مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۷، اسفند ۱۳۹۷، ۱۱۳۰-۱۱۱۹

اثر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن AKT1 و mTORc1 بطن چپ در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲: یک مطالعه تجربی

منا میرسپاسی[۱]، عبدالعلی بنایی‌فر[۲]، محمدعلی آذربایجانی[۳]، سجاد ارشدی[۴]

دریافت مقاله: ۹۷/۳/۲۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۷/۴/۲۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۷/۹/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۷/۱۰/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: از آن‌جایی که تمرین تناوبی شدید (High intensity interval training; HIIT) در هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی و در کاهش عوارض ناشی از کاردیو میوپاتی دیابتی مؤثر است، لذا هدف این پژوهش، تعیین تأثیر ۱۲ هفته تمرین HIIT، بر بیان ژن‌های AKT1 (Protein Kinase B) و mTORc1 (Mammalian target of rapamycin) در بطن چپ موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها: دراین مطالعه تجربی، ۲۱ سر موش نر صحرایی ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم، به‌صورت تصادفی در سه گروه دیابتی- تناوبی شدید، کنترل دیابتی و کنترل سالم قرار گرفتند.گروه دیابتی- تناوبی شدید، به مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب دویدن روی تردمیل با تکرارهای یک دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای بین هر تکرار شرکت داده شدند و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی تشریح شدند. جهت تفسیر بیان نسبی ژن‌های Akt1 و mTORc1، از آزمون t مستقل در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها: مقایسه گروه‌ها کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های Akt1 (P=۰/۰۰۷) و mTORc1 (P=۰/۰۲۲) درگروه کنترل دیابتی، نسبت به گروه سالم را نشان داد. هم‌چنین تمرین منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های Akt1 (P =۰/۰۰۳) به میزان ۷۲ درصد و mTORc1 نسبت به گروه کنترل دیابتی گردید (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که یک دوره HIIT، با افزایش بیان ژن‌های Akt1 و mTORc1 منجر به بهبود عملکرد قلبی می‌شود و احتمالاً می‌تواند از علائم بالینی ناشی از دیابت پیش‌گیری کند.

واژه‌های کلیدی: دیابت، تمرین تناوبی شدید، بیماری قلبی، موش صحرایی، Akt1، mTORc1

۱- دانشجوی دکتری دانشکده علوم انسانی، گروه آموزشی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران
۲- (نویسنده مسئول) دانشیار دانشکده علوم انسانی، گروه آموزشی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب ، تهران، ایران
تلفن: ۵۵۵۴۵۰۵۴-۰۲۱، دورنگار: ۵۵۵۴۵۰۵۴-۰۲۱، پست الکترونیکی: alibaneifar@yahoo.com
۳- استاد دانشکده علوم انسانی، گروه آموزشی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکز، تهران، ایران
۴- استادیار دانشکده علوم انسانی، گروه آموزشی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، تهران، ایران

مقدمه

دیابت نوع ۲ از شایع‌ترین اختلالات متابولیک است [۱] که در حال اپیدمی شدن می‌باشد [۲]. بیماری قلبی و عروقی یکی از علت‌های اصلی مرگ و میر در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس محسوب می‌شود. خطر بروز کاردیومیوپاتی در افراد دیابتی، چهار برابر افراد غیر دیابتی گزارش شده است [۳]. اختلال میوکارد دقیقاً با کنترل دیابت رابطه عکس دارد [۴]. در کنار استعداد ژنتیکی، فاکتورهای محیطی و رفتاری مانند شیوه زندگی کم تحرک و مصرف بیش از حد مواد غذایی توأم با چاقی نیز در ایجاد دیابت نوع دو دخیل هستند [۵]. مشخص شده است که هنگام فعالیت ورزشی، تغییرات ساختاری و عملکردی بطن چپ نسبت به سایر بخش‌های قلب بیشتر است [۶-۷]. این سازگاری‌ها درعضله قلبی (بسته به نوع تمرین)، در قلب و حفره‌های آن متفاوت می‌باشد [۸].

مسیر AKT/mTOR (Protein Kinase B/mammalian target of rapamycin) از تنظیم کننده‌های درون سلولی اصلی و ضروری در فرآیند هیپرتروفی فیزیولوژیک در قلب هستند. بیان زیاد گیرنده IGF-1(Insulin-Like Growth Factor1) باعث فعالیت AKT می‌شود که در نتیجه به هیپرتروفی فیزیولوژیک به‌وسیله افزایش جریان کلسیم از طریق کانال کلسیم L-type و SERCA (sarco/endoplasmic reticulum ca^{2+}ATPase) منتهی می‌شود. در واقع، تمرین ازطریق مسیر سیگنالینگ محوریGH/IGF ازطریق فسفاتیدیل- اینوزیتول-۳ فسفات (Phosphatidylinositol 3-kinase; PI3K) منجر به فعال شدن AKT شده، که خود بر روی mTORC1 اثر گذاشته و در نهایت رشد قلبی را ایجاد می کند [۹-۷]. پروتئین AKT فعال، باعث فسفریلاسیون سوبستراهای متفاوت درون سلولی می‌شود که در تنظیم رشد، متابولیسم و بقاء سلول مؤثرند. زمانی که AKT-1 سرکوب شود، رشد فیزیولوژیکی و سازگاری‌های همودینامیکی کند می‌شود [۹]. گلیکوژن سنتتاز کیناز-۳، تنظیم کننده مهم منفی سنتز پروتئین است که به‌وسیله AKT مهار می‌شود [۹]. تمرینات طولانی مدت منجر به هیپرتروفی قلب از طریق مسیر Akt/ mTOR می‌شود که در این رابطه تمرین با شدت متوسط بیش‌تر از تمرین شدید مؤثر است [۱۰]. در این راستا، Obert و همکاران گزارش کردند تمرین هوازی موجب افزایش قطر بطن چپ و بهبود عملکرد دیاستولی آن می‌شود [۱۱]. این تمرینات از طریق اضافه بار حجمی، هایپرتروفی اکسنتریک (Eccentric hypertrophy) را ایجاد می‌کنند [۱۲].

با توجه به نقش مهم تمرین تناوبی شدید (High intensity interval training; HIIT) بر قلب بیماران دیابتی، مشخص شدن ساز و کارهای مولکولی این تأثیر، می‌تواند جنبه‌های سودمند تمرین ورزش را بیش از پیش روشن سازد. علاوه بر آن، اثر HIIT بر روی عملکرد بطن چپ تاکنون بررسی نشده است و اطلاعات در خصوص تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر هیپرتروفی قلبی و ژن‌های مسیر سیگنالینگ آن محدود می‌باشد لذا در پژوهش حاضر با هدف، تعیین تأثیر ۱۲ هفته HIIT، بر بیان ژن‌های AKT1 و mTORc1 در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۲ طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در پاییز ۱۳۹۵ انجام شد. در ابتدا ۲۱ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۰±۲۲۰ گرم از انستیو پاستور خریداری و پس از دو هفته آشنایی با محیط و پروتکل پژوهش، به شیوه تصادفی در سه گروه ۷ تایی شامل گروه کنترل سالم، گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی همراه با تمرین تناوبی شدید، تقسیم شدند. حیوانات در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دمای ۳±۲۲ سانتی‌گراد، و رطوبت حدود ۴۵ درصد نگهداری شدند. موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری شدند که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. در سرتاسر دوره تحقیق، حیوانات توسط یک نفر جا به جا می‌گردید. پروتکل‌های این مطالعه با رعایت اصول اعلامیه هلسینکی و ضوابط اخلاق پزشکی انجام شد [۱۳] .هم‌چنین این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی تهران جنوب به شماره IR.IAU.TEHRAN.REC ۵۱/۴۱۰/۱۶ می‌باشد.

پس از یک شب ناشتایی، برای القاء دیابت نوع ۲، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن موش صحرایی، به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده استرپتوزوتوسین (STZ) در بافر سیترات pH=۴/۵ به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. گروه کنترل سالم فقط بافر سیترات با همان حجم را دریافت کرد [۱۴]. ۷۲ ساعت پس از القاء دیابت ،گلوکز خون ناشتا از روش گلوکز اکسیداز به روش آنزیمی رنگ سنجی و با استفاده از کیت گلوکز (Trulab N, Pars Azmun, Iran) اندازه‌گیری و قند خون بالای ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلاء موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد [۱۵]. ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون گلوکز به ترتیب ۱/۷۴ و ۱/۱۹ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود.

گروه اول، گروه دیابتی همراه با تمرینات تناوبی شدید (HIIT)، پس از تزریق نیکوتین آمید و STZ به موش‌ها، حیوانات این گروه به مدت ۱۲هفته به تعداد ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای در هفته در قالب دویدن روی تریدمیل (مدل ۷۸۰۰LE، ساخت شرکت Harvard Apparatus، فرانسه) با تکرارهای یک دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای بین هر تکرار، شرکت داده شدند. برنامه تمرینی در هفته اول با ۱۶متر در دقیقه شروع شده و در هفته‌های بعدی به تدریج به سرعت تمرین افزوده شد، تا در هفته دوازدهم به شدت ۳۶ متر در دقیقه رسید [۱۶]. استراحت فعال نیز در هفته اول با ۱۰ متر در دقیقه شروع و هر دو هفته یک‌بار به سرعت آن افزوده شد تا در هفته دوازدهم به ۱۴ متر در دقیقه رسید. پنج دقیقه زمان قبل و بعد از تمرین برای گرم کردن و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد [۱۶].

گروه کنترل دیابتی، فقط نیکوتین آمید و STZ را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و در هیچ برنامه تمرینی شرکت داده نشدند. گروه کنترل نیز فقط بافر سیترات را دریافت کردند و هیچ مداخله تمرینی را دریافت نکردند. همه حیوانات ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه

تمرینی بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی از طریق تزریق ماده بیهوشی (ترکیب زایلوزین و کتامین) بیهوش و کشته شدند [۱۶]. سپس با استفاده از روش کاردیوکتومی (روش برش قلبی) عضله قلب برداشته شد.

جهت اندازه‌گیری AKT1 mRNA و mTORc1 mRNA توسط RT-Real time PCR به وسیله سیستم روتورژن (Rotor-Gene 6000, Corbett, Sydney, Australia)۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری kit mini Rneasy شرکتQIAGEN انجام گرفت [۱۷].

آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه روتوژن در Real time PCR شامل: ۴۲ درجه به مدت ۲۰ دقیقه، ۹۵ دقیقه به مدت ۲ دقیقه و ۴۰ سیکل با ۹۴ درجه به مدت ۱۰ ثانیه و۶۰ درجه به مدت ۴۰ ثانیه بود. پس از مرحله PCR جهت مطالعه ویژگی پرایمرها، از دمای ۵۰ تا ۹۹ درجه سانتی‌گراد برای تهیه منحنی ذوب استفاده گردید. از RNA Polymrase II به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان، و برای مقایسه بیان ژن‌ها از روش $\Delta\Delta CT$ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. ابتدا توزیع طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و همگنی از طریق آزمون لوین بررسی و مقادیر هر یک از متغیرها با استفاده از میانگین و انحراف معیار توصیف شد. سپس جهت مقایسه متغیرها بین گروه‌ها از آزمون آماری t مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

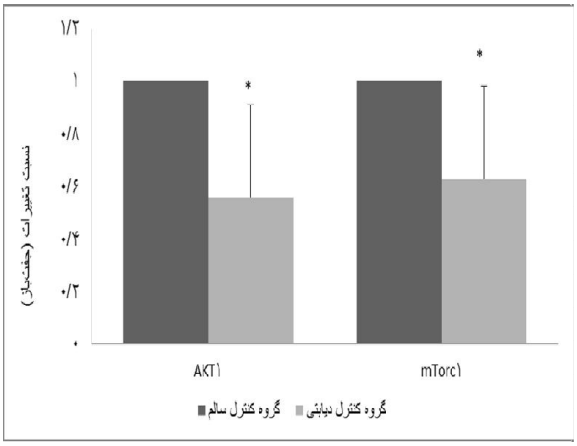
نتایج حاصل از آزمون t مستقل جهت تفسیر بیان نسبی ژن‌های Akt1 و mTORc1 در گروه‌های مورد مطالعه، در جدول ۱ و تغییرات نسبی بیان ژن‌ها به ترتیب در نمودارهای ۱ و ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- بررسی بیان نسبی ژن‌های Akt1 و mTORc1 در قلب موش‌های صحرایی بعد از تمرین ۱۲ هفته ای HIIT

متغیر ژنی	گروه‌ها (n=۷)	مقدار p
AKT1(bp)	کنترل سالم و کنترل دیابتی	۰/۰۰۷
	کنترل دیابتی و تمرین تناوبی شدید	۰/۰۰۳
mTORc1(bp)	کنترل سالم و کنترل دیابتی	۰/۰۲۲
	کنترل دیابتی و تمرین تناوبی شدید	۰/۰۰۱

آزمون t مستقل، $P\leq$۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار

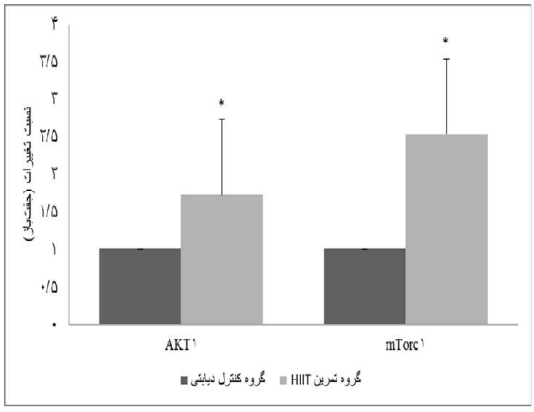
بیان نسبی ژن Akt1 در گروه‌های سالم و کنترل دیابتی در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی، کاهش معنی‌دار بیان ژن Akt1 (P=۰/۰۰۷) را به میزان ۴۴ درصد و مقایسه بیان نسبی ژن mTORc1 در همان گروه‌ها، کاهش معنی‌دار بیان ژنmTORc1 (P =۰/۰۲۲) را به میزان ۳۷٪ نشان داد (نمودار۱).



نمودار ۱- مقایسه بیان نسبی ژن‌های mTORc1 و Akt1 در گروه‌های سالم و کنترل دیابتی
در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی
**** تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل سالم***

به علاوه، بیان نسبی ژن Akt1 در گروه‌های سالم و HIIT افزایش معنی‌دار بیان این ژن (P=۰/۰۰۳) را به میزان ۷۲٪، و مقایسه بیان نسبی ژن mTORc1 در همان گروه‌ها، افزایش معنی‌دار بیان ژن mTORc1 (P=۰/۰۰۱) به میزان ۱۵۴٪ را نشان داد (نمودار۲).

در واقع می‌توان گفت گروهHIIT نه تنها کاهش بیان نسبی ژن‌های Akt1 و mTORc1 ناشی از دیابت را جبران کردند، بلکه حتی بیان نسبی این ژن‌ها را بیش از مقادیر آن درموش‌های صحرایی سالم افزایش دادند.



نمودار ۲- مقایسه بیان نسبی ژن‌های mTORc1 و Akt1 در گروه کنترل دیابتی و HIIT در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی
**** تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی***

بحث

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، ۱۲ هفته تمرین تناوبی شدید منجر به افزایش بیان ژن‌های Akt1 و mTORc1 در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ شد. در این رابطه، Launay و همکاران اظهار داشتند که HIIT برای بهبود ظرفیت عضلانی و پروتئین‌های عضلات قلبی مؤثر است. آنها در تحقیق خود گزارش کردند که ۸ هفته HIIT منجر به هیپرتروفی بافت قلب در موش‌های صحرایی شد که این کار را از طریق فعال سازی مسیر IGF-I/mTOR/Akt و کاهش مسیر Smad2/3 (Small Mothers Against Decapentaplegic2/3 pathway) انجام داد [۱۸]. Lee و همکاران نیز یافته‌هایی مشابه در مورد تمرینات استقامتی گزارش کردند [۱۹]. اما در تضاد با یافته‌های حاضر Sturgeon و همکاران هیچ تغییر معنی‌داری را در هیپرتروفی قلبی ناشی از مسیرهای سیگنالینگ وابسته به Akt و mTOR در موش‌های ماده به دنبال ۲ ماه تمرین بر روی تردمیل با شدت متوسط مشاهده نکردند [۲۰]. این

نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً جهت هیپرتروفی قلبی ناشی از تمرینات ورزشی، نیاز به شدت‌های بالا می‌باشد [۲۰]. در این راستا HIIT می‌تواند حائز اهمیت باشد.

به طور کلی، بیماری دیابت با شیوع بالای بیماری قلبی عروق همراه است که علت عمده مرگ و میر است [۲۱]. ویژگی‌های واماندگی قلبی مزمن، کاهش عملکرد بطن چپ و از دست دادن کاردیومیوسیت‌ها از طریق آپوپتوز یا نکروز می‌باشد [۲۲-۲۱]. تمرینات ورزشی یک رویکرد مهم غیرفارماکولوژیک است که می‌تواند برای افزایش کیفیت زندگی و کاهش علائم پاتولوژیک در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی مزمن استفاده شود [۲۳]. در این راستا، Rowe و همکاران گزارش کردند که تغییرات فیزیولوژیک به شکل استرس طی فعالیت ورزشی ممکن است منجر به آسیب دیواره کاردیومیوسیت‌ها شود و می‌تواند به عنوان محرکی برای مکانیسم هیپرتروفی قلبی عمل کند [۲۴].

مطالعات نشان دادند که تمرین، ویژگی‌های غیر طبیعی عملکردی و مولکولی وابسته پاتولوژی قلب را معکوس می‌کند [۲۶-۲۵]. مکانیسم زیربنایی که به‌وسیله آن، تمرین از آپوپتوز قلبی در دیابت پیش‌گیری می‌کند، هنوز به خوبی شناخته نشده است، هرچند محور IGF-1/ IGF-1-R (Insulin Like Growth Factor-1/Insulin Like Growth Factor-1 Receptor) و مسیرهای سیگنالینگ پایین دست PI3K و Akt در میانجی‌گری پاسخ حیاتی و آپوپتوزی در بافت قلبی مشارکت می‌کند [۲۷]. مداخلات ورزشی نشان داده است که ویژگی‌های غیر طبیعی عملکردی و مولکولی مرتبط با هیپرتروفی پاتولوژیک قلب، می‌تواند از راه افزایش فعالیت IGF-I یا PI3K معکوس شود [۲۸-۲۷]. Cheng و همکاران گزارش کردند مسیرهای IGF-I/PI3K/Akt در قلب‌های دیابتی کاهش می‌یابد، اما به طور معنی‌داری بعد از یک دوره تمرین ورزشی افزایش می‌یابد [۲۸].

در میان خانواده پروتئین کینازهای مرتبط با PI3K، mTOR به عنوان یک پروتئین منحصر به فرد است که در سیگنالینگ PI3K/Akt و هایپرتروفی پاتولوژیک و فیزیولوژیک ایفاء نقش می‌کند [۳۲-۲۹]. این سیگنالینگ با رشد فیزیولوژیک قلب به دنبال ورزش با شدت متوسط و در پروتکل شنا مشاهده شده است [۳۲-۳۱] و می‌تواند تحت تأثیر تغذیه، فاکتور رشد و متابولیسم انرژی تحت تأثیر قرار گیرد [۱۰]. در این رابطه، Mc Mullen و همکاران نشان دادند، هنگامی که mTOR توسط راپامایسین مهار شود، می‌تواند هایپرتروفی قلبی را به میزان ۶۸ درصد بدون هیچ‌گونه جریان منفی در عملکرد قلبی کاهش دهد [۳۳]. در مطالعه حاضر، هم راستا با مطالعات پیشین افزایش معنی‌داری در بیان نسبی ژن mTOR به دنبال فعالیت ۱۲ هفته‌ای مشاهده شد [۳۵-۳۴]. این افزایش در طی فعالیت ورزشی می‌تواند در درمان بیماری‌های قلبی مؤثر باشد [۳۶].

پروتئین کیناز B (PKB/Akt) در مسیر سیگنالی mTOR و به دنبال آن در رشد سلولی و سنتز پروتیئن نقش مهمی دارد [۱۰]. در مطالعه حاضر نشان داده شده است که فعالیت طولانی مدت منجر به فعال شدن Akt می‌شود که با یافته‌های Debosche و همکاران [۲۹]، همسو و با یافته های Kemi و همکاران در تضاد است [۲۸].

به طور کلی، HIIT با ۸۵ درصد تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، منجر به پاسخ هیپرتروفیک در کاردیومیوسیت‌ها می‌شود که در مدت کوتاهی قابل مشاهده

است و پس از حدود ۲ ماه به کفه می‌رسد [۳۷]. اندازه هیپرتروفی قلبی بستگی به شدت ورزش دارد، زیرا تمرین تناوبی شدید پاسخ بزرگ‌تری نسبت به تمرین با شدت متوسط ایجاد می‌کند، به طوری‌که میزان ۱۴ درصد برای HIIT و ۵ درصد برای تمرین با شدت متوسط گزارش شده است [۳۸]. مکانیسم هیپرتروفی قلبی ناشی ازHIIT، همانند دیگر تمرینات، وابسته به مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt/mTOR است [۳۳] که به‌وسیله IGF-I فعال می‌شود [۳۷]. لذا احتمالاً در مطالعه حاضر، HIIT در موش‌های صحرایی دیابتی نوع۲، منجر به بهبود ویژگی‌های عملکردی و ساختاری قلبی شده که احتمالاً نتیجه آن بهبود پیش‌گیری از مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی بوده که خود بیماری ثانویه در افراد دیابتی می‌باشد، با این حال با توجه به این‌که پژوهش‌های زیادی در این ارتباط انجام نشده است، بهتر است بررسی‌های بیش‌تری در این زمینه با اندازه‌گیری دیگر شاخص‌ها نظیر IGF-I، PI3K و غیره انجام شود تا بتوان به نتایج قابل اعتمادتری دست یافت.

اگرچه در تحقیق حاضر بسیاری از متغیرها از قبیل: گونه، نژاد، جنس، وزن، عوامل محیطی (صدا، نور، رطوبت، دما) تحت کنترل بود، اما محدودیت‌هایی از جمله، عدم امکان کنترل دقیق خواب موش‌ها، عدم امکان پایش دقیق میزان قند خون حیوانات، دشواری در اندازه‌گیری همه فاکتورهای تحریکی و مهاری فعالیت این دو ژن، وجود داشت.

با توجه به این‌که زمان تمرین تناوبی و ریکاوری بین آن از عوامل کلیدی در اجرای HIIT به حساب می‌آید، پیشنهاد می‌شود، برای یافتن بهترین نتیجه، شدت و زمان‌های ریکاوری متفاوت مورد مطالعه قرار گیرد. هم‌چنین بررسی اثرات تمرینات کوتاه مدت و بلند مدت به همراه اندازه‌گیری دیگر شاخص‌ها نظیر- آنژیو تانسین۲، هورمون رشد شبه انسولینی، اندوتلین یک، فاکتور رشد تبدیلی بتا و کاردیوتروپین ۱، و نقش آنها درپیش‌برد هیپرتروفی فیزیولوژیک مفید خواهد بود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد یک دوره HIIT با افزایش بیان ژن‌های Akt1 و mTORc1 منجر به بهبود عملکرد قلبی، در بیماران دیابتی شده و احتمالاً از بروز مشکلات قلبی ناشی از این بیماری پیش‌گیری می‌کند. باید اشاره کرد که این پژوهش نتوانست میزان پروتئین این ژن‌ها را اندازه‌گیری کند، بنابراین پیشنهاد می‌شود که تغییرات پس از رونویسی این ژن‌ها، بعد از فعالیت HIIT در بطن چپ نیز بررسی گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل کار رساله دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب می‌باشد. به این وسیله از زحمات و راهنمایی‌های ارزنده اساتید محترم، کلیه عوامل آزمایشگاه و کارکنان انستیتو پاستور که در اجرای این مطالعه همیاری نموده اند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

[1] Boyle JP, Honeycutt AA, Narayan KM, Hoerger TJ, Geiss LS, Chen H, et al. Projection of diabetes burden throught 2050;Impact Of Changing Demography And Disease Prevalence In The U.S. *Diabetes Care* 2001; 24(11): 1936-40.

[2] Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R , King H. Global Prevalence Of Diabetes; Estimates For The Year 2000 Andprojections For 2030. *Diabetes* Care 2004; 27(5): 1047-53

[3] Duexworth W, Abraia C, Moritz T, Reda D, Emanuele N, Reaven PD, et al. Glucose Control and Vascular Complications in Veterans with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2009; 8; 360(2): 129-39.

[4] Shakori K, Davodi B. Response of Blinking in the diagnosis of subclinical cranial nerve neuropathy in patients with type 2 diabetes. *J Tabriz Univ Med Sci* 2003; 63: 29-32.[Farsi].

[5] Zimmet P, Alberti Kg, Shw J. Global And Socitalimplications Of The Diabetes Epidemic. *Nature* 2001; 414(6865): 782-7.

[6] Mihl C, Dassen WRM and Kuipers H .Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. *Netherlands Heart J* 2008; 16(4): 129-33.

[7] Ahmadiasl N, Najafipour H, Soufi FG and Jafari AX. Effect of short-and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. *J Physiology Biochemistry* 2012; 68(1): 121-8.

[8] Badalzadeh R, Shaghaghi M, Mohammadi M ,Dehghan G and Mohammadi Z. The effect of cinnamon extract and long-term aerobic training on heart function, biochemical alterations and lipid profile following exhaustive exercise in male rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* 2014; 4(2): 515-20.

[9] Weeks KL and McMullen JR.The athlete's heart vs. the failing heart: can signaling explain the two distinct outcomes? *Physiology* 2011; 26(2): 97-105.

[10] Liao J, LI Y, Zeng F and Wu Y. Regulation of mTOR pathway in exercise-induced cardiac hypertrophy. *Int J Sports Med* 2015; 36(05): 343-50.

[11] Obert P, Mandigout S, Vinet A, N'guyen L, Stecken F and Courteix D. Effect of Aerobic Training and Detraining. *Int J Sports Med* 2001; 22(2): 90-6.

[12] Kazemi F, Ebrahim Kh, SZ Asl .The Correlation of Plasma Levels of Apelin-13 with Insulin

Resistance Indexand Plasma Leptin of Diabetic Male Rats after 8-Week Aerobic Exercise. *Res Med* 2016; 39(4): 163-8.

[13] Olfert ED, Cross BM, Mc William AA. Guide to the care and use of experimental animals. Book on CD- ROM. 2nd ed., Ottawa: Canadian Council on Animal Care. 2017.

[14] Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, Benoit NT, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersamaengleriana leaves in nicotinamide streptozotocin induced type 2 diabetic rats. *CAM* 2012; 12(1): 264-69.

[15] Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of Garuga pinnata Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol* 2006; 107(2): 285–90.

[16] Eizadi Mojtaba, Soori Rahman, Ravasi Ali Asghar, Baesi Kazem, Choobineh Sirous. Realationship Between Tcf7l2 Relative Expression In Pancreas Tissue With Changes In Insulin By High Intensity Interval Training (Hiit) In Type 2diabetes Rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2017; 24(12): 981-93. [Farsi].

[17] Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 2010;11(1):31-9.

[18] Launay T, Momken I, Carreira S, Mougenot N, Zhou XL, De Koning L, et al. Acceleration-based training:A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions. *Experimental Gerontology* 2017; 95(5): 71-6.

[19] Lee Y, Kang EB, Kwon I, Cosio-Lima L, Cavnar P, Javan GT. Cardiac Kinetophagy Coincides with Activation of Anabolic Signaling. *Med Sci Sports and Exercise* 2016; 48(2): 219-26.

[20] Sturgeon K, Muthukumaran G, Ding D, Bajulaiye A, Ferrari V, Libonati JR. Moderate-intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte crosssectional area. *Physiological Reports* 2015; 3(5): 12406.

[21] Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circulation Research* 2000; 87(12): 1123-32.

[22] Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; 414(6865): 782.

[23] Petrovic D.Cytopathological basis of heart failure-cardiomyocyte apoptosis, interstitial fibrosis and inflammatory cell response. *Folia Biologica-Praha* 2004; 50(2): 58-62.

[24] Rowe WJ. Endurance exercise and injury to the heart. *Sports Med* 1993; 16: 73− 9.

[25] Scheuer J, Malhotra A,Hirsch C, Capasso J, Schaible T F. Physiologic cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathologic hypertrophy in rats. *J Clinical Investigation* 1982; 70(6): 1300-05.

[26] Konhilas JP, Watson PA, Maass A , Boucek DM, Horn T, Stauffer BL, et al. Exercise can prevent and reverse the severity of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation Research* 2006; 98(4): 540-48.

[27] Kuo WW, Chung LC, Liu CT, Wu SP, Kuo CH , Tsail F J, et al.Effects of insulin replacement on cardiac apoptotic and survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry Function* 2009*;* 27(7): 479-87.

[28] Cheng SM, Ho TJ ,Yang AL, Chen IJ, Kao CL ,Wu FN, et al. Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal Cardiology* 2013;167(2): 478-85.

[29] DeBosch B, Treskov I, Lupu TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, and et al. Akt1 is required for physiological cardiac growth. *Circulation* 2006; 113: 2097-104.

[30] Kozma SC, Thomas G. Regulation of cell size in growth, development and human disease: PI3K, PKB and S6K. *Bioessays* 2002; 24: 65-71.

[31] Shen WH, Chen Z, Shi S, Chen H, Zhu W, Penner A and et al.Cardiac restricted over expression of kinase-dead mammalian target of rapamycin(mTOR) mutant impairs the mTOR-mediated signaling and cardiac function. *J Biol Chem* 2008; 283: 13842− 49.

[32] Wu W, Li X. Effect of long-term endurance exercise training on mTOR signaling pathway in cardiac muscle and skeletal muscle. *Journal of Xian Physical Education University* 2010; 27: 75− 79.

[33] McMullen JR, Jennings GL. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy:novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2007; 34(4): 255-62.

[34] Garciarena CD, Pinilla OA, Nolly MB, Laguens RP, Escudero EM, Cingolani HE, Ennis IL. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension* 2009; 53: 708− 14.

[35] Ogura Y, Iemitsu M, Naito H, Kakigi R, Kakehashi C, Maeda S, Akema T. Single bout of running exercise changes LC3-II expression in rat cardiac muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 414: 756− 60.

[36] Dreyer HC, Glynn EL, Lujan HL, Fry CS, DiCarlo SE, Rasmussen BB. Chronic paraplegia-induced muscle atrophy downregulates the mTOR/S6K1 signaling pathway. *J Appl Physiol* 2008; 104(1): 27− 33.

[37] Kemi OJ,Ceci M,Wisloff U,Grimaldi S, Gallo P,Smith GL,et al.Activation or inactivation of cardiac Akt/mTOR signaling diverges physiological from pathological hypertrophy. *J Cellular Physiology* 2008; 214(2): 316-21.

[38] Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, et al. High exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovascular Research* 2005;67(1): 161-72.

The Effects of High Intensity Interval Training on Gene Expression of AKT1 and mTORc1 in the Left Ventricle of Type 2 Diabetic Rats: An Experimental Study

M. Mirsepasi[1], A. A. Baneifar[2], M. A. Azarbayjani[3], S. Arshadi[4]

Received: 10/06/2018 Sent for Revision: 11/07/2018 Received Revised Manuscript: 08/12/2018 Accepted: 23/12/2018

Background and Objectives: High intensity interval trainings (HIIT) are effective in the physiological cardiac hypertrophy and in reducing the complications of diabetic cardiomyopathy. Therefore, the purpose of this study was to determine the effects of 12 weeks high intensity interval training on the expression of AKT1(Protein Kinase B) and mTORc1(mammalian target of rapamycin) genes in the left ventricle of type 2 diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 21 male Wistar rats weighting 220±20 gr were randomly divided into three groups including diabetic-HIIT, diabetic control, and healthy control group. The diabetic HIIT group have been participated in 5 sessions (30 minutes per week) in the form of running on a treadmill with repetitions of 1 minute and 2 minutes active rest between each repetition for 12 weeks. All rats were sacrificed 48 hours after the last training session. To compare relative expression of AKT1 and mTORc1 genes, independent t-test was used at a significant level of $p \leq 0.05$.

Results: Comparing the groups showed a significant decrease in the expression of Akt1 ($p=0.007$) and mTORc1($p=0.022$) genes in the diabetic control group compared to the healthy group. The training also significantly increased the expression of Akt1 ($p=0.003$) (up to 72%) and mTORc1 genes ($p=0.001$) compared to the diabetic control group.

Conclusion: It seems that HIIT increases the gene expression of Akt1 and mTORc1 which can improve cardiac function and may probably prevent clinical symptom of heart disease resulted from diabetes.

Key words: Diabetes, High intensity interval training, Heart disease, Rat, Akt1, mTORc1.

Funding: This study did not have any funds.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University, Tehran South Branch approved the study (IR.IAU.TEHRAN.REC.51/410/16).

How to cite this article: Mirsepasi M, Baneifar AA, Azarbayjani MA, Arshadi S. The Effects of High Intensity Interval Training on Gene Expression of AKT1 and mTORc1 in the Left Ventricle of Type 2 Diabetic Rats: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2019; 17 (12): 1119-30. [Farsi]

1- PhD Student, Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran., ORCID: 0000-0002-2213-4451

2- Associate Prof., Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran .ORCID:0000-0003-1749-6383

(Corresponding Author) Tel: (021) 55545054, Fax: (021) 55545054, E-mail: alibaneifar@yahoo.com

3- Prof., Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Human Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran. ORCID: 0000-0002-3502-7487

4- Assistant Prof., Dept. of Exercise Physiology, Faculty of Human Science, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0002-7621-9346