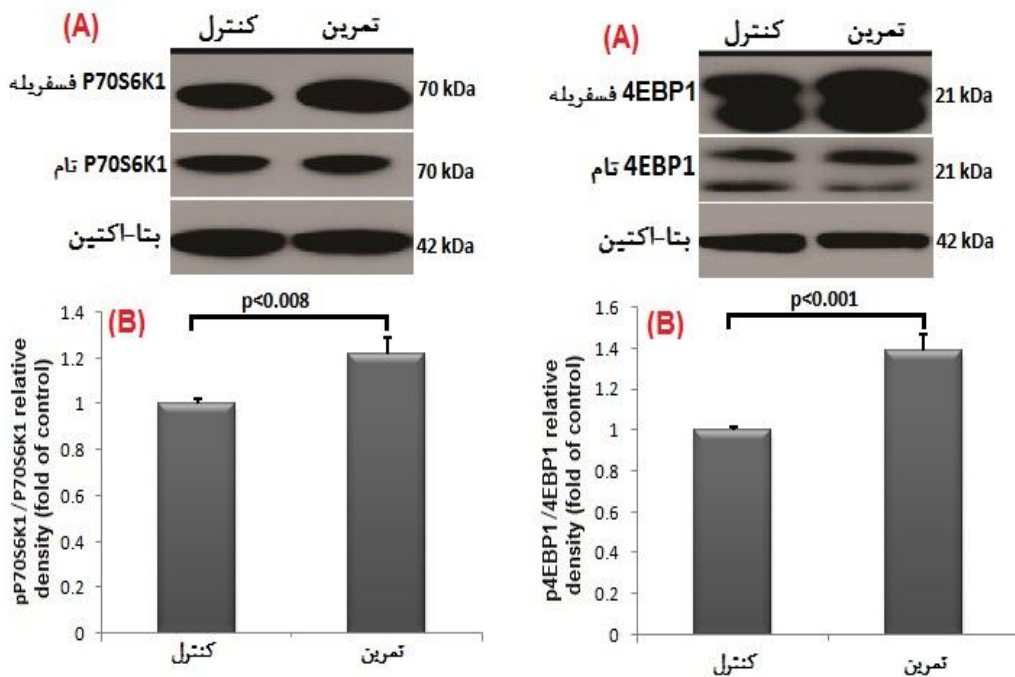
متغیر	گروه	میانگین	انحراف استاندارد	مقدار t	سطح معناداری
$pAKT1^{ser473}/AKT1$	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۲	۵/۴۹	۰/۰۰۵
	تمرین	۱/۱۶	۰/۰۴		
$pmTOR^{ser2448}/mTOR$	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۲	۱۵/۳۹	۰/۰۰۰۱
	تمرین	۱/۴۳	۰/۰۴		
$pP70S6K1^{Thr384}/P70S6K1$	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۲	۴/۹۳	۰/۰۰۸
	تمرین	۱/۲۲	۰/۰۷		
$p4EBP1^{Thr37/46}/4EBP1$	کنترل	۱/۰۰	۰/۰۲	۸/۳۰	۰/۰۰۱
	تمرین	۱/۳۹	۰/۰۸		



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

کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است.

(A)، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین‌های AKT1 و mTOR و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت عضله اسکلتی FHL. (B)، نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین AKT1 و mTOR در مقابل



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

(A)، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت عضله اسکلتی FHL. (B)، نمودار ستونی (میانگین و انحراف استاندارد) نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین P70S6K1 و 4EBP1 در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه شده است.

## بحث

نتایج افزایش معنی‌داری را در محتوای پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل نشان داد.

بنابراین، دیابت نوع ۲ پتانسیل این را دارد که هموستاز پروتئین را تحت تأثیر قرار دهد. به‌طور خاص، در دیابت نوع ۲ حساسیت به انسولین دچار اختلال می‌شود، به خصوص در ارتباط با سوخت‌وساز پروتئین از طریق کاهش انسولین به واسطه‌ی مسیر PI3K در افراد دیابت نوع ۲؛ بنابراین، اختلال سیگنالینگ انسولین می‌تواند انتقال اسیدآمین به داخل سلول‌های عضلانی و سنتز پروتئین عضله را کاهش دهد. از طرفی کنترل نکردن دیابت نوع ۲ در افراد به‌طور قابل‌توجهی میزان سنتز پروتئین عضلانی پایه را تحت تأثیر قرار خواهد داد و تجزیه پروتئین را افزایش می‌دهد (۲۵). محققان حاضر تاکنون پژوهشی که به‌طور مستقیم تأثیر تمرینات HIIT بر فعالیت mTORC1 در افراد دیابت نوع ۲ را بررسی کرده باشند مشاهده نکرده‌اند. بیشترین پژوهش‌ها بر روی تمرینات مقاومتی و استقامتی متمرکز شده است و تاکنون به درستی ماهیت تمرینات HIIT مشخص نشده است. در تحقیقی Kwon و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی ۷ هفته فعالیت ورزشی مقاومتی مرتبط با هیپرتروفی عضلانی با مدولاسیون اتوفاژی در موش‌ها پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که انجام تمرینات مقاومتی منجر به افزایش فاکتورهای AKT، mTOR، و p70S6K در عضله عمقی خم‌کننده انگشتان دست (FDP) می‌شود. محققان در این مطالعه به این نتیجه رسیدند که تمرینات مقاومتی منجر به مهار پروتئین‌های افزایش اتوفاژی و افزایش بیان پروتئین‌های سنتز پروتئین می‌شود (۲۶). نتایج تحقیق حاضر و مطالعه گزارش شده نشان دادند که به دنبال فعالیت ورزشی HIIT و مقاومتی سطوح پروتئین‌های فاکتورهای AKT، mTOR، و p70S6K افزایش پیدا می‌کند؛ بنابراین با توجه به این افزایش می‌توان گفت که فعالیت ورزشی HIIT برای فعال کردن مسیر mTORC1 و سنتز پروتئین ماهیتی شبیه به تمرینات

مقاومتی دارد. از طرفی تحقیق حاضر بر روی آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شده است که در این افراد مقاومت به انسولین وجود دارد و اعتقاد بر این است که در این افراد، مقاومت به انسولین عامل شروع‌کننده‌ای برای اختلال در سیگنالینگ mTORC1 باشد؛ بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق حاضر تمرین HIIT توانسته است با تأثیر و افزایش پروتئین‌های مسیر mTORC1 موجب به کاهش مقاومت به انسولین و افزایش سنتز پروتئین از طریق مسیر AKT/mTOR/P70S6K1 و AKT/mTOR/4EBP1 شود.

در تحقیقی دیگر Luciano و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی واکنش هیپرتروفی عضله اسکلتی موش‌ها به مدل‌های مختلف ورزش مقاومتی پرداختند. در این مطالعه ۳ نوع برنامه تمرینی مقاومتی هیپرتروفی (HRT)، مقاومتی قدرتی (SRT) و مقاومتی استقامتی (ERT) انجام شد. نتایج این مطالعه تفاوت معناداری را در سطوح پروتئین‌های AKT، mTOR، و 4EBP1 در سه گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در عضله چهارسر موش‌ها نشان داد (۲۷). نتایج این پژوهش نیز مانند پژوهش‌های دیگر که به بررسی تمرینات مقاومتی پرداختند افزایش سطوح پروتئین‌های درگیر در مسیر mTORC1 را مشاهده کرده‌اند؛ بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق حاضر و دیگر محققان می‌توان گفت که تمرین HIIT و مقاومتی از طریق تنظیم AKT منجر به عملکردهای بسیار مهمی می‌شود. تمرین ورزشی با کاهش مقاومت به انسولین منجر به فعال شدن انسولین و فاکتورهای شبه انسولینی می‌شود که در نهایت پروتئین AKT را فعال می‌کند. پروتئین AKT به‌طور مستقیم TSC2 را در دو محل سرین ۹۳۹ و ترئونین ۱۴۶۲ فسفریله می‌کند. این امر در نتیجه اجازه می‌دهد Rheb به شکل متصل به GTP فعال شود، به طوری که سپس منجر به فعال شدن mTORC1 و عوامل پایین‌دست آن یعنی پروتئین‌های p70S6K1 و 4E-BP1 می‌شود (۲۸). مهم‌ترین تأثیر مسیرهای پیام‌رسانی AKT/mTORC1 اثر بر پروتئین‌های درگیر در کنترل

جلوگیری می‌کند و منجر به مهار شروع ترجمه می‌شود (۷)؛ بنابراین، تمرین ورزشی HIIT توانسته است با فعال کردن دو مسیر بسیار مهم در مسیر mTORC1 یعنی مسیره‌های AKT/mTOR/P70S6K1 و AKT/mTOR/4E-BP1 منجر به سنتز پروتئین گردد.

#### نتیجه‌گیری

در نهایت، تمرین HIIT توانسته است با فعال کردن دو مسیر بسیار مهم در مسیر mTORC1 یعنی مسیره‌های AKT/mTOR/P70S6K1 و AKT/mTOR/4E-BP1 منجر به سنتز پروتئین گردد. از طرفی، می‌توان نتیجه گرفت که تمرین HIIT با توجه به شدت بالا در زمان‌های کوتاه ماهیتی شبیه به تمرینات مقاومتی دارد که می‌تواند منجر به هیپرتروفی عضلانی در بیماران دیابتی که دچار آتروفی هستند شود؛ بنابراین، استفاده از تمرین HIIT به عنوان بخشی از برنامه مدیریت پزشکی برای بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ ثابت و امیدوارکننده است.

#### تقدیر و تشکر

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

#### منابع

1. Daryanoosh F, Bazgir B, Alizadeh H. Effect of aerobic trainings on heart's functioned and structure in diabetic Sprague-dawley albino species male rats. *Journal of Applied Exercise Physiology* 2010; 6(12):59-72. (Persian)
2. Nazari M, Gholamrezaei S, Shabani R. Effect of a Period Circuit Resistance Training on Components of the Metabolic Syndrome in Females with Type II Diabetes. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2016; 17 (5): 362-370. (Persian)
3. Razmpoosh E, Ejtahed HS, Mirmiran P, Javadi M. Role of Probiotics in Glycemic Controls and Body Weight in Type 2 Diabetes: A Systematic of Human and Animal Studies. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2015; 17(1):63-87. (Persian)

ترجمه‌ای پروتئین‌های p70S6K و 4E-BP1 است (۲۹). فسفوریلاسیون p70S6K باعث سنتز پروتئین در ریبوزوم می‌شود. فسفوریلاسیون p70S6K در ترئونین ۳۸۹ به عنوان یک مشخصه از فعال‌سازی توسط مسیر mTORC1 است و در ارتباط با مهار اتوفازای در موقعیت‌های مختلف است (۹). در تحقیق حاضر سطوح پروتئین p70S6K نیز در جایگاه ترئونین ۳۸۹ اندازه‌گیری شده است که این جایگاه می‌تواند توسط کمپلکس mTORC1 فعال شود؛ بنابراین می‌توان خاطر نشان شد که تمرینات HIIT در افراد دیابتی نوع ۲ می‌تواند از طریق فعال کردن جایگاه ترئونین ۳۸۹ در پروتئین p70S6K منجر به سنتز پروتئین از طریق فعال کردن مسیر mTORC1 شود. همچنین، mTOR آثار آنابولیک خود را با مسدود کردن پروتئین ۱ متصل به فاکتور مسدودکننده یوکاریوتی 4E (eIF4E) اعمال می‌کند. این ماده، یک تنظیم‌گر منفی پروتئین eIF4E است که میانجی بالقوه ترجمه پروتئین است (۳۰). eIF4E توسط فسفوریلاسیون و همچنین جداسازی آن توسط پروتئین‌های متصل به eIF4E (4E-BPs) تنظیم می‌شود. پروتئین بازدارنده 4E-BP1 علاوه بر eIF4E، به پروتئین eIF4G متصل می‌شود؛ بنابراین 4E-BP1 با eIF4G برای اتصال به سایت‌های مشابه در eIF4E رقابت می‌کند و در نتیجه از تولید کمپلکس eIF4F

4. Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, et al. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Murf1 Gene Expression and Muscle Atrophy in Diabetic Wistar Rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences & Health Services* 2016; 38(2):6-13. (Persian)
5. Lipton JO, Sahin M. The neurology of mTOR. *Neuron* 2014; 84(2):275-91.
6. Mackenzie RW, Elliott BT. Akt/PKB activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity* 2014; 7:55-64.
7. Showkat M, Beigh MA, Andrabi KI. mTOR signaling in protein translation regulation: implications in cancer genesis and therapeutic interventions. *Molecular Biology International* 2014; 1-14.



8. Beauchamp EM, Platanias LC. The evolution of the TOR pathway and its role in cancer. *Oncogene* 2013 Aug;32(34):3923.
9. Datan E, Shirazian A, Benjamin S, Matasov D, Tinari A, Malorni W, et al. mTOR/p70S6K signaling distinguishes routine, maintenance-level autophagy from autophagic cell death during influenza A infection. *Virology* 2014; 452:175-90.
10. Sengupta S, Peterson TR, Sabatini DM. Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress. *Molecular cell* 2010; 40(2):310-22.
11. Martineau Y, Azar R, Bousquet C, Pyronnet S. Anti-oncogenic potential of the eIF4E-binding proteins. *Oncogene* 2013; 32(6):671-7.
12. Lin F, Yuan D, Chen D, Li Z. Eukaryotic initiation factor 4E binding protein family members are widely expressed in fish tissues: Cloning and distribution of 4E-BPs in *Schizothorax prenanti*. *Agri Gene* 2017; 3:109-15.
13. Peter D, Igreja C, Weber R, Wohlbold L, Weiler C, Ebertsch L, et al. Molecular architecture of 4E-BP translational inhibitors bound to eIF4E. *Molecular Cell* 2015; 57(6):1074-87.
14. Colberg SR, Sigal RJ, Fernhall B, Regensteiner JG, Blissmer BJ, Rubin RR, et al. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary. *Diabetes Care* 2010; 33(12):2692-6.
15. Khoramshahi S. Effect of five weeks of high-intensity interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in gastrocnemius muscles of diabetic male rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2017; 18(5):361-7. (Persian)
16. Lane MT, Herda TJ, Fry AC, Cooper MA, Andre MJ, Gallagher PM. Endocrine responses and acute mTOR pathway phosphorylation to resistance exercise with leucine and whey. *Biology of Sport* 2017; 34(2):197-203.
17. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific Reports* 2017; 7(1):1-10.
18. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 $\alpha$  in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2009; 106(3):929-34.
19. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean journal of physiology & pharmacology* 2018; 22(5):493-501.
20. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of Asian Natural Products Research* 2017; 19(10):1011-21.
21. Fallahi A, Gaeni A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO $_2^-$ , NO $_3^-$ ). *Iranian Journal of Public Health* 2015; 44 (9):1270-6.
22. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr $^-$ /mice: role of aerobic exercise training. *American Journal of Cardiovascular Disease* 2017; 7(2):64-71.
23. Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Mohammadi M, Kooshki Jahromi M, Alizadeh Palavani H. The effect of eight-week intense sprint exercise on plasma levels of vaspin and chemerin in female Sprague-Dawley rats. *Daneshvar Medicine* 2013; 21(107):31-38. (Persian)
24. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 $\alpha$  content and endurance exercise performance in rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2017; 14 (1): 1-8.
25. Gougeon R, Morais JA, Chevalier S, Pereira S, Lamarche M, Marliss EB. Determinants of whole-body protein metabolism in subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31(1):128-33.
26. Kwon I, Jang Y, Cho JY, Jang YC, Lee Y. Long-term resistance exercise-induced muscular hypertrophy is associated with autophagy modulation in rats. *The Journal of Physiological Sciences* 2018; 68(3):269-80.

27. Luciano TF, Marques SO, Pieri BL, De Souza DR, Araújo LV, Nesi RT, et al. Responses of skeletal muscle hypertrophy in Wistar rats to different resistance exercise models. *Physiological Research* 2017; 66(2):317-323.
28. Wallace MA, Hughes DC, Baar K. mTORC1 in the Control of Myogenesis and Adult Skeletal Muscle Mass. In *Molecules to Medicine with mTOR* 2016; 37-56.
29. Ci Y, Shi K, An J, Yang Y, Hui K, Wu P, et al. ROS inhibit autophagy by downregulating ULK1 mediated by the phosphorylation of p53 in selenite-treated NB4 cells. *Cell Death & Disease* 2014; 5(11):1-10.
30. Glass DJ. PI3 kinase regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2010; 267-278.

Daneshvar  
Medicine

*Scientific-Research  
Journal of Shahed  
University  
27th Year, No.140  
April-May 2019*

Received: 26/12/2019

Last revised: 08/04/2019

Accepted: 22/04/2019

## The effect of high intensity interval training on complex mammalian target of Rapamycin 1 (mTORC1) pathway in Flexor hallucis longus muscle (FHL) of streptozotocin-induced diabetic rats

Mohammad Sherafati Moghadam, Farhad Daryanoosh\*, Mohsen Salesi, Aliasghar Fallahi, Mohammad Hemati Nafar

Department of Exercise Physiology, School of Education and Psychology, University of Shiraz, Shiraz, Iran.

\*Corresponding author e-mail: daryanoosh@shirazu.ac.ir

### Abstract

**Background and Objective:** The most well-known mechanism for regulating complex mammalian target of rapamycin 1 (mTORC1) pathway activity is the insulin/IGF-1-dependent pathway in skeletal muscles. The role of high intensity interval training (HIIT) exercise has not yet been studied on this important pathway in protein synthesis among people with type 2 diabetes. The purpose of the present study was to investigate the effects of HIIT on mTORC1 pathway in Flexor hallucis longus muscle (FHL) of streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, sixty male Sprague–Dawley rats with a weight of  $260 \pm 20$  g were randomly assigned into two equal groups including control group (n= 8) and HIIT trained group (n=8) after inducing diabetes in them by STZ and nicotinamide. The latter group of rats were trained in accordance with the training program for 4 weeks (4 sessions per week). Control groups received no exercise intervention. Furthermore, rats did not receive any insulin therapy during the study period. Independent t-test was used to assess the difference between the groups. Differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

**Results:** There was a significant increase in the value of AKT1 ( $p < 0.005$ ), mTORC1 ( $p < 0.0001$ ), P70S6K1 ( $p < 0.008$ ) and 4E-BP1 ( $p < 0.001$ ) proteins in the HIIT trained group as compared to the control group.

**Conclusion:** Given the increase in the content of these proteins (AKT1, mTORC1, P70S6K1 and 4E-BP1) in the FHL skeletal muscle tissue of type 2 diabetic subjects and their important role in protein synthesis, HIIT's exercise may be considered as an important approach for increasing protein synthesis or muscle hypertrophy in these individuals.

**Keywords:** High intensity interval training (HIIT), mTORC1 signaling pathway, FHL skeletal muscle, Type 2 diabetes