مقاله پژوهشی

تاثیر چاقی القایی و تمرینات تناوبی شدید بر محور PI3K/AKT1/mTORc1 در بافت قلب موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار

سینا رضازاده[۱]، ساناز میرزایان شانجانی[۱*]، مجتبی ایزدی[۲]، سعید صداقتی[۱]، یاسر کاظم‌زاده[۱]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

*مسئول مکاتبات: san_mir2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴

DOI: 10.60833/ascij.2024.1575

چکیده

مطالعات اپیدمیولوژیکی همواره از چاقی به عنوان پیش زمینه دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی-عروقی حمایت نموده‌اند. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر تمرینات تناوبی شدید بر بیان برخی ژن‌های موثر در هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلبی (PI3K، AKT1 و mTORc1) در رت‌های چاق نژاد ویستار انجام گرفت. برای این منظور، از ۲۱ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای (۱۰ ± ۲۲۰ گرم)، ۱۴ سر پس از القای چاقی توسط ۶ هفته رژیم غذایی پر چرب به شیوه تصادفی به گروه‌های هفت‌تایی چاق کنترل و چاق تناوبی تقسیم شدند. هفت سر رت دارای وزن نرمال نیز به عنوان گروه نرمال انتخاب شدند. رت‌های گروه چاق تناوبی یک دوره تمرینات تناوبی ۸ هفته‌ای (۵ جلسه در هفته) در قالب دویدن‌های تناوبی روی تریدمیل را اجرا نمودند. گروه نرمال و چاق کنترل در برنامه تمرین شرکت نداشتند. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بیان ژن‌های PI3K، AKT1 و mTORc1 در بافت قلب اندازه‌گیری شد و توسط آزمون آنوای یکسویه و تست تعقیبی توکی بین گروه‌ها مقایسه شد. القای چاقی به کاهش AKT1، PI3K و mTORc1 در بافت قلب در گروه چاق کنترل نسبت به گروه نرمال منجر شد (p = ۰/۰۰۱). در مقایسه با گروه چاق کنترل، تمرینات تناوبی به افزایش بیان PI3K (p = ۰/۰۰۱) و mTORc1 (p = ۰/۰۰۱) منجر شد اما بیان AKT1 در پاسخ به تمرینات تناوبی تغییر معنی‌داری پیدا نکرد (p = ۰/۶۰۳). اجرای تمرینات تناوبی با بهبود بیان ژن‌های موثر بر هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب در رت‌های چاق همراه است. شناخت مکانیسم‌های سلولی مولکولی عهده‌دار این فرآیند نیازمند مطالعات بیشتری است.

کلمات کلیدی: چاقی، تمرین تناوبی، بیان ژن، هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب.

مقدمه

جدای از وراثت، بیماری‌های قلبی-عروقی در درجه اول در پاسخ به افزایش توده چربی بدن و چاقی بروز می‌کند. به گونه‌ای که اختلالات هورمونی، التهابی و متابولیکی همراه با ریسک فاکتورهای قلبی-عروقی در حضور چاقی میل به بیماری‌های قلبی-عروقی را رقم می‌زند (۱۴). در این میان، اختلال عوامل رونویسی یا مسیرهای سیگنالینگ موثر در کارایی بهینه قلب نیز از اهمیت خاصی برخوردارند. بطوریکه دگرگونی برخی مسیرهای سیگنالینگ موثر در هایپرتروفی پاتولوژیکی قلبی در پاسخ به چاقی یا بیماری‌های وابسته به چاقی به ناهنجاری‌های چون نارسایی قلبی یا انفارکتوس میوکارد منجر می‌شود. هایپرتروفی پاتولوژیکی قلبی

یک ریسک فاکتور مستقل موثر در گسترش مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی–عروقی است (۱۳). این عارضه می‌تواند در پاسخ به عواملی نظیر پرفشار خونی، بیماری‌های دریچه قلبی، انفارکتوس حاد میوکارد و نارسانی احتقانی قلب حاصل شود (۲۲). مکانیسم‌های سیگنالینگ دخیل در هایپرتروفی پاتولوژی قلبی در پاسخ به موارد متعددی نظیر مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1، Ca2C/calcinerin، فاکتور هسته‌ای فعال کننده سلول تی (NFAT)، NF-kB و پیامرسانی MAPKs حاصل می‌شود (۱۹). با این وجود، مکانیسم‌های اصلی عهده‌دار این فرآیند هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. از این رو، شناخت و درک فاکتورهای تنظیم کننده این نوع هایپرتروفی به اهداف درمانی در هایپرتروفی قلبی و نارسانی قلبی منجر می‌شود. از طرفی هایپرتروفی فیزیولوژیکی در پاسخ به مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی حاصل می‌شود. مسیر PI3K/AKT1 یکی از آبشارهای سیگنالینگ کلیدی است که توسط محرک‌هایی نظیر رسپتور IGF-1 (IGF-1R) فعال می‌شود. این مسیر سیگنالینگ نقش محوری را در تنظیم متابولیسم، جذب گلوکز، تکثیر و سنتز پروتئین که همگی به ترویج بقای سلولی منجر می‌شوند بازی می‌کند (۳۹). در این میان مقالات محدودی وجود دارند که در مورد نقش سیگنال PI3K/AKT در ارتقاء رشد فیزیولوژیکی و مهار هایپرتروفی پاتولوژیک بررسی انجام داده‌اند (۳۰). در هایپرتروفی پاتولوژیک قلب مسیر سینالینگ CALCINURIN/NAFT وجود دارد که منجر به بیان ژن هایپرتروفی می‌شود. در مقابل هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلبی مسیر PI3K/AKT غالب است که خود توسط PI3K فعال می‌گردد (۳۲). PI3K اینوسیتول لیپیدها که AKT1 را مستقیما فعال می‌کنند، فسفریله می‌کند و باعث انتقال AKT1 به غشای پلاسمائی سلولی می‌شود. در قلب فعال سازی AKT1 به وسیله انسولین و وضعیت تغذیه‌ای و همچنین تمرین ورزشی تنظیم می‌شود (۳۳). مشخص شده است که حذف AKT1 در موش‌های آزمایشگاهی به کاهش توده عضله قلبی و نقص در رشد فیزیولوژیکی قلبی منجر می‌شود (٤). بین افکتورهای پایین دست AKT، mTOR بواسطه فسفوریلیشن AKT فعال می‌شود. mTORc1 به عنوان یکی از ایزوفرم‌های mTOR سنتز پروتئین را بواسطه فعال کردن برخی مسیرهای پایین دستی در طول رونویسی پروتئین تحریک می‌کند که با تسریع رونویسی پروتئین و افزایش توده و رشد سلول می‌شود (۳۸). در یک جمع‌بندی این فرضیه مطرح می‌شود که افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1/mTORc1 در پاسخ به محرک‌های داخلی یا بیرونی با هایپرتروفی بطن چپ و بافت قلبی همراه است. در این زمینه، مطالعات نشان می‌دهد که AKT1 در تنظیم هایپرتروفی قلبی فیزیولوژیکی ناشی از تمرین نقش دارد (۳٦). ابرت و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که تمرین هوازی موجب افزایش قطر بطن چپ و بهبود عملکرد دیاستولی‌های بطن چپ می‌شود (۲۷). همچنین راولینز و همکاران (۲۰۰۹) نتیجه گرفتند که شرکت در ورزش‌های منظم شدید موجب افزایش ضخامت دیواره بطن چپ و اندازه حفره‌ها می‌شود که یک تغییر فیزیولوژیکی ناشی از تمرینات ورزشی است (۳۰). همچنین نشان داده شده است که فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش فعالیت عامل (PI3K/P110α) قلبی در موش‌ها می‌شود (۲۸). تمرینات استقامتی مداوم از نوع حاد در زمان ٤٥ تا ٦٠ دقیقه با ٦٥ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی منجر به افزایش فعالیت PI3K در عضلات افراد سالم تمرین کرده و افراد چاق دارای مقاومت به انسولین می‌شود (١٦). از طرفی، مطالعات روی گونه‌های حیوانی آشکار نموده است که یک جلسه ورزش در قالب شنای شدید برای

۱۲۰ دقیقه و یا ٦۰ دقیقه دویدن با سرعت ۲۲ متر در دقیقه و شیب ۱۰ درصد است منجر به افزایش ناگهانی در فسفریلاسیون و فعالیت‌های مولکولی کلیدی AKT منجر می‌گردد (١٦). برخی مطالعات انسانی و حیوانی نیز از عدم پاسخ PI3K به تمرینات حاد ورزشی اشاره نموده اند(۹). ما و همکاران (۲۰۱۳) نیز به افزایش محتوای پروتئین‌های AKT و mTORc1 در پاسخ تمرینات شنا اشاره نموده‌اند (۲۱). در مطالعه آقایی و همکاران (۲۰۱۹) نیز ٤ هفته تمرین هوازی به افزایش محتوای پروتئین AKT1 و mTORc1 در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۱ منجر شد اما در مطالعه مذکور بیان ژن این متغیرها اندازه-گیری نشد (۱). با این وجود، در مطالعه معینی و همکاران (۲۰۱۹) ۸ هفته تمرین مقاومتی به تغییری در بیان mTORc1 در بافت قلبی رت‌های چاق منجر نشد (٢٦). در میان مطالعات روی هایپرتروفی قلبی، اثر تمرینات تناوبی بر عوامل رونویسی موثر در هایپرتروفی فیزیولوژیکی بافت قلبی کمتر به چشم می‌خورد. این در حالی است که برخی اثرات فیزیولوژیکی تمرینات هوازی در پاسخ به تمرینات تناوبی سریعتر حاصل می‌شود (١٥). در یک جمع-بندی، با توجه به محدودیت مطالعات در اندازه‌گیری بیان ژن‌های مذکور به تمرینات ورزشی و همچنین عدم اندازه‌گیری همزمان بیان PI3K, AKT1 و mTORc1 در پاسخ به تمرینات ورزشی در رت‌های چاق و همچنین وجود مطالعات محدود در این زمینه با مداخله تمرینات تناوبی، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر یک دوره تمرینات تناوبی شدید در قالب دویدن روی تریدمیل بر بیان ژن‌های PI3K, AKT1 و mTORc1 در بافت قلب در رت‌های چاق شده توسط رژیم غذایی پرچرب انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری این مطالعه تجربی (کد اخلاق: IR.IAU.PIAU.REC.1400.015) را کلیه رت‌های نر ویستار حیوان خانه انستیتو پاستور ایران تشکیل می-دهند که از بین آنها ۲۱ سر رت ۱۰ هفته‌ای در دامنه وزنی ۱۰ ± ۲۲۰ گرم به شیوه تصادفی جهت شرکت در مطالعه انتخاب شدند. بطوریکه از میان ۲۱ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای (۱۰ ± ۲۲۰ گرم)، ١٤ سر پس از القای چاقی به شیوه تصادفی به گروه‌های چاق کنترل (n = ۷) و چاق ورزش (n = ۷) تقسیم شدند و هفت سر رت دارای وزن نرمال نیز به عنوان گروه نرمال انتخاب شدند. کلیه رت‌های مورد مطالعه در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ٦ عصر و شروع خاموشی ٦ صبح) با دمای (۳ ± ۲۲ سانتی‌گراد)، و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ٦۰ نگهداری شدند. تعداد سه رت در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ٤۳ سانتی‌متر به گونه‌ای نگهداری شد که آزادانه به آب و غذای پر چرب (گروه‌های چاق) و استاندارد (گروه نرمال) دسترسی داشته باشند. رژیم غذایی پرچرب برای گروه‌های چاق و رژیم غذایی استاندارد برای گروه نرمال تا پایان مطالعه ادامه داشت. در سرتا سر دوره تحقیق رت‌ها توسط یک نفر جابجا و دستکاری خواهند شد.

شیوه القاء چاقی: برای ایجاد چاقی، از رژیم غذایی پرچرب برای مدت ۸ هفته استفاده شد. جهت تهیه غذای پرچرب، ابتدا غذای استاندارد از شرکت خوراک دام پارس تهیه گردید سپس آن را خمیر کرده و ۱ درصد پودر کلسترول و ۱ درصد روغن ذرت ۱۰۰ درصد خالص به آن اضافه شد و مجددا به صورت پلت در آورده شده و به صورت آزادانه جهت تغذیه در اختیار رت‌ها قرار گرفت (۱۰).

پروتکل تمرینی: پس از القای چاقی، ۱۴ سر رت چاق شده به ۲ گروه چاق کنترل (n = ۷) و چاق تناوبی (n = ۷) تقسیم شدند. از طرفی، ۷ رت که رژیم غذایی پر چرب را دریافت نکرده‌اند را گروه نرمال تشکیل می‌دهند. در ادامه رت‌های گروه چاق تناوبی برای مدت ۸ هفته تمرین تناوبی شدید را به تعداد ۵ جلسه در هفته در قالب دویدن تناوبی روی تریدمیل تجربه نمودند (۱۰)(جدول ۱). رت‌های گروه چاق کنترل و گروه نرمال در این دوره تمرینی شرکت ندارند. نهایتا ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌های مورد مطالعه در همه گروه‌ها بعد از یک گرسنگی شبانه تشریح شدند.

نمونه‌گیری بافتی و استخراج RNA: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت‌های مورد مطالعه در هر گروه بواسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و نمونه خون بطور مستقیم از قبل حیوان گرفته شد. در ادامه بافت قلب رت‌ها نمونه برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش های ژنتیک غوطه ور گردید(۱۰). استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام گرفت. تعیین gene mRNA توسط RT-Real time PCR بوسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک‌مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستورالعمل شرکت استفاده گردید (۱۰). از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۲ بیان شده اند.

آنالیز آماری: از آزمون شاپرو ویلک جهت اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها استفاده گردید. برای توصیف داده و رسم نمودارها از آمار توصیفی و برای مقایسه گروه‌ها در متغیرهای مورد مطالعه از آزمون آنوای یکسویه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌دار نیز آلفای کمتر از ۵ صدم در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win نسخه ۲۲ انجام گرفت.

جدول ۱- پروتکل تمرینات تناوبی بر حسب سرعت و زمان در موش‌های صحرایی گروه تمرینی تناوبی

جلسات تمرین (هفته)	مرحله فعالیت (شیب صفر)		مرحله استراحت (شیب صفر)	
	سرعت(m/min)	زمان (s)	سرعت(m/min)	زمان (s)
اول و دوم	۲۰	۴۰	۱۴	۱۲۰
سوم و چهارم	۲۵	۴۰	۱۴	۱۲۰
پنجم و ششم	۳۰	۴۰	۱۴	۱۲۰
هفتم و هشتم	۳۵	۴۰	۱۴	۱۲۰

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	Tm	Gene Bank
PI3K	For: ACTGAGATGGAGACACGGAAC Rev: GCATCCAAGGGTCCAGTTAGTG	159 bp	60	NM_001191052.1
AKT1	For: AGGAGGTCATCGTTGCCAAG Rev: GCTCACGAGACAGGTGGAAG	164 bp	60	XM_008759265.1
mTORc1	For: TGCAGCCTGACCAATGATGTG Rev: CTTGTGTCCGGCAGCATCATC	164 bp	60	XM_008759265.1
RNA PolymraseII	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	XM_008759265.1

نتایج

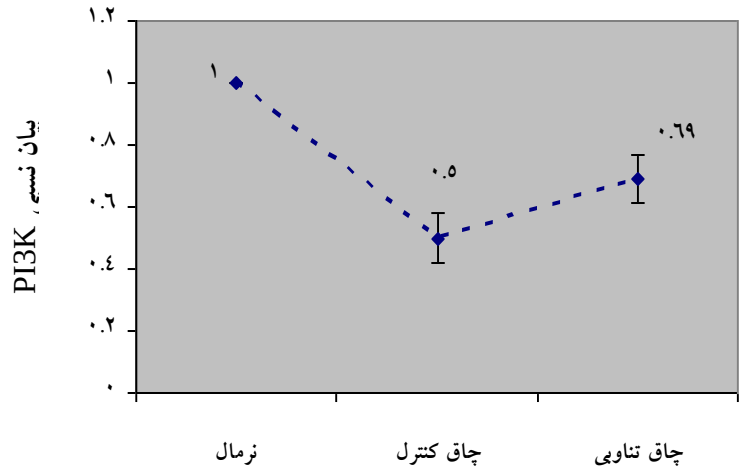
جدول ۳ الگوی تغییرات وزن بدن را در شرایط قبل و پس از مداخله در گروه‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج آزمون آنوای یکسویه بیانگر تفاوت معنی‌دار بیان هر یک از ژن‌های مورد مطالعه (mTORc1، PI3K و AKT1) بین گروه‌های پژوهش است (p = ۰/۰۰۱). از طرفی یافته‌های آزمون تعقیبی توکی آشکار نمود که القای چاقی به کاهش معنی‌دار بیان هر یک از ژن‌ها در گروه چاق کنترل نسبت به گروه نرمال منجر می‌شود (p = ۰/۰۰۱). یافته‌های آزمون تعقیبی Tukey همچنین آشکار نمود که اجرای تمرینات تناوبی به افزایش معنی‌دار بیان PI3K (نمودار ۱) و mTORc1 (نمودار ۲) در گروه چاق تناوبی نسبت به گروه چاق کنترل منجر می‌شود (p = ۰/۰۰۱). با این وجود، تغییر معنی‌داری در بیان AKT1 (نمودار ۳) در پاسخ به تمرینات تناوبی نسبت به گروه چاق کنترل مشاهده نشد (p = ۰/۶۰۳).

جدول ۳- وزن بدن (گرم) در شرایط قبل و بعد از مداخله تمرینی در گروه‌های مورد مطالعه (انحراف استاندارد + میانگین).

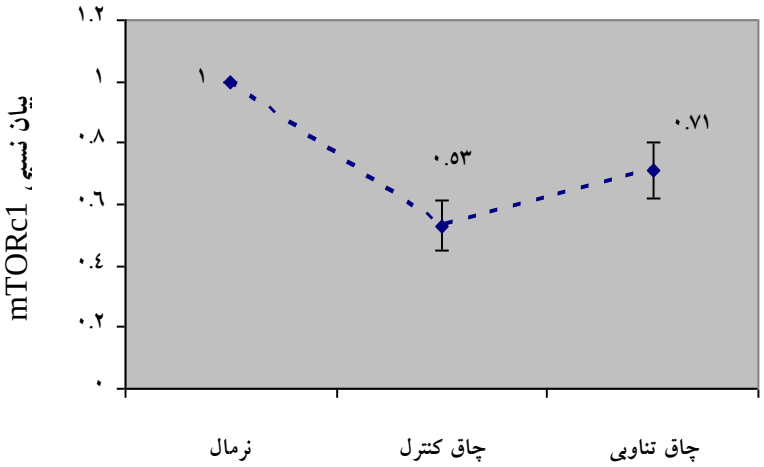
گروه	قبل از مداخله	بعد از مداخله	سطح معنی‌داری (تی زوج)
نرمال	۲۷۲ ±۱۰	۲۸۲ ± ۷	۰/۰۲۳
چاق کنترل	۳۷۷ ± ۱۱	٤۲۲ ± ۱۵	۰/۰۰۱
چاق تناوبی	۳۷۸ ± ۱۰	۳۸۸ ± ۷	۰/۰٤۳
سطح معنی‌داری (آنوای یکطرفه)	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	-----

جدول ٤- تغییرات PI3K در پاسخ به القای دیابت و مداخله تمرینی نسبت به گروه نرمال

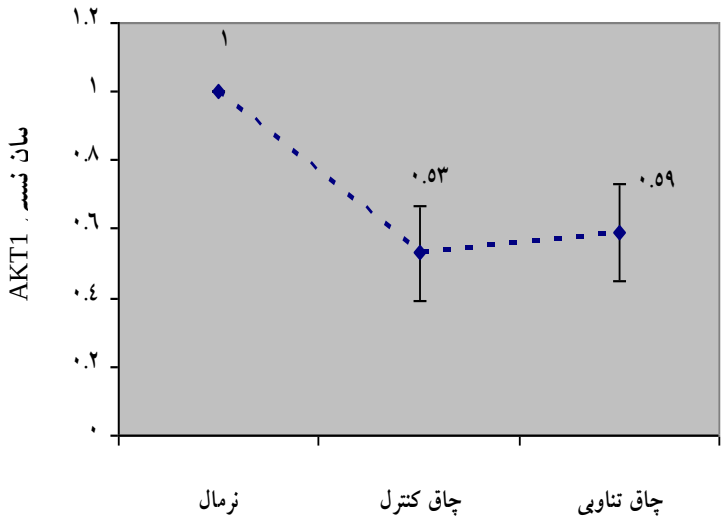
گروه	نرمال	چاق کنترل	چاق تناوبی
بیان نسبی PI3K	۱	۰/۵۰ ± ۰/۰۸	۰/٦۹ ± ۰/۰۸
بیان نسبی AKT1	۱	۰/۵۳ ± ۰/۱٤	۰/۵۹ ± ۰/۱٤
بیان نسبی mTORc1	۱	۰/۵۳ ± ۰/۰۸	۰/۷۱ ± ۰/۰۹



نمودار ۱- سطوح نسبی بیان PI3K در گروه‌های مورد مطالعه. القای چاقی به کاهش بیان PI3K در بافت قلب رت‌های چاق نسبت به رت‌های دارای وزن نرمال و تمرینات تناوبی به کاهش آن منجر می‌شود.



نمودار ۲- سطوح نسبی بیان mTORc1 در گروه‌های مورد مطالعه. القای چاقی به کاهش بیان mTORc1 در بافت قلب رت‌های چاق نسبت به رت‌های دارای وزن نرمال و تمرینات تناوبی به کاهش آن منجر می‌شود.



نمودار ۳- سطوح نسبی بیان AKT1 در گروه‌های مورد مطالعه. القای چاقی به کاهش بیان AKT1 در بافت قلب رت‌های چاق نسبت به رت‌های دارای وزن نرمال منجر می‌شود اما توسط تمرینات تناوبی متاثر نمی‌شود.

بحث

بهبود محور مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1/mTORc1 یافته اصلی مطالعه حاضر است. به عبارتی، علیرغم عدم تغییر AKT1، افزایش بیان PI3K و mTORc1 در بافت چربی به اثرات قلبی-عروقی تمرینات تناوبی شدید در رت‌های چاق اشاره دارد. در خصوص تاثیر تمرینات تناوبی بر مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1/mTORc1 در بافت قلب جمعیت‌های چاق اگرچه مطالعات محدودند اما برخی مطالعات تاثیر شیوه‌های تمرینی مختلف بر هر یک از آنها را به تفکیک گزارش نموده‌اند. بطوریکه در مطالعه میرسپاسی و همکاران (۲۰۱۹)، ۱۲ هفته تمرین تناوبی به افزایش بیان AKT1 و mTORc1 در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۲ منجر شد (۲٤). معینی و همکاران (۲۰۲۰) نیز افزایش بیان AKT1 در بافت قلب رت‌های دیابتی در پاسخ به تمرینات تناوبی را گزارش نموده‌اند (۲۵). با این وجود، برخی مطالعات عدم تاثیر تمرینات ورزشی حاد بر روی تغییرات سیگنالینگ وابسته به انسولین نظیر PI3K را گزارش نموده‌اند (۹، ۳۷). در حالیکه دیگر مطالعات همسو با مطالعه حاضر عنوان نموده‌اند که تمرینات استقامتی مداوم از نوع حاد در زمان ٤٥ تا ٦٠ دقیقه با ٦٥ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی منجر به افزایش فعالیت PI3K در عضلات افراد سالم تمرین کرده و همچنین افراد با مقاومت انسولین می‌شود (۷ ، ١٦). در مطالعه دیگری که توسط باکورا و همکاران (۲۰۱٦) گزارش شد، کاهش آتروفی عضلانی موش‌های دارای نارسایی قلبی به افزایش فعالیت مسیر سیگنالینگ IGF-I/Akt/mTOR در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت داده شد (۲). لیائو و همکاران (۲۰۱۵) نیز هایپرتروفی قلبی در موش‌های آزمایشگاهی را به افزایش بیان AKT1 و mTORc1 متعاقب تمرینات هوازی ۸ هفته‌ای نسبت داده‌اند (۲۰). از طرفی، Sturgeon و همکاران (۲۰۱۵)، عدم تغییر بیان AKT1 و mTORc1 در پاسخ به ۲ ماه تمرین هوازی روی تریدمیل را در موش‌های آزمایشگاهی گزارش نموده‌اند (۳٤). از طرفی، افزایش فعالیت عامل

(PI3K/P110α) قلبی موش‌ها در پاسخ به تمرینات ورزشی توسط برخی محققان گزارش شده است (۲۸). بطوریکه افزایش فعالیت PI3K در عضله اسکلتی افراد سالم ورزیده همچنین افراد دارای مقاومت انسولین در پاسخ به تمرینات استقامتی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشنه گزارش شده است (۱۶،۹). با این وجود، برخی مطالعات عدم تغییر PI3K و دیگر مسیرهای سینگالینگ منتهی به هایپرتروفی را متعاقب تمرینات ورزشی گزارش نموده‌اند (۹، ۳۷). محققان بر این عقیده‌اند که ویژگی-های غیرطبیعی عملکردی و سلولی-مولکولی پاتولوژیک قلب بواسطه افزایش فعالیت مسیرهای سیگنالینگ وابسته به IGF-1 و PI3K وابسته به ورزش برعکس می‌شود (۵). این محققان همچنین اشاره داشته اند که اگرچه این مسیرهای سیگنالینگ در پاسخ به دیابت ضعیف می‌شوند اما در پاسخ به تمرینات ورزشی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند (۵). اعتقاد بر این است که عملکرد قلبی در حضور چاقی و بیماری‌های وابسته نظیر دیابت می‌تواند به دلیل اختلال مسیر سیگنالینگ PI3K/ AKt مختل گردد و نشان داده شده است که این مسیر سیگنالینگ، بعد از یک دوره تمرین ورزشی به طور معنی‌داری افزایش یافته و منجر به بهبود عملکرد قلبی می‌گردد (۳). بخش عمده شواهدی که نشان دهنده نقش اصلی سیگنالینگ PI3K/ AKt/mTORc1 در هایپرتروفی قلبی ناشی از ورزش است، به خاطر پژوهش هایی است که در مدل ژنتیکی اصلاح شده موش‌ها صورت گرفته و ظرفیت عملکردی قلبی آنان در نتیجه اختلال در این مسیر سیگنالینگ از بین رفته است. علاوه بر این، شواهدی نیز از مطالعات انسانی وجود دارد که به اثر مسیر سیگنالینگ مذکور در هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب و نقش محافظتی آن در قلب پرداخته است (۶). با در نظر گرفتن اهمیت این مسیر سیگنالینگ در بازتوانی قلب بیماران دیابتی، در تحقیق حاضر، ورزش به عنوان مداخله ای در نظر گرفته شده است که احتمالا بتواند از طریق تاثیر بر مسیر سیگنالینگ PI3K/AKt/mTORc1 باعث بهبود عملکرد قلب و بازسازی بطن چپ افراد چاق شود. هدف قرار دادن تنظیم کننده های کلیدی هایپرتروفی قلبی ناشی از ورزش می‌تواند یک استراتژی امیدوار کننده در این رابطه باشد. اگرچه جدا از مداخلات کلینیکی و دارویی، الگوهای متفاوت فعالیت ورزشی به عنوان درمان‌های مکمل بیماران قلبی ناشی از دیابت همواره در کانون توجه پژوهشگران حوزه تندرستی بوده است اما مداخلات تمرینی گوناگون با متفاوت بودن شدت، مدت و تکرار جلسات تمرینی، نتایج متناقضی را در این زمینه بدست داده‌اند. گزارش شده است که در موش‌ها، فعالیت ورزشی میزان PI3K را افزایش داده و این امر همگام با افزایش سطح IGF1 در آنها رخ می‌دهد (۱۷). افزایش پروتئین PI3K در پژوهش زی چاو و همکاران (۲۰۱۳) با عنوان بررسی اثر تمرین شنا بر روی هایپرتروفی بطن چپ در موش‌ها با تمرکز بر مسیر سیگنالینگ PI3K/ AKt هم نشان داده شده بود(۴۰). در مطالعه مذکور، افزایش ۳۶ درصدی در پروتئین PI3K گزارش شده است در حالی که در پژوهش حاضر افزایش در بیان ژن PI3K مشاهده شد. ضمن اینکه این اختلاف را می‌توان احتمالا به وقایع پس از بیان ژن تا تولید پروتئین نسبت داد. می‌توان گفت که تفاوت شدت تمرینات بکار برده شده در HIIT نسبت به تمرین هوازی شنا در پژوهش زی چاو هم می‌تواند احتمالا در این تفاوت نتایج سهیم باشد. شدت تمرین ورزشی به عنوان یک متغیر تعیین‌کننده‌ی اولیه ارتقاء سطح متابولیسم و تعدیل‌کننده مسیرهای سیگنالینگ مولکولی PI3K/ AKt می‌باشد (۱۱). عدم تاثیر معنی‌دار تمرین تناوبی در بیان AKT1 در این تحقیق،

توسط تحقیقات دیگر نیز نشان داده شده است. به عنوان مثال. زوزانا کازیور (۲۰۱۶) که اثر تمرین قدرتی و ترکیب استقامتی قدرتی را روی بیان ژن AKT1 در دو گروه مردان بررسی نموده، عنوان کرده است که تنها تمرین ترکیبی استقامتی-قدرتی باعث افزایش بیان ژن AKT1 (که در هایپرتروفی عضلات نقش سیگنالینگ دارد) شده و در گروه تمرین مقاومتی این افزایش دیده نشده است (۱۸). این پژوهشگر در پایان اظهار می‌دارد که هایپرتروفی بیشتر در گروه ترکیبی به دلیل تحریک آنابولیکی بیشتر به جای مهار فرآیندهای کاتابولیکی است. با توجه به اثرات آتروفیکی و کاتابولیکی چاقی و دیابت بر عضله قلب، هایپرتروفی قلبی و افزایش بیان PI3K و mTORc1 در پاسخ به تمرینات تناوبی را شاید بتوان به سطوح پایه این متغیرها نسبت به گروه نرمال نسبت داد. بطوریکه مقایسه متغیرها بین گروه‌ها آشکار نمود که بیان PI3K و mTORc1 در گروه چاق کنترل به میزان معنی‌داری کمتر از گروه نرمال بود. در این زمینه، فالکوا و همکاران (۲۰۱۱) نیز با استناد به یافته‌های خود اشاره نموده‌اند که مقاومت انسولین که از ویژگی‌های بارز چاقی و دیابت است به اختلال در مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT1 منجر می‌شود (۱۲). از طرفی، افزایش فعالیت دیگر مسیرهای سیگنالینگ منتج به هایپرتروفی نظیر مسیر PI3K/P110α در قلب موش‌های آزمایشگاهی در پاسخ به تمرینات ورزشی نیز گزارش شده است (۳٤). در این زمینه، محققان بر این باورند که هدف قرار دادن مسیر IGF1/PI3K قلبی و دیگر مسیرهای سیگنالینگ وابسته به آن یک استراتژی بالقوه درمانی برای درمان بیماران قلبی است (۲۳). کاهش بیان این PI3K, AKT1 و mTORc1 در پاسخ به القای چاقی در مطالعه حاضر به نقش موثر این مسیر سیگنالینگ در هایپرتروفی قلبی یا هایپرتروفی عضلانی اشاره دارد. در این زمینه عنوان شده است که افزایش بیان MIR221 بواسطه مهار AKT به مهار هایپرتروفی قلبی بویژه بطن چپ منتهی می‌شود. به عبارتی بیش بیانی MIR221 بواسطه مهار مسیر سیگنالینگ AKT1/PI3k به مهار هایپرتروفی میوکارد می‌انجامد (۳۵). رشد هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب به فعالیت مسیرهای سیگنالینگ وابسته به PI3K متکی است (۸). برخی محققان این بهبود را به هایپرتروفی درونگری حفره‌های قلبی در پاسخ به اضافه بار فشاری ناشی از تمرینات ورزشی شدید نسبت داده‌اند (۲۹). برخی محققان بر این عقیده‌اند که تمرینات شدید حتی در حجم پایین‌تر بواسطه پیامرسانی قوی‌تر در فاکتورهای رونویسی نسبت به تمرینات سبک به اثرات بهتری در ساختار عضله قلبی منجر می‌شود که این فرایند در تمرینات تناوبی نیز قابل مشاهده است (۳۱). در یک جمع-بندی، القای چاقی به کاهش بیان PI3K، AKT1 و mTORc1 در رت‌های آزمایشگاهی منجر می‌شود و علیرغم عدم تغییر بیان AKT1 در پاسخ به تمرینات تناوبی اما بیان PI3K و mTORc1 در رت‌های چاق نسبت به گروهی که در تمرین شرکت نداشته‌اند افزایش معنی‌داری پیدا کرد. به عبارتی، یافته‌های مطالعه حاضر حتی با چشم‌پوشی از عدم تغییر AKT1 به اثرات قلبی-عروقی تمرینات تناوربی با تاکید بر هایپرتروفی فیزیولوژیکی آن اشاره دارد. علیرغم اینکه عدم تغییر بیان AKT1 تا اندازه‌ای بحث برانگیز است اما این عدم تغییر را شاید بتوان به تعداد کم نمونه های مورد مطالعه یا پراکندگی داده‌ها نسبت داد. اگرچه اندازه‌گیری بیان ژن‌های مذکور از نقاط قوت مطالعه حاضر است اما این ارزیابی به تنهایی معرف معرف پاسخ هالیپرتروفی قلبی به تمرینات ورزشی نیست چراکه مولفه‌های هورمونی و ژنتیکی متعددی نظیر میانجی‌های التهابی و ضد التهابی و معرف‌های

استرس اکسیداتیو در این فرایند موثرند و عدم اندازه-گیری آنها از محدودیت‌های مطالعه حاضر است.

نتیجه‌گیری

علیرغم عدم تغییر بیان AKT1، تمرینات تناوبی طولانی مدت با افزایش بیان PI3K و mTORc1 در بافت قلب رت‌های چاق همراه است. بر پایه این شواهد، می‌توان به اثرات قلبی-عروقی تمرینات تناوبی در رت‌های چاق اشاره نمود. عدم تغییر بیان AKT1 در پاسخ به این شیوه تمرینی را شاید بتوان به تعداد کم نمونه‌های مورد مطالعه یا پراکندگی نمرات نسبت داد. علیرغم شواهد مذکور، شناخت مکانیسم-های سلولی مولکولی عهده‌دار هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلبی مستلزم مطالعات بیشتری در این زمینه است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری انستیتو پاستور در آنالیز بیان ژن تشکر و قدردانی می‌نمایند. هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

منابع

1. Aghaei N., Sherafati Moghadam M., Daryanoosh F., Shadmehri S., Jahani Golbar S. 2019. The effect of 4 weeks aerobic training on the content of mTORc1 signaling pathway proteins in heart tissue of 1 diabetes rats, *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 18(3):116-125.

2. Bacurau A.V., Jannig P.R., de Moraes W.M., Cunha T.F., Medeiros A., Barberi L. 2016. Akt/mTOR pathway contributes to skeletal muscle anti-atrophic effect of aerobic exercise training in heart failure mice. *International Journal of Cardiology*, 214:137-147.

3. Bernardo B.C., Weeks K.L., Pretorius L., McMullen J.R. 2010. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacology and Therapeutics*, 128(1):191-227.

4. Chen W.S., Xu P.Z., Gottlob K., Chen M.L., Sokol K., Shiyanova T. 2001. Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the Akt1 gene. *Genes and Development*, 15(17):2203-2208.

5. Cheng S.M., Ho T.J., Yang A.L., Chen I.J., Kao C.L., Wu FN. 2013. Exercise training enhances cardiac IGFI-R/PI3K/Akt and Bcl-2 family associated pro-survival pathways in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal Cardiology*, 167(2):478-485.

6. Condorelli G., Drusco A., Stassi G., Bellacosa A., Roncarati R., Iaccarino G. 2002. Akt induces enhanced myocardial contractility and cell size in vivo in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(19):12333-12338.

7. Cusi K., Maezono A. 2000. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- andMAP kinase-mediated signaling in human muscle. *The Journal of Clinical Investigation*, 105(3):311-320.

8. DeBosch B., Treskov I., Lupu T.S., Weinheimer C., Kovacs A., Courtois M., Muslin A.J. 2006. Akt1 is required for physiological cardiac growth. *Circulation*, 113(17):2097-2104.

9. Deshmukh A., Coffey V.G., Zhong Z., Chibalin A.V., Hawley J.A., Zierath J.R. 2006. Exercise-induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS160 and filamin A in human skeletal muscle. *Diabetes*, 55(6):1776-1782.

10. Eizadi M., Mirakhori Z., Farajtabar B.S. 2019. Effect of 8-week interval training on protein tyrosine phosphatase 1B expression in gastrocnemius muscle and insulin resistance in rats with type 2 diabetes. *Avicenna Journal of Medical Biochemistry*, 7(2):51-56.

Hypertrophy via PI3K/Akt1 and AMPKa Signaling. *Frontiers in Pharmacology*, 10:537.

20. Liao J., Li Y., Zeng F., Wu Y. 2015. Regulation of mTOR Pathway in Exercise-induced Cardiac Hypertrophy. *International Journal of Sports Medicine*, 36(5):343-350.

21. Ma Z., Qi J., Meng S., Wen B., Zhang J. 2013. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *European Journal of Applied Physiology*, 113(10):2473-2486.

22. Ma Z.G., Zhang X., Yuan Y.P., Jin Y.G., Li N., Kong C.Y., Song P., Tang Q.Z. 2018. A77 1726 (leflunomide) blocks and reverses cardiac hypertrophy and fibrosis in mice. *Clinical Science (London)*, 132(6):685-699.

23. McMullen J.R., Shioi T., Huang W.Y., Zhang L., Tarnavski O., Bisping E. 2004. The insulin-like growth factor 1 receptor induces physiological heart growth via the phosphoinositide 3-kinase (p110alpha) pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 279(6):4782-4793.

24. Mirsepasi M., Baneifar A.A., Azarbayjani M.A., Arshadi S. 2019. 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. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 17(12): 1119-1130.

25. Moeini M., Behpoor N., Tadibi V. 2020. The effect of high-intensity interval training on the expression of protein kinase B (Akt gene) in the left ventricle of male rats with type 2 diabetes. *Journal of Jiroft University of Medical Sciences*, 7(2):332-340.

26. Moini A., Farsi S., Hoseini S., Mehrzad M. 2019. The Effect of Resistance Training on the Expression of Cardiac Muscle Growth Regulator Messenger Genes in

11. Engelman J.A., Luo J., Cantley L.C. 2006. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nature Reviews Genetics*, 7(8):606-619.

12. Falcao-Pires I., Hamdani N., Borbély A., Gavina C., Schalkwijk C.G., Van Der V.J. 2011. Diabetes mellitus worsens diastolic left ventricular dysfunction in aortic stenosis through altered myocardial structure and cardiomyocyte stiffness. *Circulation*, 124(10):1151-1159.

13. Ferrario C.M. 2016. Cardiac remodelling and RAS inhibition. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*, 10(3):162-171.

14. Ford E.S. 2005. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care*, 28(11):2745-2749.

15. Gibala M.J. 2007. High intensity interval training: new insights. *Sports Science Exchange*, 20(2):1-8.

16. Howlett K.F., Sakamoto K., Yu H., Goodyear L.J., Hargreaves M. 2006. Insulin-stimulated insulin receptor substrate-2-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity is enhanced in human skeletal muscle after exercise. *Metabolism*, 55(8):1046-1052.

17. Imbeault P. 2007. Environmental influences on adiponectin levels in humans. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(3):505-511.

18. Kazior Z., Willis S.J., Moberg M., Apró W., Calbet J.A., Holmberg H.C., Blomstrand E., 2016. Endurance Exercise Enhances the Effect of Strength Training on Muscle Fiber Size and Protein Expression of Akt and mTOR. *PLoS One*, 11(2):e0149082.

19. Li R., Shan Y., Gao L., Wang X., Wang X., Wang F. 2019. The Glp-1 Analog Liraglutide Protects Against Angiotensin II and Pressure Overload-Induced Cardiac

34. Sturgeon K., Muthukumaran G., Ding D., Bajulaiye A., Ferrari V., Libonati J.R. 2015. Moderate-intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte cross-sectional area. *Physiological Reports*, 3(5):e12406.

35. Su M., Wang J., Wang C., Wang X., Dong W., Qiu W. 2021. Correction: MicroRNA-221 inhibits autophagy and promotes heart failure by modulating the p27/CDK2/mTOR axis. *Cell Death and Differentiation*, 28(1):420-422.

36. Sussman M.A., Völkers M., Fischer K., Bailey B., Cottage C.T., Din S., 2011. Myocardial AKT: the omnipresent nexus. *Physiological Reviews*, 91(3):1023-1070.

37. Wojtaszewski J.F.P., Hansen B.F., Gade J. 2000. Insulin signaling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle. *Diabetes*, 49(3): 325-331.

38. Wu J., You J., Wang S., Zhang L., Gong H., Zou Y. 2014. Insights into the activation and inhibition of angiotensin II type 1 receptor in the mechanically loaded heart. *Circulation Journal*, 78(6):1283-1289.

39. Wu Q.Q., Xiao Y., Yuan Y., Ma Z.G., Liao H.H., Liu C., Zhu J.X., Yang Z., Deng W., Tang QZ. 2017. Mechanisms contributing to cardiac remodelling. *Clinical Science (London)*, 131(18):2319-2345.

40. Zhichao M.A., Jie Q.I., Shuai M., Baoju W., Jun Z. 2013. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/ mTOR signaling pathway. *European Jurnal of Applied Physiology*, 113(10):2473-2486.

Obese Male Rats. *Armaghane Danesh*, 24 (5):935-949.

27. Obert P., Mandigout S., Vinet A., N'guyen L., Stecken F., Courteix D. 2001. Effect of aerobic training and detraining on left ventricular dimensions and diastolic function in prepubertal boys and girls. *International Journal of Sports Medicine*, 22(2):90-96.

28. Perrino C., Schroder J.N., Lima B. 2007. Dynamic regulation of phosphoinositide 3-kinase-gamma activity and beta-adrenergic receptor trafficking in end-stage human heart failure. *Circulation*, 116(22):2571-2579.

29. Rahbar S., Ahmadiasl N. 2012. Effect of Long Term Regular Resistance Exercise on Heart Function and Oxidative Stress in Rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*, 12(3):256-264. [Persian]

30. Rawlins J., Bhan A., Sharma S. 2009. Left ventricular hypertrophy in athletes. European Heart *Journal- Cardiovascular Imaging*, 10(3):350-356.

31. Schoenfeld B.J. 2010. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(10):2857-2872.

32. Shiojima I., Walsh K. 2006. Regulation of cardiac growth and coronary angiogenesis by the Akt/PKB signaling pathway. *Genes and Development*, 20(24):3347-3365.

33. Shiojima I., Yefremashvili M., Luo Z., Kureishi Y., Takahashi A., Tao J., Rosenzweig A., Kahn C.R., Abel E.D., Walsh K. 2002. Akt signaling mediates postnatal heart growth in response to insulin and nutritional status. *J Biol Chem*, 277(40):37670-37677.

Effect of Induced Obesity and Intense Interval Training on PI3K/AKT1/mTORc1 Axisin Cardiac Tissue of Male Wistar Rats

Sina Rezazadeh[1], Sanaz Mirzayan Shanjani [1]*, Mojtaba Eizadi [2], Saeid Sedaghaty[1], Yaser Kazemzadeh[1]

1. Department of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Exercise Physiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

Abstract

Epidemiological studies have always supported obesity as a cause of type 2 diabetes and cardiovascular diseases. The present study was conducted with the aim of determining the effect of intense interval exercise on the expression of some genes effective in physiological cardiac hypertrophy (PI3K, AKT1, mTORc1) in obese Wistar rats. For this purpose, from 21 male Wistar rats aged 10 weeks (220 ± 10 g), 14 after induction of obesity by 6 weeks of high-fat diet (HFD) were randomly divided to control obese (n = 7) or interval obese (n = 7) groups. Also, 7 rats with normal weight were selected as normal group. The interval obese rats were completed 8-weeks interval training (5 times weekly) in the form of interval runs on the treadmill. The control obese and normal groups did not participate in the exercise program. 48 hours after the last training session, the expression of PI3K, AKT1 and mTORc1 genes in heart tissue was measured and compared between groups by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test. Induction of obesity led to a significant decrease in PI3K, AKT1 and mTORc1 in the heart tissue in the obese control group compared to the normal group (p = 0.001). Compared to the obese control group, interval training increased the expression of PI3K (p = 0.001) and mTORc1 (p = 0.001), but AKT1 expression did not change significantly in response to interval training (p = 0.603). Interval training is associated with improving the expression of genes affecting the physiological hypertrophy of the heart tissue in obese rats. Knowing the molecular cellular mechanisms responsible for this process requires more studies.

Keywords: Obesity, Interval training, Gene expression, Physiological cardiac hypertrophy.