Archive of SID

مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد- شهریور ۱۳۹۹؛ دوره ۱۹ (شماره ۶) ۳۱۷-۳۰۹

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی بر پروتئین کیناز–B و هدف مکانیکی راپامایسین در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید

مریم شعبانی[1*]، محمد شرافتی مقدم[1]، کاملیا مقدمی[1]

چکیده

مقدمه: مسیر پیام‌رسان انسولین از اهمیت بالایی برخوردار است که دیابت می‌تواند منجر به اختلال در این مسیر شود؛ بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر پروتئین کیناز–B (PKB یا AKT) و هدف مکانیکی راپامایسین (mTOR) در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزنی ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب و پس از دیابتی‌شدن از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین و کنترل (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند. برنامه‌ی تمرینی دویدن موش‌های صحرایی بر روی تردمیل، به‌مدت ۸ هفته و هر هفته ٤ جلسه، شامل ۳۰ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری t–مستقل استفاده شد.

یافته‌ها: هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای پروتئین کیناز–B شد (P=۰/۰۳)؛ اما تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین در گروه تمرین استقامتی نسبت به کنترل مشاهده نشد (P=۰/۹۷).

نتیجه‌گیری: پروتئین کیناز–B پروتئین کلیدی برای تنظیم بسیاری از مسیرهای سلولی است که هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار آن شد؛ با توجه به تغییر نکردن محتوای پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین این احتمال وجود دارد که تمرین استقامتی نمی‌تواند از طریق مسیر mTORC1 منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی شود.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، پروتئین کیناز–B، پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین، استرپتوزوتوسین، نیکوتین‌آمید

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

***نشانی:** البرز، هشتگرد، پایین‌تر از میدان صنعت، خیابان شهید صدوقی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد، تلفن: ۰۹۱۲۵٤۷٦۳۹۷، کد پستی: ۳۳٦۱٦۵۹۹۱۳، پست الکترونیک: maryam.shabani@hiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۰ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۹/۰۶/۱۲** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۸**

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

مقدمه

آسیب سلول‌های قلبی می‌تواند منجر به مرگ قلبی بر اثر بعضی بیماری‌ها مانند انواع دیابت، چاقی، سرطان و... شود. محافظت از قلب به تمام راهبردها، با هدف کاهش عوامل خطرزا که منجر به آسیب میوکارد می‌شود، اشاره دارد [۱]. انسولین و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1)[1]، هورمون‌های مهمی هستند که اثرات ضدآپوپتوزی در قلب دارند. انسولین اثرات مخرب قلبی را از طریق سازوکارهای وابسته به گلوکز، از جمله کاهش سمیت گلوکز، اینوتروپی[2] (نیروی انقباضی میوکارد) مثبت، تعدیل استرس اکسیداتیو، التهاب، آپوپتوز و تنظیم جریان خون اعمال می‌کند [۲]. همچنین انسولین، به‌عنوان یک میتوژن، شناخته شده برای ترویج بقای سلول در آسیب‌های قلبی است [۳]. تغییرات مولکولی و بیوشیمیایی متعددی گزارش شده است که از سلول‌های عضلانی قلب محافظت می‌کند. یکی از این مسیرهای مهم سلولی مسیر کمپلکس-۱- هدف مکانیکی راپامایسین در پستانداران (mTORC1)[3]، است که با آتروفی یا هیپرتروفی عضلات قلب در ارتباط است. فعال‌سازی پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین در پستانداران (mTOR)[4] در تعداد فزاینده‌ای از شرایط پاتولوژیک، از جمله سرطان، چاقی و دیابت، بیماری‌های قلبی-عروقی و بیماری‌های عصبی نقش دارد [٤].

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سیگنال انسولین برای عملکرد طبیعی قلب و عروق ضروری است و کمبود انسولین (در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو) منجر به اختلال قلبی-عروقی و بیماری می‌شود. مسیر سیگنالینگ فسفواینوزیتید-۳-کیناز (PI3K)[5]/پروتئین کیناز-B (PKB یا AKT)[6] یکی از مهم‌ترین مسیرهای انتقال سیگنال برای کنترل بقاء قلبی و عملکردهای آن است [۵]. فعال‌سازی PI3K و AKT بقای سلول را حفظ یا بهبود می‌بخشد و همچنین عملکرد قلب را از طریق پروتئین‌های پایین‌دست مسیر mTORC1، مانند mTOR، تنظیم می‌کند [٦]. AKT، یک سرین/ترئونین کیناز است که در قطب مرکزی سیگنالینگ مسیرهای مختلف برای عملکردهای سلولی، از جمله بقاء، رشد و سوخت و هموستاز سلول است [۷]. زیرخانواده‌ی AKT در پستانداران شامل سه ایزوفرم (AKT1/PKBa، AKT2/PKBb و AKT3/PKBc) است، که توسط ژن‌های مجزا کدگذاری می‌شوند؛ اما همه ساختاری مشابه دارند [۱].

پروتئین mTOR، یک پروتئین سرین/ترئونین کیناز چند دامنه‌ای استثنایی مربوط به خانواده کیناز است. این پروتئین نقش مهم و قابل توجه‌ای در سیگنال‌های متوالی-متنوع دارد و به تغییرات سلولی پاسخگو است [۸]. پروتئین mTOR برای جلوگیری از اختلال قلبی در هیپرتروفی پاتولوژیک مهم است [۹]. بیان پروتئین mTOR در قلبی باعث سرکوب نکروز، کاهش پاسخ التهابی، مهار فیبروز قلبی در بازسازی جانبی بطن چپ، کاهش مرگ‌ومیر سلول‌های قلب، حفظ عملکرد قلب می‌شود [۱۰]. در کل به‌عنوان یک کنترل کننده‌ی مرکزی رشد، تکثیر و بقاء سلولی است که بر فرآیندهای بیولوژیکی به‌خصوص سنتز پروتئین، اتوفاژی و هموستاز قلبی تأثیر می‌گذارد [۱۱]. تمرین ورزشی باعث یک واکنش سودمند سیستم قلبی-عروقی یعنی افزایش زمان پر شدن بطن چپ (LV)[7]، بازگشت وریدی و حجم ضربه‌ای می‌شود. همچنین نشان داده شده است که تمرین ورزشی باعث افزایش عملکرد دیاستولیک میوکارد از طریق تغییر جذب کلسیم در شبکه سارکوپلاسمیک و کاهش سینوس برادی کاردی می‌شود. جالب توجه است، که تمرین ورزشی به‌طور بالقوه ممکن اختلال هیپرتروفی پاتولوژیک و/یا با حداقل رساندن اثرات آسیب میوکاردی را معکوس کند [۱۲].

براساس اهمیت پاتوفیزیولوژیک مسیر سیگنالینگ mTORC1 فیزیولوژیست‌های ورزشی توجه بی‌سابقه‌ای به آن کرده‌اند. در تنظیمات افزایش بار تحت شرایط بیماری یا در پاسخ به تمرینات ورزشی، میوسیت قلبی به کشش مکانیکی و محرک‌ها و عوامل متعدد، از جمله افزایش فعال شدن سیستم عصبی سمپاتیک و اتوکرین و عوامل هومورال پاراکرین مانند آنژیوتانسین II[8]، اندوتلین ۱[9]، IGF1، نوراپی نفرین (NE)[10] و غیره واکنش نشان می‌دهد [۱۳]. فعال شدن این عوامل بر روی سلول‌های قلبی منجر به تنظیم مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی مرتبط با رشد قلب می‌شود. در دو

[1] Insulin-Like Growth Factor 1
[2] Inotropy
[3] Mammalian Target of Rapamycin Complex 1
[4] Mammalian Target of Rapamycin (mTOR)
[5] Phosphoinositide 3-Kinase
[6] Protein Kinase B
[7] Left ventricular
[8] Angiotensin II
[9] Endothelin 1
[10] Norepinephrine

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

دهه‌ی گذشته، آشکار شده است که عوامل مختلف و سیگنال‌های متوالی به القای رشد قلبی پاتولوژیک و فیزیولوژیک کمک می‌کند [۱٤]. در تحقیقی Ma و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تأثیر تمرین شنا بر هیپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT/mTOR در موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج افزایش معنی‌داری را در محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR نشان دادند. محققان این تحقیق گزارش کردند که ممکن است تمرین ورزشی باعث هیپرتروفی بطن چپ از طریق مسیر سیگنالینگ PIK3/AKT/mTOR شود [۱۵]. در تحقیقی دیگر Liao و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تنظیم مسیر mTOR در هیپرتروفی قلبی ناشی از تمرین ورزشی در موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین هوازی با شدت‌های بالا و با شدت متوسط منجر به تغییرات معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR شد [۱٦]. یک چالش برای زمینه‌ی زیست‌شناسی ورزشی برای قلب، شناسایی راهبردها جهت بهبود عملکرد قلب است. تمرین استقامتی مداخله‌ای است که می‌تواند عملکرد قلب را بهبود بخشد و بازسازی میوکارد در بیماران مبتلا به دیابت را معکوس کند. هدف قرار دادن تنظیم‌کننده‌های اصلی هیپرتروفی و حفاظت از قلب از طریق تمرین‌های ورزشی می‌تواند یک رویکرد امید بخش باشد. مسیر AKT/mTOR یک مسیر سیگنالینگ حیاتی برای القاء هیپرتروفی ناشی از تمرین‌های ورزشی برای محافظت از قلب است. فعال‌سازی سیگنال AKT/mTOR به تنهایی یا در ترکیب با مهار مسیرهای سیگنالی که مسؤول میانجی هیپرتروفی قلبی می‌باشد، ممکن است مزایای زیادی داشته باشد. با این حال، روش‌های جدید، برای هدف قرار دادن مسیر AKT/mTOR در قلب ممکن است لازم و ضروری باشد؛ بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید است.

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲±۲۲ درجهی سانتی‌گراد، رطوبت ٤۰-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ ساعت نگه‌داری شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد [۱۷]. 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.

روش القاء دیابت

در هفته‌ی دهم بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت نوع دو در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[1] (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=٤/۵) به‌صورت درون صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ٦۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن، تزریق گردید [۱۸]. جهت اطمینان از دیابتی شدن نوع دو موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ و نیکوتین‌آمید با کمک گلوکومتر و نمونه خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۱۹].

پروتکل تمرینی

پس از القای دیابت نوع دو موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین (٦ سر) و کنترل (٦ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با تردمیل به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی تردمیل دویدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به‌مدت ۸ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه به‌مدت شش دقیقه گرم کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی اصلی شامل

[1] Streptozotocin

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه به‌مدت شش دقیقه سرد کردند. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی تردمیل ٤٢ دقیقه بود. شیب تردمیل صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت [۲۰]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند.

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 موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای تردمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۲۱].

روش بافت برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، موش‌های صحرایی با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ 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 [۲۲].

روش‌های آزمایشگاهی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت بطن چپ قلب 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)[1] به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (شرکت sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ٤ درجه‌ی 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 کننده‌ی 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 نمونه لودینگ بافر (mM50 تریس-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به‌مدت ۱ ساعت در ۵ درصد 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 تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخه‌ی ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های anti-AKT (sc-135829) و anti-mTOR (Sc-1550-R) شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند [۲۳].

تحلیل آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف (KS)[2] برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون آماری پارامتریک t-مستقل برای مقایسه‌ی بین گروهی 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.

[1] Sodium Dodecyl Sulfate

[2] Kolmogorov–Smirnov Test

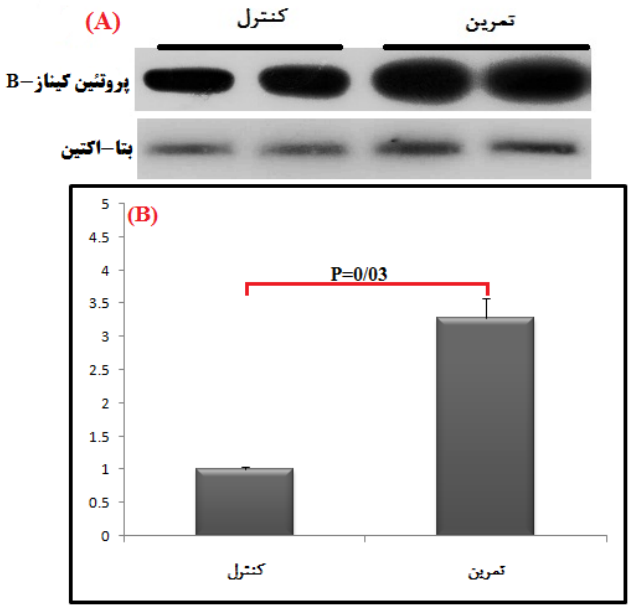
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

یافته‌ها

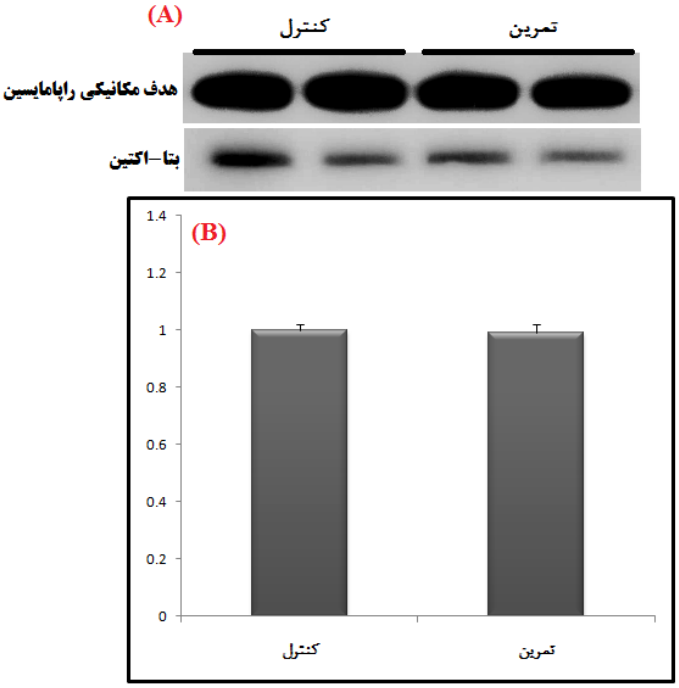
در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به‌دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، افزایش معنی‌داری در محتوای AKT بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت عضله قلبی وجود دارد (P=۰/۰۳) (شکل ۱، A و B). در مقابل، هشت هفته تمرین استقامتی منجر به تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین mTOR (P=۰/۹۷) بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت عضله‌ی قلبی نشد (شکل ۲، A و B).



شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین پروتئین کیناز-B در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن‌بلات پروتئین کیناز-B و بتا-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی در بافت بطن چپ قلب

(B): نمودار ستونی (میانگین و انحراف‌معیار) نشان‌دهنده‌ی مقادیرکمی شده باندهای پروتئین کیناز-B در مقابل کنترل داخلی



شکل ۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین هدف مکانیکی در راپامایسین در گروه‌های مورد مطالعه.

(A): تصاویر وسترن‌بلات پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین و بتا-اکتین به‌عنوان کنترل داخلی در بافت بطن چپ قلب

(B): نمودار ستونی (میانگین و انحراف‌معیار) نشان دهنده‌ی مقادیرکمی‌شده باندهای پروتئین هدف مکانیکی راپامایسین در مقابل کنترل داخلی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان دادند که هشت هفته تمرین استقامتی، منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین AKT بین گروه‌های تمرین و کنترل می‌شود؛ اما محتوای پروتئین mTOR تغییر معنی‌داری نکرد.

مسیر سیگنالینگ IGF1-PI3K-AKT، مسیر اصلی هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب ناشی از تمرینات ورزشی طولانی‌مدت است. نشان داده شده است که فعال‌سازی این آبشار سیگنالینگ منجر به محافظت از قلب در مدل‌های حیوانی می‌شود که دچار آسیب قلبی و مبتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی هستند؛ در حالی که کاهش سیگنالینگ IGF1-PI3K-AKT برای عملکرد قلب مضر است و منجر به تسریع پیشرفت بیماری قلبی می‌شود [۲٤]. در رابطه‌ی تأثیر تمرین استقامتی بر روی مسیر AKT در تحقیقی No و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR در قلب موش‌های پیر و جوان پرداختند. گروه تجربی، تمرین استقامتی را بر روی تردمیل با سرعت ۱۰ تا ۱۵ متر بر دقیقه، ٤٥ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته به‌مدت ۸ هفته انجام دادند. تمرین استقامتی محتوای پروتئین‌هایAKT و mTOR را به‌طور قابل توجهی افزایش داد. داده‌ها نشان داد که تمرین استقامتی منجر به فعال‌کردن مسیر سیگنالینگ AKT/mTOR در قلب موش‌های صحرایی می‌شود و این نشان می‌دهد که تمرین‌های استقامتی ممکن است رشد عضلانی در بطن چپ را القاء کنند و این امر منجر به هیپرتروفی قلبی در موش صحرایی می‌شود [۲۵]. نتایج تحقیق No و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در محتوای پروتئین AKT هم‌راستا است، زیرا در هر دو تحقیق محتوای پروتئین AKT افزایش یافته است؛ اما، در ارتباط با نتایج محتوای پروتئین mTOR، در تحقیق حاضر تغییر معنی‌داری نیافت و این در حالی است که محتوای پروتئین mTOR در تحقیق No و همکاران افزایش یافته بود. از آنجا که در هر دو تحقیق تمرین استقامتی به‌مدت ۸ هفته انجام شده است عوامل مهم دیگری مانند شدت و نوع آزمودنی‌های می‌تواند تأثیرگذار باشد. آزمودنی‌های تحقیق حاضر مبتلا به دیابت نوع دو بودند که تمرین ورزشی را با شدتی معادل ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام دادند و این در حالی است که سرعت دویدن آزمودنی‌ها در تحقیق No و همکاران حدود ۱۰ تا ۱۵ متر بر دقیقه بود. در دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین عامل شروع‌کننده‌ای است که به‌تدریج منجر به اختلال در عملکرد سلول-بتا و در نهایت مرگ سلول-بتا می‌شود [۲٦]. اختلال در سیگنالینگ انسولین می‌تواند منجر به انحراف سیگنالینگ mTORC1 شود [۲۷].

نشان داده شده است که تمرین‌های استقامتی می‌تواند با تنظیم و تسهیل عوامل رشدی مانند انسولین و IGF-1 اختلالات مسیر سیگنالینگ mTORC1 را تعدیل کند [۱۲]. در این راستا در تحقیقی Imanipour و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی بیان ژن AKT1 در پاسخ پانکراس، انسولین به‌دنبال انجام یک دوره تمرین استقامتی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو پرداختند. این محققان دریافتند که مسیر سیگنالینگ AKT نه تنها نقش مهمی در مقاومت به انسولین ایفا می‌کند، بلکه نقش مهمی در توانایی سلول‌های بتا برای انطباق با افزایش سطوح انسولین ایفا می‌کند؛ افزایش محتوا و فعال شدن پروتئین AKT می‌تواند در بهبود درمان دیابت نوع دو مؤثر باشد [۲۸].

در راستای این مطلب که تمرینات ورزشی می‌تواند از اختلات ایجاد شده در مسیر mTORC1 جلوگیری کند؛ در تحقیقی Mirsepasi و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر ۱۲ هفته هوازی بر بیان ژن پروتئین‌های AKT1 و mTORC1 در بطن چپ موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو پرداختند. گروه تمرین هوازی دیابتی، یک دوره تمرین را به‌مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی در سرعت (۱۸-۲٦ متر بر دقیقه) با مدت زمان ۱۰-۵۵ دقیقه بر روی تردمیل دویدند. بیان ژن پروتئین‌های AKT1 و mTORC1 افزایش یافته بودند. محققان بیان کردند که به‌نظر می‌رسد یک دوره تمرین هوازی با افزایش بیان ژن‌های AKT1 و mTORC1 منجر به بهبود عملکرد قلب مانع از بیماری‌های قلبی مرتبط به دیابت می‌شود [۲۹]. نتایج تحقیق Mirsepasi و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در محتوای پروتئین AKT1 هم‌راستا است که تمرین استقامتی منجر به افزایش محتوای پروتئین AKT1 شده است؛ اما

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

محتوای پروتئین mTOR در تحقیق حاضر تغییر معنی‌داری نیافته است و این در حالی است که محتوای پروتئین mTOR در تحقیق Mirsepasi و همکاران افزایش یافته است. البته شایان ذکر است که Mirsepasi و همکاران بیان ژن کمپلکس mTOR یعنی mTORC1 را اندازه‌گیری کرده‌اند. پروتئین mTOR جزئی از کمپلکس mTORC1 است که در مرکز این کمپلکس قرار دارد. تأثیرگذاری تمرینات ورزشی بر روی مسیر mTORC1 در تحقیق Palabiyik و همکاران (۲۰۱۹) که به بررسی تأثیر تمرین استقامتی شنا بر محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR پرداختند، مشخص شده است. در این تحقیق محتوای پروتئین‌های AKT و mTOR به‌دنبال تمرین شنا افزایش معنی‌داری یافته و منجر به فعال شدن مسیر AKT/mTOR شده بود [۳۰].

در کل آبشار سیگنالینگ فعال‌شدن مسیر mTORC1 این گونه است که در پاسخ به عوامل رشدی مانند انسولین، AKT می‌تواند در جایگاه سرین ٤٧٣ فعال و به‌طور مستقیم کمپلکس پروتئینی ۱ و ۲ تیوبروز اسکلروز (TSC1/2)[1] را فسفریله می‌کند و مانع از شکل‌گیری این کمپلکس شود؛ در نتیجه GTPase برای تبدیل دوباره به حالت فعال به GTP متصل شود. این اتصال منجر به فعال‌سازی پروتئینی به نام همولوگ Ras غنی‌شده در مغز (Rheb)[2] و در نهایت منجر به فعال‌شدن پروتئین mTOR در جایگاه ٢٤٤٨ در کمپلکس mTORC1 می‌شود [۳۱، ۳۲].

در نهایت در تحقیق حاضر، تمرین استقامتی توانست محتوای پروتئین AKT را افزایش دهد؛ اما محتوای پروتئین mTOR به‌دنبال هشت هفته تمرین استقامتی تغییر معنی‌داری نداشت. افزایش محتوای پروتئین AKT نشان دهنده‌ی این مطلب است که تمرین استقامتی می‌تواند مسیر انسولین/ AKT را فعال کند؛ اما برای فعال‌شدن مسیر پروتئین mTOR باید به عواملی دیگر از قبیل زمان، شدت و نحوه‌ی اجرای برنامه‌ی تمرینی توجه کرد. با این وجود تمرین ورزشی می‌تواند از طریق تنظیم سازوکارهای سلولی مختلف هیپرتروفی فیزیولوژیک را در نسبت به هیپرتروفی پاتولوژیک ایجاد کند.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل تلاش نویسندگان و مستخرج از طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد با شماره مجوز ٢٤٥٧ است. بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی را از تمام افرادی که در این امر ما را یاری کردند اعلام می‌داریم.

[1] Tuberous Sclerosis Proteins 1 and 2
[2] Ras Homolog Enriched in Brain

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

مآخذ

1. Yao H, Han X, Han X. The cardioprotection of the insulin-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *American Journal of Cardiovascular Drugs* 2014; 14(6):433-42.
2. Ng KW, Allen ML, Desai A, Macrae D, Pathan N. Cardioprotective effects of insulin: how intensive insulin therapy may benefit cardiac surgery patients. *Circulation* 2012; 125(5):721-8.
3. Iliadis F, Kadoglou N, Didangelos T. Insulin and the heart. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2011; 93:S86-S91.
4. Shadmehri S, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Jahani Golbar S, Tanideh N. The effect of 8 weeks endurance exercise on the content of total and phosphorylated AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in skeletal muscle FHL of rats with type 2 diabetes. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2018; 26 (12):1063-1074
5. Wang M, Sun G-b, Sun X, Wang H-w, Meng X-b, Qin M, et al. Cardioprotective effect of salvianolic acid B against arsenic trioxide-induced injury in cardiac H9c2 cells via the PI3K/Akt signal pathway. *Toxicology Letters* 2013; 216(2-3):100-7.
6. Si R, Tao L, Zhang HF, Qiu JY, Zhang R, Lv AL, et al. Survivin: a novel player in insulin cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2011; 50(1):16-24.
7. Vadlakonda L, Dash A, Pasupuleti M, Kotha AK, Reddanna P. The paradox of Akt-mTOR interactions. *Frontiers in Oncology* 2013; 3:165.
8. Das A, Reis F, Mishra PK. mTOR Signaling in Cardiometabolic Disease, Cancer, and Aging 2018. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019; 2019.
9. Aoyagi T, Kusakari Y, Xiao C-Y, Inouye BT, Takahashi M, Scherrer-Crosbie M, et al. Cardiac mTOR protects the heart against ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2012; 303(1):H75-H85.
10. Sun Z, Tong G, Ma N, Li J, Li X, Li S, et al. NDRG2: a newly identified mediator of insulin cardioprotection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology* 2013; 108(3):341.
11. Zhang Y, Xu X, Ren J. mTOR overactivation and interrupted autophagy flux in obese hearts: a dicey assembly? *Autophagy* 2013; 9(6):939-41.
12. Libonati JR. Cardiac effects of exercise training in hypertension. *International Scholarly Research Network Hypertension* 2013; 980824.
13. Tham YK, Bernardo BC, Ooi JY, Weeks KL, McMullen JR. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. *Archives of Toxicology* 2015; 89(9):1401-38.
14. Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacology & Therapeutics* 2010; 128(1):191-227.
15. Ma Z, Qi J, Meng S, Wen B, Zhang J. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *European Journal of Applied Physiology* 2013; 113(10):2473-86.
16. Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. Regulation of mTOR pathway in exercise-induced cardiac hypertrophy. International journal of sports medicine 2015; 36(05):343-50.
17. Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Salesi M, Fallahi A, Hemati Nafar M. 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. *Daneshvar Medicine: Basic and Clinical Research Journal* 2019; 27 (1):1-10
18. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 2018; 22(5):493-501.
19. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of Asian Natural Products Research* 2017; 19(10):1011-21.
20. Shadmehri S, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Aghaei bahmanbeglou N. The Effect of Endurance Exercise on mTORC1 Marker Pathway in the Soleus Muscle of Type 2 Diabetic Rats. *Journal of Qazvin University of Medical Sciences* 2019; 23 (2):92-103
21. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr-/- mice: role of aerobic exercise training. *American Journal of Cardiovascular Disease* 2017; 7(2):64-71.
22. Aghaei N, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Shadmehri S, Jahani Golbar S. The effect of 4 weeks aerobic training on the content of mTORC1 signaling pathway proteins in heart tissue of type 1 diabetes rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (3):116-125
23. 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*

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Diabetes and Metabolism 2019; 18 (6):292-299
24. Weeks KL, Bernardo BC, Ooi JY, Patterson NL, McMullen JR. The IGF1-PI3K-Akt signaling pathway in mediating exercise-induced cardiac hypertrophy and protection. *In Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment* 2017; 187-210.
25. No MH, Yoo SZ, Heo JW, Kwak HB. Effects of aerobic exercise training on hypertrophy signaling in old rat heart. *Korean Society of Exercise Rehabilitation* 2019; 128.
26. Suhara T, Baba Y, Shimada BK, Higa JK, Matsui T. The mTOR signaling pathway in myocardial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Current Diabetes Reports* 2017; 17 (6): 38.
27. Rozengurt E. Mechanistic target of rapamycin (mTOR): a point of convergence in the action of insulin/IGF-1 and G protein-coupled receptor agonists in pancreatic cancer cells. *Frontiers in Physiology* 2014; 5: 1-8.
28. Imanipour V, Shakeri N, Ebrahim K, Soheyli S. Response of Pancreatic AKT1 Gene Expression, Insulin and Glycemic Indices to the Aerobic Training Period in Type 2 Diabetes Wistar Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity* 2018; 10 (1):37-41.
29. 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. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity* 2018; 10 (3):137-143.
30. Palabiyik O, Tastekin E, Doganlar ZB, Tayfur P, Dogan A, Vardar SA. Alteration in cardiac PI3K/Akt/mTOR and ERK signaling pathways with the use of growth hormone and swimming, and the roles of miR21 and miR133. *Biomedical Reports* 2019; 10(2):97-106.
31. 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.
32. Zhang J, Wang C, Yu S, Luo Z, Chen Y, Liu Q, et al. Sevoflurane postconditioning protects rat hearts against ischemia-reperfusion injury via the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling. *Scientific Reports* 2014; 4:7317.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

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

Maryam Shabani[1*], Mohammad Sherafati Moghadam[1], Kamilia Moghaddami[1]

1. Department of Pure and Basic Science, Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:39 IRST on Monday February 15th 2021

ABSTRACT

Background: The pathway of insulin messengers is so important that diabetes can lead to disruption of this pathway. However, the aim of this study was to investigate the effect of 8 weeks of endurance training on protein Kinase-B (PKB or AKT) and mechanical target of rapamycin (mTOR) in the left ventricle of the heart of diabetic rats induced by streptozotocin and nicotinamide.

Methods: In this experimental study, 12 head two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270±20 g were selected. After diabetic induction with streptozotocin and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, training and control (6 heads in group each). The rat training program was performed on a treadmill for 8 weeks and 4 sessions per week, including 30 minutes of endurance training with an intensity of about 50 to 70% of the maximum speed. SPSS software and independent t-test were used to analyze the data.

Results: Eight weeks of endurance training resulted in a significant increase in protein Kinase-B content (P=0.03); But no significant change in Protein Mechanistic Target of Rapamycin content was observed in the endurance training group compared to the control (P=0.97).

Conclusion: protein Kinase-B is a key protein for regulating many cellular pathways, which was significantly increased by eight weeks of endurance training. Due to the fact that the content of protein mechanistic target of rapamycin does not change, it is possible that endurance training cannot lead to physiological hypertrophy heart through the mTORC1 pathway.

Keywords: Endurance Training, Protein Kinase B, Protein Mechanistic Target of Rapamycin, Streptozotocin, Nicotinamide

* Alborz Province, Hashtgerd-Below Sanat Square, Islamic Azad University, Hashtgerd Branch, Shahid Sadoughi Street, Postal Code: 3361659913, TEL: 00989125476397, Emial: maryam.shabani@hiau.ac.ir

www.SID.ir