

تأثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای پروتئین‌های مربوط به اتوفازای در عضله نعلی رت‌های دیابتی نوع ۲

چکیده

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۵ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۳ آتالین: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

حامد علی‌زاده پهلوانی^{۱*}، میترا تجری^۲،
محدثه حضوری^۳

۱- گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، تهران، ایران.

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

۳- گروه علوم ورزشی، مؤسسه‌ی آموزش عالی آپادانا، شیراز، ایران.

زمینه و هدف: برای افراد مبتلا به دیابت، ورزش می‌تواند از طریق پروتئین‌های تنظیم‌کننده کلیدی مانند پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK α 1/2)، پروتئین شبه داینامین (DLP1) و پروتئین مربوط به اتوفازای ۱۳ (ATG13) ابزار قدرتمندی برای مدیریت دیابت و بهبود سلامت کلی باشد.

روش بررسی: این مطالعه از اردیبهشت ۱۴۰۲ تا تیر ۱۴۰۲ به طول انجامید. در این پژوهش تجربی، ۱۲ سر رت نر دو ماهه با میانگین وزنی 280 ± 30 g از نژاد اسپراگ‌داولی مشارکت داشته‌اند. برای القای دیابت نوع ۲، محلول نیکوتین‌آمید با دوز 110 mg/kg و استرپتوزوسین (STZ) با دوز 60 mg/kg تزریق گردید. قندخون بین ۱۲۶ تا 260 mg/dl به‌عنوان شاخص القای دیابت تعیین شد. رت‌های دیابتی به‌طور تصادفی به گروه تمرین (شش سر) و کنترل (شش سر) تقسیم شدند. گروه تمرین تناوبی با شدت متوسط (Moderate-intensity interval training) به‌مدت چهار هفته و هر هفته چهار جلسه تمرین کردند. برنامه تمرین چهار وهله سه دقیقه‌ای با شدت معادل $55\% - 75\%$ سرعت بیشینه و دوره‌های استراحت فعال دو دقیقه‌ای با شدت $45\% - 35\%$ سرعت بیشینه انجام شد. پس از ۲۴ ساعت از آخرین تمرین، رت‌ها بی‌هوش شدند و بافت عضله نعلی جدا شد و از طریق روش‌های وسترن بلات پروتئین‌ها اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد MIIT سبب افزایش غیرمعنادار پروتئین AMPK ($P=0/29$) و ATG13 ($P=0/079$) می‌شود در حالی‌که کاهش معناداری بر DLP1 ($P=0/002$) دارد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد MIIT از طریق کاهش DLP1 می‌تواند در متابولیسم انرژی و فرآیند اتوفازای برای بهینه‌سازی میتوکندری سلول در عضله نعلی رت‌های دیابتی تأثیر مفیدی ایجاد کند.

کلمات کلیدی: اتوفازای، تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT)، عضله نعلی، دیابت نوع ۲.

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه فرهنگیان، گروه آموزش تربیت بدنی.

تلفن: ۰۲۸۸۹۰۷۸-۰۶۱

E-mail: ha.alizadeh@cfu.ac.ir

مقدمه

شده با آدنوزین مونوفسفات (Adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) پروتئین شبه داینامین (Dynamin-like protein) و پروتئین مربوط به اتوفازای ۱۳ (Autophagy-related protein) می‌تواند به ما کمک کند تا از مزایای ورزش برای افراد مبتلا به دیابت استفاده کنیم. در دیابت، تنظیم AMPK اغلب مختل می‌شود و به عدم تعادل متابولیک که مشخصه

در افراد مبتلا به دیابت، تغییرات متابولیکی می‌تواند بر پاسخ بدن به فعالیت بدنی تأثیر بگذارد و از طرفی ورزش می‌تواند ابزار قدرتمندی برای مدیریت این بیماری و بهبود سلامت کلی باشد.^۱ درک نقش پروتئین‌های تنظیم‌کننده کلیدی مانند پروتئین کیناز فعال

بیماری دیابت است کمک می‌کند.^۲ هایپرگلیسمی مزمن و مقاومت به انسولین، می‌تواند توانایی AMPK را برای پاسخ موثر به تغییرات سطوح انرژی سلول کاهش دهد. این اختلال در سیگنال‌دهی AMPK به اختلال در تنظیم متابولیک کمک می‌کند که در دیابت دیده می‌شود.^۳ در حین ورزش، افزایش انرژی مورد نیاز عضلات اسکلتی منجر به افزایش نسبت AMP/ATP می‌شود. این تغییر حالت انرژی توسط AMPK به‌عنوان پروتئین حساس به انرژی شناسایی می‌شود و AMPK فعال‌شده مجموعه‌ای از رویدادها را برای بازگرداندن تعادل انرژی آغاز می‌کند، که شامل تحریک جذب گلوکز، گلیکولیز، و اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شود، در حالی که مسیرهای آنابولیک مصرف‌کننده انرژی را مهار می‌کند.^۴ به‌نظر می‌رسد ورزش به بازیابی عملکرد AMPK در افراد مبتلا به دیابت کمک می‌کند و با درگیر شدن در فعالیت بدنی منظم، بدن بهتر می‌تواند AMPK را فعال کند و تنظیمات متابولیک را برای برآورده کردن نیازهای انرژی افزایش یافته آغاز کند. این امر می‌تواند منجر به بهبود هموستاز گلوکز، افزایش چربی سوزی و کنترل کلی متابولیک بهتر شود.^۵

در افراد مبتلا به دیابت، پروتئین DLP1 یک تنظیم‌کننده کلیدی شکافت میتوکندری است، فرآیندی که توسط آن میتوکندری‌ها تقسیم و قطعه قطعه می‌شوند. در دیابت، عملکرد و پویایی میتوکندری مختل می‌شود و هایپرگلیسمی مزمن و استرس اکسیداتیو می‌تواند منجر به تجمع میتوکندری‌های آسیب دیده شود، که می‌تواند بیشتر به عدم تعادل متابولیک کمک کند.^۶ در حین ورزش، شکافت میتوکندری با واسطه DLP1 به میتوکندری اجازه می‌دهد تا در نواحی با نیاز انرژی بالا در سلول عضلانی توزیع شوند.^۷ توزیع و کنترل کیفیت میتوکندری که توسط DLP1 تسهیل می‌شود، می‌تواند ظرفیت سلول را برای تولید انرژی بهبود بخشد و در نهایت از افزایش تقاضای فعالیت بدنی حمایت کند. این امر می‌تواند تأثیر عمیقی بر تنظیم متابولیک و سلامت کلی در افراد مبتلا به دیابت داشته باشد.^۸

برای افراد مبتلا به دیابت، درک نقش AMPK، DLP1 و ATG13 در پاسخ به ورزش بسیار مهم است. با درگیر شدن در فعالیت بدنی منظم، به نظر می‌رسد افراد می‌توانند از این پروتئین‌های تنظیم‌کننده کلیدی برای بهبود کنترل متابولیک، بهبود عملکرد میتوکندری و بازیافت اجزای سلول آسیب دیده استفاده کنند. علاوه بر این، تعامل بین این سه پروتئین با ماهیت پیچیده و به هم پیوسته، سازگاری بدن با ورزش را برجسته می‌کند. هدف قرار دادن این مسیرها با برنامه‌های تمرین ورزشی، ممکن است راه‌های امیدوارکننده‌ای را برای بهبود مدیریت دیابت و بیماری‌های مرتبط با آن ارائه دهد. از این رو هدف این مطالعه تاثیر تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) بر محتوای پروتئین‌های AMPK α 1/2، DLP1 و ATG13 در عضله نعلی رت‌های دیابتی نوع ۲ است.

روش بررسی

نمونه و نوع پژوهش: این پژوهش به‌صورت تجربی انجام شده است و شامل ۱۲ سر رت نر از نژاد اسپراگ‌داولی بوده است (دو ماهه با میانگین وزن 30 ± 2.8 g). رت‌ها در یک چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ ساعت و دمای آزمایشگاهی 22 ± 2 °C و رطوبت ۵۰-۶۰٪

سومین بازیگر کلیدی در پاسخ به ورزش، ATG13، یک تنظیم‌کننده اتوفاژی است. اتوفاژی فرآیندی که در آن سلول‌ها تخریب شده و اجزای آسیب دیده یا غیرضروری بازیافت می‌شوند. در دیابت، اختلال اتوفاژی می‌تواند به تجمع ساختارهای سلولی ناکارآمد کمک کند و اختلال عملکرد متابولیک را بیشتر تشدید کند. با این حال، به‌نظر می‌رسد ورزش می‌تواند به فعال کردن مسیر

سومین بازیگر کلیدی در پاسخ به ورزش، ATG13، یک تنظیم‌کننده اتوفاژی است. اتوفاژی فرآیندی که در آن سلول‌ها تخریب شده و اجزای آسیب دیده یا غیرضروری بازیافت می‌شوند. در دیابت، اختلال اتوفاژی می‌تواند به تجمع ساختارهای سلولی ناکارآمد کمک کند و اختلال عملکرد متابولیک را بیشتر تشدید کند. با این حال، به‌نظر می‌رسد ورزش می‌تواند به فعال کردن مسیر

سومین بازیگر کلیدی در پاسخ به ورزش، ATG13، یک تنظیم‌کننده اتوفاژی است. اتوفاژی فرآیندی که در آن سلول‌ها تخریب شده و اجزای آسیب دیده یا غیرضروری بازیافت می‌شوند. در دیابت، اختلال اتوفاژی می‌تواند به تجمع ساختارهای سلولی ناکارآمد کمک کند و اختلال عملکرد متابولیک را بیشتر تشدید کند. با این حال، به‌نظر می‌رسد ورزش می‌تواند به فعال کردن مسیر

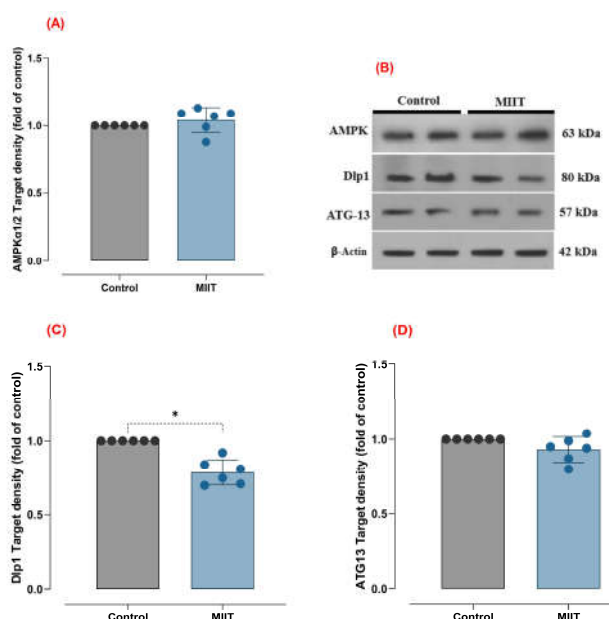
روش بافت‌برداری: پس از ۲۴ ساعت از آخرین تمرین MIIT، با پای‌بندی به اصول اخلاقی، موش‌های صحرایی تحت تزریق ۳۰-۵۰ mg/kg کتامین و ۳-۵ mg/kg زایلازین قرار گرفتند و بی‌هوش شدند. سپس بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی جدا شد و در سرم فیزیولوژیک برای حذف آلودگی‌های خونی و بافتی تمیز شد و درون میکروتیوب‌های آزمایشگاهی قرار داده شد. در ادامه بافت‌ها توسط مایع ازت منجمد شدند و برای سنجش‌های بعدی در دمای 80°C نگهداری شدند.

شناسایی و سنجش بیان پروتئین‌ها: متغیرهای پژوهش حاضر از طریق روش‌های وسترن بلات اندازه‌گیری شدند. پروتئین‌های عضله نعلی از طریق بافر RIPA (حاوی ۰/۰۵ میلی‌مول بافر تریس (pH=۸)، ۱۵۰ میلی‌مول کلرید سدیم، ۰/۰۱٪ EGTA، ۱٪ سدیم دودسیل سولفات (SDS) به اضافه ۰/۱٪ آنتی‌پروتئاز کوکتیل (Sigma) استخراج شدند. یک هموزنایزر دستی، حدود ۱۰۰ mg بافت را با ۵۰۰ میکرولیتر بافر (حاوی آنتی‌پروتئاز) هموزن کرد و این محلول تقریباً ۳۰ دقیقه در دمای 4°C نگهداری شد. در ادامه این محلول در یک سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و 4°C و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی محلول جمع‌آوری شد و غلظت پروتئین از طریق کیت سنجش پروتئین (Bio-Rad Laboratories, USA) اندازه‌گیری شد (با طول موج ۵۹۵ نانومتر). سپس هموزن حاصل در دمای 20°C زیر صفر نگهداری شد و به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر (۵۰ mM Tris کلرید هیدروژن، ۲٪ سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰٪ گلیسرول، ۵٪ بتامراکپتواتانول و ۰/۰۰۵٪ برموفنول آبی) مخلوط گردید. سپس، نمونه‌ها پنج دقیقه جوشانده شدند تا تمام پروتئین‌ها دناتوره شوند. پروتئین‌ها از طریق الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شدند و سپس به‌طرف غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به مدت زمان یک ساعت در ۵٪ BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱٪ Tween 20 (TBS-T) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شدند. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه در روز بعد به مدت یک ساعت در دمای اتاق در ۴٪ TBST انجام شد. پروتئین‌ها با واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و آنالیز تراکم‌سنجی با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شدند. آنتی‌بادی اولیه sc-74461 (AMPK α 1/2 (D-6)) (Santa Cruz Biotechnology (SCBT), USA) آنتی‌بادی (C-Dlp

نگهداری شدند. غذا و آب حیوانات در قالب پلت و بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری به‌طور آزادانه و استاندارد در اختیار رت‌ها قرار داده شد. کد اخلاق مقاله حاضر IR.US.PSYEDU.REC.1403.042 می‌باشد.

روش ایجاد دیابت: برای ایجاد دیابت نوع ۲ دو مرحله تزریق به رت‌ها انجام شد. مرحله اول، محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. مرحله دوم، ۱۵ دقیقه پس از اولین تزریق، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) همراه با بافر سیترات ۰/۱ مولار با $\text{pH}=4/5$ با دوز ۶۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای مطمئن شدن از دیابتی شدن رت‌ها، سه روز پس از تزریق، قندخون آنها با دستگاه اندازه‌گیری قندخون (Accu-Chek (Active, Germany)، از نمونه خون سیاهرگ دم سنجیده شد. قندخون بین ۱۲۶ تا ۲۶۰ mg/dl به‌عنوان نشانه دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد.^{۱۴} پس از اعمال دیابت، رت‌ها به‌صورت تصادفی به گروه تمرین (شش سر) و کنترل (شش سر) تقسیم شدند.

برنامه تمرینی MIIT: پیش از شروع برنامه ورزشی MIIT، تعیین سرعت پیشینه توسط گروه راهنما برای تنظیم و کنترل سرعت رت‌ها انجام شد (تقریباً یک هفته جلوتر از گروه تمرین اصلی). رت‌های گروه راهنما با سرعت پنج متر در دقیقه شروع به دویدن کردند و هر سه دقیقه سرعت نوارگردان پنج متر در دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی برسند. معیار خستگی رت‌ها برخورد به انتهای تردمیل بود. سرعت مشخصی که در آن رت‌ها به خستگی رسیدند، به‌عنوان سرعت پیشینه در نظر گرفته شد. گروه MIIT به‌مدت چهار هفته و هر هفته چهار جلسه تمرین کردند. رت‌ها گروه تمرین در شروع هر جلسه با سرعتی حدود پنج تا ۱۰ متر در دقیقه به‌مدت پنج دقیقه گرم کردند. در ادامه برنامه MIIT شامل چهار وهله سه دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۵ تا ۷۵٪ سرعت پیشینه و دوره‌های استراحت فعال دو دقیقه‌ای با شدت معادل ۳۵ تا ۴۵٪ سرعت پیشینه انجام شد. محاسبه اضافه بار تمرین MIIT براساس سرعت دویدن رت‌ها در هر هفته بود که ۵۵ تا ۷۵٪ سرعت پیشینه برای هر هفته اعمال گردید. به عبارت دیگر، برای هفته اول سرعت حدود ۲۰ تا ۲۳ متر در دقیقه، هفته دوم سرعت ۲۳ تا ۲۶ متر در دقیقه، هفته سوم سرعت ۲۶ تا ۲۹ متر در دقیقه و هفته چهارم سرعت ۲۹ تا ۳۲ متر در دقیقه بود. در انتهای هر جلسه MIIT نیز رت‌ها با سرعتی حدود ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه به مدت پنج دقیقه سرد کردند و شیب نوارگردان صفر درجه تعیین شد.^{۱۴}



شکل ۱: مقایسه‌ی محتوای پروتئین‌ها در گروه‌های MIIT و کنترل در بافت عضله‌ی نعلی.

(A). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین AMPK در مقابل لودینگ کنترل. (B). تصاویر وسترن‌بلات محتوای پروتئین‌ها و β -Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله‌ی نعلی. (C). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین Dlp1 در مقابل لودینگ کنترل. (D). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین ATG13 در مقابل لودینگ کنترل. (* وجود افزایش معنادار بین گروه MIIT نسبت به گروه کنترل در سطح $P=0/05$).

آزمون کوهن برای محاسبه‌ی اندازه اثر محتوای پروتئین ATG13، $1/12$ بود.

بحث

مطالعه حاضر اثر MIIT را بر بیان پروتئین‌های کلیدی درگیر در متابولیسم انرژی و اتوفاژی در عضله نعلی رت‌های دیابتی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که MIIT افزایش غیرمعناداری بر سطوح پروتئین AMPK و ATG13 دارد در حالی که کاهش معناداری بر سطوح Dlp1 ایجاد می‌کند. افزایش غیرمعنادار محتوای پروتئین

آنتی‌بادی (Santa Cruz Biotechnology (SCBT), USA) sc-271583:5 و ATG13:18258-1-AP (Proteintech, USA) و آنتی‌بادی‌های anti-rabbit IgG-HRP: sc- و m-IgGk BP-HRP: sc-516102 ثانویه (Santa Cruz Biotechnology (SCBT), USA) 2357 استفاده شدند. نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری Shapiro-wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، متغیرهای تحقیق حاضر از طریق آزمون‌های آماری Independent samples t-test تجزیه و تحلیل شدند. بررسی داده‌ها، با استفاده از SPSS software, version 29 (IBM Graphpad Prism, version 10.2.3 و SPSS, Armonk, NY, USA) انجام گرفت. اندازه اثر از طریق آزمون Choen'd بررسی شد. سطح معناداری $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

براساس آزمون آماری Independent samples t-test، تفاوت غیرمعناداری بین گروه‌های پژوهش در محتوای پروتئین AMPK مشاهده شد ($P=0/29$) (شکل ۱، A و B). این موضوع نشان می‌دهد MIIT، میزان پروتئین AMPK در عضله نعلی رت‌ها را افزایش می‌دهد اما این افزایش در بین گروه MIIT و کنترل غیرمعناداری است (شکل ۱، A و B). آزمون کوهن (Cohen's test) برای محاسبه‌ی اندازه اثر محتوای پروتئین AMPK، $0/64$ بود. به عبارت دیگر، اثر MIIT بر AMPK از اثر متوسطی برخوردار است.

براساس نتایج به‌دست آمده تفاوت معناداری در پروتئین Dlp1 در بین گروه‌های پژوهش مشاهده شده است ($P=0/002$) (شکل ۱، C و B). این نشان می‌دهد MIIT بر میزان پروتئین Dlp1 در عضله نعلی رت‌های دیابتی تاثیر معناداری دارد و این تاثیر به‌صورت کاهش در محتوای گروه MIIT نسبت به کنترل است (شکل ۱، C و B). آزمون کوهن برای محاسبه‌ی اندازه اثر محتوای پروتئین Dlp1، $3/53$ بود. به عبارت دیگر، اثر MIIT بر Dlp1 از اثر قوی برخوردار است. براساس نتایج به‌دست آمده تفاوت معناداری در محتوای پروتئین ATG13 بین گروه‌های پژوهش وجود ندارد ($P=0/079$) (شکل ۱، D و B). این امر نشان می‌دهد MIIT بر میزان پروتئین ATG13 در عضله نعلی رت‌های دیابتی تاثیر معناداری ندارد (شکل ۱، D و B).

و عملکرد میتوکندری شود. DLp1 به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی پویایی میتوکندری، با حرکت از سیتوزول بر روی غشای خارجی میتوکندری نقش مهمی در فرآیندهای شکافت و همجوشی ایفا می‌کند و عملکرد و یکپارچگی میتوکندری را حفظ می‌کند. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که شکافت میتوکندری به واسطه DLp1 در میوکارد موش‌های دیابتی به طور بیش جبرانی افزایش می‌یابد و به اختلال عملکرد میتوکندری منجر می‌شود.^{۱۸} عدم تعادل هموستاز میتوکندری به واسطه DLp1 به اختلال در عملکرد سلول منجر می‌شود.^{۱۸} به عبارت دیگر، موش‌های دیابتی سطوح بالایی از پروتئین‌های تنظیم‌کننده شکافت میتوکندری مانند DLp1، Fis1 و MFF را نشان می‌دهند که با افزایش شکافت میتوکندری، فراوانی میتوکندری‌های آسیب‌دیده و افزایش مسیرهای التهابی همراه است.^۶ در مقابل، نشان داده شده است فعالیت بدنی منظم حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده یا ناکارآمد، تحریک بیوزنز میتوکندری و تشکیل میتوکندری‌های جدید را تسهیل می‌کند. این فرآیند منجر به افزایش تعداد میتوکندری‌های عملکردی در سلول‌های عضله اسکلتی می‌شود و در نتیجه تولید انرژی و سلامت متابولیک را افزایش می‌دهد. به همین ترتیب، نتایج ما نشان می‌دهد که تمرین ورزشی ممکن است متابولیسم گلوکز را با کاهش شکافت بیش از حد میتوکندری در عضلات اسکلتی در رت‌های دیابتی افزایش دهد.^۶

شایان ذکر است فعالسازی AMPK به نوبه خود منجر به فسفوریلاسیون DLp1 می‌شود که تمایل آن را به گیرنده‌های میتوکندری کاهش می‌دهد و از شکافت بیش از حد میتوکندری جلوگیری می‌کند. در حالی‌که در قلب موش‌های دیابتی افزایش قابل‌توجه نشانگرهای شکافت میتوکندری، همراه با کاهش بیان پروتئین AMPK فسفوریله مشاهده شده است.^{۱۷} در میوکارد موش‌های دیابتی، تمرین ورزشی سبب افزایش سطح AMPK فسفوریله و کاهش شکافت میتوکندری با واسطه DLp1 می‌شود که با نتایج حاضر همسو است. این نتایج از این ایده حمایت می‌کند که ورزش می‌تواند با جلوگیری از شکافتن بیش از حد میتوکندری، با افزایش فعالسازی AMPK و کاهش DLp1، عضله اسکلتی موش‌های مبتلا به دیابت را بهبود بخشد.^{۱۷}

از آنجا که عضله اسکلتی نقش حیاتی در انتقال گلوکز دارد و محل اصلی مقاومت به انسولین در پاتولوژی دیابت است. وزن عضله

AMPK در گروه MIIT در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ممکن است به دلیل ماهیت MIIT باشد. درحالی‌که سطح بیش جبرانی بیان نابجا AMPK در دیابت مرسوم است، زیرا AMPK یک حسگر انرژی با بیان نابجا در بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و دیابت است.^{۱۵} به‌نظر می‌رسد AMPK در پاسخ گلوکز پایین، هایپوکسی، ایسکمی و شوک حرارتی در سلول‌های دیابتی به‌طور بیش جبرانی فعال می‌شود. از طرف دیگر، AMPK به سطوح پایین ATP پاسخ می‌دهد و به‌طور مثبت منابع ATP سلولی را دوباره پر می‌کند و تولید ATP را ارتقا می‌بخشد و مسیرهای مصرف‌کننده ATP را در بافت‌های مختلف مهار می‌کند. در نتیجه AMPK باعث کاهش یا مهار گلوکونئوز، گلیکوژن، سنتز لیپید و پروتئین می‌شود. علاوه‌براین، AMPK به دلیل نقش تنظیم‌کننده مرکزی متابولیسم لیپید و گلوکز، به‌عنوان یک هدف درمانی کلیدی برای درمان چاقی، دیابت نوع دوم و سرطان در نظر گرفته می‌شود. زیرا فعالسازی AMPK همچنین رونویسی و جابجایی GLUT4 را افزایش می‌دهد و در نتیجه جذب گلوکز تحریک شده توسط انسولین را افزایش می‌دهد.^{۱۶} نتایج مطالعه حاضر با نتایج دیگر در سال ۲۰۲۴ متفاوت است چرا که ممکن است به دلیل مدت زمان دو برابری تمرین ورزشی (هشت هفته و پنج روز در هفته) باشد، زیرا پروتکل تمرین ورزشی در مطالعه حاضر چهار هفته و چهار روز در هفته بوده است.^۶ از این رو سازگاری تمرین ممکن است نیاز به مدت زمان بیشتری داشته باشد و به همین دلیل در مطالعه حاضر سطح AMPK به حد معناداری نرسیده است. در تایید این موضوع سایر مطالعات در سال ۲۰۲۴ نشان داده‌اند در موش‌های دیابتی، بیان AMPK فسفوریله کاهش می‌یابد، درحالی‌که مداخله تمرین ورزشی به‌مدت هشت هفته بیان AMPK فسفوریله را افزایش می‌دهد که با نتایج مطالعه حاضر ناهمسو است.^{۱۷} این نتایج متناقض احتمالاً به دلیل مدت زمان تمرین است زیرا مطالعات دیگر پروتکل تمرین ورزشی هشت هفته را اجرا کرده‌اند در حالی‌که مطالعه حاضر پروتکل چهار هفته را اجرا کرده است و منجر به سازگاری لازم نشده است.

کاهش معنادار محتوای پروتئین DLp1 در گروه MIIT در مقایسه با گروه کنترل دیابتی نیز یک یافته جالب توجه است. کاهش معنادار سطح DLp1 نشان می‌دهد که MIIT ممکن است تأثیری بر پویایی میتوکندری داشته باشد و به طور بالقوه منجر به تغییرات مورفولوژی

افزایش می‌دهند. درحالی‌که در طول پیری، کارایی تخریب اتوفازیک کاهش می‌یابد و مواد زائد درون سلولی انباشته می‌شوند؛ و نشانگرهای تشکیل اتوفازگوزوم مثل Beclin-1 و ATG7 در عضلات نعلی و دوقلو در مقایسه با موش‌های جوان کمتر می‌شود. این داده‌ها نشان می‌دهند که رویدادهای تنظیمی اتوفازای در عضله اسکلتی افراد پیر ضعیف می‌شود، اما زمانی که حیوانات تحت تمرین ورزشی قرار می‌گیرند، اتوفازای افزایش می‌یابد.^{۲۰} همان‌طور که شدت ورزش مهم است مدت ورزش کردن همراه با سازگاری مهم به‌نظر می‌رسد. در این راستا گزارش شده است موش‌ها در یک جلسه به‌مدت ۵۰ دقیقه روی تردمیل با سرعت ۱۲٫۳ متر در دقیقه با شیب پنج درجه ورزش کردند. سپس نشانگر اتوفازای LC3-II را در طول دوره ریکاوری (۳، ۶ و ۱۲ ساعت) به‌طور قابل‌توجهی کاهش دادند. همچنین کاهش Beclin-1، Atg7 و LAMP2a در طول دوره ریکاوری همراه با کاهش سطح LC3-II بوده است. این مطالعه نشان می‌دهد که یک جلسه تمرین روی تردمیل باعث کاهش پاسخ اتوفازیک در عضله اسکلتی موش می‌شود.^{۲۱} مطالعه دیگر نشان داد شدت متوسط و زیاد تمرین باعث ایجاد فعالیت اتوفازای در کبد می‌شود که ممکن است نقش احتمالی بین اتوفازای و هیستوپاتولوژی کبد را به‌عنوان بخشی از فرآیند سازگاری با تمرین نشان دهد.^{۲۲} این مطالعه در نوع بافت مورد سنجش با مطالعه حاضر تفاوت دارد که ممکن تفاوت مطالعه فوق را توجیه کند زیرا مطالعه حاضر عضله نعلی را بررسی کرده است.

در نتیجه، مطالعه حاضر بینش‌های جدیدی را در مورد اثرات MIIT بر بیان پروتئین‌های کلیدی درگیر در متابولیسم انرژی و اتوفازای در عضله نعلی رت‌های دیابتی ارائه می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر پتانسیل MIIT را برای کاهش معنادار سطوح DLP1 برجسته می‌کند و پیامدهای بالقوه‌ای را برای هموستاز انرژی و پویایی میتوکندری نشان می‌دهد. با این حال، عدم تأثیر قابل توجه AMPK و ATG13 نشان می‌دهد تأثیر MIIT به مدت چهار هفته بر تنظیم اتوفازای ممکن است نیاز به سازگاری بیشتر داشته باشد. از این‌رو، تحقیقات بیشتر برای روشن شدن مکانیسم‌های اساسی، بررسی پیامدهای فیزیولوژیکی و عملکردی بالقوه MIIT برای سلامتی و بیماری انسان ضروری است.

در دیابت به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد و اختلال عملکرد عضلات اسکلتی و التهاب مزمن ویژگی بیماری دیابت است. گزارش شده است فیبرهای عضلانی در موش‌های دیابتی به‌طور در هم ریخته و تکه‌تکه هستند و همراه با شکاف‌های قابل‌توجه و سلول‌های التهابی هستند. در حالی که تمرین ورزشی به‌طور قابل‌توجهی کاهش وزن مرتبط با دیابت را در عضلات معکوس می‌کند و فیبرهای عضلانی طبیعی و عادی را به‌طور منظم در یک راستا قرار می‌دهد. در مجموع، این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین ورزشی روی تردمیل می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی یکپارچگی عضلات اسکلتی را بازگرداند و التهاب را در شرایط دیابتی کاهش دهد. این یافته با یافته‌های جدید ۲۰۲۴ همسو است زیرا این مطالعات نشان دادند تمرینات ورزشی شکافت میتوکندری بیش از حد عضله نعلی را در موش‌های دیابتی سرکوب می‌کند و به‌طور موثر مقاومت به انسولین و اختلال متابولیک را بهبود می‌بخشد و التهاب در عضلات اسکلتی را کاهش می‌دهد. این مزایا تا حدی با کاهش شکافت میتوکندری از طریق کاهش DLP1 و افزایش AMPK تنظیم می‌شوند. لذا به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی شکافت بیش از حد میتوکندری را در عضلات اسکلتی کاهش می‌دهد.^{۱۸}

تأثیر غیرمعنادار MIIT بر بیان ATG13 یافته دیگر مطالعه حاضر است که به‌نظر می‌رسد ناشی از شدت متوسط تمرین حاضر و مدت زمان کم تمرین باشد.^۹ عدم وجود تغییر قابل‌توجه در سطوح ATG13 نشان می‌دهد که MIIT ممکن است از مدت و شدت کافی برای تأثیر مستقیم در مراحل اولیه القای اتوفازای در عضله نعلی رت‌های دیابتی برخوردار نبوده باشد. زیرا ATG13 یک جزء کلیدی از مجموعه شروع اتوفازای است که مسئول فعال شدن مسیر اتوفازای است. این یافته در تضاد با برخی از مطالعاتی است که تغییرات ناشی از ورزش را در پروتئین‌های مرتبط با اتوفازای گزارش کرده‌اند. در تایید این موضوع شواهدی وجود دارد که تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) باعث تحریک اتوفازای به روشی متمایز در مقایسه با تمرین تناوبی با شدت متوسط (MIIT) می‌شود.^{۱۹} همچنین گزارش شده است موش‌های پیر با دویدن روی تردمیل با شیب پنج درجه، با سرعت ۱۶٫۴ متر در دقیقه، به‌مدت ۴۰ دقیقه در روز و در پنج روز در هفته و به مدت هشت هفته نشانگرهای اتوفازای مثل ATG7 و Beclin-1 را

References

1. Sherafati-Moghadam M, Pahlavani HA, Daryanoosh F, Salehi M. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on protein expression in Flexor Hallucis Longus (FHL) and soleus (SOL) in rats with type 2 diabetes. *JD&MD* 2022;21(2):1499-508.
2. Alizadeh Pahlavani H. Possible roles of exercise and apelin against pregnancy complications. *Frontiers in Endocrinology* 2022;13:965167.
3. Pahlavani HA, Laher I, Weiss K, Knechtle B, Zouhal H. Physical exercise for a healthy pregnancy: the role of placental cytokines and exerkines. *The Journal of Physiological Sciences* 2023;73(1):30.
4. Alizadeh Pahlavani H, Laher I, Knechtle B, Zouhal H. Exercise and mitochondrial mechanisms in patients with sarcopenia. *Frontiers in Physiology* 2022;13:1040381.
5. Son JS, Zhao L, Chen Y, Chen K, Chae SA, de Avila JM, et al. Maternal exercise via exerkine apelin enhances brown adipogenesis and prevents metabolic dysfunction in offspring mice. *Science advances* 2020;6(16):eaaz0359.
6. Lin J, Zhang X, Sun Y, Xu H, Li N, Wang Y, et al. Exercise ameliorates muscular excessive mitochondrial fission, insulin resistance and inflammation in diabetic rats via irisin/AMPK activation. *Scientific Reports* 2024;14(1):10658.
7. Zhu Y, Zhou X, Zhu A, Xiong S, Xie J, Bai Z. Advances in exercise to alleviate sarcopenia in older adults by improving mitochondrial dysfunction. *Frontiers in Physiology* 2023;14:1196426.
8. Moore TM, Zhou Z, Cohn W, Norheim F, Lin AJ, Kalajian N, et al. The impact of exercise on mitochondrial dynamics and the role of Drp1 in exercise performance and training adaptations in skeletal muscle. *Molecular metabolism* 2019;21:51-67.
9. Roberts FL, Markby GR. New insights into molecular mechanisms mediating adaptation to exercise; A review focusing on mitochondrial biogenesis, mitochondrial function, mitophagy and autophagy. *Cells* 2021;10(10):2639.
10. Rocchi A, He C. Regulation of exercise-induced autophagy in skeletal muscle. *Current pathobiology reports* 2017;5:177-86.
11. Parseh S, Shakerian S, Tabandeh MR, Habibi A. An 8-Week study on the effects of high and Moderate-Intensity interval exercises on mitochondrial MOTS-C changes and their relation to metabolic markers in male diabetic sand rats. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2024;212:111656.
12. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. The effect of a period of high-intensity interval training on the content of AMPK and PGC-1 α proteins in the heart muscle tissue of rats with type 2 diabetes. *Daneshvar Medicine* 2021;29(1):23-34.
13. Peyravi A, Yazdanpanahi N, Nayeri H, Hosseini SA. The effect of endurance training with crocin consumption on the levels of MFN2 and DRP1 gene expression and glucose and insulin indices in the muscle tissue of diabetic rats. *Journal of food biochemistry* 2020;44(2):e13125.
14. Mirzaei S, Ghodrattama A, Moayedi R. The effect of moderate intensity interval training (MIIT) on the total and phosphorylated content of AMPK α 1/2 protein in the soleus skeletal muscle of diabetic rats. *IJDM*.0-.
15. Entezari M, Hashemi D, Taheriazam A, Zabolian A, Mohammadi S, Fakhri F, et al. AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: A pre-clinical and clinical investigation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2022;146:112563.
16. Mihaylova MM, Shaw RJ. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nature cell biology* 2011;13(9):1016-23.
17. Wang B, Zhao C, Wang Y, Tian X, Lin J, Zhu B, et al. Exercise ameliorating myocardial injury in type 2 diabetic rats by inhibiting excessive mitochondrial fission involving increased irisin expression and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *Journal of Diabetes* 2024;16(1):e13475.
18. Maghami M, Keshavarz S, Haghshenas R, Eftekhari E. Effect of aerobic exercise on gene expression of Drp1 and Cyp11 α and protein expression of CYP11A1 in the soleus muscle of male diabetic rats. *Journal of Sport Biosciences* 2021;13(3):301-12.
19. Escobar KA. Autophagy is stimulated by acute high intensity interval exercise in human skeletal muscle and electrical pulse stimulation in C2C12 myotubes in vitro. 2018.
20. Kim YA, Kim YS, Oh SL, Kim H-J, Song W. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *Journal of physiology and biochemistry* 2013;69:697-705.
21. Kim YA, Kim YS, Song W. Autophagic response to a single bout of moderate exercise in murine skeletal muscle. *Journal of physiology and biochemistry* 2012;68:229-35.
22. Gunadi JW, Tarawan VM, Ray HRD, Wahyudianingsih R, Lucretia T, Tanuwijaya F, et al. Different training intensities induced autophagy and histopathology appearances potentially associated with lipid metabolism in wistar rat liver. *Heliyon* 2020;6(5).

The effect of moderate-intensity interval training (MIIT) on autophagy-related proteins in the soleus muscle of type 2 diabetic rats

Hamed Alizadeh Pahlavani
Ph.D.^{1*}
Mitra Tajari Ph.D. Student²
Mohadese Hozouri M.D.³

1- Department of Physical
Education, Farhangian University,
Tehran, Iran.

2- Department of Physical
Education and Sport Sciences,
Aliabad Katoul Branch, Islamic
Azad University, Aliabad Katoul,
Iran.

3- Department of Sport Sciences,
Apadana Institute of Higher
Education, Shiraz, Iran.

*Corresponding author: Department of
Physical Education, Farhangian
University, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-52889078
E-mail: ha.alizadeh@cfu.ac.ir

Abstract

Received: 25 Jan. 2024 Revised: 30 Jan. 2024 Accepted: 11 Apr. 2024 Available online: 20 Apr. 2024

Background: In people with diabetes, metabolic changes can affect the body's response to physical activity. On the other hand, for people with diabetes, exercise can be a powerful tool to manage diabetes and improve overall health through key regulatory proteins such as adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK α 1/2), dynamin-like protein (DLP1), and autophagy-related protein 13 (ATG13). In diabetes, AMPK regulation is often disrupted, contributing to the metabolic imbalances that characterize diabetes. In diabetes, disruption of DLP1 protein as a key regulator of mitochondrial fission leads to the accumulation of damaged mitochondria and metabolic imbalance. ATG13, as an autophagy regulator causes the recycling of damaged cells and damaged components.

Methods: This study was conducted in May to July 2023. In this experimental research, 12 two-month-old male Sprague-Dawley rats with an average weight of 280 \pm 30 grams participated. To induce type two diabetes, nicotinamide solution with a dose of 110 mg/kg and streptozotocin (STZ) with a dose of 60 mg/kg were injected, and blood glucose between 126 and 260 mg/dl was determined as the index of diabetes induction. Then the diabetic rats were randomly divided into training (six heads) and control groups (six heads). The moderate-intensity interval training (MIIT) group trained for 4 weeks and four sessions every week. The MIIT program consisted of 4 rounds of 3 minutes with an intensity equal to 55-75% of the maximum speed and active rest periods of two minutes with an intensity of 35-45% of the maximum speed. After 24 hours from the last training, the rats were anesthetized and the soleus muscle tissue was isolated and the proteins were measured by western blot methods.

Results: The results showed that MIIT causes a non-significant increase in AMPK protein (P=0.29) and ATG13 (P=0.079), while it has a significant decrease in DLP1 (P=0.002).

Conclusion: It seems that MIIT, through decreasing DLP1, can have a beneficial effect on energy metabolism and autophagy process in order to optimize cells mitochondria in the soleus muscle of diabetic rats.

Keywords: autophagy, moderate-intensity interval training (MIIT), soleus muscle, type 2 diabetes.

Copyright © 2024 Alizadeh Pahlavani et al. Published by Tehran University of Medical Sciences.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 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.