Research Paper

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

Masoud Jokar[1*], Mohammad Sherafati Moghadam[2], Farhad Daryanoosh[3]

1. Department Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
2. Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran
3. Department of Exercise Physiology, School of Education and Psychology, University of Shiraz, Shiraz, Iran

Corresponding Author e-mail: m.jokar742@gmail.com

Citation: Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The effect of a period 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.
doi: 10.22070/DANESHMED.2021.12950.0

Abstract

Background and Objective: AMPK and PGC-1α proteins are important factors in regulating processes such as mitochondrial biogenesis, maintaining intracellular energy balance, which diabetes can disturb the function of these proteins. The aim of this study was to investigate the effect of a period high-intensity interval training on the content of AMPK and PGC-1α proteins in the heart muscle tissue of male rats with type 2 diabetes.

Materials and Methods: In this experimental study, 12 two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270±20 g were selected. After diabetic induction with STZ and nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, training and control (6 rats in group each). The training group trained for 4 days a week in accordance with the training program for 8 weeks; while the control group did not have any training program. Also, rats did not receive any insulin treatment during the study period. The independent t-test was used to analyze the data. Significance level is considered $p \leq 0.05$.

Results: A significant increase was observed in the content of AMPK (P=0.001) and PGC-1α (P=0.0001) proteins in the High-Intensity Interval Training group compared to control.

Conclusion: The results showed that HIIT training could increase ATP and mitochondrial biogenesis by increasing the content of AMPK and PGC-1α proteins.

Keywords: Cardiac muscle, High-Intensity interval training, AMPK, PGC-1α, Type 2 diabetes

Received: 12 Dec 2020
Last revised: 03 Mar 2021
Accepted: 13 Mar 2021

مقاله پژوهشی

تأثیر یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت عضله قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲

نویسندگان: مسعود جوکار[1*]، محمد شرافتی مقدم[2]، فرهاد دریانوش[3]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲. واحد هشتگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران
۳. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول: مسعود جوکار Email: m.jokar742@gmail.com

دریافت: ۹۹/۰۹/۲۲
آخرین اصلاح‌ها: ۹۹/۱۲/۱۳
پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۳

چکیده

مقدمه و هدف: پروتئین‌های AMPK و PGC-1α از عوامل مهم در تنظیم فرآیندهایی مانند بایوژنز میتوکندری، حفظ تعادل انرژی داخل سلولی هستند که بیماری دیابت می‌تواند در عملکردهای این پروتئین‌ها اختلال ایجاد کند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت عضله قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزنی ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین و کنترل (هر گروه ٦ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین ٤ روز در هفته به مدت ۸ هفته به تمرین HIIT مطابق با برنامه تمرینی پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تی مستقل استفاده شد.

نتایج: افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های AMPK (P=۰/۰۰۱) و PGC-1α (P=۰/۰۰۰۱) در گروه تمرین HIIT نسبت به کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که تمرین HIIT با افزایش محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α می‌تواند در افزایش ATP و همچنین افزایش بیوژنز میتوکندریایی تاثیرگذار باشد.

واژه‌های کلیدی: عضله قلب، تمرین تناوبی با شدت بالا، پروتئین AMPK، پروتئین PGC-1α، دیابت نوع ۲

مقدمه

دیابت یک مشکل عمده سلامت عمومی و نشان دهنده یک نگرانی بزرگ برای سلامت جمعیت جهان است. در سال ۲۰۱۰، ۲۸۵ میلیون نفر، مبتلا به بیماری دیابت بودند و برآورد شده است این تعداد افزایشی حدود ۷۰۰ میلیون نفر در سال ۲۰۴۰ داشته باشد (۱). دیابت نوع ۲، یک اختلال شایع متابولیک مستعدکننده کاردیومیوپاتی دیابتی و بیماری‌های قلبی-عروقی مانند آترواسکلروز است، که می‌تواند به نارسایی قلبی از طریق انواع مکانیسم‌ها، از جمله انفارکتوس میوکارد و اضافه بار مزمن برای قلب منجر شود (۲).

این مکانیسم، به طور عمده به قند خون و هیپرانسولینمی مزمن پایدار مرتبط است، که شامل تغییرات در پروفایل‌های متابولیک، مسیرهای سیگنالینگ درون سلولی، تولید انرژی، وضعیت اکسیداسیون، افزایش ابتلا به ایسکمی و بازسازی ماتریکس خارج سلولی می‌باشد (۳). مسیرهای بیولوژیکی که در حفظ هموستاز انرژی درگیر می‌باشند، برای درمان‌های دارویی و مبارزه با مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی هدف‌گذاری شده‌اند. یکی از مسیرهای بیولوژیک، پروتئین کیناز فعال شده توسط AMP (AMPK) می‌باشد که به عنوان یک آنزیم کلیدی در تنظیم متابولیسم شناخته می‌شود (٤).

AMPK به عنوان یک سنسور انرژی سلولی می‌باشد، که در پاسخ به شرایط گوناگون فعال می‌شود. AMPK یک پروتئین سرین/ترئونین کیناز پیچیده متشکل از یک زیرواحد کاتالیزوری α (α1 و α2)، یک زیرواحد داربستی β (β1 و β2) و زیرواحد تنظیمی γ (γ1، γ2 و γ3) است (۵). در سلول‌های یوکاریوتی AMPK نقش مهمی در تنظیم تعادل انرژی سلولی ایفا می‌کند. AMPK در پاسخ به تغییرات در سطوح آدنین نوکلئوتید داخل سلولی مانند افزایش AMP/ADP نسبت به ATP، فعال می‌شود. فعال‌سازی AMPK نرخ کاتابولیک (تولید ATP) مسیرها را افزایش و میزان آنابولیک (استفاده ATP) مسیرها را کاهش می‌دهد. علاوه بر نقش آن در حفظ تعادل انرژی داخل سلولی، AMPK منجر به تنظیم متابولیسم انرژی بدن می‌شود (٦).

یکی از پروتئین‌های مهم سلولی که توسط AMPK فعال می‌شود، پروتئین گیرنده فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم گاما هماهنگ‌کننده-۱ آلفا (PGC-1α)[1] است. پروتئین PGC-1α فاکتور رونویسی می‌باشد که نقش مهمی در تنظیم عملکرد میتوکندری و ظرفیت اکسیداتیو از طریق تقویت بیان پروتئین‌های مسؤول رونویسی ژن‌های میتوکندری و همچنین DNA میتوکندری اعمال می‌کند. سرکوب PGC-1α عضلات با چاقی، دیابت و بیماری‌های متابولیکی مرتبط است (۷).

امروزه تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT)[2] به عنوان یکی از روش‌های تمرینی سودمند مورد توجه قرارگرفته است؛ همچنین هنوز تأثیرات فیزیولوژیکی تمرینات HIIT که به واسطه‌ی آن‌ها عملکرد بهبود می‌یابد، به خوبی درک نشده است (۸). این نوع تمرینات، ترکیبی از دوره‌های پرشدت هوازی به همراه دوره‌های بازیافت فعال یا غیرفعال با شدت متوسط است. مطالعات نشان می‌دهد می‌توان با تمرین ورزشی با شدت بالا (۸۵ تا ۹۰ درصد VO_2max) در مقایسه با تمرین ورزشی با شدت متوسط (٦٥-۷۰ درصد VO_2max) دو برابر تاثیر قلبی به دست آورد (۹). HIIT منجر به بهبود عملکرد قلبی-عروقی و ظرفیت هوازی در انسان و جوندگان می‌شود. این یافته‌ها همچنین بازسازی قلبی-عروقی را به عنوان یک پاسخ سازگار به طور بالقوه قابل تغییر با HIIT برجسته می‌کند (۱۰). مطالعات انجام شده بر روی انسان و حیوانات سازگاری‌های قلبی-عروقی ناشی از HIIT را با ارتباط بین عملکرد گردش خون بهبود یافته، ظرفیت آنتی اکسیدان میوکارد و ظرفیت تنفس میتوکندری در عضله قلبی مشخص کرده است. با این حال، سازگاری متابولیک سلولی و مولکولی اساسی در قلب ناشناخته است (۱۱).

در راستای تاثیر تمرینات ورزشی بر روی پروتئین‌های مورد مطالعه تحقیق حاضر در تحقیقی سان و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تاثیر تمرین هوازی بر محتوای پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به اسکمی پرداختند. موش‌ها تمرین ورزشی دویدن روی تردمیل با مدت زمان ۱۰ ، ۳۰ و ٦۰ دقیقه با سرعت ۰/٦ مایل در

[1] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α)
[2] High Intensity Interval Training (HIIT)

ساعت، ۱۲/۵ درصد را انجام دادند و بالافاصله بافت قلب جداسازی شد. محتوای پروتئین AMPK در زمان‌های ۱۰، ۳۰، ٦۰ دقیقه نسبت به زمان صفر افزایش معنی‌داری یافته بود (۱۲). از سوی دیگر، نشان داده شده است که فعالیت ورزشی منجر به افزایش بیان PGC-1α می‌شود و این افزایش سازگاری‌های میتوکندریای شامل افزایش بیوژنز میتوکندری، بیوانرژی، دینامیک و ظرفیت اکسیداتیو عضله را تسهیل می‌کند (۱۳). در تحقیقی دمیرچی و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تاثیر شدت تمرینات تناوبی بر پروتئین PGC-1α در قلب رت‌های نر مبتلابه انفارکتوس میوکارد پرداختند. گروه‌های تمرینی تناوبی باشدت بالا (HIIT)، متوسط (MIIT) و پایین (LIIT)، را به مدت ٦ هفته، ۵ جلسه در هفته، هرجلسه یک ساعت انجام دادند. سطوح پروتئین PGC-1α تنها در گروه MIIT نسبت به گروه انفارکتوس بی‌تمرین افزایش معنی داری داشت و بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی دار وجود نداشت (١٤).

در طول سال‌های گذشته، تحقیقات اساسی یک شبکه پیچیده از ساز و کارهای تنظیمی از مسیرها و پروتئین‌ها را نشان داده‌اند که در کنترل آبشار سیگنالینگ انسولین بسیار مهم می‌باشند. شناسایی رفتار پروتئین‌ها در هیپرتروفی قلب برای آریتمی، نارسایی قلبی و مرگ ناگهانی مفید می‌باشد. هدف قرار دادن عملکردهای این پروتئین‌ها به دنبال تمرینات ورزشی مبهم می‌باشد، که شناسایی این عوامل مبهم می‌تواند یک ابزار قدرتمند در درمان بیماری قلبی فراهم کند. از طرفی دیگر بیماران دیابتی مستعد عارضه کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی در قلب خود هستند. بنابراین، تمرینات ورزشی می‌تواند عامل غیردارویی مهمی به عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفته شود. تحقیقات بسیار کمی، نقش مکانیزم سلولی پروتئین‌های AMPK و PGC-1α را در قلب افراد نوع ۲ بررسی کرده‌اند؛ بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت عضله قلب موش‌های صحرایی نر مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی می‌باشد که به صورت گروه تمرین و شاهد انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٤۰ تا 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 موردتوجه قرار گرفت (۱۵).

در هفته دهم بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=٤/۵) به صورت داخل 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 (١٦). جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی اندازه‌گیری شد. قند خون بالای ۱۳۰ تا ۲٦۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد (۱۷).

پس از القای دیابت، موش‌های صحرایی به روش تصادفی به دو گروه: تمرین و کنترل تقسیم شدند (هر گروه ٦ سر). موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت ۸ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم می‌کردند. سپس برنامه تمرینی شامل ۵ وهله ٤ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ٦۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد می‌کردند. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ٤٤ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت (۱۸). در این مدت، گروه کنترل

هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند.

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 (۱۹).

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۲٤ 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 قلبی از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد شده و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- درجه سانتیگراد فریزر شد (۲۰).

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت قلب از بافر RIPA[1] حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس[2] (pH=۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد اتیلن گلیکول تترااستیک اسید (EGTA)[3]، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)[4] به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (ساخت شرکت سیگما[5]) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن و نیم ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. سپس در یک سانتریفیوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲ هزار و ٤ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad، ساخت آمریکا) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگهداری شد، سپس هموژن به دست 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 به مدت 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 به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد سرم آلبومین گاوی (BSA)[6] در بافر تریس سالین[7] و ۰/۱ درصد بافر تریس سالین توئین-۲۰ (TBST)[8] مسدود و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ٤ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL)[9] و تجزیه و تحلیل چگالی‌سنجی[10] با نرم افزار Image J (نسخه 1.8.0_112) اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی اولیه و ثانویه anti-AMPKα1/2 (D-6) (Sc-74461) و anti- PGC-1α (ab54481) (شرکت abcam ساخت کشور آمریکا) مورد استفاده قرار گرفتند (۲۱).

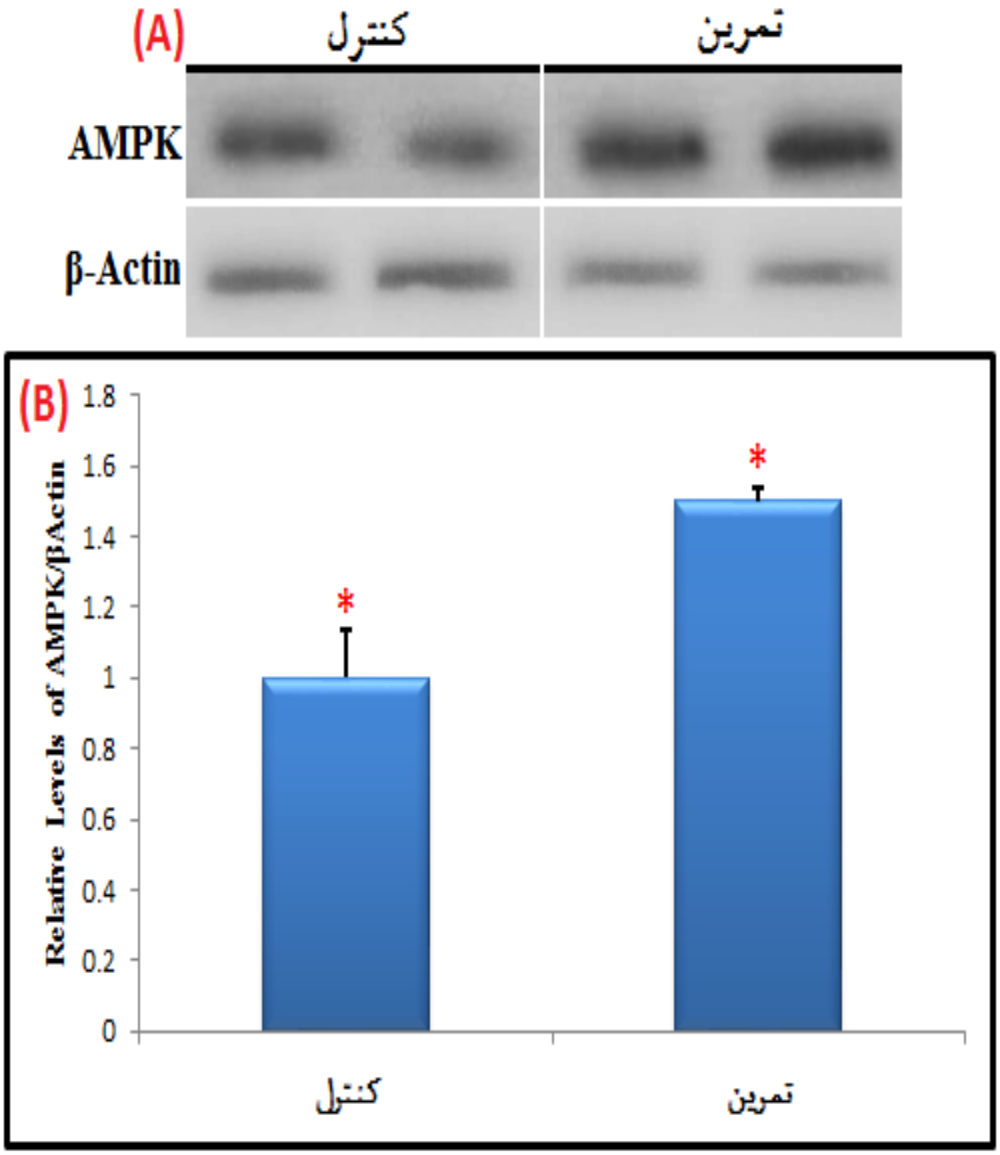
از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌ها استفاده و باتوجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک تی مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. سطح معنی‌داری p≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین HIIT، افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین AMPK بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت عضله قلبی وجود دارد (P=۰/۰۰۱) (شکل ۱، A و B). همچنین، هشت هفته تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین PGC-1α (P=۰/۰۰۰۱) بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت عضله قلبی شد (شکل ۲، A و B).

[1] Radioimmunoprecipitation Assay Buffer
[2] Tris
[3] Ethylene Glycol Tetraacetic Acid (EGTA)
[4] Sodium dodecyl sulfate (SDS)
[5] Sigma

[6] Bovine Serum Albumin (BSA)
[7] Tris-Buffered Saline
[8] *Tris-Buffered Saline-Tween*
[9] Chemiluminescence (ECL)
[10] Densitometry

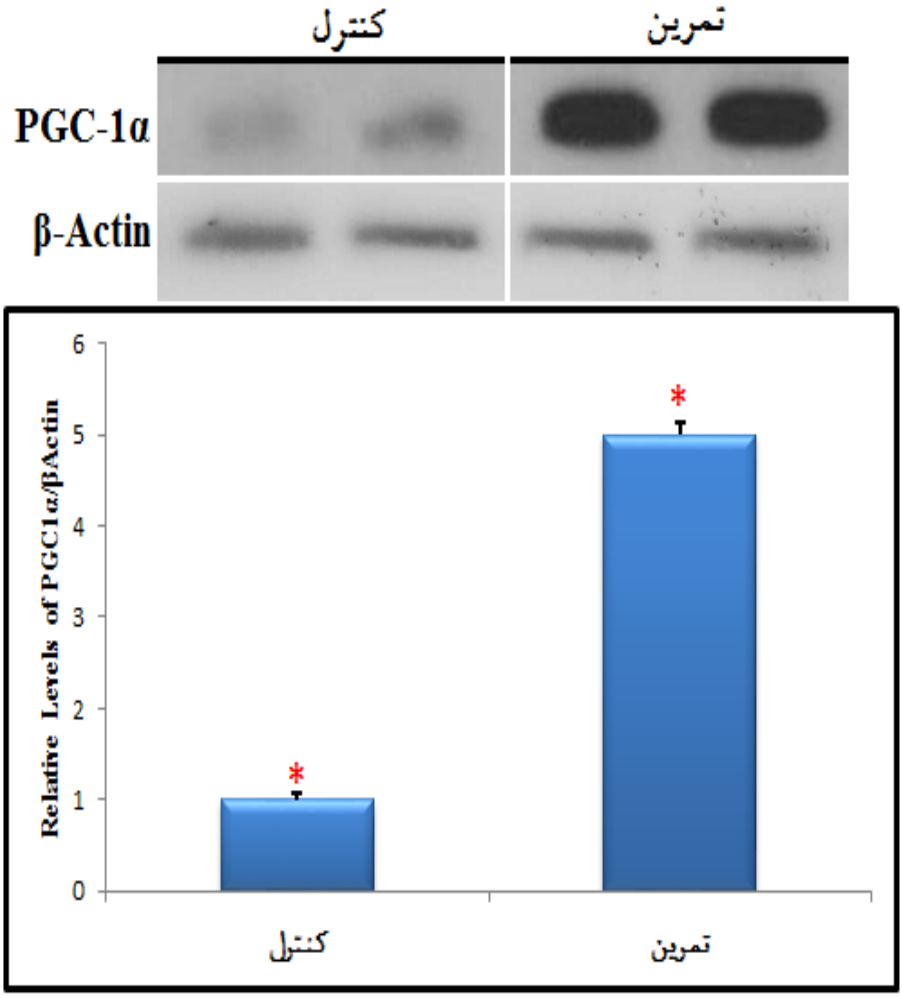


شکل ۱. مقایسه محتوای پروتئین AMPK در گروه‌های مورد مطالعه

A: تصاویر وسترن‌بلات پروتئین AMPK و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت عضله قلب

B: میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین AMPK در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به صورت چند برابر از گروه شاهد ارائه شده است.

(*وجود تفاوت معنی‌داری بین پروتئین‌ها در سطح ۰/۰۵)



شکل ۲. مقایسه محتوای پروتئین PGC-1α در گروه‌های مورد مطالعه

A: تصاویر وسترن‌بلات پروتئین PGC-1α و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت عضله قلب

B: میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین PGC-1α در مقابل کنترل داخلی (بتا-اکتین) که به صورت چند برابر از گروه شاهد ارائه شده است

(*وجود تفاوت معنی‌داری بین پروتئین‌ها در سطح ۰/۰۵)

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل می‌شود.

شناخت ریزمولکول‌هایی که موجب فعال‌شدن AMPK می‌گردند، باعث تسهیل در طراحی و ساخت فعال‌کننده‌های جدید AMPK می‌شوند، روندی که می‌تواند در درمان دیابت نوع ۲ موثر باشد (۲۲). تحقیقات بسیار اندکی تاثیر تمرینات HIIT بر پروتئین AMPK در بافت قلب که آزمودنی‌های آن مبتلا به دیابت باشند را بررسی کرده‌اند. با این حال، در تحقیقی Liu و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تاثیر تمرین شدید بر محتوای پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین ورزشی ۸ روز و شامل دویدن موش‌های صحرایی بر روی تردمیل با سرعت ۲۵ تا ۳۵ متر بر دقیقه و رسیدن موش‌ها تا خستگی بود. نتایج افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین AMPK را نشان دادند (۲۳). نتایج تحقیق Liu و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا می‌باشد؛ زیرا در هر دو

تحقیق تمرین با شدت بالا یا شدید منجر به افزایش محتوای پروتئین AMPK شد. از عوامل مهم می‌توان به شدت تمرینات اشاره کرد. تقاضای زیاد انرژی از نتایج تمرینات HIIT یا تمرینات شدید تا رسیدن به خستگی است که منجر به افزایش قابل توجهی در نسبت ADP/ATP و AMP/ATP می‌شود که این امر می‌تواند پروتئین AMPK، که یکی از مهمترین سنسورهای مهم انرژی در سلول است را فعال کند (۲٤)؛ همچنین مطالعات نشان داده‌اند که فسفوریلاسیون AMPK علاوه بر شدت فعالیت ورزشی (۲۵)، به مدت زمان تمرین ورزشی نیز ارتباط دارد (۲٦). در هر دو تحقیق Liu و همکاران و تحقیق حاضر آزمودنی‌ها از نوع دیابت بودند. آزمودنی‌های دیابتی مستعد کاردیومیوپاتی دیابتی هستند که ویژگی‌های از قبیل اختلال در عملکرد سیستولی و دیاستولی بطن چپ ایجاد می‌کند و در صورتی که درمان نشود منجر به نارسایی قلبی می‌شود. طیف گسترده‌ای از عوامل در پیشرفت دیابت و کاردیومیوپاتی دیابتی درگیر می‌باشد که شامل هیپرتروفی و فیبروز است (۲۷). اختلال در متابولیسم قلبی، از عوامل مهم تأثیرگذار بر پاسخ هیپرتروفی است و در واقع اختلال متابولیک، عامل اصلی اختلالات ساختاری و عملکرد عضلات قلب است که AMPK نقش مهمی در این فرآیند پیچیده ایفا می‌کند. گفته شده است که AMPK نقش مهمی در هیپرتروفی قلبی دارد (۲۸). پیش نیازهای اصلی برای شروع و گسترش هیپرتروفی قلبی؛ رشد سلول، سنتز پروتئین، رونویسی از ژن‌های مربوط به هیپرتروفی، تقویت اسکلت سلولی و گسترش سارکومر است و برای این فرآیندهای آنابولیک انرژی زیادی لازم است که همه این عوامل با AMPK در ارتباط می‌باشد (۲۹).

در این راستا در تحقیقی اسماعیلی و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تمرین استقامتی بر بیان ژن AMPK در بافت قلب موش‌هاس صحرایی دیابتی پرداختند. تمرین استقامتی منجر به افزایش بیان ژن پروتئین AMPK در گروه تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی شد. این محققان به این نتیج رسیدند که تمرین طولانی‌مدت استقامتی، احتمالاً می‌تواند سبب کاهش شاخص‌های ژنومی آتروفی و افزایش هیپرتروفی میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی شود (۳۰). در واقع نتایج تحقیق‌های گزارش شده و نتایج تحقیق حاضر می‌تواند نشان‌دهنده این مطلب باشد که تمرینات ورزشی از طریق تنظیم پروتئین‌های AMPK و PGC-1α از هیپرتروفی پاتولوژیک قلب جلوگیری کرده و منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلب شود که این را می‌توان در تحقیق Daniels و همکاران (۲۰۱۰) دید که نشان دادند بین فعالیت پایین AMPK، کارآیی پایین متابولیسم قلبی و کاهش قدرت انقباضی قلب در موش‌های صحرایی ارتباط وجو دارد (۳۱).

بر اساس نقش محوری در تنظیم سوخت و ساز و متابولیسم در تحقیقی خلفی و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تاثیر تمرین‌های تناوبی با شدت‌های پایین و بالا بر محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی پرداختند. نتایج افزایش محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α را در هر دو روش تمرین تناوبی با شدت پایین و بالا را نشان داد. این محققان به این نتیجه رسیدند که تمرینات HIIT با افزایش و فعال‌کردن مسیر AMPK/PGC-1α و در نتیجه افزایش بیوژنز میتوکندری نقشی مهم در تنظیم سوخت و ساز و افزایش تولید انرژی دارند (۳۲). نتایج تحقیق خلفی و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد که نشان دهنده تاثیر تمرینات ورزشی به خصوص تمرین‌های HIIT با شدت‌های مختلف (کم تا زیاد) بر محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α است.

پروتئین AMPK به وسیله AMP و ADP فعال و به وسیله گلیکوژن غیرفعال می‌شود. طی فعالیت ورزشی شدید، افزایش ADP و AMP منجر به افزایش فسفریلاسیون AMPK در Thr172 می‌شود که به علت کاهش در دفسفریلاسیون و فعالیت کیناز اصلی بالادست یعنی LKB1 است (۳٤،۳۳). اگرچه سطوح AMPK پس از ابتلا به دیابت کاهش می‌یابد، ولی در تحقیق حاضر نشان داده شد که تمرین HIIT می‌تواند از کاهش محتوای پروتئین AMPK در قلب آزمودنی‌های دیابتی جلوگیری کند. نشان داده شده است که AMPK می‌تواند پروتئین هسته‌ای، PGC-1α را فعال کند که به عنوان پروتئین تنظیم پیدایش بیوژنز میتوکندری می‌باشد. PGC-1α نقش یکپارچه در تنظیم پیدایش بیوژنز میتوکندری ایفا می‌کند (۳۵). در واقع، PGC-1α یک نقش محوری در ایجاد

ارتباط بین مکانیزم سنجش انرژی سلول و انتقال سیگنال‌های فیزیولوژیکی به فاکتورهای رونویسی هسته‌ای دارد (۳٦).

در تحقیقی دیگر دمیرچی و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی آثار شدت تمرینات تناوبی بر پروتئین PGC-1α در قلب رت‌های نر مبتلا به انفارکتوس میوکارد پرداختند. در این تحقیق سه نوع تمرین، تمرین تناوبی با شدت بالا، شدت متوسط و شدت پایین و به مدت شش هفته (۵ جلسه در هفته، هر جلسه یک ساعت) انجام شد. نتایج نشان داد که محتوای پروتئین PGC-1α تنها در گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط افزایش می‌یابد و در دیگر شدت‌ها تغییر معنی‌داری نداشته است (١٤). نتایج تحقیق دمیرچی و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا نمی‌باشد؛ زیرا در تحقیق حاضر تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین PGC-1α شد و ما این افزایش را در تحقیق دمیرچی و همکاران در تمرین تناوبی با شدت متوسط مشاهده می‌کنیم. همان طور که اشاره شد شدت تمرینات ورزشی یک عامل مهم برای تغییر در محتوای پروتئین‌ها می‌تواند باشد. از عوامل مهم دیگر نوع تمرین ورزشی می‌باشد که تاثیرات متفاوتی را بر محتوای پروتئین PGC-1α می‌گذارد. در این راستا باقدم و همکاران در تحقیق به ۸ هفته تمرین هوازی (۳۷) و در تحقیق دیگر به بررسی ۸ هفته تمرین مقاومتی (۳۸) بر بیان ژن PGC-1α بافت قلب در رت‌های دیابتی شده پرداختند. تمرین هوازی و تمرین مقاومتی در این دو تحقیق منجر به افزایش معنی‌دار غلظت PGC-1α بافت قلب شد.

از مکانیسم‌های سلولی مهم در تنظیم پروتئین PGC-1α کاهش در چرخه کلسیم است؛ کاهش در چرخه کلسیم منجر به فعالیت کلسیم کالمودولین کیناز و همچنین کاهش بیان سیرتوئین می‌شود که می‌تواند منجر به مهار فعالیت PGC-1α شود. در مقابل فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق تعدیل کلسیم و افزایش بیان کلسیم کالمودولین کیناز و نیز افزایش بیان سیرتوئین منجر به تحریک فعالیت PGC-1α شود (۳۸). PGC-1α منجر به تنظیم بسیاری از پروتئین‌های مهم و محرک‌های داخل سلولی مانند NRF1، NRF2، PPARγ، ERR و YY1 می‌شود که در تنظیم سازگاری متابولیسم اکسیداتیو سلولی نقش دارند (۳۵).

نتیجه‌گیری

در نهایت، نتایج این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT منجر به افزایش محتوای پروتئین‌های AMPK و PGC-1α در آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ می‌شود. این نشان دهنده این مطلب است که تمرین HIIT با تقاضای زیاد انرژی منجر به کاهش میزان ATP می‌شود که این امر منجر به فعال‌سازی پروتئین AMPK می‌شود. علاوه بر این در تحقیق حاضر، فعال‌سازی پروتئین AMPK به دنبال تمرین HIIT محتوای پروتئین PGC-1α را افزایش داد. بنابراین، افزایش محتوای پروتئین PGC-1α می‌تواند منجر به بیوژنز میتوکندریایی در قلب و افزایش باسازی ATP شود.

تشکر و قدردانی

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

منابع

1. Borghetti G, von Lewinski D, Eaton DM, Sourij H, Houser SR, Wallner M. Diabetic cardiomyopathy: current and future therapies. Beyond glycemic control. Frontiers in physiology 2018; 9:1514.
2. Tate M, Grieve DJ, Ritchie RH. Are targeted therapies for diabetic cardiomyopathy on the horizon?. Clinical Science 2017;131(10):897-915.
3. De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, Brunetti A, Indolfi C, Foti DP. Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: genetic and epigenetic links. Frontiers in Endocrinology 2018; 9:2.
4. Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? Diabetes, Metabolic Syndrome and

Obesity: Targets and Therapy 2014;7:241-53.

5. Kim J, Yang G, Kim Y, Kim J, Ha J. AMPK activators: mechanisms of action and physiological activities. Experimental & Molecular Medicine 2016; 48(4):e224.

6. Carling D. AMPK signalling in health and disease. Current Opinion in Cell Biology 2017; 45:31-7.

7. Tabari E, Mohebbi H, Karimi P, Moghaddami K, Khalafi M. The effects of a 12 weeks interval training with high and moderate intensity on PGC-1α of skeletal muscle in type 2 diabetic male rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2019; 18 (4) :179-188.

8. 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.

9. Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low- volume, high- intensity interval training in health and disease. The Journal of Physiology 2012; 590(5):1077-84.

10. Trilk JL, Singhal A, Bigelman KA, Cureton KJ. Effect of sprint interval training on circulatory function during exercise in sedentary, overweight/obese women. European Journal of applied physiology 2011; 111(8):1591-7.

11. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. Journal of Applied Physiology 2011;111(5):1235-41.

12. Sun XL, Lessard SJ, An D, Koh HJ, Esumi H, Hirshman MF, et al. Sucrose nonfermenting AMPK related kinase (SNARK) regulates exercise stimulated and ischemia- stimulated glucose transport in the heart. Journal of Cellular Biochemistry 2019; 120(1): 685-96.

13. Summermatter S, Handschin C. PGC-1α and exercise in the control of body weight. International Journal of Obesity 2012; 36 (11):1428-35.

14. Damirchi, A., Ebadi, B. The effects of the intensity of interval training on mitochondrial dynamics-related proteins in the heart of male rats with myocardial infarction. Journal of Applied Exercise Physiology 2019; 14(28): 159-172.

15. Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. The Effect of 4 Weeks of High Intensity Interval Training on the Content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in Soleus Skeletal Muscle of Rats with Type 2 Diabetes: An Experimental Study. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences 2018; 17 (9):843-854.

16. 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.

17. 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.

18. Jokar M, Sherafati Moghadam M. High intensity interval training inhibits autophagy in the heart tissue of type 2 diabetic rats by decreasing the content of FOXO3a and Beclin-1 proteins. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2019; 18 (6) :292-299.

19. 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.

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. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences 2019; 23 (2):92-103.

21. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The Effect of 8 Weeks Endurance Training on the Content of FOXO3a and Beclin-1 Proteins in Heart Muscle Tissue of Rats With Type 2 Diabetic. The Journal of Qazvin University of Medical Sciences 2020; 23 (6):2-11.

22. Hunter RW, Foretz M, Bultot L, Fullerton MD, Deak M, Ross FA, et al. Mechanism of action of compound-13: an α1-selective small molecule activator of AMPK. Chemistry & Biology 2014;21(7):866-79.

23. Liu HT, Pan SS. Late Exercise Preconditioning Promotes Autophagy against Exhaustive Exercise-Induced Myocardial Injury through the Activation of the AMPK-mTOR-ULK1 Pathway. BioMed Research International 2019; 1-10.

24. Burkewitz K, Zhang Y, Mair WB. AMPK at the nexus of energetics and aging. Cell Metabolism 2014; 20(1):10-25.

25. Casuso RA, Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Aragón-Vela J, Robles-Sanchez C, Nordsborg NB, et al. High-intensity high-volume swimming induces more robust signaling through PGC-1α and AMPK activation than sprint interval swimming in m. triceps brachii. PloS One 2017;12(10): e0185494.

26. Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. Sports Medicine and Health Science 2019; 1(1):24-32.

27. Falcão-Pires I, Leite-Moreira AF. Diabetic cardiomyopathy: understanding the molecular and cellular basis to progress in diagnosis and treatment. Heart Failure Reviews 2012; 17(3):325-44.

28. Kundu BK, Zhong M, Sen S, Davogustto G, Keller SR, Taegtmeyer H. Remodeling of glucose metabolism precedes pressure overload-induced left ventricular hypertrophy: review of a hypothesis. Cardiology 2015; 130(4):211-20.

29. Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL, Bertrand L. AMP-activated protein kinase in the control of cardiac metabolism and remodeling. Current Heart Failure Reports 2012; 9(3):164-73.

30. Esmailee B, Abdi A, Daloii AA, Farzanegi P. The effect of aerobic exercise along with resveratrol supplementation on myocardial AMPK and MAFbx gene expression of diabetic rats. Journal of Birjand University of Medical Sciences 2020; 27(2):150-160.

31. Daniels A, Van Bilsen M, Janssen BJ, Brouns AE, Cleutjens JP, Roemen TH, Schaart G, Van Der Velden J, Van Der Vusse GJ, Van Nieuwenhoven FA. Impaired cardiac functional reserve in type 2 diabetic db/db mice is associated with metabolic, but not structural, remodelling. Acta Physiologica 2010; 200(1):11-22.

32. Khalafi M, Mohebbi H, Symonds ME, Karimi P, Akbari A, Tabari E, Faridnia M, Moghaddami K. The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. Nutrients 2020; 12(4):925.

33. Xiao B, Sanders MJ, Underwood E, Heath R, Mayer FV, Carmena D, et al. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP. Nature 2011; 472(7342):230-3.

34. Xiao B, Sanders MJ, Carmena D, Bright NJ, Haire LF, Underwood E, et al. Structural basis of AMPK regulation by

small molecule activators. Nature Communications 2013; 4(1):1-0.

35. Scarpulla RC, Vega RB, Kelly DP. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis. Trends in Endocrinology & Metabolism 2012; 23(9): 459-66.

36. Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. Trends in Endocrinology & Metabolism 2014; 25(3):138-45.

37. Baghadam M, Mohamadzadeh salamat K, Azizbeidi K, Baesi K. The effect of 8 weeks aerobic training on cardiac PGC-1α gene expression and plasma irisin in STZ-induced diabetics' rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2019; 18 (5) :228-235.

38. Baghadam M, Mohamadzadeh salamat Kh, Azizbeigi K, Baesi K. The Effect of Resistance Training on IRSIN and Gene Expression of PGC1α in the Cardiac Muscle in STZ-Induced Diabetic Rats. Community Health Journal 2017; 12 (3):58-64.