مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۰؛ دوره ۲۱ (شماره ۱)۲۳-۱۳

مقاله پژوهشی

تأثیر پروتئین‌های AMPK و P53 بر مسیر TOR به‌دنبال تمرین استقامتی در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید

ندا آقایی بهمن‌بگلو[1*]، محمد شرافتی مقدم[2]، موسی امیراحمدی[3]

چکیده

مقدمه: پروتئین‌های AMPK و P53 تنظیم‌کننده‌ی پروتئین TOR در کمپلکس TORC1 هستند که بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک را تنظیم می‌کند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر پروتئین‌های AMPK و P53 بر مسیر TOR به‌دنبال تمرین استقامتی در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط 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. گروه تمرینی به‌مدت ٦ هفته و هر هفته ٤ جلسه به‌مدت ٤٢ دقیقه تمرین استقامتی دویدن روی تردمیل مخصوص جوندگان را با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام دادند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون t–مستقل استفاده شد.

یافته‌ها: شش هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های AMPK (P=۰/۰۰۹) و TOR (P=۰/۰۰۵) بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله‌ی قلبی شد. در مقابل کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین P53 بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله‌ی قلبی مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که تمرین استقامتی می‌تواند با افزایش محتوای پروتئین‌های AMPK و TOR و کاهش محتوای پروتئین P53 سبب تنظیم فرآیندهایی مانند سوخت و ساز، بیوژنز میتوکندریایی، هیپرتروفی قلبی، مهار اتوفاژی در قلب آزمودنی‌های دیابتی شود.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، نیکوتین‌آمید، پروتئین AMPK، پروتئین TOR، پروتئین P53، استرپتوزوتوسین

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

۲- گروه علوم ورزشی، مؤسسه‌ی آموزش عالی آپادانا، شیراز، ایران

۳- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* *نشانی:* گلستان، شهرستان علی‌آباد کتول، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول، کد پستی: ٤٩٤١٧٩٣٤٥١، تلفن: ۰۱۷۳٤۲۲۲۳۰۰، پست الکترونیک: nedaghaei@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۱۴ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۰/۰۲/۰۴ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۲/۲۷

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

مقدمه

دیابت یک مشکل به‌طور فزاینده برای میلیون‌ها نفر در سراسر جهان است. داده‌های طولی نشان می‌دهد که حدود یک پنجم مرگ و میر ناگهانی قلبی (SCDs)[1] به‌وسیله‌ی بیماری دیابت رخ داده است [۱]. نشان داده شده است دیابت به‌طور مستقل مرگ و میر قلبی و عروقی در افرادی که نشانه‌های بیماری قلبی (مانند انفارکتوس میوکارد قبلی یا کاهش کسر تزریقی) ندارد را افزایش می‌دهد. بیماران دیابت در معرض خطر بیشتر SCD هستند و این حتی بعد از تعدیل عوامل خطر سنتی مانند بیماری عروق کرونر (CAD)[2]، کلسترول بالا، فشار خون بالا است [۲].

سوخت و ساز بدن شامل یک شبکه‌ی بسیار یکپارچه از واکنش‌های سلولی است که فراهم‌کننده‌ی انرژی برای سوخت و ساز، قدرت و واسطه‌های بیوسنتز است. روشن‌سازی از مسیر اصلی و سازوکارهای‌های مولکولی آن بسیار مهم است. با این حال، سوخت و ساز بدن واسطه برای تمام جنبه‌های عملکرد سلول مانند رشد، تکثیر و مرگ است [۳].

کیناز فعال‌شده توسط-AMP (AMPK)[3] و اهداف متعدد پایین دست آن به حفظ تعادل انرژی کمک می‌کند [٤]. در دسترس بودن انرژی و اکسیژن می‌توانند منجر به تنظیم سلول‌های مهمی در بدن شود. در شرایط کمبود انرژی و اکسیژن، چند عامل با هم کار می‌کنند تا محور TSC را فعال و در نهایت منجر به سرکوب سیگنالینگ mTORC1[4] شود [۵]. دوره‌های اعمال متابولیک شدید یا خروج گلوکز می‌تواند مخزن سلولی ATP را کاهش دهد و منجر به تحریک پروتئین AMPK به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی اصلی از کاهش انرژی سلولی شود. AMPK به‌عنوان یک آنتاگونیست برای اکثر فرآیندهای اصلی ATP مصرفی است [٦]. یکی از مسیرهای پایین‌دست مرکزی مهار AMPK مسیر کمپلکس هدف مکانیکی راپامایسین (TORC1)[5] است. AMPKمنجر به مهار TORC1 به‌طور مستقیم، با فسفریله کردن پروتئین رپتور در کمپلکس TORC1 و غیر مستقیم با فعال کردن TSC2[6] می‌شود [۷].

مسیر TORC1 یک هدف عمده‌ی سوخت و ساز بدن آنابولیک است که در دیابت می‌تواند دچار نقص شود [۸]. AMPK و TOR (هدف از راپامایسین) مسیرهای سیگنالینگ برای در دسترس بودن سنجش مواد مغذی و انرژی و تنظیم رشد سلولی هستند که مخالف هم هستند. AMPK (Yin، یا "سمت تاریک") هنگام کمبود انرژی یا مواد مغذی و مهار رشد سلولی روشن می‌شود؛ در حالی که TOR (Yang، یا "سمت روشن") هنگام در دسترس بودن مواد مغذی و رشد سلول فعال می‌شود. ژن‌های کُدکننده‌ی AMPK و کمپلکس TOR تقریباً در همه یوکاریوت‌ها وجود دارند [۹].

در پاسخ به استرس، پروتئین P53 منجر به آغاز تنظیم رونویسی ژن‌های هدف می‌کند که می‌تواند سبب پاسخ‌های مختلفی مانند توقف چرخه‌ی سلولی، آپوپتوز و پیری شود. مطالعات اخیر عملکرد مهمی از پروتئین p53 در تنظیم مسیر IGF-1/AKT/mTOR برای تنظیم انرژی سوخت و ساز بدن نشان می‌دهد [۱۰]. فرآیندهای انکوژنیک منجر به فعال‌شدن مسیرهای متابولیکی برای استفاده از گلیکولیز هوازی می‌شوند. غیرفعال‌شدن پروتئین P53 با استفاده از فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری، منجر به تولید حداکثری ATP می‌کند [۱۱]. همچنین، DNA آسیب‌دیده ژن‌های مختلف از جمله پروتئین‌هایAMPK ، PTEN و TSC2، هدفی برای پروتئین P53 است، که همه‌ی این پروتئین‌ها می‌توانند فعالیت مسیر mTORC1 را تنظیم و از تمامیت ژنوم محافظت کند [۱۲، ٤].

فعالیت جسمانی بر مبنای رهنمودهایADA[7]، ACSM[8] و سایر سازمان‌های ملی و بین‌المللی برای پیشگیری و درمان دیابت توصیه شده است [۱۳]. نقش مثبت انواع تمرینات ورزشی در کنترل دیابت ثابت داده شده است. تمرینات ورزشی استقامتی، مقاومتی و ترکیبی می‌توانند به کنترل گلیسمی دیابت شیرین نوع دو کمک کنند، که عمدتاً به‌واسطه‌ی افزایش مصرف

[1] Sudden Cardiac Deaths
[2] Coronary Artery Disease
[3] AMP-Activated Protein Kinase
[4] Mammalian Target of Rapamycin Complex 1
[5] Target of Rapamycin Complex 1
[6] Tuberous Sclerosis Complex 2
[7] Americans with Disabilities Act
[8] American College of Sports Medicine

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

گلوکز توسط عضلات در طول فعالیت ورزشی و اثر هیپوگلیسمیکی است که بعد از فعالیت ورزشی ایجاد می‌شود [۱٤]. به‌ویژه تمرینات ورزشی استقامتی به‌عنوان یک راهبرد مؤثر برای کاهش توده‌ی چربی بدن، افزایش حساسیت انسولین کل بدن و کاهش خطر بیماری‌های قلبی‌عروقی در افراد بالغ چاق مطرح شده است [۱۵]. علاوه بر این، تمرینات ورزشی استقامتی به‌صورت تداومی منجر به کاهش هموگلوبین گلیکوزیله خون، بهبود نیمرخ خطر بیماری‌های قلبی عروقی و کاهش توده‌ی چربی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود [۱٦]. در تحقیقی Esmailee و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌هایAMPK بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی پرداختند. بیان ژن پروتئین AMPK در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش یافته بود؛ اما نسبت به گروه کنترل سالم کاهش قابل توجه‌ای را نشان داد. این محققان بیان کردند تمرین طولانی‌مدت هوازی، احتمالاً می‌تواند سبب کاهش شاخص‌های ژنومی آتروفی و افزایش هیپرتروفی میوکارد موش‌های صحرایی دیابتی شود [۱۷]. در تحقیقی No و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین ورزش هوازی بر سیگنالینگ هیپرتروفی TOR در قلب موش‌های پیر پرداختند. گروه تمرین بر روی تردمیل با سرعت ۱۰–۱۵ متر بر دقیقه، با مدت زمان ٤۵ دقیقه، ۵ روز در هفته و به‌مدت ۸ هفته تمرین هوازی را انجام دادند. تمرین هوازی منجر به افزایش محتوای پروتئین TOR در قلب موش‌ها شد [۱۸]. در تحقیقی Hussein و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی استقامتی بر روی محتوای پروتئین‌های P53 در موش‌های دیابتی پرداختند. تمرین ورزشی منجر به بهبود آسیب میوکارد به‌دنبال تنظیم پروتئین‌های P53 شد [۱۹].

در طول سال‌های گذشته، تحقیقات اساسی یک شبکه‌ی پیچیده از سازوکارهای تنظیمی از مسیرها و پروتئین‌ها را نشان داده‌اند که در کنترل آبشار سیگنالینگ انسولین بسیار مهم هستند. شناسایی رفتار پروتئین‌ها در تنظیم سوخت و ساز، آپوپتوز، اتوفاژی و هیپرتروفی قلب برای آریتمی، نارسایی قلبی و مرگ ناگهانی مفید است. هدف قرار دادن عملکردهای این پروتئین‌ها به‌دنبال تمرینات ورزشی مبهم است، 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 به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفته شود؛ بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر پروتئین‌های AMPK و P53 بر مسیر TOR به‌دنبال تمرین ورزشی هوازی در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی‌شده توسط 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 ۲۷۰±۲۰ 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 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. 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

برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[1] (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

[1] Streptozotocin

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید [۲۰]. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه‌ی خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۲۱].

برنامه‌ی تمرین استقامتی

پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (٦ سر) و کنترل دیابتی (٦ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی تردمیل مخصوص جوندگان دویدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به‌مدت ٦ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. موش‌های تمرینی ٤۲ دقیقه تمرین استقامتی را با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت (با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۸ متر بر دقیقه) بر روی تردمیل دویدند. شیب نوارگردان صفر درجه و در ٦ هفته تغییری نداشت [۲۲]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی 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 [۲۳].

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، 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 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.

روش‌های آزمایشگاهی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت 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 (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 (مدل 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

[1] Sodium Dodecyl Sulfate

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

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-AMPKα1/2 (D-6) (Sc-74461)، anti-mTOR (Sc-293133) و anti-P53 (DP-1) (sc-126) شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند [۲٤].

تحلیل آماری

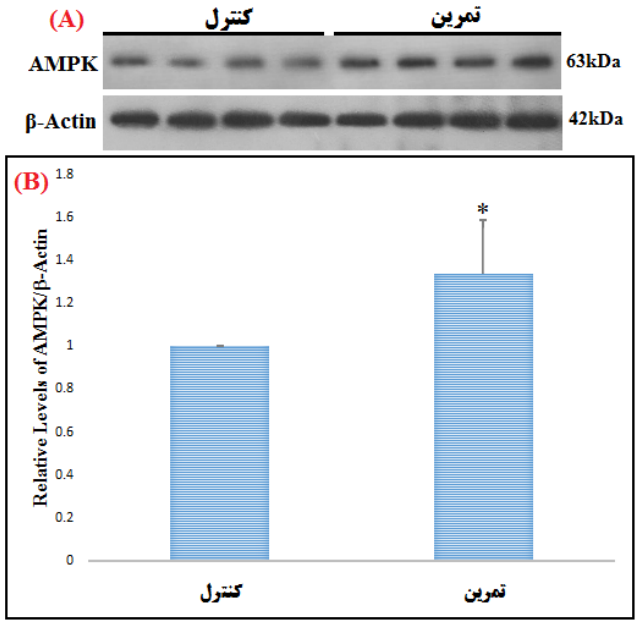
ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی توزیع داده های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t مستقل برای مقایسه‌ی بین گروهی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

در پایان پژوهش، بعد از تجزیه و تحلیل داده‌ها مشاهده شد که شش هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین AMPK بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله‌ی قلبی می‌شود (P=۰/۰۰۹) (شکل ۱، A و B).

همچنین، شش هفته تمرین استقامتی، منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین TOR بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله‌ی قلبی شد (P=۰/۰۰۵) (شکل ۲، A و B).

در مقابل شش هفته تمرین استقامتی منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین P53 بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله‌ی قلبی شد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۳، A و B).



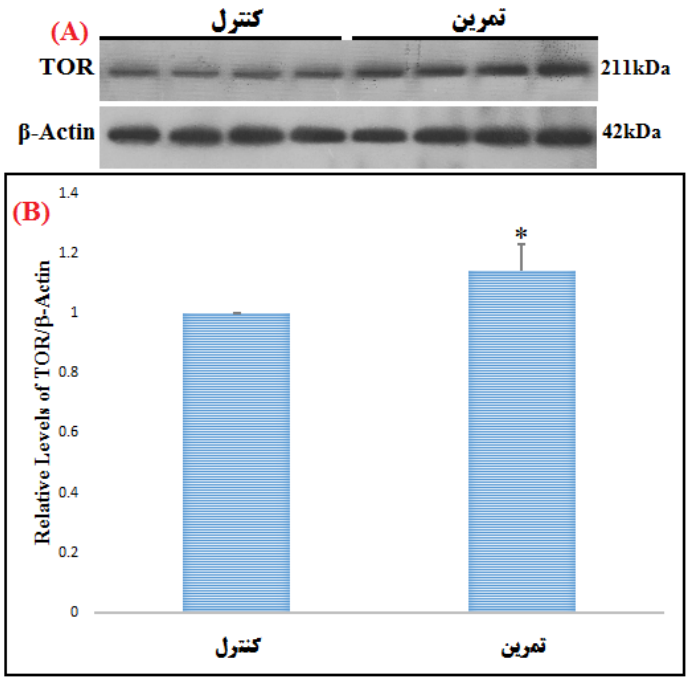
شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین AMPK در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین AMPK و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی

(B): نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیرکمی شده باندهای محتوای پروتئین AMPK در مقابل کنترل داخلی

* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

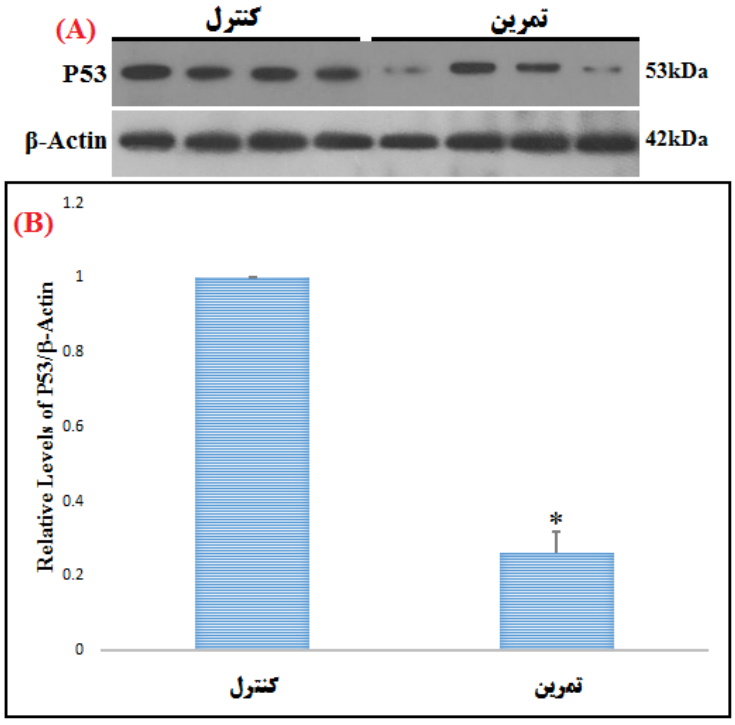


شکل ۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین TOR در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین TOR و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی

(B): نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیرکمی شده باندهای محتوای پروتئین TOR در مقابل کنترل داخلی

* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل



شکل ۳- مقایسه‌ی محتوای پروتئین P53 در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین P53 و بتا-اکتین (β-Actin) به عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی

(B): نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیرکمی شده باندهای محتوای پروتئین P53 در مقابل کنترل داخلی

* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان دادند که به‌دنبال شش هفته تمرین استقامتی، کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین P53 وجود دارد. در مقابل محتوای پروتئین‌های AMPK و TOR افزایش معنی‌داری یافته بود.

شواهد زیادی منتشر شده است که نشان می‌دهد فعال‌شدن AMPK و TOR در شرایط تنش دارای یک عملکرد محافظتی در برابر بیماری‌های قلبی و عروقی است [۲۵]. همچنین برخی از گزارش‌ها نشان داده‌اند که AMPK می‌تواند پیشرفت نارسایی قلبی را کاهش دهد. همچنین هیپرتروفی قلب از طریق فعال‌شدن AMPK مسیر است [۲۶]. در تحقیقی Liu و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر محتوای پروتئین‌های AMPK و TOR در بافت قلب موش‌های صحرایی پرداختند. محتوای پروتئین‌های AMPK افزایش معنی‌داری در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل یافته بود؛ اما این افزایش در محتوای پروتئین TOR معنی‌دار نبود. این محققان بیان کردند مسیر AMPK-TOR منجر به فعال‌سازی پروتئین ULK1[1] می‌شود که این پروتئین سبب افزایش اتوفاژی می‌شود. همچنین محققان بیان کردند این اتوفاژی تا حدی حفاظت‌کننده میوکارد در برابر آسیب ایسکمیک–هیپوکسیک میوکارد ناشی از تمرین ورزشی است [۲۷]. یکی از مسیرهای بسیار مهم که پروتئین AMPK می‌تواند از طریق غیرفعال کردن مسیر TOR فعال کند، مسیر اتوفاژی است. اتوفاژی از این طریق توسط فعال‌شدن پروتئین ULK1 انجام می‌شود. نتایج این تحقیق در محتوای پروتئین AMPK با نتایج تحقیق Liu و همکاران، که افزایش یافته بود هم‌راستا است. اما در محتوای پروتئین TOR با وجود افزایش در هر دو تحقیق، در تحقیق حاضر این افزایش معنی‌دار بود و در تحقیق Liu و همکاران معنی‌دار نبود. نشان داده شده است که افزایش پروتئین TOR در مسیر mTORC1 می‌تواند منجر به فعال‌شدن بسیاری از مسیرهای سلولی مهم مانند سنتز و هیپرتروفی عضلانی، بیوژنز میتوکندریایی، سنتز و متابولیسم چربی و .... شود. از سویی دیگر غیر فعال‌شدن این مسیر نیز می‌تواند دیگر مسیرها از جمله اتوفاژی را القاء کند [۲۸].

یکی از پروتئین‌های کلیدی که در غیرفعال‌شدن پروتئین TOR نقش اساسی دارد پروتئین AMPK است که در تحقیق حاضر افزایش یافته است؛ اما این افزایش نتوانسته است پروتئین TOR را غیرفعال کند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد برای فهمیدن سازوکارهای این مسیر باید تحقیق‌های بیشتری انجام شود. با این وجود فعال‌شدن مسیر TORC1 و غیرفعال‌شدن آن می‌تواند بسیار مهم و مفید باشد. زیرا مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سیگنالینگ AMPK-TOR با فعال‌کردن پروتئین ULK1 آغازی برای مسیر اتوفاژی است، که به نوبه‌ی خود اعمال محافظت قلب در مرحله ی ایسکمی میوکارد است [۲۹]. در تحقیقی دیگر Sturgeon و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر تمرین با شدت متوسط بر محتوای پروتئین‌های AMPK و TOR در بافت قلب موش‌های صحرایی پرداختند. محتوای پروتئین‌های AMPK و TOR در بافت قلب تغییر معنی‌داری نیافته بود [۳۰]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Sturgeon و همکاران هم‌راستا نیست. زیرا ما در تحقیق حاضر شاهد افزایش پروتئین‌های AMPK و TOR بودیم و این در حالی است که در تحقیق Sturgeon و همکاران تغییر مشاهده نشد. این نشان دهنده‌ی این مطلب است که تمرین‌های ورزشی و عوامل آن مانند شدت، مدت، نوع تمرین، تکرار و ریکاوری می‌تواند بر نتایج تأثیرگذار باشد. همه این عوامل می‌تواند بر میزان سطح انرژی و سوخت و ساز بدن مهم باشد. مشخص شده است هنگام فعالیت ورزشی میزان سطح انرژی ATP بدن به‌دلیل مصرف اندام‌ها به‌خصوص دستگاه عضلانی کاهش می‌یابد، که این کاهش سبب افزایش AMP و ADP می‌شود. افزایش AMP و ADP می‌تواند منجر به فعال‌شدن پروتئین AMPK برای جبران انرژی بدن شود [۳۱]. نارسایی قلبی ناشی از انواع فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک منجر به ناکارآمدی در سوخت و ساز بدن، عملکرد میتوکندری، التهاب و آپوپتوز می‌شود. پروتئین AMPK به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی انرژی، نه تنها باعث بهبود عرضه انرژی در افزایش عملکرد قلب می‌شود، بلکه باعث بهبود نارسایی قلبی و عملکرد قلب توسط واسطه‌های عملکردی مختلف فیزیولوژیکی درون سلولی برای به تأخیر انداختن فیبروز قلبی و کاهش آسیب‌های قلبی می‌شود. بعضی از داروها در حال حاضر در طب بالینی، مانند متفورمین، استاتین،

[1] Unc-51 Like Autophagy Activating Kinase 1

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

تری‌متازیدین، رسوراترول و غیره برای تنظیم عملکرد فعالیت پروتئین AMPK استفاده می‌شود؛ بنابراین، تمرین ورزشی نیز می‌تواند و ممکن است به‌عنوان یک داروی جایگزین برای درمان نارسایی قلبی در حال و آینده استفاده شود [۲۷].

نشان داده شده است که ژن p53 می‌تواند تنظیم‌کننده پروتئین و مسیر TOR یا برعکس پروتئین TOR تنظیم‌کننده‌ی پروتئین P53 و مسیر آپوپتوز باشد. واقعیت این است که افزایش یا کاهش در بیان هر کدام از این سیگنال‌ها می‌تواند منجر به تنظیم دیگر مسیرهای سلولی شود [۳۲]. رشد و تکثیر سلولی نیاز به یک هماهنگی پیچیده بین سیگنال‌های تحریک ناشی از عوامل رشدی، مواد مغذی و سیگنال‌های مهاری ناشی از تنش‌های داخل سلولی و خارج سلولی دارد. تغییر و نقص در این هماهنگی اغلب باعث سرطان می‌شود. در پستانداران، TOR پروتئین کیناز مرکزی در پاسخ به سیگنالینگ عوامل رشدی است و P53 نقش مهمی در سنجش ژنوتوکسیک و دیگر فشارها ایفا می‌کند [۳۳]. نتایج ارائه شده نشان می‌دهد که فعال‌سازی ژن P53 منجر به مهار فعالیت TOR و تنظیم اهداف پایین دست آن، از جمله اتوفاژی می‌شود. علاوه بر این، سازوکارهایی که به‌وسیله‌ی ژن P53 منجر به تنظیم TOR می‌شود شامل فعال‌سازی AMPK است که سبب فعال‌شدن کمپلکس پروتئین‌های TSC1/2 می‌شود. بنابراین، P53 و سیگنالینگ TOR، مسیرهای هستند که می‌توانند با عملکردهای مخالف سبب تنظیم رشد، تکثیر و مرگ سلولی شوند [۳٤]. در تحقیقی Ghorbanalizadeh و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر دوازده هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های P53 عضله‌ی قلبی در موش‌های صحرایی نر پرداختند. نتایج نشان داد بیان ژنP53 عضله‌ی قلبی در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است. این محققان بیان کردند که دوازده هفته تمرین استقامتی در افزایش پروتئین‌های کلیدی مسیر میتوکندریایی آپوپتوز قلبی تأثیر قابل توجهی دارد [۳۵]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Ghorbanalizadeh و همکاران متناقض است؛ زیرا ما شاهد کاهش محتوای پروتئین یا ژن P53 در بافت قلب بودیم. از عوامل مهم می‌تواند مدت زمان و نوع آزمودنی‌های دو تحقیق باشد. در تحقیق حاضر آزمودنی‌ها مبتلا به دیابت نوع یک بودند و تمرین استقامتی را به‌مدت شش هفته انجام دادند و این در حالی است که در تحقیق Ghorbanalizadeh و همکاران آزمودنی‌ها سالم بودند و تمرین به‌مدت دوازده هفته انجام شده بود.

در کل در ارتباط با پروتئین‌های کلیدی مانند P53 تمرین‌های ورزشی می‌تواند نتایج متناقضی را نشان دهد؛ زیرا عواملی مانند مدت زمان، شدت، مدت زمان ریکاوری و دیگر عوامل در نتایج بر روی این پروتئین‌ها بسیار مهم هستند. در این راستا نشان داده شده است که تمرینات ورزشی می‌تواند با فعال کردن پروتئین‌های AMPK منجر به فعال‌کردن پروتئین P53 شود، که این فعال‌شدن پروتئین‌های AMPK و P53 می‌تواند از طریق پروتئین TSC1/2 سبب غیرفعال شدن پروتئین Rehb[1] و در نتیجه غیرفعال‌شدن کمپلکس TORC1 شود. از این رو با غیرفعال‌شدن کمپلکس TORC1 مسیرهای مانند اتوفاژی و آپوپتوز فعال می‌شود [۲۸].

در نهایت نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین استقامتی می‌تواند پروتئین AMPK را افزایش دهد که نقش کلیدی در بیوژنز میتوکندریایی دارد. همچنین بر خلاف دیگر نتایج انجام شده افزایش پروتئین AMPK سبب غیرفعال‌شدن پروتئین TOR در کمپلکس TORC1 نشد و محتوای این پروتئین افزایش معنی‌داری را نشان داد، که می‌تواند سبب تنظیم هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب در پاسخ به تمرین‌های ورزشی باشد. از طرفی تمرین استقامتی محتوای پروتئین P53 را کاهش داد که خود این پروتئین علاوه بر افزایش آپوپتوز به‌طور مستقیم، منجر به غیرفعال‌شدن مسیر TORC1 و افزایش اتوفاژی می‌شد. بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت که تمرین استقامتی برای آزمودنی‌های دیابتی که مستعد هیپرتروفی پاتولوژیک قلبی هستند می‌تواند روش درمانی مفید و مؤثری باشد.

سپاسگزاری

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.

[1] Ras Homolog Enriched in Brain

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

مآخذ

1. Baena-Díez JM, Peñafiel J, Subirana I, Ramos R, Elosua R, Marín-Ibañez A, et al. Risk of cause-specific death in individuals with diabetes: a competing risks analysis. *Diabetes Care* 2016; 39(11):1987-95.
2. Goldberger JJ, Pelchovitz DJ, Ng J, Subacius H, Chicos AB, Banthia S, et al. Exercise based assessment of cardiac autonomic function in type 1 versus type 2 diabetes mellitus. *Cardiology Journal* 2020; 1-12.
3. Ferreira LM, Li AM, Serafim TL, Sobral MC, Alpoim MC, Urbano AM. Intermediary metabolism: An intricate network at the crossroads of cell fate and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2020:165887.
4. Garcia D, Shaw RJ. AMPK: mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance. *Molecular Cell* 2017;66(6):789-800.
5. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020; 1-21.
6. Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2018; 19(2):121.
7. Inoki K, Kim J, Guan KL. AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2012; 52:381-400.
8. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell* 2017; 168(6):960-76.
9. González A, Hall MN, Lin SC, Hardie DG. AMPK and TOR: the yin and yang of cellular nutrient sensing and growth control. *Cell Metabolism* 2020; 31(3):472-92.
10. Lacroix M, Riscal R, Arena G, Linares LK, Le Cam L. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer. *Molecular Metabolism* 2020; 33:2-2.
11. Feng Z, Levine AJ. The regulation of energy metabolism and the IGF-1/mTOR pathways by the p53 protein. *Trends in cell biology* 2010; 20(7):427-34.
12. Feng Z, Hu W, De Stanchina E, Teresky AK, Jin S, Lowe S, et al. The regulation of AMPK β1, TSC2, and PTEN expression by p53: stress, cell and tissue specificity, and the role of these gene products in modulating the IGF-1-AKT-mTOR pathways. *Cancer research* 2007; 67(7):3043-53.
13. Buresh R, Berg K. Exercise for the management of type 2 diabetes mellitus: factors to consider with current guidelines. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 2017; 58(4):510-24.
14. Asano RY, Sales MM, Browne RA, Moraes JF, Júnior HJ, Moraes MR, et al. Acute effects of physical exercise in type 2 diabetes: a review. *World Journal of Diabetes* 2014; 5(5):659.
15. Bouaziz W, Schmitt E, Kaltenbach G, Geny B, Vogel T. Health benefits of endurance training alone or combined with diet for obese patients over 60: a review. *International Journal of Clinical Practice* 2015; 69(10):1032-49.
16. Gholami M, Eftekhari E, Zafari A, Solatzadeh O. Effect of eight weeks low and moderate intensity aerobic training on levels of HbA1C, some hematological parameters and percent body fat in overweight and obese men with type 2 diabetes. *Metabolism and Exercise* 2017; 7(2): 155-168.
17. Esmailee B, Abdi A, Abbassi Daloii A, 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
18. 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.
19. Hussein AM, Eid EA, Bin-Jalia I, Taha M, Lashin LS. Exercise and Stevia Rebaudiana (R) Extracts Attenuate Diabetic Cardiomyopathy in Type 2 Diabetic Rats: Possible Underlying Mechanisms. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets* 2020. 20(7):1117-1132.
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. 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.
22. Jokar M, Zarei F, Sherafati Moghadam M, Alizadeh Palavani H. Effect of 8-Week Endurance Training on the Content of Mtor and SREBP1 Proteins in Subcutaneous Fat Tissue in Obese Type 2 Diabetic Male Sprague-Dawley Rats. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2020; 28 (6) :2755-2765
23. 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.
24. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The effect of an 8-week endurance training program on the content of foxo3a and beclin-1 proteins in heart muscle of rats with type 2 diabetes. *Journal of*

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

Inflammatory Disease 2020; 23 (6) :484-493.
25. Chen X, Li X, Zhang W, He J, Xu B, Lei B, et al. Activation of AMPK inhibits inflammatory response during hypoxia and reoxygenation through modulating JNK-mediated NF-κB pathway. *Metabolism* 2018; 83:256-70.
26. Li X, Liu J, Lu Q, Ren D, Sun X, Rousselle T, et al. AMPK: a therapeutic target of heart failure—not only metabolism regulation. *Bioscience Reports* 2019; 39(1): 1-13.
27. 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.
28. Sanchis- Gomar F. Sestrins: Novel antioxidant and AMPK- modulating functions regulated by exercise? *Journal of cellular physiology* 2013; 228(8):1647-50.
29. Ma S, Wang Y, Chen Y, Cao F. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2015; 1852(2):271-6.
30. Sturgeon K, Muthukumaran G, Ding D, Bajulaiye A, Ferrari V, Libonati JR. Moderate- intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte cross- sectional area. *Physiological Reports* 2015; 3(5):e12406.
31. Zaha VG, Young LH. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. *Circulation Research* 2012; 111(6):800-14.
32. Bowling S, Di Gregorio A, Sancho M, Pozzi S, Aarts M, Signore M, et al. P53 and mTOR signalling determine fitness selection through cell competition during early mouse embryonic development. *Nature Communications* 2018; 9(1):1-2.
33. Wei R, Zhang X, Cai Y, Liu H, Wang B, Zhao X, et al. Busulfan Suppresses Autophagy in Mouse Spermatogonial Progenitor Cells via mTOR of AKT and p53 Signaling Pathways. *Stem Cell Reviews and Reports* 2020; 1-4.
34. Feng Z, Zhang H, Levine AJ, Jin S. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2005; 102(23):8204-9.
35. Ghorbanalizadeh M, Bashiri J, Gholami F. Effect of 12-week aerobic training on cardiac p53 and AIF gene expression in male rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Science & Health Service* 2020; 42(3): 310-318.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

The Effect of Ampk and P53 Proteins On Tor Pathway Following Endurance Training In The Left Ventricle Of The Heart Of Diabetic Rats By Streptozotocin And Nicotinamide

Neda Aghaei Bahmanbeglou[1*], Mohammad Sherafati Moghadam[2], Mousa Amirahmadi[3]

1. *Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul , Iran*
2. *Department of Sport Sciences, Apadana Institute of Higher Education, Shiraz, Iran*
3. *Department of Sport Sciences, School of Education and Psychology, University of Shiraz, Shiraz, Iran*

ABSTRACT

Background: AMPK and P53 proteins regulate the TOR protein in the TORC1 complex, which regulates many physiological processes. The aim of this study was to evaluate the effect of AMPK and P53 proteins on the TOR pathway following endurance training in the left ventricle of the heart of diabetic rats 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 training group performed endurance training on a treadmill for rodents for 6 weeks and 4 sessions per week for 42 minutes with an intensity of about 50 to 70% of the maximum speed. SPSS software version 23 and independent t-test were used to analyze the data.

Results: Six weeks of endurance training led to significant increase in the protein content of AMPK (P=0.009) and TOR (P=0.005) between training and control groups in the left ventricular tissue of the heart muscle. In contrast, a significant decrease in P53 protein content was observed between the training and control groups in the left ventricular tissue of the heart muscle (P=0.0001).

Conclusion: The results showed that endurance training can with increase the content of AMPK and TOR proteins and decrease the content of P53 protein to regulate processes such as metabolism, mitochondrial biogenesis, cardiac hypertrophy, inhibition of autophagy in the hearts of diabetic subjects.

Keywords: Endurance Training, Nicotinamide, Protein AMPK, Protein P53, Protein TOR, Streptozotocin

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-03]

* Golestan Province, Aliabad Katoul City, University Blvd, Islamic Azad University-Aliabad Katoul Branch, Postal Code: 4941793451, TEL: 01734222300, Emial: nedaghaei@gmail.com

Copyright © 2021 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited