

# تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید

مریم شعبانی<sup>۱\*</sup>، محمد شرافتی مقدم<sup>۲</sup>، کاملیا مقدمی<sup>۳</sup>

## مقاله پژوهشی

**مقدمه:** هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی وابسته به مسیرهای سلولی و پروتئین‌های مهم مانند پروتئین ریبوزومی S6 کیناز بتا-۱ (S6K1) و عامل شروع کننده ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین-۱ (4EBP1) می‌باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزنی  $270 \pm 20$  گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی و کنترل دیابتی (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند. گروه تمرین ۴ روز در هفته به مدت ۸ هفته تمرین استقامتی را مطابق با برنامه تمرینی انجام دادند؛ در حالیکه گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. هم‌چنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. محتوای پروتئین‌ها با استفاده از روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تی-مستقل و نرم‌افزار SPSS version 16 استفاده شد.

**نتایج:** هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار در محتوای پروتئین S6K1 شد ( $P=0/001$ )؛ هم‌چنین افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین 4EBP1 در گروه تمرین استقامتی نسبت به کنترل مشاهده شد ( $P=0/0001$ ).

**نتیجه‌گیری:** هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی شد؛ بنابراین، احتمالاً فعال شدن این پروتئین‌ها می‌تواند فرآیند سنتز پروتئین و هیپرتروفی قلبی را تنظیم کند.

**واژه‌های کلیدی:** تمرین استقامتی، نیکوتین آمید، پروتئین 4EBP1، پروتئین S6K1، استرپتوزوتوسین

**ارجاع:** شعبانی مریم، شرافتی مقدم محمد، مقدمی کاملیا. تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۴): ۶۸-۳۶۵۸.

Protein S6 Kinase Beta-1 هم‌چنین به عنوان P70S6 کیناز شناخته می‌شود. این پروتئین یک آنزیم (به طور خاص، یک پروتئین کیناز) است که در انسان توسط ژن RPS6KB1 کدگذاری شده است. پروتئین S6K1 توسط mTOR فسفوریله و برای ترویج و تولید ریبوزوم، عوامل شروع، کشیدگی و تکثیر سلولی مهم می‌باشد (۱۰). این پروتئین یک عضو از خانواده پروتئین‌های سرین/ترئونین کیناز AGC است. پروتئین S6K1 یک واسطه برای سیگنال‌های انسولین، فاکتورهای رشدی، میتوژن، مواد مغذی است که مسئول تنش در تنظیم رشد سلول و متابولیسم انرژی می‌باشد (۱۱). پروتئین S6K1 برای سنتز پروتئین در سلول‌ها مورد نیاز است و در تنظیم بازخورد منفی از مسیر سیگنالینگ انسولین است. این پروتئین می‌تواند توسط عوامل متعدد دیابت نوع ۲، مانند هیپرانسولینمی، التهاب، اسیدهای چرب آزاد و شاخه‌های زنجیره‌ای اسیدهای آمینه دچار اختلال می‌شود (۱۲). پروتئین مهم دیگر که در هیپرتروفی عضلانی قلبی درگیر است عامل شروع‌کننده ترجمه یوکاریوتی 4E متصل به پروتئین-۱ (Eukaryotic 4E-BP1) Translation Initiation Factor 4E-Binding Protein 1 می‌باشد، که در انسان توسط ژن EIF4EBP1 کدگذاری می‌شود. این پروتئین نقش‌های مهمی در فرآیندهای سلولی مختلف از جمله توسعه و شکل‌پذیری سیناپسی و سنتز پروتئین دارد (۱۳). پروتئین 4E-BP1 هفت بخش فسفوریلاسیون سرین/ترئونین در انسان دارد و به طور مستقیم توسط مسیر mTORC1 تنظیم می‌شود (۱۴). تمرینات ورزشی با افزایش حساسیت به انسولین، بهبود کنترل قند خون و کاهش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در ارتباط است. هم‌چنین تمرینات ورزشی منجر به سازگاری‌های متابولیک در سوبستراهای انرژی، چگالی میتوکندری و عملکرد عضله اسکلتی می‌شود (۱۵). انجمن دیابت آمریکا (ADA) American Diabetes Association و برنامه پیشگیری از دیابت Diabetes Prevention Program (DPP) فعالیت بدنی را به‌عنوان یک عامل کمک‌کننده غیردارویی برای بهبود و تقویت مدیریت پیشگیری از بیماری قلبی دیابتی پیشنهاد

دیابت نوع ۲ شایع‌ترین بیماری درون‌ریز است که ناشی از عدم تحمل گلوکز در اثر عدم تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین می‌باشد (۱). اگرچه عوامل اصلی بروز این نوع از دیابت هنوز کاملاً شناخته نشده است؛ با این وجود منابع علمی تأیید نموده‌اند که وجود مقاومت به انسولین و اختلال عملکرد سلول‌های بتا می‌تواند از عوامل اولیه ایجاد این نوع دیابت باشد (۲). عوامل خطر برای دیابت نوع ۲ شامل سن، شاخص توده بدنی بالا و سبک زندگی بی‌تحرک است (۳). عوامل محیطی از جمله عدم فعالیت ورزشی همراه با چاقی، استرس و عوامل ژنتیکی از مهم‌ترین دلایل ایجاد دیابت است و این موضوع می‌تواند روی ساختار و عملکرد برخی از دستگاه‌های بدن از جمله سیستم قلبی-عروقی تأثیر منفی بر جای بگذارد. تحقیقات نشان می‌دهد بیماری قلبی که اغلب تحت عنوان کاردیومیوپاتی دیابتی اطلاق می‌شود، علت اصلی مرگ در میان بیماران دیابتی است (۴). کاردیومیوپاتی دیابتی مشخصه خاصی از بیماری‌های قلبی-عروقی است که توسط فیبروز قلبی، اختلال در عملکرد دیاستولیک با کاهش کسر خروجی و هیپرتروفی بطن چپ مشخص می‌شود (۵). کاردیومیوپاتی دیابتی به‌طور غیر طبیعی منجر به رسوب در ماتریس، افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب، ایجاد اختلال در میتوکندری و تغییر در تولید انرژی و سوخت و ساز بدن می‌شود (۶). مکانسیم دقیق بروز کاردیومیوپاتی دیابتی به خوبی شناخته نشده است؛ با این وجود یکی از مسیرهای سلولی مهم مسیر پیام‌رسانی هدف مکانیکی راپامایسین (Mechanistic Target of (mTOR) Rapamycin است که با فعال‌کردن پروتئین‌های دیگر یک مسیر سیگنالینگ ضروری در سلول است؛ این مسیر دارای یک عملکرد بیولوژیکی بسیار مهم در رشد سلولی، تکثیر، آپوپتوز، آنژیوژن و اتوفژی و هم‌چنین فرآیندهای دیگر است (۷). اختلال در این مسیر می‌تواند طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله سرطان، دیابت و بیماری‌های خود ایمنی را رقم زند (۸،۹). پروتئین ریبوزومی S6 کیناز بتا-۱ (Ribosomal (S6K1)

شاخص‌های هیپرتروفی قلبی محدود است. فعال‌سازی محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 یک مسیر سیگنالینگ حیاتی برای القاء هیپرتروفی ناشی از تمرین استقامتی برای محافظت از آن است. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده از طریق القاء استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید می‌باشد.

### روش بررسی

قسمت اول نتایج این طرح در مجله دیابت و متابولیسم ایران چاپ شده است (۲۱). پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی می‌باشد که به صورت گروه تمرین و کنترل انجام گرفته است؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن  $20 \pm 270$  گرم انتخاب و در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، میزان رطوبت ۵۰-۴۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت پلت، آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. هم‌چنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، در مرحله اول محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. سپس بعد از ۱۵ دقیقه از تزریق محلول نیکوتین‌آمید، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) Diabetes Prevention Program (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با  $pH=4/5$  به صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید (۲۲). جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۳ روز پس از تزریق محلول‌های نیکوتین‌آمید و STZ با کمک دستگاه اندازه‌گیری قند خون و نمونه خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۲۳). همه این مراحل در زمان صبح انجام شد.

کرده‌اند (۱۶). با وجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در تحقیقات پزشکی و سابقه طولانی مدت داروهای ضد دیابت، خطر نارسایی قلبی در بیماران دیابتی هرگز کاهش نمی‌یابد. چندی است که تمرین‌های ورزشی پایدار و دراز مدت به خصوص تمرین استقامتی، به‌عنوان یک درمان هماهنگ‌کننده موثر برای مبارزه با عوارض قلبی و عروقی در افراد مبتلا به دیابت، مورد توجه قرار گرفته است (۱۷). اگرچه مکانیسم مولکولی دقیق موجود در این حفاظت قلبی هنوز معلوم نیست. اما محققین قصد دارند مکانیسم‌های ترمیم و رشد بافت قلبی را بررسی کنند تا مستندات علمی در مورد نقش تمرینات ورزشی با شدت‌های متفاوت در افزایش تغییرات مولکولی ارتقا دهنده رشد قلب در افراد دیابتی فراهم گردد (۱۸). در تحقیقی Ma و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی مبتلا به نروپاتی پرداختند. طی این مدت، پروتکل تمرینی به مدت ۵ هفته و ۴ روز در هفته با سرعت ۵ متر/دقیقه با ۱۰ درصد درجه و به مدت ۱۰ دقیقه شروع شد. شدت تمرین ورزشی از هفته سوم از ۵ به ۱۰ متر/دقیقه افزایش یافت. محتوای این پروتئین‌ها بعد از تمرین هوازی افزایش یافته بود (۱۹). در تحقیقی Takegaki و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر روی محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در عضله اسکلتی پهن جانی پرداختند. تمرین مقاومتی ۳ ست، ۱۰ تکرار با ۷۰ درصد 1RM و ۳ دقیقه استراحت بین هر ست انجام شد. محتوای این پروتئین‌ها بعد از تمرین مقاومتی افزایش یافته بود (۲۰). فعالیت ورزشی منظم همواره به عنوان یک راه کار موثر و کم هزینه برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی-عروقی توصیه شده است. تمرین استقامتی مداخله‌ای است که می‌تواند عملکرد قلب را بهبود بخشد و بازسازی میوکارد در بیماران مبتلا به دیابت را معکوس کند. هدف قرار دادن تنظیم‌کننده‌های اصلی هیپرتروفی ناشی از تمرین‌های استقامتی و حفاظت از قلب می‌تواند یک رویکرد امید بخش باشد. با این‌حال، یافته‌ها در خصوص اثر بخشی تمرین استقامتی روی

آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای P70S6K1 و 4E-BP1 اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت قلب از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) Sodium Dodecyl Sulfate به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی‌پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتریفوژ یخچال دار (bo, sw14rfrail) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگهداری شد، سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه لودینگ بافر (۵۰ mM50 تریس-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار نرم افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی‌های anti-S6K1 (Sc-11759) و anti-4E-BP1 (#- 2855 شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند (۲۷). برای بررسی آماری داده‌ها ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t مستقل برای مقایسه بین گروهی استفاده شده است.

هم‌چنین معیار ورود آزمودنی‌ها دیابتی شدن موش‌های صحرایی بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود و موش‌های صحرایی که از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کمتر بودند از تحقیق حذف شدند. پس از اینکه موش‌های صحرایی دیابتی شدند به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه گروه تمرینی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۴ جلسه در زمان صبح بود. موش‌های گروه تمرینی در شروع هر جلسه با شدت ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت (سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) گرم کردند. سپس برنامه تمرینی اصلی شامل ۳۰ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت (سرعتی حدود ۱۵ تا ۲۰ متر بر دقیقه) انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با شدت ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت (سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) سرد کردند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۲ دقیقه بود. شب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت (۲۴). در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. هم‌چنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره پژوهش نداشتند. آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی یعنی چسبیدن موش‌ها به انتهای تردمیل برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (۲۵). برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل مانند استرس موش‌های صحرایی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ عضله قلبی 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 (۲۶). با استفاده از روش

## نتایج

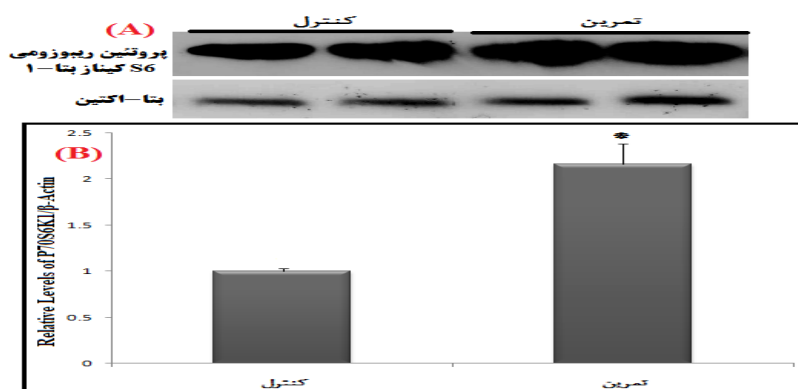
در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین S6K1 بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در بافت بطن چپ عضله قلبی وجود دارد ( $P=0/001$ ) (شکل ۱). همچنین، هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین 4EBP1 بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در بافت بطن چپ عضله قلبی شد ( $P=0/0001$ ) (شکل ۲).

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم افزار version 16 SPSS انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $p \leq 0/05$  در نظر گرفته شده است.

## ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد کرج تایید شده است. اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت (کد اخلاقی (IR.SUMS.REC.1396.S1062).

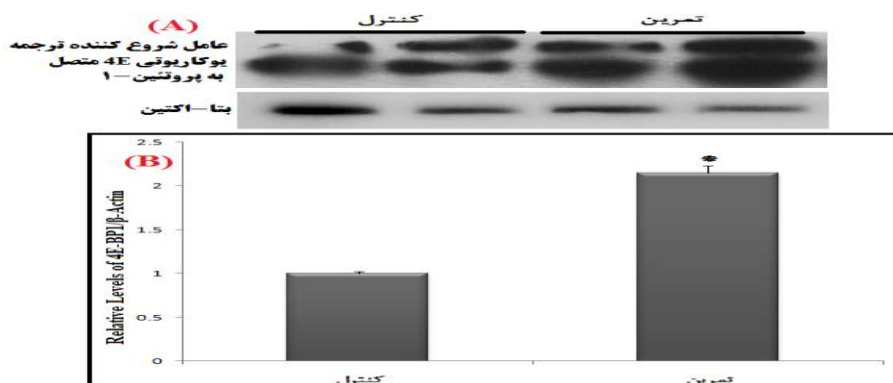


شکل ۱: مقایسه محتوای پروتئین S6K1 در گروه‌های مورد مطالعه.

(A). تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین S6K1 و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی.

(B). نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای S6K1 در مقابل کنترل داخلی

(\* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل؛ سطح معنی‌داری  $p \leq 0/05$ )



شکل ۲: مقایسه محتوای پروتئین 4EBP1 در گروه‌های مورد مطالعه.

(A). تصاویر ایمونوبلاتینگ پروتئین 4EBP1 و بتا-اکتین به عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی.

(B). نمودار ستونی نشان‌دهنده مقادیر کمی شده باندهای پروتئین 4EBP1 در مقابل کنترل داخلی

(\* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل؛ سطح معنی‌داری  $p \leq 0/05$ )

این حال تحقیق‌هایی گزارش شده است که نتایج آن‌ها متناقض با نتایج تحقیق حاضر هستند. در این راستا در تحقیق DeSouza و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر تمرین‌های استقامتی، قدرتی و تمرینات همزمان در محتوای پروتئین S6K1 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی پرداختند. تمرین‌های استقامتی، قدرتی و تمرینات همزمان تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین S6K1 ایجاد نکرد (۳۱). از عوامل مهم تاثیرگذار در این نتایج متفاوت می‌توان به مکان اندازه‌گیری و نوع آزمودنی‌ها در تحقیق DeSouza و همکاران نسبت به تحقیق حاضر اشاره کرد. در تحقیق حاضر محتوای پروتئین S6K1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی اندازه‌گیری شده است و این در حالی‌که در تحقیق DeSouza و همکاران در عضله اسکلتی آزمودنی‌های سالم بوده است. در میوکارد، مسیر mTOR نقش کلیدی و منحصر به فرد در هیپرتروفی دارد و معمولاً برای هیپرتروفی فیزیولوژیکی (ناشی از فعالیت ورزشی) قلبی ضروری است که می‌تواند برای تشخیص طبیعی هیپرتروفی نیز استفاده شود (۳۲). هورمون‌ها، فاکتورهای رشدی (انسولین/IGF-1)، محرک‌های مکانیکی (تمرین ورزشی)، تغذیه و انرژی تقریباً منجر به تنظیم مسیر mTORC1 می‌شوند. این مسیر می‌تواند پروتئین‌های پایین دست S6K1 و 4EBP1 را تنظیم و فعال کند و در نهایت، منجر به انتقال mRNA، ترجمه و سنتز شود (۳۳). در راستا با این مطلب بیان شده بالا در تحقیق Medeiros و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تمرین شنا پرداختند و در نتایج بیان کردند که تمرین شنا به مدت ۱۲ هفته (۵ روز در هفته) مقاومت به انسولین را در دیابت نوع ۲ کاهش می‌دهد. در این تحقیق محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 را در عضلات قلبی موش‌های صحرایی چاق اندازه‌گیری کرده بودند که افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (پایه) یافته بود (۳۴). نتایج تحقیق Medeiros و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد و در هر دو تحقیق آزمودنی‌ها دیابتی نوع ۲ بودند که تمرین هوازی (شنا و استقامتی) توانست محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 را افزایش دهد. این افزایش از طریق فعالیت

نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل در بافت بطن چپ عضله قلبی وجود دارد. امروزه نشان داده شده است که تمرین استقامتی یک راهبرد مفید غیردارویی برای درمان بیماری‌های قلبی و عروقی است. تمرین استقامتی نه تنها در ارتباط با کاهش عوامل خطر بیماری‌های قلبی-عروقی است، بلکه در ارتباط با هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب به واسطه مسیره‌های سلولی و سازوکارهای مولکولی در مقابل هیپرتروفی پاتولوژیک می‌باشد (۲۸). هنوز به درستی این مسیرها و سازوکارهای سلولی و مولکولی درک نشده و مطالعات اندکی در این زمینه وجود دارد. در تحقیق Liao و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تمرین استقامتی با شدت متوسط منجر به فعال‌سازی (افزایش) معنی‌دار پروتئین S6K1 می‌شود، اما در گروه تمرین با شدت بالا تغییری در فعال‌سازی معنی‌دار S6K1 بافت قلب موش‌های اسپرگوداولی مشاهده نشد (۲۹). نتایج تحقیق Liao و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد؛ زیرا در هر دو تحقیق شاهد افزایش محتوای پروتئین S6K1 به دنبال انجام تمرین هوازی هستیم. در اینجا عامل شدت می‌تواند یک عامل مهم در برنامه تمرینی انجام شده در هر دو تحقیق باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در تحقیق Liao و همکاران انجام تمرین با شدت بالا تغییری معنی‌داری را بر محتوای پروتئین S6K1 ایجاد نمی‌کند. در تمرین استقامتی انجام شده در تحقیق حاضر شدت تمرین پایین تا متوسط با مدت زمان ۳۰ دقیقه انجام شد که هم‌راستا با شدت تمرین متوسط تحقیق Liao و همکاران است. در راستا با نتایج تحقیق حاضر در تحقیق دیگر Miyachi و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند تمرینات ورزشی شنا افزایش معنی‌داری بر محتوای پروتئین S6K1 در قلب موش‌های صحرایی ایجاد می‌کند (۳۰). با وجود تفاوت در نوع تمرین ورزشی انجام شده در تحقیق Miyachi و همکاران نسبت به نوع تمرین ورزشی تحقیق حاضر، اما شدت در هر دو تحقیق با شدت پایین تا متوسط انجام شده است. با

کنترل نشان داد (۳۸). همان‌طور که در تحقیق Bacurau و همکاران مشاهده شد تمرین ورزشی نتوانسته است محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 را افزایش دهد که در راستا با نتایج تحقیق حاضر نیست.

### نتیجه‌گیری

در نهایت، نتایج تحقیق حاضر به‌دنبال هشت هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش پروتئین‌های پایین‌دست مسیر سیگنالینگ mTOR یعنی P70S6K1 و 4EBP1 شده است. از آنجا که این پروتئین‌ها در مسیر mTOR پروتئین‌های اصلی در سنتز پروتئین و هیپرتروفی هستند و تمرین استقامتی توانسته است محتوای درون سلولی این پروتئین‌ها را افزایش دهد، به احتمال این افزایش پروتئین‌های P70S6K1 و 4EBP1 می‌تواند منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی در آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ شود.

### سپاس‌گزاری

این مقاله حاصل تلاش نویسندگان و مستخرج از طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد با شماره مجوز ۲۴۵۷ است. بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی را از تمام افرادی که در این امر ما را یاری کردند اعلام می‌داریم.

حامی مالی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد کرج.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

ورزشی می‌تواند منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلب بیماران دیابتی شود. در راستا با هیپرتروفی فیزیولوژیک در تحقیقی Kemi و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی فعالیت ورزشی بر بیان ژن پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 عضله قلبی موش‌های صحرایی پرداختند. در قلب هیپرتروفی فیزیولوژیک پس از تمرین، بیان ژن S6K1 و 4EBP1 افزایش معنی‌داری یافته بود (۳۵). در هیپرتروفی فیزیولوژیک الگوی میوکارد طبیعی است در حالی که در هیپرتروفی پاتولوژیک اینگونه نیست (۳۶،۳۷). مسیر mTOR که منجر به فعال‌شدن پروتئین‌های پایین‌دست پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 می‌شود مسیر اصلی است که از طریق تمرین‌های ورزشی باعث هیپرتروفی می‌شود. بیشتر مکانیسم‌ها با افزایش بیان ژن و سنتز پروتئین‌های سلولی باعث هیپرتروفی می‌شوند (۲۷). اما در بعضی موارد نقص قلبی می‌تواند بر اثرات مفید تمرین‌های ورزشی فائق آید و تمرین ورزشی نمی‌تواند هیپرتروفی پاتولوژیک را معکوس کند. در این راستا در تحقیقی Bacurau و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های S6K1 و 4EBP1 در موش‌های دارای نقص قلبی پرداختند. محتوای پروتئین S6K1 در گروه تمرین+نقص قلبی بدون تغییر و کاهش معنی‌داری را در گروه نقص قلبی تنها نسبت به گروه کنترل نشان داد. محتوای پروتئین 4EBP1 کاهش معنی‌داری را در گروه تمرین+نقص قلبی و گروه نقص قلبی تنها نسبت به گروه

### References:

- 1-Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. *Type 2 Diabetes*. Lancet 2017; 389(10085): 2239-51.
- 2-Defronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. *Type 2 Diabetes Mellitus*. Nat Rev Dis Primers 2015; 1(1): 15019.
- 3-Greene SJ, Vaduganathan M, Khan MS, Bakris GL, Weir MR, Seltzer JH, et al. *Prevalent and Incident Heart Failure in Cardiovascular Outcome Trials of Patients with Type 2 Diabetes*. J Am Coll Cardiol 2018; 71(12): 1379-90.
- 4-Tate M, Grieve DJ, Ritchie RH. *Are Targeted Therapies for Diabetic Cardiomyopathy on the Horizon?*. Clin Sci 2017; 131(10): 897-915.
- 5-Borghetti G, Von Lewinski D, Eaton DM, Sourij H, Houser SR, Wallner M. *Diabetic Cardiomyopathy:*

- Current and Future Therapies. Beyond Glycemic Control.* Front Physiol 2018; 9: 1514.
- 6-De Rosa S, Arcidiacono B, Chiefari E, Brunetti A, Indolfi C, Foti DP. *Type 2 Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Genetic and Epigenetic Links.* Front Endocrinol 2018; 9: 2.
- 7-Zhang Y, Ng PK, Kucherlapati M, Chen F, Liu Y, Tsang YH, et al. *A Pan-Cancer Proteogenomic Atlas of PI3K/AKT/Mtor Pathway Alterations.* Cancer Cell 2017; 31(6): 820-32.
- 8-Fan QW, Weiss WA. *Inhibition of PI3K-Akt-Mtor Signaling in Glioblastoma by Mtorc1/2 Inhibitors.* Methods Mol Biol 2012; 821: 349-59.
- 9-Sun Z, Liu JL. *Mtor-S6K1 Pathway Mediates Cytoophidium Assembly.* J Gen Genom 2019; 46(2): 65-74.
- 10-Chen K, Jiao J, Xue J, Chen T, Hou Y, Jiang Y, et al. *Ginsenoside CK Induces Apoptosis and Suppresses Proliferation and Invasion of Human Osteosarcoma Cells through the PI3K/Mtor/P70s6k1 Pathway.* Oncol Rep 2020; 43(3): 886-96.
- 11-Zhang J, Gao Z, Ye J. *Phosphorylation and Degradation of S6K1 (P70s6k1) in Response to Persistent JNK1 Activation.* Biochim Bio Acta Mol Basis Dis 2013; 1832(12): 1980-8.
- 12-Magnuson B, Ekim B, Fingar DC. *Regulation and Function of Ribosomal Protein S6 Kinase (S6K) within Mtor Signalling Networks.* Biochem J 2012; 441(1): 1-21.
- 13-Martineau Y, Azar R, Bousquet C, Pyronnet S. *Anti-Oncogenic Potential of the Eif4e-Binding Proteins.* Oncogene 2013; 32(6):671-7.
- 14-Peter D, Igreja C, Weber R, Wohlbold L, Weiler C, Ebertsch L, et al. *Molecular Architecture of 4E-BP Translational Inhibitors Bound to Eif4e.* Mol Cell 2015; 57(6): 1074-87.
- 15-Binsch C, Jelenik T, Pfitzer A, Dille M, Müller-Lühlhoff S, Hartwig S, et al. *Absence of the Kinase S6k1 Mimics the Effect of Chronic Endurance Exercise on Glucose Tolerance and Muscle Oxidative Stress.* Mol Metab 2017; 6(11): 1443-53.
- 16-Lew JK, Pearson JT, Schwenke DO, Katare R. *Exercise Mediated Protection of Diabetic Heart through Modulation of Microrna Mediated Molecular Pathways.* Cardiovasc Diabetol 2017; 16(1): 10.
- 17-Pour HA, Rahmani NF. *Effects of Aerobic Training and Detraining on Body Composition, Lipid Profile and Insulin Resistance in Over Weight Policemen.* JPSBS 2018; 6(11): 85-93.
- 18-Moeini M, Behpoor N, Tadibi V. *The Effect of 8 Weeks High Intensity Interval Training on the Expression of PI3K in the Left Ventricle and Insulin Resistance of Male Wistar Rats with Type 2 Diabetes.* JJUMS 2020; 8(16): 48-58.
- 19-Ma X, Liu S, Liu D, Wang Q, Li H, Zhao Z. *Exercise Intervention Attenuates Neuropathic Pain in Diabetes Via Mechanisms of Mammalian Target of Rapamycin (Mtor).* Arch Physiol Biochem 2020; 126(1): 41-8.
- 20-Takegaki J, Sase K, Yasuda J, Shindo D, Kato H, Toyoda S, et al. *The Effect of Leucine-Enriched Essential Amino Acid Supplementation on Anabolic and Catabolic Signaling in Human Skeletal Muscle after Acute Resistance Exercise: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel-Group Comparison Trial.* Nutrients 2020; 12(8): 2421.
- 21-Shabani M, Sherafati Moghadam M, Moghaddami K. *The effect of endurance training on protein*



- kinase-b and mechanical target of rapamycin in the left ventricle of the heart of diabetic rats induced by streptozotocin and nicotinamide.* IJDL. 2020; 19(6):309-317.
- 22-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(5): 493-501.
- 23-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(10): 1011-21.
- 24-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.* JSSU 2020; 28(6): 2755-65.[Persian]
- 25-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(2): 64-71.
- 26-Aghaei N, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Shadmehri S, Jahani Golbar S. *The Effect of 4 Weeks' Aerobic Training on the Content of Mtorc1 Signaling Pathway Proteins in Heart Tissue of Type 1 Diabetes Rats.* IJDL 2019; 18(3): 116-25.[Persian]
- 27-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.* JQUMS 2020; 23(6): 484-93. [Persian]
- 28-Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. *Exercise Prevents Cardiac Injury and Improves Mitochondrial Biogenesis in Advanced Diabetic Cardiomyopathy with PGC-1 $\alpha$  and Akt Activation.* Cellular Physiol Biochem 2015; 35(6): 2159-68.
- 29-Liao J, Li Y, Zeng F, Wu Y. *Regulation of Mtor Pathway in Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy.* Int J Sports Med 2015; 36(05): 343-50.
- 30-Miyachi M, Yazawa H, Furukawa M, Tsuboi K, Ohtake M, Nishizawa T, et al. *Exercise Training Alters Left Ventricular Geometry and Attenuates Heart Failure in Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats.* Hypertension 2009; 53(4): 701-7.
- 31-De Souza EO, Tricoli V, Bueno Junior C, Pereira MG, Brum PC, Oliveira EM, et al. *The Acute Effects of Strength, Endurance and Concurrent Exercises on the Akt/Mtor/P70s6k1 and AMPK Signaling Pathway Responses in Rat Skeletal Muscle.* Brazilian J Med Biol Res 2013; 46(4): 343-7.
- 32-Shen WH, Chen Z, Shi S, Chen H, Zhu W, Penner A, et al. *Cardiac Restricted Overexpression of Kinase-Dead Mammalian Target of Rapamycin (Mtor) Mutant Impairs the Mtor-Mediated Signaling and Cardiac Function.* J Biol Chem 2008; 283(20): 13842-49.
- 33-Sciarretta S, Forte M, Frati G, Sadoshima J. *New Insights into the Role of Mtor Signaling in the Cardiovascular System.* Circul Res 2018; 122(3): 489-505.
- 34-Medeiros C, Frederico MJ, Da Luz G, Pauli JR, Silva AS, Pinho RA, et al. *Exercise Training*

- Reduces Insulin Resistance and Upregulates the Mtor/P70s6k Pathway in Cardiac Muscle of Diet Induced Obesity Rats.* J Cellular Physiology 2011; 226(3): 666-74.
- 35-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 Physiol 2008; 214(2): 316-21.
- 36-Kazemi F, Asl SZ. *The Correlation of Plasma Levels of Apelin-13 with Insulin Resistance Index and Plasma Leptin of Diabetic Male Rats after 8-Week Aerobic Exercise.* Res Med 2016; 39(4):163-8.
- 37-Mirsepassi M, Baneifar A A, Azarbayjani M A, 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.* JRUMS 2019; 17(12): 1119-30
- 38-Bacurau AV, Jannig PR, De Moraes WM, Cunha TF, Medeiros A, Barberi L, et al. *Akt/Mtor Pathway Contributes to Skeletal Muscle Anti-Atrophic Effect of Aerobic Exercise Training in Heart Failure Mice.* Int J Cardiol 2016; 214: 137-47.

## Effect of 8 Weeks of Endurance Training on S6K1 and 4EBP1 Proteins Content in the Left Ventricle of the Heart of Diabetic Rats Induced by Streptozotocin and Nicotinamide

Maryam Shabani<sup>\*1</sup>, Mohammad Sherafati Moghadam<sup>2</sup>, Kamilia Moghaddami<sup>3</sup>

### Original Article

**Introduction:** Physiological hypertrophy of the heart is dependent on cellular pathways and important proteins such as the ribosomal protein S6 kinase beta-1 (S6K1) and eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein-1 (4EBP1). The aim of this study was to investigate the effect of 8 weeks of endurance training on ribosomal protein S6 kinase beta-1 and eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein-1 in the left ventricle of the heart of diabetic rats induced by streptozotocin and nicotinamide.

**Methods:** In this experimental study, 12 two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of  $270 \pm 20$  g were selected. After diabetic induction with streptozotocin and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, training diabetic and control diabetic (6 heads in group each). The training group performed endurance training 4 days a week for 8 weeks according to the training program; while the control group did not have any training program. Also, rats did not receive any insulin treatment during the study period. Protein content was measured using the Western blot method. The Independent t-test and SPSS software version 16 was used to analyze the data.

**Results:** Eight weeks of endurance training resulted in a significant increase in S6K1 protein content ( $P=0.001$ ); There was also a significant increase in 4EBP1 protein content in the endurance training group compared to the control ( $P=0.0001$ ).

**Conclusion:** Eight weeks of endurance training resulted in a significant increase in S6K1 and 4EBP1 proteins in the hearts of diabetic subjects; activation of these proteins may regulate protein synthesis and cardiac hypertrophy.

**Keywords:** Endurance Training, Nicotinamide, Protein 4EBP1, Protein S6K1, Streptozotocin.

**Citation:** Shabani M, Sherafati Moghadam M, Moghaddami k. **Effect of 8 Weeks of Endurance Training on S6K1 and 4EBP1 Proteins Content in the Left Ventricle of the Heart of Diabetic Rats Induced by Streptozotocin and Nicotinamide.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(4): 3658-68.

<sup>1-3</sup>Department of Pure and Basic Science, Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran.

\*Corresponding author: Tel: 02633308523, email: maryam.shabani@hiau.ac.ir