Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 30, No.2, Summer 2020 ORIGINAL ARTICLE

The effect of 4 weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of downstream and upstream mTORC1 pathways gastrocnemius muscle of type 2 diabetic rats

Golnaz Faezi[1], Mohammad Sherafati Moghadam[2], Saeedeh Shadmehri[3], Mohammad Fathalipour[4]
[1]Faculty Member of Kharazmi University, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Pure and Basic Science, Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran
[3]Department of Physical Education and Sport Science Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.
[4]Assistant Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

Abstract

Background: The pathway of mTORC1 is one of the most important pathway in protein synthesis, and type 2 diabetes and insulin resistance can lead to inhibit this pathway. The aim of this study was to investigate the effect of 4 weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of downstream and upstream mTORC1 pathways in gastrocnemius muscle in type 2 diabetic rats.
Materials and methods: In this experimental study, 16 Sprague-Dawley male rats (with mean weight of 250 ± 20 gr) were selected and after induction of diabetes by streptozotocin and nicotinamide, the rats were randomly assigned into two groups, including diabetic HIIT training and diabetic control. The experimental group performed 4 days a week the exercise training for 4 weeks, while the control group did not have any training program. Independent T-test was used to analyze the data.
Results: A significant change was not observed in the total content of AKT1 proteins ($p<0.31$), P70S6K1 ($p<0.69$) and 4EBP1 ($p<0.84$) in the HIIT training group compared to the control group, but the total protein content of mTOR ($p<0.02$) and the form of phosphorylation of AKT1 ($p<0.03$), mTOR ($p<0.03$), P70S6K1 ($p<0.02$) and 4EBP1 ($p<0.009$) proteins showed significant increase in training group compared to the control group.
Conclusion: The HIIT training can probably activate the pathway of AKT1/mTOR/P70S6K1 and AKT1/mTOR/4EBP1 in the mTORC1 pathway; therefore, the HIIT training can lead to protein synthesis or muscle hypertrophy through this pathway in the gastrocnemius muscle of the trained rats
Keywords: *Gastrocnemius muscle, High-intensity interval training, mTORC1 pathway, Type 2 diabetes.*

Cited as: Faezi G, Sherafati Moghadam M, Shadmehri S, Fathalipour M. The effect of 4 weeks high-intensity interval training (HIIT) on the content of downstream and upstream mTORC1 pathways gastrocnemius muscle of type 2 diabetic rats. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2020; 30(2): **120-127.**

Correspondence to: Saeedeh Shadmehri
Tel: *+98 912 314 5412*
E-mail: saeedehsh61@gmail.com
ORCID ID: 0000-0002-5000-4427
Received: 27 Apr 2019; **Accepted:** 21 Jul 2019

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۰، شماره ۲، تابستان ۹۹، صفحات ۱۲۰ تا ۱۲۷

Original Article

تاثیر ۴ هفته تمرین HIIT بر میزان پروتئین‌های پایین‌دست و بالادست مسیر mTORC1 در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲

گلناز فائزی[۱]، محمد شرافتی مقدم[۲]، سعیده شادمهری[۳]، محمد فتحعلی پور[۴]

[۱]عضو هیات علمی دانشگاه خوارزمی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
[۲] گروه عمومی و پایه، واحد هشتگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران
[۳]گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۴]استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *مسیر mTORC1 یکی از مسیرهای مهم درون سلولی در سنتز پروتئین است. در بیماری دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین این مسیر مهار می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر ۴ هفته تمرین HIIT بر میزان پروتئین‌های پایین‌دست و بالادست مسیر mTORC1 در عضله دوقلوی موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ بود.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد اسپراگ‌داولی (با میانگین وزن ۲۰ ± ۲۵۰ گرم) انتخاب شدند و پس از دیابتی شدن از طریق استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه HIIT دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند. گروه تجربی ۴ روز در هفته و به مدت ۴ هفته به فعالیت ورزشی پرداختند، در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. برای تحلیل داده‌ها از آزمون t مستقل استفاده شد.*

یافته‌ها: *تغییر معنی‌داری در میزان تام پروتئین‌های AKT1 ($p<۰/۳۱$)، P70S6K1 ($p<۰/۶۹$) و 4EBP1 ($p<۰/۸۴$) در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده نشد، اما میزان تام پروتئین mTOR ($p<۰/۰۲$) و فرم فسفریله پروتئین‌های AKT1ser473 ($p<۰/۰۳$)، mTORser2448 ($p<۰/۰۳$)، P70S6K1Thr389 ($p<۰/۰۲$) و 4EBP1Thr37/46 ($p<۰/۰۰۹$) در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داد.*

نتیجه‌گیری: *تمرین HIIT می‌تواند مسیرهای AKT1/mTOR/P70S6K1 و AKT1/mTOR/4EBP1 را در مسیر mTORC1 فعال کند که در نتیجه، تمرین HIIT از طریق این مسیر می‌تواند موجب سنتز پروتئین یا هیپرتروفی عضلانی در عضله دوقلوی موش‌های تمرین کرده شود.*

واژگان کلیدی: *عضله دوقلو، تمرین تناوبی با شدت بالا، مسیر mTORC1، دیابت نوع ۲.*

مقدمه

عضله اسکلتی بافت بسیار تغییرپذیری است که توانایی رشد و کاهش اندازه را دارد و ساختار آن به طور منظم در طول عمر تغییر می‌کند. کنترل هموستاز عضلانی اسکلتی از طریق تعادل دو فرآیند پویا، سنتز و تجزیه پروتئین عضلانی اسکلتی است که هر کدام به طور روزانه به طور قابل توجهی تغییر می‌کنند (۱).

از بین رفتن توده عضلانی (آتروفی) یکی از عواقب معمول بیماری دیابت است. در این شرایط، تجزیه پروتئین افزایش و سنتز آن کاهش می‌یابد. از آنجا که عوامل مختلفی بر آتروفی عضلانی از طریق سازگاری‌های رونویسی تأثیرگذارند، به نظر می‌رسد محرک‌های شروع‌کننده و پروتئین‌های درگیر در

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، سعیده شادمهری (**email**: saeedehsh61@gmail.com)
ORCID ID: 0000-0002-5000-4427
تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۲/۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۸/۵/۱

مسیرهای سنتز از مکانیزم‌های اصلی سیگنالینگ در از دست دادن توده عضلانی باشد. احتمالاً میزان پایین انسولین و IGF-1 همراه با افزایش میزان گلوکوکورتیکوئیدها موجب از دست دادن پروتئین عضلانی در بیماری دیابت می‌شود (۲).

پروتئین هدف رپامایسین (mTOR) در پستانداران در مرکز تنظیم سنتز پروتئین عضله اسکلتی قرار دارد. پروتئین سرین/ترئونین کیناز، در دو کمپلکس mTORC1 و mTORC2 قرار دارد و در هر یک نقش انحصاری دارد (۳). نقش mTOR در کمپلکس mTORC1 تنظیم سنتز پروتئین و رشد، سنتز پروتئین ریبوزومی، تنظیم چرخه سلولی، اتوفاژی و آپوپتوز در سلول‌های یوکاریوتی می‌باشد. mTOR یک هدف پائین‌دستی برای پروتئین AKT است (۴). انسولین و فاکتور رشد شبه انسولین سبب فعال‌سازی PI3K می‌شود که این فعال‌سازی منجر به فسفریلاسیون AKT می‌گردد. فعالسازی mTORC1 توسط AKT از طریق غیرفعال کردن کمپلکس TSC1/2 صورت می‌گیرد (۵). سوبستراهای اصلی mTORC1 پروتئین‌های پایین‌دست آن یعنی P70S6K1 و 4EBP1 هستند که از تنظیم کننده‌های ترجمه پروتئین هستند (۶).

تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) به وهله‌های تکراری با فعالیت‌های تناوبی به نسبت کوتاه با شدت زیاد یا شدتی نزدیک به شدتی که $VO2_{peak}$ به دست می‌آید ($VO2_{peak} \geq$ of 90%) نسبت داده می‌شود. با توجه به شدت تمرینات، یک تلاش HIIT ممکن است از چند ثانیه تا چندین دقیقه طول بکشد. در این نوع تمرین وهله‌های گوناگون تمرین با چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت کمتر از هم جدا می‌شوند (۷).

امروزه تمرین HIIT به عنوان یکی از روش‌های تمرینی سودمند مورد توجه می‌باشد. همچنین هنوز سازگاری‌های فیزیولوژیکی این‌گونه تمرینات که به واسطه آن‌ها عملکرد بهبود می‌یابد، به خوبی درک نشده است. تمرین HIIT برخی اوقات معادل فعالیت ورزشی مقاومتی یا قدرتی قرار می‌گیرد و در چندین مطالعه مشخص‌شده است که منجر به تغییراتی در بیان پروتئین‌های AKT یا اهداف پایین‌دست مرتبط با سنتز پروتئین‌هایی مانند mTOR، p70S6K و 4EBP1 می‌شود (۸). نتایج تمرینات HIIT بر فعالیت mTORC1 در افراد دیابتی و عوارض آن بسیار کم بررسی شده است. بیماری دیابت عوارض بسیار جدی از قبیل مقاومت به انسولین، عدم تحمل گلوکز و افزایش و کاهش وزن برای شخص مبتلا دارد که می‌تواند زندگی شخصی را تحت‌الشعاع خود قرار دهد (۲،۹).

با توجه به این عوامل، فیزیولوژیست‌های ورزشی به دنبال تأثیر و درمان این قبیل بیماری‌ها از طریق فعالیت‌های ورزشی هستند. تمرینات ورزشی می‌تواند با تغییرات بر روی پروتئین‌ها (پروتئین‌های مسیر mTORC1) و مسیرهای سلولی و مولکولی این مزایا را رقم بزند. به طور کلی شناسایی پروتئین‌های مهم مسیر AKT/mTORC1 در ترمیم و جلوگیری از آتروفی عضلانی و سایر عوارض با بیماری دیابت این فرضیه را مطرح می‌کند که تغییر در میزان این پروتئین‌ها احتمالاً از طریق فعالیت ورزشی امری مهم است که باید شناسایی شود (۱۰،۱۱). با توجه به پیشرفت علم و پیدایش و کشف روش‌ها و فعالیت‌های ورزشی مدرن اثرات این روش‌ها بر میزان پروتئین‌های مهم و جدید و تأثیر این پروتئین‌ها بر انواع بیماری‌ها از جمله دیابت به روشنی واضح و آشکار نیست. در تحقیقی ادمن و همکارانش به بررسی اثر تمرین ورزشی مقاومتی بر میزان فسفریلاسیون پروتئین‌های mTOR و P70S6K1 در عضله پهن بیرونی پرداختند. تمرین ورزشی منجر به افزایش قابل توجهی در میزان فسفریلاسیون پروتئین‌های mTOR و P70S6K1 شده بود (۱۲). در تحقیق دیگر کامرا و همکارانش میزان پروتئین‌های AKT، mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 را به دنبال دو نوع تمرین ورزشی استقامتی و مقاومتی اندازه‌گیری کردند. نتایج به دنبال هر دو فعالیت ورزشی استقامتی و مقاومتی افزایش معنی‌داری را در میزان پروتئین AKT، پروتئین mTOR و پروتئین P70S6K1 نشان داد؛ اما میزان پروتئین 4EBP1 در تمرینات استقامتی، کاهش سپس یک افزایش چشمگیری را نشان داد، ولی در تمرینات مقاومتی تفاوت معنی‌داری نشان داده نشد (۱۳).

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که سنتز پروتئین عضله اسکلتی در پاسخ به انواع فعالیت‌های بدنی (مقاومتی و استقامتی) نتایج متفاوتی را در پی دارد. بعضی از پژوهش‌ها تمرینات ورزشی استقامتی را به عنوان کاهش دهنده و تمرینات مقاومتی را به عنوان افزایش‌دهنده توده عضلانی در نظر گرفته‌اند؛ اما تاکنون تاثیر تمرین HIIT بر مسیر سیگنالینگ سنتز پروتئین یا هیپرتروفی عضلانی به خصوص مسیر mTORC1 به خوبی بررسی نشده است. بنابراین، این پژوهش جنبه‌های متفاوتی از قبیل تاثیر تمرین ورزشی HIIT بر میزان پروتئین‌های بالادست و پایین‌دست مسیر mTORC1 در عضله دوقلو را بررسی می‌کند تا اطلاعات پایه و سلولی و مولکولی در خصوص نقش این پروتئین‌ها در مسیر mTORC1 و تأثیر تمرین HIIT بر عوارض دیابت نوع ۲ فراهم شود. در نتیجه در صورت مثبت بودن نتایج این پژوهش، می‌تواند مورد استفاده کلیه محققینی باشد که به دنبال روش‌های مناسب و کم

عارضه مانند تمرین ورزشی HIIT برای برطرف نمودن عوارض ناشی از بیماری دیابت از جمله آتروفی عضلانی هستند.

مواد و روشها

این پژوهش تجربی-بنیادی بـه صـورت گـروه آزمـایش و کنتـرل انجـام گرفـت. ۱۶ سـر مـوش صـحرایی نـر ۲ ماهـه از نـژاد اسـپراگداولـی بـا میـانگین وزن ۲۰±۲۵۰ گـرم انتخـاب شـدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز بـا دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبـت ۵۰-۴۰ درصـد و چرخـه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ ساعت نگهداری شدند. غـذای حیوانـات به صورت آزادانه و اسـتاندارد مخصـوص حیوانـات آزمایشـگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیـه شـد. همچنـین آب مـورد نیـاز حیوانات به صـورت آزاد در بطـری‌هـای ۵۰۰ میلـی‌لیتـری ویـژه حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقـی IR.SUMS.REC.1396.S1062) مطالعـه مطـابق بـا اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشـگاه علـوم پزشـکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

برای ایجاد دیابت در مـوش‌هـا، محلـول استرپتوزوتوسـین (STZ) (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵) به صورت داخـل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلـوگرم از وزن بدن بعـد از ۱۵ دقیقـه تزریـق نیکـوتین‌آمیـد بـا دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هـر کیلـوگرم از وزن بـدن تزریـق گردیـد (۱۴). جهت اطمینان از دیابتی شـدن حیـوان‌هـا، قنـد خـون آن‌هـا ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکـومتر انـدازه‌گیـری شـد و قنـد خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شـاخص دیـابتی شدن در نظر گرفته شد (۱۵). پـس از القـای دیابـت، مـوش‌هـای صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه گروه تمرین دیـابتی (۸ سـر) و کنترل دیابتی (۸ سر) تقسیم شدند.

موش‌های گروه‌هـای تمـرین بـرای آشـنایی بـا نـوارگردان (مـدل A1400Y10، شرکت پیشـرو اندیشـه صـنعت، سـاخت ایـران) بـه مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بـر دقیقـه، روی نـوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت ۴ هفته و هر هفتـه ۴ جلسـه بود. کل مدت‌زمان دویدن موش‌هـای صـحرایی در هـر جلسـه بـر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه، شامل ۶ دقیقه گرم کردن (سـرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه)، ۵ دوره تمرین ۴ دقیقـه‌ای بـا تنـاوب شـدید (۷۰ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت)، ۴ دوره تمرین ۳ دقیقه تمـرین با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حـداکثر سـرعت) و ۶ دقیقـه سـرد کردن (سرعت ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) بود. شیب نـوارگردان صـفر درجه و در ۴ هفتـه تغییـری نداشـت (۱۶). در ایـن مـدت، گـروه کنترل هیچ‌گونه برنامـه تمرینـی نداشـتند. مـوش‌هـای صـحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند.

آزمون اندازه‌گیری حـداکثر سـرعت بـا سـرعت ۵ متـر در دقیقـه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافـت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن مـوش‌هـا بـه انتهـای تردمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (۱۷).

برای از بین بردن آثار حـاد تمـرین و متغیرهـای غیرقابـل کنتـرل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، ۲۴ ساعت پـس از آخرین جلسه تمرین، مـوش‌هـا بـا رعایـت اصـول اخلاقـی و بـا تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تـا ۵۰ میلـی‌گـرم بـر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت عضـله اسـکلتی دوقلـو از بـدن حیـوان برداشـته شـد و در سـرم فیزیولوژیـک شستشـو داده و بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعـدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریزر شد (۱۸).

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهـای پـژوهش اندازه‌گیری شدند. در این روش ابتدا هموژنه بافت عضـله اسـکلتی دوقلو در لیز بـافر RIPA حـاوی آنتـی پروتئـاز کوکتیـل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقـه و مخلـوط کردن با سمپل لودینگ بافر، با الکتروفورز (مدل عمـودی، شـرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسـیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعـد از تفکیـک، بانـدهای پروتئینـی بـر روی غشـا ترانسفرشـده (غشـاء دیفوریـد پلـی‌وینیلیـدین Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane sigma) و بعد از بلوکـه‌کـردن غشـا بـا محلـول سـرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک سـاعت در دمـای آزمایشـگاه بـا آنتـی‌بـادی اولیـه‌ی خرگوشـی فـرم تـام‌هـا anti-AKT1 (sc-135829)، anti-mTOR (Sc-1550-R)، anti-P70S6K1 (Sc-230 و (Sc-9977) anti-4EBP1 فـرم فسـفریله‌هـا anti-AKT1 (sc-52940)، anti-mTOR (Sc-293133)، anti-P70S6K1 (Sc-11759 و (#-2855) anti-4EBP1 رقیق‌شده (۱/۵۰۰) در محلـول بلاکینگ به مدت یک شب در دمای ۴ درجه قرارداده شدند. پـس از سه بار شستشو با بافر فسفات نمکی توین‌دار با آنتی‌بادی ثانویـه ضد خرگوشی کونژوگه با HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مـدت یک ساعت مجاور گردیدند. ایمیون کمپلکس‌هـای ایجـاد شـده بـا روش کمی لومینسانس و اسـتفاده از فـیلم رادیـوگرافی بـه ظهـور رسـیدند. دانسـیته بانـدها توسـط نـرم افـزار Image J (نسـخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیـری شـد و نتـایج بعـد از نرمـالیزه شـدن در

مقابل لودینگ کنترل (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شدند (۱۹).

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. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت. سطح معنی‌داری تحلیل آماری تحقیق حاضر، p≤۰/۰۵ بود.

یافته‌ها

در پایان پژوهش، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، میزان تام پروتئین mTOR (p<۰/۰۲) در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری یافت؛ اما، تغییر معنی‌داری در میزان تام پروتئین‌های AKT1 (p<۰/۳۱)، P70S6K1 (p<۰/۶۹) و 4EBP1 (p<۰/۸۴) در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده نشد (شکل‌های ۱ و ۲).

از طرفی ۴ هفته تمرین HIIT، تغییر معنی‌داری را در میزان فرم فسفریله پروتئین‌های $AKT1^{ser473}$ (p<۰/۰۳)، $mTOR^{ser2448}$ (p<۰/۰۳)، $P70S6K1^{Thr389}$ (p<۰/۰۲) و $4EBP1^{Thr37/46}$ (p<۰/۰۰۹) در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی ایجاد کرد (شکل‌های ۱ و ۲).

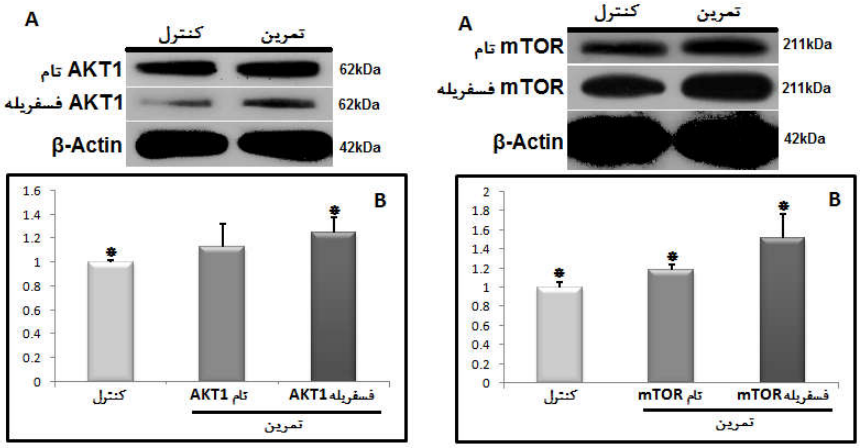
همچنین میزان فرم تام و فرم فسفریله پروتئین‌ها با یکدیگر مقایسه شدند، که به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT، تفاوت معنی‌داری میان میزان فرم‌های تام و فسفریله پروتئین‌های AKT1 (p<۰/۴۳)، mTOR (p<۰/۱۰)، P70S6K1 (p<۰/۲۹) و 4EBP1 (p<۰/۴۱) مشاهده نشد.

بحث

نتایج تفاوت معنی‌داری را به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT بین گروه‌های کنترل و تمرین در میزان فرم تام پروتئین‌های AKT1، P70S6K1 و 4EBP1 در عضله اسکلتی دوقلو نشان نداد، اما در میزان فرم تام پروتئین mTOR و میزان فرم فسفریله پروتئین‌های AKT1، mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 افزایش معنی‌داری مشاهده شد.

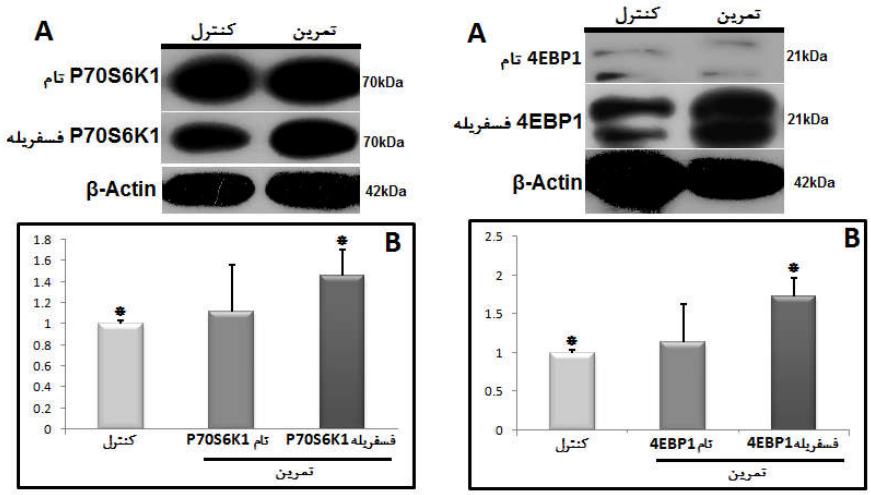
فعالیت ورزشی یکی از تنظیم‌کننده‌های قوی برای افزایش توده عضلانی است. فعالیت ورزشی تنظیم‌کننده سنتز پروتئین عضله اسکلتی است و اهمیت این تأثیر وابسته به وضعیت تمرینات، نوع، شدت و مدت زمان فعالیت ورزشی و دوره‌های ورزش است (۲۰). در طول دهه گذشته بسیاری از مطالعات توصیفی نقش mTORC1 در تنظیم سنتز پروتئین عضله اسکلتی و توده عضلانی در پاسخ به تاثیر حالت‌های مختلف بار مکانیکی/فعالیت ورزشی ارائه کرده‌اند (۱۲،۱۳). مکانیسم‌های مولکولی که تنظیم فعالیت mTORC1 در عضله اسکلتی در پاسخ به انواع مختلف محرک‌های مکانیکی هستند، در حال کشف هستند و هنوز به درستی نقش فعالیت تمرین HIIT در سنتز پروتئین عضله اسکلتی مشخص نشده است.

در تحقیقی فایف و همکارانش به بررسی میزان پروتئین‌های



شکل ۱. مقایسه میزان فرم تام و فسفریله پروتئین‌های AKT1 و mTOR در گروه‌های مورد مطالعه. A، تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین‌های AKT1 و mTOR و β-actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله اسکلتی دوقلو. B، نمودار ستونی نشان دهنده مقادیرکمی شده باندهای پروتئین AKT1 و mTOR در مقابل لودینگ کنترل که به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شده است.

* وجود تفاوت معنی‌داری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل.



شکل ۲. مقایسه میزان فرم تام و فسفریله پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 در گروه‌های مورد مطالعه. A، تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 و β-actin به عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله اسکلتی دوقلو. B، نمودار ستونی نشان دهنده مقادیرکمی شده باندهای پروتئین P70S6K1 و 4EBP1 در مقابل لودینگ کنترل که به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شده است.

* وجود تفاوت معنی‌داری گروه تمرین نسبت به گروه کنترل.

mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 به دنبال سه نوع برنامه تمرینی مقاومتی، تمرین ترکیبی HIIT و مقاومتی و تمرین ترکیبی تناوبی با شدت متوسط همراه با مقاومتی به مدت ۸ هفته در عضله پهن بیرونی مردان پرداختند. میزان پروتئین‌ها در چهار زمان قبل، بلافاصله، یک ساعت و ۳ ساعت بعد از تمرینات ورزشی اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین mTOR در تمرینات مقاومتی به مدت یک ساعت و ۳ ساعت در تمرین مقاومتی و همچنین تمرین ترکیبی HIIT و مقاومتی به مدت ۳ ساعت افزایش معنی‌داری را نسبت به زمان قبل از تمرین ورزشی نشان داد و در دیگر زمان‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد. میزان پروتئین P70S6K1 افزایش معنی‌داری را در زمان بلافاصله در گروه تمرین ترکیبی HIIT و مقاومتی، زمان یک ساعت در گروه‌های تمرین مقاومتی و زمان ۳ ساعت در گروه تمرین ترکیبی HIIT و مقاومتی نسبت به زمان قبل از تمرین ورزشی نشان داد و در دیگر زمان‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد. میزان پروتئین 4EBP1 در هیچ یک از زمان‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نداد (۲۱). نتایج تحقیق فایف و همکارانش نشان می‌دهد تمرین مقاومتی و HIIT در بعضی از زمان‌ها منجر به افزایش میزان پروتئین‌های mTOR، P70S6K1 شده است، که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر در میزان فرم تام و فسفریله پروتئین mTOR و فرم فسفریله پروتئین P70S6K1 هم‌راستا است. اما بر خلاف نتایج تحقیق فایف و همکارانش، میزان پروتئین 4EBP1 در تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری یافت. بنابراین می‌توان گفت که در تحقیق حاضر تمرین HIIT می‌تواند از طریق دو مسیر AKT1/mTOR/P70S6K1 و AKT1/mTOR/4EBP1 منجر به سنتز پروتئین یا هیپرتروفی عضلانی شود. مکانسیم احتمالی برای این فعال سازی فعال‌شدن پروتئین AKT است که از طریق دو سازوکار کمپلکس mTORC1 را فعال می‌کند. یک سازوکار از طریق فسفریلاسیون مهاری کمپلکس ۲ توبروز اسکلروزیس (TSC2) است. TSC2 مهار شده به وسیله AKT باعث مسدود کردن کمپلکس TSC1/TSC2 و فعال‌شدن پروتئین Rheb می‌شود که این فرآیند منجر به فعال‌سازی کمپلکس mTORC1 می‌شود (۲۲). سازوکار دیگر مهار پروتئین PRAS40 در کمپلکس mTORC1 است که با مهار این پروتئین، کمپلکس mTORC1 فعال می‌شود (۶).

در تحقیقی دیگر ساتو و همکارانش به بررسی میزان فرم‌های تام و فسفریله پروتئین‌های AKT و mTOR در موش‌های صحرایی با رژیم غذایی چربی بالا پرداختند. برنامه تمرینی به مدت ۶ هفته، ۵ روز در هفته و به مدت ۳۰ دقیقه (۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، ۳ دقیقه با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه و ۲۵ دقیقه با سرعت ۲۴ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه) انجام شد. نتایج، افزایش معنی‌داری را در فرم تام پروتئین AKT و فرم فسفریله پروتئین mTOR نشان داد و در فرم‌های فسفریله AKT و فرم تام پروتئین mTOR تغییر معنی‌داری وجود نداشت (۲۳). نتایج این تحقیق در ارتباط با فرم فسفریله پروتئین mTOR با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا است. با توجه به نتایج تحقیق ساتو و همکارانش و یافته‌های ما به

نظر می‌رسد مسیر اصلی برای فعال‌شدن کمپلکس mTORC1، مسیر PI3K/AKT/mTOR است که مسیر اصلی سیگنالینگ در پاسخ سلولی به محرک‌های خارج سلولی مثل انسولین، فاکتور رشد شبه انسولین-۱، فاکتور رشد اپی درمال و فاکتور رشد فیبروبلاست است. اما سازوکار فعال‌شدن کمپلکس mTORC1 از طریق پروتئین AKT این گونه است که با تحریک انسولین، سوبسترای -۱-گیرنده انسولین (IRS-1) در ناحیه تیروزین فسفریله می‌شود و این امر باعث فعال‌شدن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K) می‌شود. سپس PI3K، فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ و ۵ بی‌فسفات (PIP2) را به فسفاتیدیل اینوزیتول ۳، ۴ و ۵ تری فسفات (PIP3) تبدیل می‌کند. PIP3 موجب فعال‌شدن AKT و در نهایت AKT منجر به فعال‌شدن پروتئین mTOR می‌شود (۲۴،۲۵).

در تحقیقی دیگر تاروم و همکارانش به بررسی تاثیر تحریک الکتریکی (نوعی انقباض عضلانی از طریق جریان الکتریسته) بر میزان فرم تام پروتئین‌های mTOR، P70S6K1 و 4EBP1 پرداختند. در این تحقیق میزان تام پروتئین‌های mTOR و 4EBP1 افزایش معنی‌داری یافته بود اما میزان پروتئین P70S6K1 تغییری نکرده بود. این محققان بیان کردند که تحریک الکتریکی عضله می‌تواند نوعی از فعالیت ورزشی باشد که منجر به هیپرتروفی می‌شود (۲۶). نتایج تحقیق تاروم و همکارانش با نتایج تحقیق حاضر در ارتباط با میزان پروتئین‌های mTOR و P70S6K1 هم‌راستا و در ارتباط با میزان 4EBP1 هم‌راستا نیست. نتایج تحقیق حاضر در میزان تام پروتئین‌ها فقط افزایش معنی‌داری را در پروتئین mTOR نشان داد و در میزان دیگر پروتئین‌ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. اما شایان ذکر است که میزان فرم فسفریله پروتئین‌های تحقیق حاضر همگی افزایش معنی‌داری را نشان دادند که این نشان دهنده افزایش سنتز پروتئین درون عضله اسکلتی دوقلو در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

در کل مهم‌ترین تأثیر مسیرهای پیام‌رسانی mTORC1 اثر بر پروتئین‌های درگیر در کنترل ترجمه یعنی پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 است (۲۷). فسفوریلاسیون P70S6K1 باعث سنتز پروتئین در ریبوزوم می‌شود (۲۸). در تحقیق حاضر میزان پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 افزایش معنی‌داری را به دنبال ۴ هفته تمرین HIIT در عضله دوقلو نشان داد؛ بنابراین تمرین HIIT در عضله اسکلتی دوقلو افراد دیابتی می‌تواند از طریق فعال کردن پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 منجر به سنتز پروتئین از طریق فعال‌کردن مسیر mTORC1 شود.

احتمالاً چهار هفته تمرین HIIT در عضله دوقلو موجب فعال‌شدن کل مسیر mTORC1 یعنی مسیرهای AKT/mTOR/P70S6K1 و AKT/mTOR/4EBP1 می‌شود، که نشان دهنده این مطلب است که تمرین HIIT می‌تواند در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت منجر به بهبود سنتز پروتئین از طریق مسیر mTORC1 در عضله اسکلتی شود و در کل این فعال‌سازی مسیر mTORC1 می‌تواند از آتروفی عضلانی در این آزمودنی‌ها جلوگیری کند.

تقدیر و تشکر

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

REFERENCES

1. Breen L, Phillips SM. Skeletal muscle protein metabolism in the elderly: interventions to counteract the anabolic resistance of ageing. Nut Metabol 2011; 8:1-11.

2. 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. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services 2016; 38:6-13. [In Persian]

3. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease. Cell 2012; 149: 274-93.

4. Patursky-Polischuk I, Kasir J, Miloslavski R, Hayouka Z, Hausner-Hanochi M, Stolovich-Rain M, et al. Reassessment of the role of TSC, mTORC1 and microRNAs in amino acids-meditated translational control of TOP mRNAs. PloS one 2014; 9:e109410.

5. Menon S, Dibble CC, Talbott G, Hoxhaj G, Valvezan AJ, Takahashi H, et al. Spatial control of the TSC complex integrates insulin and nutrient regulation of mTORC1 at the lysosome. Cell 2014; 156:771-85.

6. Showkat M, Beigh MA, Andrabi KI. mTOR signaling in protein translation regulation: implications in cancer genesis and therapeutic interventions. Mol Biol Int 2014; 1-14.

7. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia 2017; 60:7-23.

8. 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. Biol Sport 2017; 34:197-203.

9. 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. Iran J Endocrinol Metabol 2016; 17:362-370.

10. 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. Sci Reports 2017; 7:204.

11. Ostler JE, Maurya SK, Dials J, Roof SR, Devor ST, Ziolo MT, et al. Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. Am J Physiol-Endocrinol Metabol 2014; 306:E592-605.

12. Edman S, Söderlund K, Blomstrand E. PO-260 Anabolic signalling in individual muscle fibres following resistance exercise in combination with amino acid intake. Exerc Biochem Rev 2018; 1:260.

13. Camera DM, Edge J, Short MJ, Hawley JA, Coffey VG. Early time course of Akt phosphorylation after endurance and resistance exercise. Med Sci Sports Exerc 2010; 42:1843-52.

14. 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. Korean J Physiol Pharmacol 2018; 22:493-501.

15. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. J Asian Nat Prod Res 2017; 19:1011-21.

16. Fallahi A, Gaeini A, Shekarfroush S, Khoshbaten A. Cardioprotective effect of high intensity interval training and nitric oxide metabolites (NO_2^-, NO_3^-). Iran J Public Health 2015; 44:1270-6.

17. 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. Am J Cardiovasc Dis 2017; 7:64.

18. Zarei F, Shadmehri S, Daryanoosh F, Sherafati Moghadam M, Mahmoodi M T. The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on the serum levels of chemerin, omentin-1 and apelin on overweight female Sprague-Dawley rats. JSSU 2018; 26:473-482.

19. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1α content and endurance exercise performance in rats. J Int Soc Sports Nutr 2017; 14: 1-8.

20. Burd NA, Tang JE, Moore DR, Phillips SM. Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. Eur J Appl Physiol 2009; 106:1692-701.

21. Fyfe JJ, Bishop DJ, Bartlett JD, Hanson ED, Anderson MJ, Garnham AP, et al. Enhanced skeletal muscle ribosome biogenesis, yet attenuated mTORC1 and ribosome biogenesis-related signalling, following short-term concurrent versus single-mode resistance training. Sci Rep 2018; 8:560-1-21.

22. Wallace MA, Hughes DC, Baar K. mTORC1 in the Control of Myogenesis and Adult Skeletal Muscle Mass. Molecules to Medicine with mTOR 2016;7: 37-56.

23. Sato S, Kataoka S, Sato M, Takahashi A, Norikura T, Mukai Y. Effect of Bangle (Zingiber purpureum) extract and low-intensity exercise on mTOR phosphorylation and autophagy flux in skeletal muscles of rats on a high-fat diet. J Funct Food 2018; 47:554-61.

24. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. Cell 2017; 168:960-76.

25. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol 2012; 4: a011593.

26. Tarum J, Folkesson M, Atherton PJ, Kadi F. Electrical pulse stimulation: an in vitro exercise model for the induction of human skeletal muscle cell hypertrophy. A proof□of□concept study. Exp Physiol 2017; 102:1405-13.

27. 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 Dis 2014; 5: 1-10.

28. Datan E, Shirazian A, Benjamin S, Matassov 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.