فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۶۳، دوره ۱۶، شماره ۳، تابستان۱۴۰۲، صفحه ۸۶ تا ۹۸
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۹۸۸۰-۱۷۳۵

تأثیر دو نوع تمرین (تداومی و تناوبی) و داروی آترواستاتین بر بیان ژن‌های PP2Ac و GSK-3β بافت قلب رت‌های مدل دیابتی

مریم ابراهیمی [۱]، **حبیب اصغرپور** [۲]، پروین فرزانگی [۳]، رضا رضایی شیرازی [۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران
۲- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران .نویسنده مسئول: Dr.habibasgharpour@aliabadiau.ac.ir
۳- دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران
۴- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی آباد کتول، ایران

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۶/۰۳ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸**

چکیده:

زمینه و هدف: به غیر از فشارخون بالا و بیماری عروق کرونر دیابت نیز می‌تواند به‌طور مستقیم بر ساختار و عملکرد قلب تأثیر گذارد و عارضه‌ای را که کاردیومیوپاتی دیابتی نام گرفته است به‌دنبال داشته باشد، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر دو نوع تمرین (تداومی و تناوبی) و داروی آترواستاتین بر بیان ژن‌های PP2Ac و GSK-3β بافت قلب رت‌های مدل دیابتی می‌باشد.

مواد و روش: ۶۴ سر موش صحرایی نر، که در ۸ گروه به‌صورت تصادفی تقسیم‌بندی شدند: شامل ۱) کنترل، ۲) دیابتی، ۳) دیابتی+ تداومی، ۴) دیابتی + تناوبی، ۵) آترواستاتین، ۶) تداومی + آترواستاتین، ۷) تناوبی + آترواستاتین و ۸)سالین. رت‌ها دو نوع تمرین تداومی و تناوبی را ۵ روز در هفته و به‌مدت ۸ هفته اجرا نمودند. آترواستاتین به‌صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد.

نتایج: القای دیابت منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن PP2Ac و افزایش معنی‌دار بیان ژن GSK-3β بافت قلب رت‌ها شد، که انجام تمرین تداومی و ترکیب تمرین تناوبی و تداومی با داروی آترواستاتین منجر به افزایش PP2Ac و کاهش GSK-3β بافت قلب رت-های دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی گردید.

نتیجه‌گیری: این احتمال وجود دارد که فعالیت ورزشی منظم در ترکیب با آترواستاتین به‌تواند از طریق افزایش ژن PP2Ac و کاهش ژن GSK-3β بافت قلب از توسعه کاردیومیوپاتی که در اثر القای دیابت به‌وجود آمد جلوگیری نماید و دارای اثر حفاظتی بر قلب باشد.

کلمات کلیدی: تمرینات تداومی و تناوبی، آترواستاتین، کاردیومیوپاتی دیابت، GSK-3β، PP2Ac.

مقدمه:

دیابت نوع ۲ یک بیماری متابولیک پیچیده است که با عوامل محیطی و ژنتیکی مانند: ژن‌های مستعد کاستی در سنتز انسولین، مصرف غذاهای پرکالری، عدم فعالیت بدنی، مصرف زیاد الکل و چاقی همراه است که منجر به نقص در ترشح و سیگنال‌دهی انسولین می گردد و به‌دنبال آن هایپرگلیسمی و مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود (۱). امروزه بررسی‌های بالینی و آزمایشگاهی به‌خوبی نشان داده‌اند که دیابت جدای از فشارخون بالا و بیماری عروق کرونر، می‌تواند به‌طور مستقیم بر ساختار و عملکرد قلب تأثیر گذارد و عارضه‌ای را که کاردیومیوپاتی دیابتی نام گرفته است به‌دنبال داشته باشد. این بیماری با نارسایی بطنی، در غیاب فشارخون بالا و آترواسکلروز مشخص می‌شود. این اختلال در قلب کامل، بافت و میوسیت‌های ایزوله‌شده از بیماری دیابتی مشاهده شده است (۲، ۳).

سازوکار دقیق بروز کاردیومیوپاتی دیابتی به‌خوبی شناخته نشده است؛ اما سازوکارهای متعددی از جمله نقص در بیان پروتئین‌های مسیر راپامایسین در پستانداران (۴)، اختلال متابولیسم انسولین (۵) و ناهنجاری‌های میوفیلامنت‌ها (۶) در بروز این عارضه دخیل هستند. اختلال در سوخت و ساز انسولین در قلب، کلید اصلی در پاتوفیزیولوژیک اختلال مرتبط با کاردیومیوپاتی دیابتی است. اختلال سیگنالینگ در مسیرهای مرتبط با سیگنالینگ انسولین می‌تواند مسیر بسیار مهمی مانند GSK-3β/PP2Ac/ NF-κB را دچار اختلال کند (۵، ۶).

نیزامودینوا[1] و همکاران (۷) یافتند که سرکوب فعال‌سازی PP2Ac به فسفوریلاسیون IKK/IκBα پایدار و متعاقب آن انتقال هسته‌ای NF-κB کمک می‌کند، و آپوپتوز را در کاردیومیوسیت‌های درمان‌شده با گلوکز بالا شروع می‌کند. جالب است بدانید که غیرفعال‌سازی PP2Ac، که ناشی از فعال شدن GSK-3β است، در هر دو سلول HEK293[2] و N2a[3] گزارش شده است (۸). افزایش فعالیت GSK-3β در دیابتی‌ها و در مقاومت به انسولین نشان داده شد. بنابراین، GSK-3β فعال‌شده ممکن است منجر به غیرفعال‌شدن PP2Ac و متعاقب آن فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته‌ای NF-κB شود. سرانجام این می‌تواند منجر به ایجاد آپوپتوز و توسعه کاردیومیوپاتی دیابتی شود. بنابراین داروهای مهارکننده‌ی GSK-3β ممکن است از عوامل بالقوه مفیدی برای درمان DCM[4] باشد (۹).

آترواستاتین یک داروی استاتینی است که فعالیت آنزیم ۳-هیدروکسی-۳ متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز[5] را مهار می‌کند. این آنزیم سنتز موالونات را کاتالیز می‌کند که فرایندی محدودکننده در بیوسنتز کلسترول است. کاهش کلسترول داخل سلولی منجر به افزایش جبرانی در برداشت کلسترول به‌وسیله گیرنده‌های لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL[6]) و کاهش کلسترول پلاسما می‌شود. استاتین‌ها جدا از کاهش کلسترول LDL، دارای مجموعه‌ای از اثرات مفید بر عناصر مختلف آترواسکلروز از جمله عملکرد اندوتلیال، مهاجرت سلول، التهاب و تمایل ترومبوتیک پلاک آترواسکلروزی هستند (۱۰).

یک مطالعه نشان داد که آترواستاتین توسعه DCM

[1] Nizamutdinova

[2] Human embryonic kidney 293
[3] Neuro2a
[4] Dilated cardiomyopathy

[5] 3-Hydroxy-3-Methyl glutaryl CoA Reductase
[6] Low-density lipoprotein

تجربی را، احتمالا به‌دلیل اثرات محافظتی‌اش در برابر آپوپتوز، و مستقل از کاهش کلسترول LDL کاهش داده است (۱۱). مطالعه‌ی دیگری گزارش داد که آترواستاتین برآمدگی نوریت در سلول‌های عصبی قشری کشت‌شده را با غیرفعال-کردن GSK-3β افزایش داد (۱۲).

از طرفی، توانبخشی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی یک مداخله غیردارویی مؤثر و شناخته‌شده می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت بدنی منظم بیان miRNAها را تعدیل می کند (۱۳)، و می‌تواند تغییرات مفیدی را در مسیرهای سیگنالینگ در دیابت ایجاد کند، هم‌چنین افزایش حساسیت به انسولین و کاهش مقاومت به انسولین را به‌همراه داشته باشد (۱). تمرین منظم ورزشی باعث بهبود عملکرد قلب در افراد مسن از طریق افزایش کسر تخلیه، برون‌ده قلبی و شاخص قلبی می‌شود (۱۴). اثر محافظت قلبی فعالیت ورزشی نه‌تنها عملکرد قلبی را بهبود می‌بخشد بلکه هم‌چنین به‌عنوان جایگزینی برای بهبود متابولیسم و عملکرد میتوکندری عمل می‌کند (۱۵). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی متابولیسم میتوکندری را از طریق افزایش سنتز ATP میتوکندریایی با فسفوریلایسون اکسیداتیو، و هم‌چنین تنفس میتوکندریایی را توسط تغییر بیان پروتئین میتوکندریایی در عضله اسکلتی بهبود بخشید (۱۶). با این‌حال مکانیسم‌های اساسی که فعالیت ورزشی عملکرد قلب را در کاردیومیوپاتی دیابتی بهبود می-بخشد کاملا مشخص نیست. لذا این پژوهش بنا دارد به بررسی دو نوع تمرین (تداومی و تناوبی) و داروی آترواستاتین بر بیان ژن GSK-3β و PP2Ac بافت قلب رت‌های مدل دیابتی بپردازد.

مواد و روش:

نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های آزمایشگاهی تشکیل دادند. با توجه به این که آزمودنی‌ها در آزمایشگاه به لحاظ بسیاری از متغیرها تحت کنترل بودند، از این رو پژوهش حاضر از نوع تجربی می‌باشد. این تحقیق در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری با کد اخلاق NO.19.33.2018 انجام شد.

جامعه و نمونه آماری: در این مطالعه تجربی تعداد ۶۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن حدود ۶ تا ۸ هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری انتخاب و وارد پژوهش شدند. سپس آن-ها در ۵ گروه بصورت تصادفی تقسیم بندی شدند که شامل ۱) کنترل سالم، ۲) کنترل دیابتی، ۳) دیابتی+ تداومی، ۴) دیابتی + تناوبی، ۵) آترواستاتین، ۶) تداومی + آترواستاتین، ۷) تناوبی + آترواستاتین و ۸)سالین بود. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تائید شد.

محیط پژوهش و تغذیه آزمودنی‌ها: پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه در قفس‌هایی از جنس پلی کربنات، دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵ ± ۵۵ درصد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب قرار گرفتند. آزمودنی‌ها جیره غذایی پر چرب به روش Zou و همکاران داشتند که امولسیون هر روز صبح به میزان ۱۰ میلی لیتر به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن به صورت گاواژ دریافت کرد. در تمام مراحل پژوهش، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژۀ حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آنها بود.

نحوه دیابتی کردن رت‌ها: پس از گروه بندی موش

ها برای دیابتی کردن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین[۷] (STZ) با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد که به صورت درون صفاقی به آن ها تزریق شد و برای اطمینان از دیابتی بودن موش ها از گوشه چشم نمونه های خونی تهیه شد و میزان گلوکز سنجش، که بالاتر از ۱۲۶ میلی گرم بر دسی لیتر در نظر گرفته شد.

پروتکل تمرین ورزشی: قبل از شروع پروتکل اصلی، برای آشنایی از فعالیت، موش‌ها به مدت یک هفته با تواتر پنج جلسه و به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر از تردمیل استفاده شد. برنامه تمرینی شامل دو پروتکل تمرین تداومی و تناوبی بود. برنامه تمرین تداومی مطابق جدول ۱ اجرا شد. از سویی دیگر برنامه تمرین تناوبی شامل شش ست ۲/۵ دقیقه ای بود که بین هر ست مدت زمان چهار دقیقه استراحت در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است تمرین تناوبی برای مدت ۵ جلسه در هفته انجام شد (جدول ۲). هم‌چنین موش‌های گروه کنترل بدون هیچ‌گونه تمرینی هشت هفته را پشت سر گذاشتند. **نحوه مصرف آترواستاتین:** آترواستاتین در گروه های دارو و دارو+تمرین، به‌صورت روزانه با دوز ۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد (۹).

نحوه جداسازی نمونه های بافتی: پس از اتمام دوره تمرینی ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی با ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین و زایلازین رت‌ها بی هوش شدند و نمونه‌گیری بافتی انجام شد. بدین ترتیب بافت قلب آنها جدا و در محیط ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به آزمایشگاه برای اندازه گیری متغیرهای PPA2c و NF-κB ارسال شد. بافت با استفاده از یک میلی مول محلول تریزول لیز و با دستگاه همگن کننده بافت، هموژن شد. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی لیتر کلروفرم صورت گرفت. RNA استخراج شده با یک میلی لیتر اتانول سرد ۷۰ درصد شستشو و خشک شدند. سپس به آن آب استریل (۱/۵ میکرولیتر بر میلی گرم بافت) اضافه شد. برای سنج کمی RNA استخراج شده از دستگاه بایوفتومر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده است. استخراج cDNA برای هر نمونه سه مرحله انجام گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا ۸ میکروگرم از RNA استخراج شده را با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم Dnase I و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC خورده مخلوط کرده و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه‌ریز در دستگاه ترموسایکر انکوبه شد.: ۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد، ۱۵ دقیقه در مای ۲۵ درجه سانتیگراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد. پس از اتمام مراحل ترموسایکلر ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به عنوان کنترل داخلی، برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. نمونه ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه RT-PCR با برنامه ریز PCR قرار گرفتند. ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه

[7] Streptozotocin

سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Cts مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه RT-PCR استخراج و در نهایت CT Mean سه مرتبه ثبت شد. پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش در جدول آورده شده است (جدول ۳). کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر با کمک فرمول لیواک انجام شد.

جدول ۱. پروتکل تمرین تداومی

هفته	سرعت	مدت
۱-۲	۱۴-۱۶	۵-۷
۳-۴	۱۹-۲۱	۱۰-۱۲
۵-۶	۲۳-۲۵	۱۵-۱۷
۷-۸	۲۹-۲۸	۲۱-۲۲

جدول ۲. پروتکل تمرین تناوبی

هفته	سرعت	مدت
۱-۲	۱۴-۱۶	۶ ست ۵/۲ دقیقه ای
۳-۴	۱۹-۲۱	*
۵-۶	۲۴-۲۵	*
۷-۸	۲۸-۲۹	*

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت طبقه‌بندی داده-های حاصل از این پژوهش، از آمار توصیفی استفاده شد. جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده گردید. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها و تعامل بین آنها از تحلیل واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P\leq ۰/۰۵$) بررسی شدند و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز از نرم افزار IBM SPSS Statistics نسخه ۲۰ استفاده

گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شدند.

توصیف PP2Ac: میانگین و انحراف معیار سطوح PP2Ac گروه‌های مختلف پژوهش در جدول ۴ ارائه شده است.

یافته‌ها:

جدول ۳. توالی پرایمرها

ژن		توالی پرایمر (´3→´5)
PP2Ac	Forward	CTAGAGGATGGCTGCACTAAACAC
	Reserve	AAGCAAACAGGGCCAATGTC
GSK-3β	Forward	CAAAGCAGCTGGTCCGAGG
	Reserve	TCCACCAACTGATCCACACCAC

جدول ٤: شاخص‌های مرکزی و پراکندگی سطوح PP2Ac در گروه‌های مختلف پژوهش

گروه	میانگین	انحراف معیار
سالم	.0678881	.00894189
بیمار	.0198084	.01484079
سالین	.0001903	.00012411
تناوبی	.0283415	.01557729
تداومی	.0570195	.01231068
دارو	.0001539	.00006956
تناوبی دارو	.0745074	.03221614
تداومی دارو	.0678881	.00894189

توصیف GSK-3β:میانگین و انحراف معیار سطوح GSK-3β گروه‌های مختلف پژوهش در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ٥: شاخص‌های مرکزی و پراکندگی سطوح GSK-3β در گروه‌های مختلف پژوهش

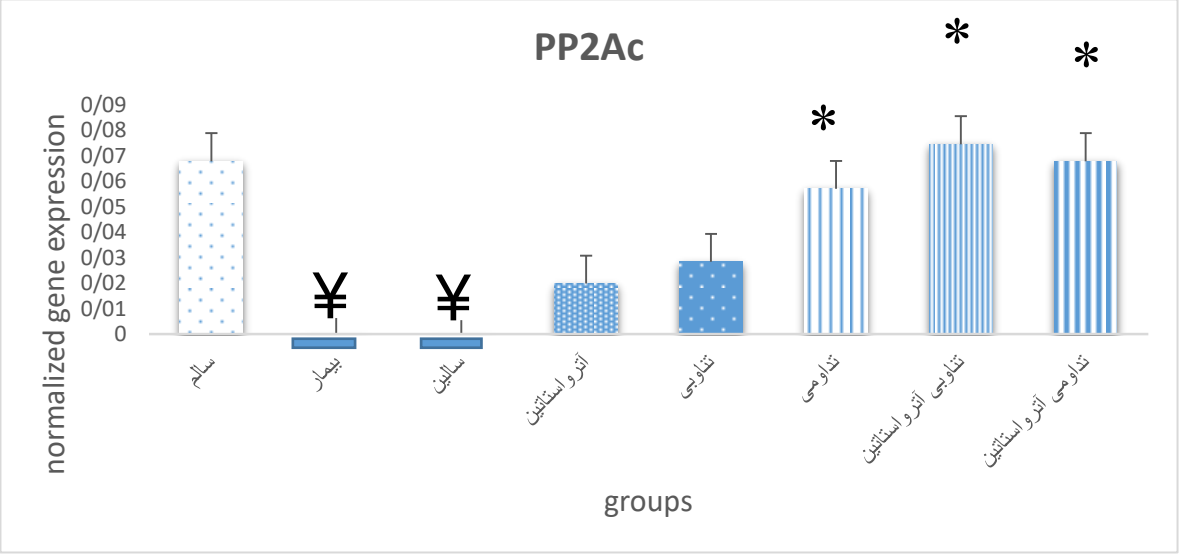
گروه	میانگین	انحراف معیار
سالم	.0003943	.00008009
بیمار	.0359855	.01118478
سالین	.0004840	.00018800
تناوبی	.0167863	.00630233
تداومی	.0113602	.00254599
دارو	.0277208	.00655106
تناوبی دارو	.0092787	.00417888
تداومی دارو	.0076252	.00331782

جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک استفاده شد که نتایج آن در جدول ۶ ارائه شده است.

جدول ٦. نتایج آزمون نرمال بودن داده‌ها

گروه	GSK-3β	PP2Ac
سالم	.975	.147
بیمار	.621	.057
سالین	.465	.054
تناوبی	.555	.133
تداومی	.471	.396
دارو	.867	.051
تناوبی دارو	.472	.629
تداومی دارو	.432	.147

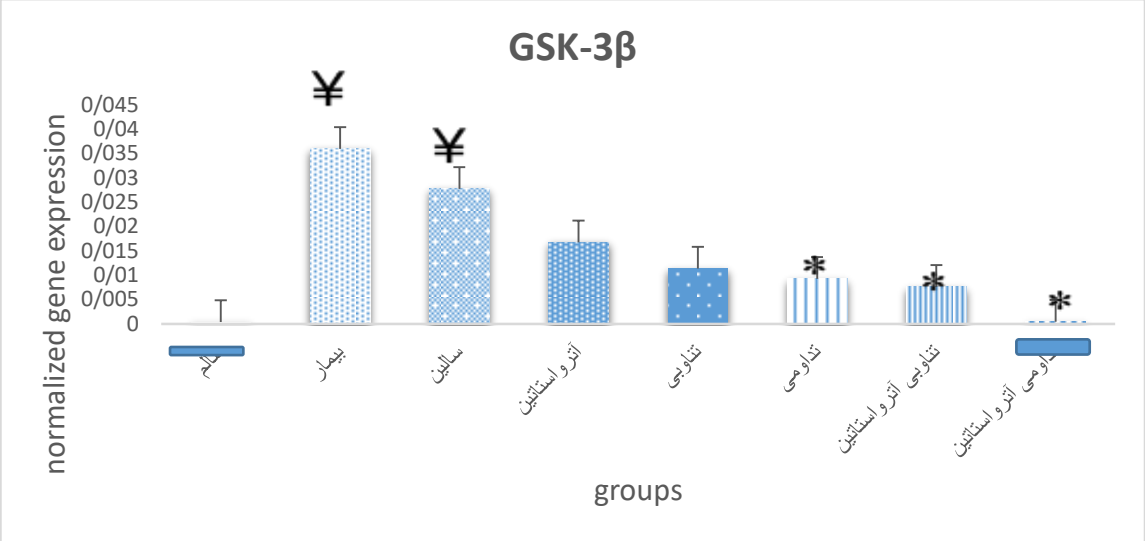
براساس داده‌های جدول ۶، چون در سطح اطمینان ۹۵٪ و خطای اندازه‌گیری ۵٪= α، برای کلیه متغیرها سطح معناداری Sig>۰/۰۵ محاسبه شد، لذا توزیع داده‌ها نرمال است و جهت تجزیه و تحلیل استنباطی داده‌ها، استفاده از آزمون‌های آماری پارامتریک مجاز است. القای دیابت سبب کاهش معنی‌دار (۷۰/۸۳۹ ٪) بیان ژن PP2Ac بافت قلب نسبت به گروه کنترل سالم شد (P=0.000). که انجام تمرینات تداومی (P=0.009)، تناوبی دارو (P=0.004) و تداومی دارو (P=0.001) سبب افزایش معنی‌دار این ژن در بافت قلب نسبت به رت‌های گروه کنترل دیابت شد، انجام تمرینات تداومی اثر بهتری نسبت به تمرینات تناوبی در افزایش این ژن داشت و هم‌چنین در گروه ترکیبی تمرین تداومی و تناوبی به‌همراه داروی آترواستاتین بهترین نتیجه حاصل شد و مقادیر به گروه کنترل سالم نزدیکتر بود (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه میانگین سطوح PP2Ac در گروه های مختلف پژوهش

*نشانه معنی‌داری نسبت به گروه بیمار ¥نشانه معنی‌داری نسبت به گروه سالم

هم‌چنین در مورد بیان ژن GSK-3β بافت قلب رت-ها، با القای دیابت بیان این ژن نسبت به گروه کنترل سالم افزایش (۹۹/۷۹٪) معنی‌داری داشت (P=0.000). گروه تمرینات تداومی (P=0.046)، تمرینات تناوبی دارو (P=0.017) و تمرینات تداومی دارو (P=0.007) باعث کاهش معنی‌دار این ژن نسبت به گروه کنترل دیابتی شدند. در مورد این ژن نیز اثر تمرین تداومی بهتر از تمرین تناوبی بود، هم‌چنین بهترین نتیجه در گروه تمرین تداومی دارو بدست آمد (نمودار ۲).



نمودار ۲. مقایسه میانگین سطوح GSK-3β در گروه های مختلف پژوهش

*نشانه معنی‌داری نسبت به گروه بیمار ¥نشانه معنی‌داری نسبت به گروه سالم

بحث

هایپرگلایسمی یکی از عوارض دیابت است که با افزایش تشکیل ROS و AGE[8] سبب فعال‌سازی NF-κB می‌شود (۱۷). هم‌چنین، چن[9] و همکاران (۲۰۱۱) فعال‌سازی سیگنالینگ NF-κB را با افزایش تخریب پروتئین عضله و با اختلال در تنظیم هموستاتیک توده عضلانی در دیابت مرتبط دانستند (۱۸). هم‌چنین افزایش سطح اینترلوکین‌ها و سایتوکاین‌هایی مانند TNF-α و IL-1β در پاسخ به فعال-سازی NF-κB سبب تشدید نوروپاتی و افزایش حساسیت به درد در نوروپاتی دیابتی می‌شود (۱۹)، بنابراین بکارگیری عواملی که به‌تواند تولید یا فعال‌سازی آن‌ها را مهار کند، ممکن است سبب تأخیر یا توقف عوارض ناشی از دیابت شوند. لذا در این پژوهش افزایش ژن PP2Ac و کاهش ژن GSK-3β بافت قلب رت‌های دیابتی ناشی از انجام تمرینات تداومی و تناوبی به‌همراه مصرف داروی آترواستاتین ممکن است با مهار فعال‌سازی NF-κB از القای آپوپتوز و توسعه کاردیومیوپاتی چلوگیری نماید.

چنگ[10] و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فعالیت PP2A در اثر ضدآپوپتوز و ضدالتهاب فعالیت ورزشی منظم

[8] Advanced glycation end-products
[9] Chen
[10] Cheng

روی کاردیومیوسیت‌های دیابت شرکت داشت (۲۰). در پژوهش حاضر نیز تمرینات تداومی منظم کاهش به‌وجود آمده در محتوای PP2A در اثر القای دیابت را تا حدودی جبران و به سطح PP2Ac موش‌های سالم نزدیک کرد. این احتمال وجود دارد که فعالیت بدنی از این طریق منجر به مهار سیگنالینگ NF-κB شده و از پیشرفت کاردیومیوپاتی ناشی از دیابت جلوگیری نماید. PP2A یک پروتئین ضدالتهابی و ضدسرطان قوی در سلول‌های پستانداران است (۲۱). گزارش شده است که PP2A باعث مهارشدن فعالیت مسیر سیگنالینگ NF-κB با کاتالیزکردن دفسفوریلاسیون IKK، IjBa و P56، در نتیجه کاهش در ورود هسته‌ای زیرواحدهای NF-κB و فعالیت رونویسی آن‌ها می‌شود (۲۲).

از دیگر نتایج پژوهش، دیابت سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن GSK-3β بافت قلب رت‌ها نسبت به گروه کنترل سالم شد. داروی آترواستاتین به‌تنهایی تغییر معنی‌داری در بیان این ژن نسبت به رت‌های گروه دیابت ایجاد نکرد، درحالی‌که آترواستاتین در ترکیب با تمرین تداومی و تمرین تناوبی سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن GSK-3β بافت قلب رت‌های دیابتی شد. همچنین، القای دیابت سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن PP2Ac بافت قلب رت‌ها نسبت به گروه کنترل سالم شد. داروی آترواستاتین به‌تنهایی تغییر معنی‌داری در بیان این ژن نسبت به رت‌های گروه دیابت ایجاد نکرد، درحالی‌که آترواستاتین در ترکیب با تمرین تداومی و تمرین تناوبی سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن PP2Ac بافت قلب رت‌های دیابتی شد.

افزودن داروی آترواستاتین به فرایند درمان همراه با تمرین منظم ورزشی، باعث بهبود قابل ملاحظه میزان آسیب در بافت قلب موش‌های دیابتی شده است. از طرف دیگر، با توجه به اینکه میزان بهبودی در گروه آترواستاتین، کمتر از گروه ترکیبی (آتورواستاتین+تمرین) بوده است، بنابراین می‌توان بخشی از بهبودی میزان آسیب در گروه ترکیبی به اثرات مفید تمرین ورزشی منظم نسبت داد که به نظر می‌رسد در حضور داروی آترواستاتین بروز کرده است، نشان داده شده است که داروی استاتینی علاوه بر کاهش کلسترول LDL، دارای اثرات گسترده‌ای بر عملکرد عروقی هستند. این اثرات شامل کاهش اندوتلین-۱ گردش خون، کاهش فعالیت عصبی سمپاتیک و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن است. استاتین‌ها به‌عنوان اتساع‌دهنده‌های عروقی عمل می‌کنند و باعث افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز اندوتلیالی (eNOS)، تولید نیتریک اکساید (NO) و در نتیجه بهبود عملکرد اندوتلیال می‌شوند (۹). هم‌چنین نشان داده شده است که این داروها باعث اعمال اثرات ضدالتهابی، ضداکسیدانی، رگ-زایی و پیشگیری از توسعه عوارض ناشی از دیابت بر بافت قلب می‌گردند (۲۳). ژیائو مین[11] و همکاران یافتند که ۱) غیرفعال‌سازی مداوم PP2Ac، ناشی از GSK-3β فعال‌شده، در کاردیومیوسیت‌های تحت درمان با گلوکز بالا منجر به فعال‌سازی مداوم مسیر سیگنالینگ NF-κB و شروع آپوپتوز می‌شود. ۲) فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته ی NF-κB در کاردیومیوسیت‌های تحت درمان با گلوکز بالا به‌طور قابل توجهی مهارشده بودند و آپوپتوز توسط درمان با آترواستاتین از طریق غیرفعال‌سازی GSK-3β و متعاقب آن فعال‌سازی PP2Ac کاهش یافت. ۳) فعال‌سازی GSK-3β، فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته ای NF-κB، اما نه فعال‌سازی PP2Ac در آزمودنی‌های دیابتی تحت درمان

[11] Xiao-min

با آترواستاتین سرکوب شد. ناهنجاری‌های بافت‌شناسی، فیبروز، آپوپتوز و اختلال عملکرد قلب هم‌چنین توسط تجویز آترواستاتین در آزمودنی‌های دیابتی بهبود یافته بود (۲۴).

آترواستاتین یک مهارکننده‌ی ردوکتاز HMG-CoA است و به‌عنوان داروی کاهنده‌ی کلسترول استفاده می‌شود. در مطالعات اخیر، این دارو پیشرفت DCM تجربی را، احتمالا با اثر حفاظتی در برابر آپوپتوز، و مستقل از خواص کاهش-دهنده‌ی کلسترول کاهش داد (۱۱). اثرات ضد آپوپتوتیک و محافظت قلبی آترواستاتین با مهار فعال‌سازی پایدار سیگنالینگ NF-κB توضیح داده می‌شود (۲۴).

فعال‌شدن GSK-3β ممکن است منجر به غیرفعال‌شدن PP2Ac و متعاقب آن فعال‌سازی مداوم سیگنالینگ NF-κB شود. در واقع، فسفوریلاسیون IKK/IκBα و انتقال هسته‌ای NF-κB در سلول‌هایی که بیان GSK-3β خاموش شده بود کاهش یافتند. این منجر به کاهش فعال‌شدن PP2Ac، در مقایسه با سلول‌های کنترل، در پاسخ به قرار گرفتن در معرض گلوکز بالا می‌شود. گزارش شده است که آترواستاتین از طریق غیرفعال‌کردن GSK-3β باعث افزایش رشد نوریت در سلول‌های عصبی قشر مغز می‌شود. بنابراین، اثرات ضدآپوپتوتیک و محافظت قلبی آترواستاتین در کاردیومیوسیت‌های کشت‌شده با گلوکز بالا، و در یک مدل تجربی DCM ممکن است به غیرفعال‌سازی GSK-3β و متعاقب آن فعال‌سازی PP2Ac و هم‌چنین به سرکوب فعال-سازی پایدار سیگنالینگ NF-κB بستگی داشته باشد. در مطالعه ژائو مین و همکاران فعالیت GSK-3β و فعال‌سازی پایدار سیگنالینگ NF-κB به‌طور قابل توجهی سرکوب شد، در حالی‌که فعال‌سازی PP2Ac، هم در کاردیومیوسیت‌های کشت‌شده با گلوکز بالا و هم در دیابت ملیتوس درمان‌شده با آترواستاتین ترمیم شد (۲۴).

نتیجه‌گیری

در اثر القای دیابت بیان ژن GSK-3β افزایش معنی‌دار و بیان ژن PP2Ac بافت قلب کاهش معنی‌داری یافتند، که انجام تمرینات تداومی و تناوبی به‌همراه مصرف داروی آترواستاتین این روند رو برعکس و به سطح بیان ژن گروه کنترل سالم نزدیک کرد. لذا این احتمال وجود دارد که فعالیت ورزشی منظم در ترکیب با مصرف داروی آترواستاتین بتواند از طریق افزایش ژن PP2Ac و کاهش ژن GSK-3β و مهار سیگنالینگ NF-κB از توسعه کاردیومیوپاتی که در اثر القای دیابت به‌وجود آمد جلوگیری نماید و دارای اثر حفاظتی بر قلب رت‌های دیابتی باشد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تعارض در منافع ندارند

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله، نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری اعلام می‌دارند.

فهرست منابع

1. Alex Cleber Improta-Caria, Ricardo Augusto Leoni De Sousa, Leonardo Roever, Tiago Fernandes, Edilamar Menezes de Oliveira, Roque Aras Júnior, Bruno Solano de Freitas Souza. MicroRNAs in type 2 diabetes mellitus: potential role of physical exercise. Rev. Cardiovasc. Med. 2022; 23(1): 029.

2. Jokar M, Sherafati Moghadam2 M, Salesi M. The effect of endurance exercise on the content of AMPK and PGC-1α

proteins in the left ventricular heart tissue of male rats with type2 diabetes. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism; Vol. 19, No 5, 2020. [In persion].

3. Hölscher M, Bode C, Bugger H. Diabetic cardiomyopathy: does the type of diabetes matter?. International journal of molecular sciences 2016;17(12):1-10.

4. Kim JA, Jang HJ, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. Activation of mTOR/p70S6 kinaseby ANG II inhibits insulin-stimulated endothelial nitric oxide synthase and vasodilation. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism2011;302(2):201-8.

5. Jia G, Hill MA and Sowers JR. Diabetic Cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. Circ. Res. 2018. 122 624–638.

6. Jia G, DeMarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. Nature Reviews Endocrinology 2016;12(3):144-53.

7. Nizamutdinova IT, Guleria RS, Singh AB, Kendall JA Jr., Baker KM, Pan J. Retinoic acid protects cardiomyocytes from high glucose-induced apoptosis through inhibition of NF-kappaB signaling pathway. J Cell Physiol. 2013; 228(2):380±392.

8. Yao XQ, Zhang XX, Yin YY, Liu B, Luo DJ, Liu D, et al. Glycogen synthase kinase-3beta regulates Tyr307 phosphorylation of protein phosphatase-2A via protein tyrosine phosphatase 1B but not Src. Biochem J. 2011; 437(2):335±344.

9. Hanqing Zeng, Zhongtao Liu. Atorvastatin Induces Hepatotoxicity in Diabetic Rats via Oxidative Stress, Inflammation, and Anti-Apoptotic Pathway. Med Sci Monit, 2019; 25: 6165-6173.

10. Levadot J, Asahara T. Effects of statins on angiogenesis and vasculogenesis. Rev Esp Cardiol. 2012;55:838-44.

11. Abdel-Hamid AA, Firgany A. Atorvastatin alleviates experimental diabetic cardiomyopathy by suppressing apoptosis and oxidative stress. J Mol Histol. 2015; 46(4±5):337±345.

12. Jin Y, Sui HJ, Dong Y, Ding Q, Qu WH, Yu SX, et al. Atorvastatin enhances neurite outgrowth in cortical neurons in vitro via up-regulating the Akt/mTOR and Akt/GSK-3beta signaling pathways. Acta Pharmacol Sin. 2012; 33(7):861±872.

13. Improta-Caria AC, Aras R. Treinamento com Exercício Físicoe Doença de Chagas: Função Potencial dos MicroRNAs. Arquivos Brasileiros De Cardiologia. 2021; 117: 132–141.

14. Shawn Yongshun Wang, Siyu Zhu4 & Jian Wu, Maomao Zhang, Yousheng Xu, Wei Xu et al. Exercise enhances cardiac function by improving mitochondrial dysfunction and maintaining energy homoeostasis in the development of diabetic cardiomyopathy. Journal of Molecular Medicine. 2020. 10.1007/s00109-019-01861-2.

15. Seo DY et al .Aged garlic extract enhances exercise-mediated improvement of metabolic parameters in high fat diet-induced obese rats. Nutr Res Pract. 2012. 6(6):513–519

16. Seo DY, Lee SR, Kim N, Ko KS, Rhee BD, Han J. Agerelated changes in skeletal muscle mitochondria: the role of exercise. Integr Med Res. 2016. 5(3):182–186

17. Oyenihi AB, Ayeleso AO, Mukwevho E, Masola B. Antioxidant

18. strategies in the management of diabetic neuropathy. Biomed Res Int 2015; 2015: 515042.

19. Chen SL, Hu ZY, Zuo GF, Li MH, Li B. I(f) current channel inhibitor (ivabradine) deserves cardioprotective effect via down-regulating the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and attenuating apoptosis in diabetic mice. BMC Cardiovasc Disord. 2014; 14:150.

20. Kempuraj D, Thangavel R, Natteru PA, Selvakumar GP, Saeed D, Zahoor H, et al. Neuroinflammation induces neurodegeneration. J Neurol Neurosurg Spine 2016; 1: 1003.

21. Cheng G, Li L. High-glucose-induced apoptosis, ROS production and pro-inflammatory response in cardiomyocytes is attenuated by metformin treatment via PP2A activation. J Biosci (2020) 45:126.

22. Enjoji S and Ohama T .The role of protein phosphatase 2A in inflammation and cancer. Nihon Yakurigaku Zasshi. 2017. 149 208–212.

23. Nakajima S and Kitamura M. Bidirectional regulation of NF-jB by reactive oxygen species: a role of unfolded protein response. Free Radic. Biol. Med. 2013. 65 162–174.

24. Mehrad H, Mokhtari-Dizaji M, Ghanaati H. Effect of high-dose atorvastatin on advanced soft atherosclerotic plaque in rabbit carotid artery using ultrasonographic and histological methods. Feyz 2014; 18(1): 9-22

25. Ren X-m, Zuo G-f, Wu W, Luo J, Ye P, Chen S-l, et al. Atorvastatin Alleviates Experimental Diabetic Cardiomyopathy by Regulating the GSK-3β-PP2Ac-NF-κB Signaling Axis. PLoS ONE. 2016. 11(11): e0166740.

Journal of Animal Physiology and Development
Volume 16, Issue 3, Number 63, Pages 86-98
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-1735**

The effect of two types of exercise (continuous and intermittent) and atrostatin on the expression of PP2Ac and GSK-3β genes in the heart tissue of diabetic rats

Maryam Ebrahimi[1], **Habib Asgharpour [2]**, Parvin Farzanegi [3], Reza Rezaei-Shirazi[4]

1-Ph. D Student, Department of Physical Education & Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran
2-Assistant Professor, Department of Physical Education & Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran Corresponding Author : Dr.habibasgharpour@aliabadiau.ac.ir
3-Associate Professor Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran
4- Assistant Professor, Department of Physical Education & Sports Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran1

Received:2022.08.25 **Accepted: 2023.03.09**

Abstract

Background and Aim: Apart from high blood pressure and coronary artery disease, diabetes can directly affect the structure and function of the heart and lead to a complication called diabetic cardiomyopathy. The purpose of this study is to investigate the effect of two types of training and the drug atrostatin on the expression of PP2Ac and GSK-3β genes in the heart tissue of diabetic model rats.

Methods and Materials: 64 male rats, which were randomly divided into 8 groups: including 1) control, 2) diabetic, 3) diabetic + persistent, 4) Diabetic + periodic, 5) atherostatin, 6) continuous + atrostatin, 7) periodic + atrostatin and 8) saline. The rats of the exercise groups performed two types of continuous and intermittent exercise 5 days a week for 8 weeks. Atrostatin was injected intraperitoneally daily at a dose of 20 mg per kg body weight.

Results: Induction of diabetes led to a decrease in the expression of the PP2Ac gene and an increase in the expression of the GSK-3β gene in the heart tissue, and continuous exercise and the combination of intermittent and continuous exercise with the drug atrostatin led to an increase in PP2Ac and a decrease in GSK-3β in the heart tissue of diabetic rats compared to the diabetic group.

Conclusion: It is possible that regular exercise in combination with atrostatin can prevent the development of diabetes-induced cardiomyopathy by increasing the PP2Ac gene and decreasing the GSK-3β gene in the heart tissue which has a protective effect on the heart of diabetic rats.

Keywords: Continuous and intermittent exercise, atherostatin, diabetic cardiomyopathy, GSK-3β, PP2Ac.