



## اثر دو نوع تمرین هوازی به همراه مصرف آترواستاتین بر بیومارکرهای بایوژنز میتوکندریایی (میوسیت‌های قلبی AMPK و سیتوکروم C) رت‌های مسن دیابتی

مجتبی رسولیان: دانشجوی دکتری، مرکز تحقیقات طب ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران  
ID جمشید بنایی بروجنی: استادیار، مرکز تحقیقات طب ورزشی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران (\* نویسنده مسئول) jamshid.banaei@gmail.com  
پروین فرزنانگی: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

تمرین،  
آترواستاتین،  
دیابت،  
بایوژنز میتوکندریایی

**زمینه و هدف:** یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو ناکارآمدی و اختلال در بایوژنز میتوکندری است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر تمرین تناوبی و تناوبی همراه با مصرف آترواستاتین بر بیان بیومارکرهای مسیر سیگنالینگ بایوژنز میتوکندریایی (سیتوکروم سی و AMPK) میوسیت‌های قلبی رت‌های سالمند انجام شد. **روش کار:** در این مطالعه تجربی ۳۵ سر موش صحرایی نر مسن ۲۰ هفته‌ای با میانگین وزنی ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم به ۷ گروه مساوی: دیابتی، کنترل سالم، تناوبی+ دیابتی، تناوبی+ دیابتی، آترواستاتین+ دیابتی، آترواستاتین+ دیابتی+ دیابتی، آترواستاتین+ دیابتی تقسیم شدند. دیابت نوع دو با (STZ) دوز ۵۰ میلی گرم القا شد. گروه‌های تمرینی به مدت هشت هفته برنامه تمرینی دویدن را روی تردمیل انجام دادند. تمرین تناوبی هفته اول با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه مدت پنج دقیقه سپس هر هفته با افزایش سرعت ۱ تا ۲ متر بر دقیقه به مدت ۱ تا ۲ دقیقه به زمان دویدن افزوده شد. تمرین تناوبی شامل ۲۹-۲۵ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه برای هفته اول بود. هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۲۲ متر بر دقیقه رسید. به گروه‌های آترواستاتین (۲ میلی گرم/کیلوگرم) آترواستاتین تزریق شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، رت‌ها تشریح شدند؛ برای تجزیه و تحلیل آماری از تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد القای دیابت نوع دو باعث کاهش بیان بیومارکرهای سیتوکروم سی و AMPK ( $p=0.000$ ) در گروه‌های دیابتی شد. همچنین تجویز آترواستاتین به تنهایی و یا همراه با تمرین ورزشی سبب افزایش معنی‌داری در بیان ژن‌های AMPK و سیتوکروم C ( $p=0.000$ ) میوسیت‌های قلبی گردید. اما اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تمرینی با هم و با گروه آترواستاتین مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** احتمالاً ترکیبی از تمرین تناوبی و تناوبی و آترواستاتین ممکن است بیان ژن‌های مرتبط با بایوژنز میتوکندریایی را در بیماری دیابتی به طور مثبتی تنظیم کند و موجب افزایش ظرفیت متابولیکی در این بیماران دیابتی شود.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Rasoolain M, Banaei Borojeni J, Farzanegi P. Effect of Two Types of Exercise Combined with Atorvastatin on Expression of Cardiac Myositis (AMPK and Cytochrome C) In Elderly Rats. Razi J Med Sci. 2023(30 Sep);30.106.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 4.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.

## Effect of Two Types of Exercise Combined with Atorvastatin on Expression of Cardiac Myositis (AMPK and Cytochrome C) In Elderly Rats

**Mojtaba Rasoolain:** PhD Candidate, Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran

**Jamshid Banaei Borojeni:** Assistant Professor, Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran (\* Corresponding author) [jamshid.banaei@gmail.com](mailto:jamshid.banaei@gmail.com)

**Parvin Farzanegi:** Assistant Professor, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

### Abstract

**Background & Aims:** One of the possible mechanisms for resistance to insulin and type 2 diabetes is dysfunction and impaired mitochondrial biogenesis. Mitochondrial density and function are associated with cardiovascular disease, sarcopenia, insulin resistance and type 2 diabetes, the aging process, and aerobic capacity. Today, a complete understanding of mitochondrial biogenesis is associated with an understanding of various cellular pathological conditions. Mitochondria play a role in increasing mitochondrial function. Quality, mitochondria represent an improvement in mitochondrial biogenesis. In tissues with high oxidative capacity, such as skeletal muscle, activated by gamma receptor joint proliferator, an alpha activated by peroxisome proliferator (AMPK) is considered to be the most important regulator of biogenesis and mitochondrial function. (cytochrome C and AMPK) is a transcription and replication agent for mitochondrial DNA and plays an important role in mitochondrial biogenesis processes. A study by Madrasa (2018) showed that decreased expression of this group of genes is associated with decreased capacity, whole body aerobics in patients with type 2 diabetes and decreased expression of PGC-1 $\alpha$  and nuclear genes encoding mitochondria in individuals. Insulin resistance can mean that these people have low levels of aerobic exercise. Exercise can play an important role in accelerating mitochondrial biogenesis, possibly leading to a reduction in mitochondrial dysfunction that occurs during the aging process, metabolic diseases such as type 2 diabetes, and conditions of muscle inactivity resisting fatigue and increasing the quality of life. The method of training is in the form the although metabolic control is available in type2 diabetes effect of aerobic exercise and the chemical drug atorvastatin on the expression of genes affecting the mitochondrial biogenesis of cardio myositis in samples with type 2 diabetes has not been studied and because of its importance in controlling mitochondrial function following diabetes. Type 2 is impaired, it is necessary to study it, so the aim of the present study was to investigate the protective effect of continuous and intermittent exercise with atorvastatin on some markers of mitochondrial biogenesis signaling myositis (cytochrome C and AMPK) in diabetic elderly rats.

**Methods:** Thirty-five male rats (20 weeks old) weighing between 300 and 350 g were randomly divided into 7 groups. Diabetes was induced in 6 groups. To make diabetic mice, streptozotocin (STZ) was injected intraperitoneally at a dose of 50 mg per kg body weight (26). Atorvastatin was taken orally after a meal at a dose of 2 mg per kg body weight .

The first week of continuous training program at a speed of 15 meters per minute for five minutes, the rats started running on the treadmill. Then, every week, increasing the speed by 1 to 2 meters per minute for 1 to 2 minutes increases the running time. The number of continuous training sessions was five times a week. The interval training program consisted of 25-25 minutes of treadmill running on a treadmill at a speed of 15 meters per minute for the first week, with one meter per minute added each week to 22 meters per minute in the eighth week. The duration of the first session was 25 minutes, with one minute added to each session, reaching 64 minutes in the eighth week.

48 hours after the last training session with 10 to 12 hours of night fasting, intraperitoneal injection of a combination of ketamine and xylazine was performed in anesthetized mice and tissue samples were taken. Their heart tissue was isolated and stored at -80 ° C and then transferred to a laboratory for genetic testing. To investigate the significant changes in each of the research changes between different groups, one-way analysis of variance was used and if a statistically significant difference was observed to determine the location of ANOVA, Tukey post hoc test was used. Significance level  $P < 0.05$  was considered for all calculations.

**Results:** In the present study, the effect of continuous and intermittent exercise combined with atorvastatin administration (cytochrome C and AMPK) gene expression in cardiac myocytes of elderly diabetic rats was investigated. The first finding of the present study showed that the expression of (cytochrome C and

### Keywords

Training,  
Atorvastatin,  
Diabetes,  
Mitochondrial  
Biogenesis

Received: 04/07/2023

Published: 30/09/2023

AMPK) gene in cardiac myocytes of rats with type 2 diabetes was significantly reduced compared to the healthy control group, while after 8 weeks of intervention, the mean (cytochrome C and AMPK) to significantly decreased compared to the healthy control group, while after 8 weeks of intervention, the mean (cytochrome C and AMPK) increased in the exercise and atorvastatin groups, but in the combined intervention group, this increase was significantly greater. It seems that taking atorvastatin with 8 weeks of continuous and intermittent physical activity has been able to make changes beyond taking atorvastatin alone or continuous and intermittent exercise. In this regard, Baghdad et al. (2019) by examining the effect of 8 weeks of aerobic exercise on the expression of PGC-1 $\alpha$  gene in heart tissue in diabetic rats, concluded that aerobic exercise significantly increases the concentration of PGC-1 $\alpha$  in heart tissue (29). However, in contrast to the findings of Chavanel et al. (2017) showed that exercise has no significant effect on the level of PGC-1 $\alpha$  mRNA or other mitochondrial biogenesis regulators such as (cytochrome C and AMPK) (30). One of the most important reasons for inconsistency in Chavanel research with the results of the present study may be the age, sex and race of the subjects as well as the type of training protocol. (cytochrome C and AMPK) is one of the most important transcriptional coordinator coagulators that positively regulates the expression of genes associated with metabolic and mitochondrial adaptations, thus influencing cardiac substrate selection, mitochondrial function, ATP production capacity, and species production. Reacts to oxygen (ROS). Physical activity is one of the factors that trigger these messaging pathways. In other words, mitochondrial biogenesis in the cell is induced by environmental stimuli such as physical activity.

Another result of the present study was the decrease in (cytochrome C and AMPK) gene expression in cardiac myocytes of elderly diabetic rats compared to the healthy control group, while after 8 weeks of intervention, a significant increase in (cytochrome C and AMPK) gene expression was observed in atorvastatin and combination groups compared to the patient group. This increase was greater in the combination of diabetic + atorvastatin + periodic exercise. It seems that when the volume of training is the same, the intensity of training can be an effective factor in the expression of (cytochrome C and AMPK); Therefore, this study showed that with a constant volume of periodic training is more effective than continuous training in the expression of (cytochrome C and AMPK) gene. The present study showed that intermittent and continuous exercise with atorvastatin increased (cytochrome C and AMPK) in the heart cells of elderly diabetic rats, which decreased due to diabetes and aging. Consistent with the results of the present study, Popo et al. Examined the effect of two months of aerobic exercise on skeletal muscle TFAM in human diabetic specimens and reported a significant increase. Therefore, the effect of the training period is enhanced at higher intensities. Exercise frequency is also one of the effective factors in increasing mitochondrial biogenesis. Chavanel et al. (2017) have shown that exercise has no significant effect on the level of mRNA PGC-1 $\alpha$  or other mitochondrial biogenesis regulators including TFAM and cytochrome C and AMPK. One of the most important reasons for inconsistency in Chavanel research with the results of the present study may be in the condition of the subject and the type of muscle fiber as well as the type of training protocol. TFAM is a high-mobility transcription factor group responsible for replication and transcription of mitochondrial DNA. Impairment of the (cytochrome C and AMPK) target specifically in cardiac tissue leads to a significant reduction in electron transport capacity, spontaneous cardiomyopathy, and heart failure. In contrast, increased TFAM expression in cardiac tissue protects against heart failure due to myocardial infarction.

**Conclusion:** Another finding of the present study was the positive and significant effect of atorvastatin on the expression of (cytochrome C and AMPK) genes in mice with type 2 diabetes. Studies show that atorvastatin improves mitochondrial function and prevents apoptosis in myocardial hypertrophy. In the present study, Chen et al. (2018) inhibited the decrease in the expression of (cytochrome C and AMPK) in mice with myocardial insufficiency by treatment with atorvastatin. According to the results obtained in the present study, the effects of atorvastatin may be fundamentally different in different patients and with different races, and also its effects may vary depending on the dose or duration of use and the type of statin used. However, the effect of co-administration of atorvastatin and exercise with (cytochrome C and AMPK) on cardiac tissue has not been investigated. Reduces oxidative stress and inflammation in a variety of metabolic syndrome diseases such as diabetes and therefore improves these diseases by inhibiting mitochondrial damage. The combined use of both has more effective therapeutic effects on type 2 diabetes.

The results of this study on improving heart function have been confirmed by previous studies.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

### Cite this article as:

Rasoolain M, Banaei Borojeni J, Farzanegi P. Effect of Two Types of Exercise Combined with Atorvastatin on Expression of Cardiac Myositis (AMPK and Cytochrome C) In Elderly Rats. Razi J Med Sci. 2023(30 Sep);30:106.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.

## مقدمه

یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو ناکارآمدی و اختلال در بیوزنر میتوکندری است (۱-۳). اصلی‌ترین نقش میتوکندری، در متابولیسم سلول است که باعث شده میتوکندری به عنوان بازیگر کلیدی در عملکردهای متعدد و مسائل مربوط به سلامت نقش ایفاء نماید (۴) تراکم و عملکرد میتوکندری با بیماری قلبی عروقی، سارکوپنیا، مقاومت انسولین و دیابت نوع ۲، فرآیند پیری، و ظرفیت هوایی (۵،۶)، مرتبط می‌باشد. امروزه درک کامل از بیوزنر میتوکندری با فهم شرایط مختلف پاتولوژیک سلولی مرتبط است (۷). ناکارآمدی میتوکندری در بیماران دیابتی نوع دو از جمله ساختار ناهنجار کاهش اندازه و تعداد میتوکندری منجر به کاهش ظرفیت، اکسیداسیون و آنزیم‌های میتوکندری به ویژه سیترات سنتاز و سیتوکروم اکسیداز می‌شود. سیتوکروم C اکسیداز آنزیم کلیدی زنجیره انتقال الکترون در سلول‌های یوکاریوتی و بیشتر پروکاریوت‌ها است، که یکی از جایگاه‌های زنجیره انتقال الکترون را تشکیل می‌دهد و باعث مصرف اکسیژن و تولید آب می‌شود باید اذعان نمود که در حال حاضر هیچ راه درمانی برای بهبود قطعی دیابت نوع دو شناخته نشده است. اما در مراحل اولیه با تغییر شیوه زندگی اعم از تغذیه سالم، فعالیت بدنی و نیز کنترل استرس قابل درمان خواهد بود (۸-۱۰). اجرای تمرینات هوایی به عنوان جزء ضروری در درمان دیابتی نوع دو به منظور بهبود سلامت قلب و عروق در این افراد در نظر گرفته می‌شود (۱۱). در بیماران مبتلا به دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی افزایش دارد (۱۲). مداخله‌ی فعالیت‌های بدنی منظم، رژیم‌های غذایی، مشاوره‌های بهداشتی و دارو درمانی، از جمله راه‌هایی است که تا به حال برای پیشگیری و درمان بیماری قلبی-عروقی مطرح شده‌اند (۱۳). قلب اندامی است که سطح بالایی از ATP را نیاز دارد و یک سوم حجم سیتوپلاسم سلول‌های قلبی رامیتوکندری اشغال کرده است. مشخص شده است که عدم تولید انرژی کافی، عامل مهمی در ارتباط با اختلالات قلبی محسوب می‌شود. هیپرتروفی عروق بطنی و هیپرتروفی همراه با افزایش حجم میتوکندری پاسخ‌جبرانی مهم در این گونه موارد می‌باشد (۱۴). در این میان، اگرچه اکثر

متخصصان بهداشتی و علوم تندرستی، در مورد روش فعالیت بدنی و رژیم غذایی به عنوان اصولی‌ترین و علمی‌ترین روش کاهش علائم بیماری‌های قلبی-عروقی اتفاق نظر دارند (۱۵). با توجه به عوارض خطرناک و متعددی که دیابت بر بافت‌های مختلف مثل قلب می‌گذارد، ضرورت بررسی راه‌های درمان، کاهش و پیشگیری از آن بیشتر احساس می‌شود شد (۱۶). عمل AMPK برای تنظیم متابولیسم سلولی بسیار مربوط به بیماری‌های قلبی است، که در آن اختلال در تعادل انرژی می‌تواند به اختلال در عملکرد انقباضی قلب و مرگ سلولی منجر شود. به طور معمول، قلب در حفظ هموستاز انرژی برای تولید ATP در درجه‌ی اول وابسته به اکسیداسیون مواد میتوکندری است (۱۷). سیتوکروم c (Cytochrome c) یک هم‌پروتئین کوچک است که در غشاء داخلی میتوکندری یافت می‌شود و به خانواده سیتوکروم‌ها تعلق دارد. این پروتئین، برخلاف سایر سیتوکروم‌ها، بشدت در آب محلول است و یکی از اجزاء کلیدی زنجیره انتقال الکترون محسوب می‌شود که وظیفه‌اش حمل ۱ الکترون از کمپلکس شماره ۳ به کمپلکس شماره ۴ (سیتوکروم اکسیداز سی) است. این پروتئین قابلیت اکسیداسیون و احیا را دارد اما به اکسیژن اتصال نمی‌یابد (۱۸). فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی موجب افزایش مصرف ATP می‌گردد و مصرف ATP در عضلات، خود کاهش نسبت ATP/AMP و افزایش فعالیت AMPK را به دنبال دارد. نتیجه‌ی این واکنش‌ها، افزایش جابجایی GLUT4 از درون سلول به سطح غشاء است. آنزیم هتروتیرمیک AMPK از طریق افزایش جابجایی و بیان GLUT4 به بهبود برداشت گلوکز کمک می‌کند (۱۹). علاوه بر این فعال‌سازی AMPK می‌تواند به طور مستقیم منجر به تنظیم فاکتورهای رونویسی مانند پروتئین‌های FOXO و PGC-1 $\alpha$  شود که نقش مهمی در تنظیم هموستاز قلبی در افزایش انرژی دارند (۱۹). در تحقیقی وانگ (Wang) و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی هوایی بر روی پروتئین‌های AMPK و PGC-1 $\alpha$  در قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت پرداختند. تمرین ورزشی به مدت ۱۶ هفته با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای یک ساعت در هفته بود، میزان پروتئین‌های AMPK و PGC-1 $\alpha$  در گروه تمرین دیابتی افزایش

محتوای پروتئین AMPK شد. از عوامل مهم می توان به شدت تمرینات اشاره کرد. تقاضای زیاد انرژی از نتایج تمرینات HIIT با تمرینات شدید تا رسیدن به خستگی است که منجر به افزایش قابل توجهی در نسبت ADP/ATP و AMP/ATP می شود که این امر می تواند پروتئین AMPK که یکی از مهم ترین سنسورهای مهم انرژی در سلول است را فعال کند. همچنین مطالعات نشان داده اند که فسفوریلاسیون AMPK علاوه بر شدت فعالیت ورزشی، به مدت زمان تمرین ورزشی نیز ارتباط دارد (۱۹).

این محققان به این نتیجه رسیدند که تمرین طولانی مدت استقامتی، احتمالاً می تواند سبب کاهش شاخص های ژنومی آتروفی و افزایش هیپرتروفی میوکارد موش های صحرایی شود (۲۰). در واقع نتایج تحقیق های گزارش شده و نتایج تحقیق حاضر می تواند نشان دهنده این مطلب باشد که تمرینات ورزشی از طریق تنظیم پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  از هیپرتروفی پاتولوژیک قلب جلوگیری کرده و منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلب شود که این را می توان در تحقیق دنیلز (Daniels) و همکاران (۲۰۱۰) دید که نشان دادند بین فعالیت پایین AMPK کارآیی پایین متابولیسم قلبی و کاهش قدرت انقباضی قلب در موش های صحرایی ارتباط وجود دارد (۲۱). بر اساس نقش محوری در تنظیم سوخت و ساز و متابولیسم در تحقیقی خلفی و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تاثیر تمرین های تناوبی با شدت های پایین و بالا بر محتوای پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  در بافت چربی زیر جلدی موش های صحرایی پرداختند. نتایج افزایش محتوای پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  را در هر دو روش تمرین تناوبی با شدت پایین و بالا را نشان داد. این محققان به این نتیجه رسیدند که تمرینات HIIT با افزایش و فعال کردن مسیر AMPK/ PGC-1 $\alpha$  و در نتیجه افزایش بیوژنز میتوکندری نقش مهمی در تنظیم سوخت و ساز و افزایش تولید انرژی دارند (۲۲). نتایج تحقیق خلفی و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم راستا می باشد که نشان دهنده تاثیر تمرینات ورزشی به خصوص تمرین های تناوبی با شدت های مختلف (کم

معنی داری نسبت به گروه کنترل دیابتی یافته بود. نتایج تحقیق وانگ و همکاران با نتایج تحقیق حاضر همسو است، زیرا در هر دو تحقیق افزایش میزان پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  مشاهده می شود. از عوامل مهم، نوع تمرین ورزشی استفاده شده در هر دو تحقیق است. شایان ذکر است که در تحقیق وانگ و همکاران مدت زمان تمرین ورزشی ۱۶ هفته و در تحقیق حاضر هشت هفته بوده است که با این وجود در هر دو افزایش پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  دیده می شود از جمله سازوکارهای احتمالی این است که فعالیت ورزشی منجر به فعال شدن AMPK می شود که این امر می تواند به صورت مستقیم PGC-1 $\alpha$  را فسفریله کند و این عمل برای القاء PGC-1 $\alpha$  از پیش ساز آن ضروری است (۲۰). از دیگر یافته پژوهش حاضر، اثر مثبت و معنی دار آترواستاتین بر بیان ژن AMPK بود که پژوهشی مشابه با پژوهش حاضر برای بحث و نتیجه گیری یافت نشد. اسماعیلی و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژنهای AMPK بافت قلب موش های صحرایی دیابتی پرداختند. بیان ژن پروتئین AMPK در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش یافته بود؛ این محققان بیان کردند تمرین طولانی مدت هوازی، احتمالاً می تواند سبب افزایش شاخص های ژنومی هیپرتروفی میوکارد موش های صحرایی دیابتی شود. شواهد زیادی منتشر شده است که نشان می دهد فعال شدن AMPK در شرایط تنش دارای یک عملکرد محافظتی در برابر بیماری های قلبی و عروقی است (۱۷) همچنین برخی از گزارش ها نشان داده اند که AMPK می تواند پیشرفت نارسایی قلبی را کاهش دهد. همچنین هیپرتروفی قلب از طریق فعال شدن AMPK مسیر سازد (۱۸). در تحقیقی لیو و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین هوازی بر محتوای پروتئین های AMPK در بافت قلب موش های صحرایی پرداختند. محتوای پروتئین های AMPK افزایش معنی داری در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل یافت. نتایج تحقیق لیو و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا می باشد؛ زیرا در هر دو تحقیق تمرین با شدت بالا یا شدید منجر به افزایش

صحرايي مبتلا به اسکمی پرداختند. موش‌ها تمرین ورزشی دویدن روی تردمیل با مدت زمان ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه با سرعت ۰،۶ مایل در ساعت، ۱۲،۵ درصد را انجام دادند. میزان پروتئین AMPK در زمان های ۱۰، ۳۰، ۶۰ دقیقه نسبت به زمان صفر افزایش معنی داری یافته بود. نتایج تحقیق سان و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است؛ زیرا در هر دو تحقیق تمرین ورزشی منجر به افزایش میزان پروتئین AMPK شده است. همان طور که مشاهده می‌شود تمرین هر دو تحقیق از نوع استقامتی بوده است و با توجه به این که در تحقیق سان و همکاران تمرین استقامتی در یک جلسه بوده است که میزان پروتئین AMPK در سه زمان افزایش یافته بود. نتایج هر دو تحقیق نشان دهنده‌ی این مطلب است که احتمالاً تمرین استقامتی با توجه به شدت و مدت زمان آن می‌تواند بر میزان AMPK تأثیر گذار باشد.

سید قمی و همکاران اثر تمرین استقامتی با شدت بالا بر بیان ژنهای p53 و سیتوکروم (عضله نعلی موش های صحرايي نر را مورد مطالعه قرار دادند. روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۱۶ سر موش صحرايي نر سه ماهه به شکل تصادفی در دو گروه تمرین (۸ سر) و کنترل (۸ سر) جایگزین شدند. برنامه تمرینی شامل سه ماه تمرین استقامتی با شدت VO2max ۷۵-۸۰ درصد و با تکرار ۵ روز در هفته بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، عضله نعلی حیوانات استخراج و بیان ژنهای p53 و سیتوکروم C با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی در زمان واقعی (RT-PCR) بررسی شد. یافته‌های این تحقیق نشان داد تفاوت معنی داری بین گروه تجربی و کنترل در رابطه با بیان ژن p53 عضله نعلی مشاهده نشد. با این حال، بیان ژن سیتوکروم C عضله نعلی گروه تمرین به طور معنی داری کمتر از گروه کنترل بود. یافته‌های این تحقیق با تحقیق حاضر که ۸ هفته تمرین موجب افزایش بیان سیتوکروم C شد همسو نمی باشد. این تناقض نیز احتمالاً می‌تواند ناشی از نوع بافت مورد مطالعه باشد، به طوری که سید قمی و همکاران اثر تمرین استقامتی را بر عضله نعلی موش‌های صحرايي مورد بررسی قرار داده بودند و میزان تغییرات

تا ز یاد) بر محتوای پروتئین های AMPK و PGC-1 $\alpha$  است. در تحقیقی دیگر استاژن (Sturgeon) و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر تمرین با شدت متوسط بر بیان پروتئین AMPK در بافت قلب موش های صحرايي پرداختند. بیان پروتئین AMPK در بافت قلب تغییر معنی داری نیافت (۲۳). نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق استاژن و همکاران هم را ستا نیست. زیرا ما در تحقیق حاضر شاهد افزایش بیان پروتئین AMPK بودیم و این در حالی است که در تحقیق استاژن و همکاران تغییر مشاهده نشد. این نشان دهنده‌ی این مطلب است که تمرین‌های ورزشی و عوامل آن مانند شدت، مدت، نوع تمرین، تکرار و ریکاوری می‌تواند بر نتایج تأثیر گذار باشد. همه این عوامل می‌تواند بر میزان سطح انرژی و سوخت و ساز بدن مهم باشد. مشخص شده است هنگام فعالیت ورزشی میزان سطح انرژی ATP بدن به دلیل مصرف اندام‌ها به خصوص دستگاه عضلانی کاهش می‌یابد، که این کاهش سبب افزایش AMP و ADP می‌شود. افزایش AMP و ADP می‌تواند منجر به فعال شدن پروتئین AMPK برای جبران انرژی بدن شود (۲۴). نارسایی قلبی ناشی از انواع فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک منجر به ناکارآمدی در سوخت و ساز بدن، عملکرد میتوکندری، التهاب و آپوپتوز می‌شود. پروتئین AMPK به عنوان یک تنظیم کننده‌ی انرژی، نه تنها باعث بهبود عرضه انرژی در افزایش عملکرد قلب می‌شود، بلکه باعث بهبود نارسایی قلبی و عملکرد قلب توسط واسطه‌های عملکردی مختلف فیزیولوژیکی درون سلولی برای به تأخیر انداختن فیبروز قلبی و کاهش آسیب های قلبی می‌شود. بعضی از داروها در حال حاضر در طب بالینی، مانند متفورمین، استاتین، تری متازیدین، رسوراترول و غیره برای تنظیم عملکرد فعالیت پروتئین AMPK استفاده می‌شود؛ بنابراین، تمرین ورزشی نیز می‌تواند و ممکن است به عنوان یک داروی جایگزین برای درمان نارسایی قلبی در حال و آینده استفاده شود (۲۵).

در راستای تحقیق انجام شده سان (Sun) و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های

کلسترول را کاهش می دهند (۳۱). یکی از ترکیب‌های خانواده استاتین‌ها، آترواستاتین می‌باشد که نسبت به دیگر اعضای این خانواده عوارض جانبی کمتر و اثر بخشی بیشتری دارد (۳۲). آترواستاتین می‌تواند عملکرد سلول‌های بتا را با تغییر سطح لیپوپروتئین‌های پروپوپوتوتیک و ضد آپوپتوزی تعدیل کند و همچنین می‌تواند در مقاومت به انسولین تأثیر داشته باشد (۳۳). با پژوهش‌های متفاوتی که در زمینه تأثیر فعالیت‌های هوازی و استفاده از داروهای شیمیایی در بیماران دیابتی انجام شده بیماران دیابتی نوع دو باید تمرینات ورزشی منظم برای افزایش حساسیت انسولینی، کاهش غلظت گلوکز خون و کاهش چربی بدن داشته باشند (۳۴). اگرچه کنترل متابولیک در دیابت نوع دو در دسترس است اما به طور مشخص اثر تمرین هوازی و داروی شیمیایی آترواستاتین بر بیان ژن‌های تأثیرگذار بر فرآیند بایوژنز میتوکندری کاردیومیوسیت‌های قلبی در نمونه‌های مبتلا به دیابت نوع دو تا کنون بررسی نشده و به دلیل اهمیت آن در کنترل عملکرد میتوکندری که در پی ابتلا به دیابت نوع دو دچار اختلال می‌شود، لزوم بررسی آن احساس می‌شود، که آیا بایوژنز میتوکندری در نمونه‌های دیابتی نوع دو نیز دچار اختلال می‌شود یا خیر؟ بنابراین با توجه به نبود اطلاعات درباره تأثیر ابتلا به دیابت نوع دو و تمرینات تداومی و تناوبی بر بایوژنز میتوکندری کاردیومیوسیت‌های قلبی، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر دو شیوه تمرینی به همراه مصرف آترواستاتین بر بایوژنز میتوکندریایی رت‌های مسن مدل تجربی دیابت بود.

### روش کار

مطالعه حاضر تجربی و از نوع بنیادی است که به شیوه آزمایشگاهی انجام گرفته است. ۳۵ سر رت نر ویستار مسن (۲۰ هفته‌ای) با میانگین وزنی بین ۳۰۰ تا ۳۵۰ گرم به منظور شرکت در مطالعه در مرکز پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری تکثیر شدند. در ادامه رت‌های مورد مطالعه به شیوه تصادفی در ۷ گروه قرار گرفتند. به ۶ گروه دیابت القا شد (گروه کنترل دیابتی، دیابتی + تمرین تداومی، دیابتی + تمرین تناوبی، دیابتی

عوامل بایوژنز میتوکندری نیز می‌تواند در بافت‌های مختلف متفاوت باشد. همچنین، به نظر می‌رسد آنچه موجب تناقض نتایج مطالعه حاضر با مطالعه سید قمی و همکاران شده است، تفاوت در زمان برداشت بافت باشد، به طوری که در مطالعه حاضر، بافت عضله قلبی ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین استقامتی و مقاومتی استخراج شد، ولی سید قمی و همکاران ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین بافت را استخراج کرده بودند، لذا این احتمال دور از انتظار نیست که در پژوهش سید قمی و همکاران، کاهش معنی‌دار بیان پروتئین سیتوکروم و در گروه تمرین ناشی از اثرات حاد آخرین جلسه تمرین هوازی با شدت بالای متوسط (۶۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه و شیب ۳ درصد) باشد. همچنین، به نظر می‌رسد تفاوت در متغیرهای تمرینی از جمله مدت و شدت پروتکل ورزشی نیز در این مغایرت دخیل باشد چرا که برنامه تمرین مطالعه سید قمی و همکاران از یک دوره طولانی (۱۲ هفته) و با شدت بیشتر ۷۵-۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه استفاده شد، لذا این احتمال وجود دارد که پروتکل تمرینی مطالعه حاضر (تمرین استقامتی تداومی و تناوبی تمرین مقاومتی شدید و با شدت متوسط به مدت ۸ هفته) علی‌رغم اثرگذاری بر پایداری غشای میتوکندریایی و افزایش نفوذپذیری آن که منجر به افزایش قابل توجه بیان ژن سیتوکروم و در سلول قلبی شد.

امروزه تلاش گسترده‌ای برای استفاده از درمان‌های ترکیبی می‌شود (۲۷). درمان‌های ترکیبی روش درمانی در بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت شیرین، بدخیمی‌ها و بسیاری از بیماری‌های دیگر است (۳۰). پژوهش‌های اخیر، علاوه بر ورزش، اثرات بسیار سودمندی از داروهای گروه استاتین‌ها را در جلوگیری از اختلالات قلبی - عروقی در برخی شرایط بیماری‌زایی مانند دیابت را مستقل از اثرات کاهندگی کلسترول خون گزارش کرده‌اند. استاتین‌ها مهارکننده آنزیم ۳- هیدروکسی-۳- متیل گلووتاریل کوآنزیم-آ (HMG-CoA) ردوکتاز هستند به طور گسترده برای کاهش سنتز کلسترول در کبد استفاده می‌گردند. این داروها مسیر تبدیل موالونات به HMG-CoA را مهار می‌کنند و در نتیجه تولید

جدول ۱- برنامه تمرین تداومی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت (دقیقه)	۵	۷-۹	۱۰-۱۲	۱۳-۱۴	۱۵-۱۶	۱۷-۱۸	۱۹-۲۰	۲۱-۲۲
سرعت (متر بر دقیقه)	۱۵	۱۶-۱۷	۱۸-۱۹	۲۰-۲۱	۲۲-۲۳	۲۴-۲۵	۲۶-۲۷	۲۸-۲۹

جدول ۲- برنامه تمرین تناوبی

جلسات	عوامل تمرینی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
اول	سرعت (m/min)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (min)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰	۵۵	۶۰
دوم	سرعت (m/min)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (min)	۲۶	۳۱	۳۶	۴۱	۴۶	۵۱	۵۶	۶۱
سوم	سرعت (m/min)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (min)	۲۷	۳۲	۳۷	۴۲	۴۷	۵۲	۵۷	۶۲
چهارم	سرعت (m/min)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (min)	۲۸	۳۳	۳۸	۴۳	۴۸	۵۳	۵۸	۶۳
پنجم	سرعت (m/min)	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲
	مدت (min)	۲۹	۳۴	۳۹	۴۴	۴۹	۵۴	۵۹	۶۴

برای مدت زمان پنج دقیقه موش شروع به دویدن روی تردمیل کردند. سپس هر هفته با افزایش سرعت تا ۲ متر بر دقیقه به مدت ۱ تا ۲ دقیقه بر زمان دویدن افزوده می شود. به طوریکه در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان دویدن به ۱۳ تا ۱۴ دقیقه می رسد و در هفته هشتم سرعت دویدن به ۲۸ تا ۲۹ متر بر دقیقه و مدت زمان ۲۱ تا ۲۲ بود. تعداد جلسات تمرین تداومی پنج مرتبه در هر هفته انجام می شد جدول شماره (۱) (۳۷).

از سویی دیگر برنامه تمرین تناوبی شامل ۲۵-۲۹ دقیقه دویدن روی تردمیل بدون شیب و با سرعت ۱۵ متر در دقیقه برای هفته اول بود و هر هفته یک متر بر دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۲۲ متر بر دقیقه رسید. مدت جلسه اول ۲۵ دقیقه بود که هر جلسه یک دقیقه اضافه شد تا در هفته هشتم به ۶۴ دقیقه رسید. که با رعایت اصل اضافه بار به صورت پی‌شونده برنامه تمرین به مدت پنج روز در هفته و هشت هفته ادامه داشت. جدول شماره (۲) (۳۷).

**جمع آوری نمونه‌ها:** ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه

+ آتورواستین، دیابتی + تمرین تداومی + آتورواستین، دیابتی + تمرین تناوبی (آتورواستین)

نحوه دیابتی کردن موش‌ها به این صورت بود که به دلیل مسن بودن موش‌ها داروی استرپتوزوتوسین (STZ) با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی به آنان تزریق شد و برای اطمینان از دیابتی بودن موش‌ها از گوشه چشم نمونه های خونی تهیه گردید و میزان گلوکز سنجش گردید که بالاتر از ۱۲۶ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۳۵).

آتورواستاتین در گروه‌های آتورواستاتین و آتورواستاتین به همراه تمرین، بصورت روزانه بعد از وعده غذایی با دوز ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن محلول در نرمال سالین به صورت خوراکی و با استفاده از گاوژا دریافت کردند (۳۶).

برنامه تمرینی اصلی به مدت هشت هفته انجام گرفت که شامل دو پروتکل تمرین تداومی و تناوبی بود. برنامه تمرین تداومی هفته اول با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه



نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS20 انجام شد.  
کد اخلاق IR.IAU.NAJAFABAD.REC.1400.078 می‌باشد.

### یافته‌ها

یافته‌ها نشان داد القای دیابت موجب کاهش AMPK در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم شد. که بعد از هشت هفته مداخله افزایش معناداری در AMPK مشاهده شد ( $p = 0,000$ ). این افزایش در مقایسه گروه‌های مختلف تجربی نسبت به هم در بعضی از گروه‌ها نیز معنی دار بود. در گروه بیمار+تمرین+تداومی ( $p = 0,035$ )، بیمار+تمرین+تداومی+دارو و بیمار+تمرین+تداومی+دارو در مقایسه با گروه بیمار مشاهده شد. آنالیز داده‌ها نشان داد در مقایسه گروه تمرین تناوبی با دو گروه تمرین تناوبی+دارو ( $p = 0,006$ ) و تمرین تداومی+دارو ( $p = 0,009$ ) اختلاف معناداری مشاهده شد. اما این افزایش در مقایسه گروه‌های مختلف تجربی نسبت به هم در بعضی از گروه‌ها معنی دار نبود. آنالیز داده‌ها نشان داد در مقایسه گروه دارو با گروه تمرین تناوبی ( $p = 0,345$ ) و گروه تمرین تناوبی با گروه تمرین تداومی ( $p = 0,591$ ) اختلاف معناداری وجود نداشت. همچنین بین گروه‌های ترکیبی نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۳).

از دیگر نتایج پژوهش حاضر با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، تفاوت معنی‌دار در میزان تغییرات بیان سیتوکروم C بود. نتایج مقایسه بیان ژن سیتوکروم C در گروه‌های مختلف پژوهش است. یافته‌ها نشان داد القای دیابت موجب کاهش سیتوکروم C در گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم شد. که بعد از هشت هفته مداخله افزایش معناداری در سیتوکروم C مشاهده شد ( $p = 0,000$ ). این افزایش در مقایسه گروه‌های مختلف تجربی نسبت به هم در بعضی از گروه‌ها نیز معنی دار بود. در گروه بیمار+تمرین+تداومی ( $p = 0,035$ )، بیمار+تمرین+تداومی+دارو ( $p = 0,048$ )، بیمار+تمرین+تداومی+دارو ( $p = 0,002$ ) در مقایسه با گروه بیمار مشاهده شد. همچنین آنالیز داده‌ها نشان داد

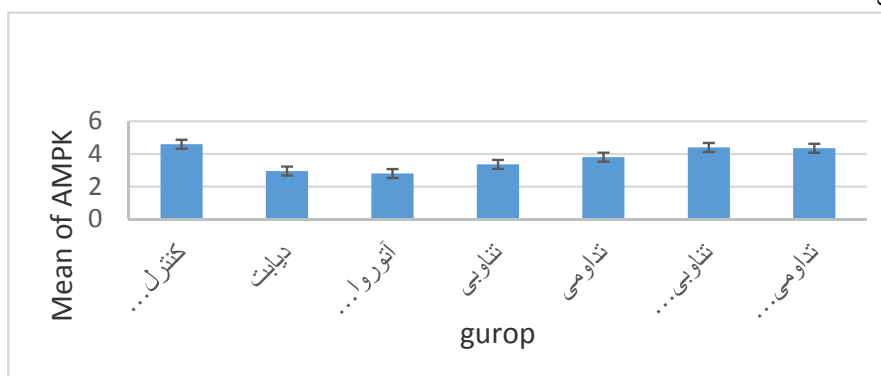
تمرینی به منظور از بین رفتن پاسخ داد آخرین جلسه فعالیت ورزشی رت‌های مورد مطالعه در هر گروه با ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین و زایلازین موش‌ها بی‌هوش شده و نمونه‌گیری‌های بافتی انجام گرفت. بدین ترتیب بافت قلب آنها جدا و در محیط ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری و سپس به آزمایشگاه به منظور آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد.

**اندازه‌گیری بیان ژن:** استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم بافت قلب انجام گرفت. بافت با تیغ جراحی به قطعات ریز تبدیل کرده و در یک میلی‌لیتر محلول تریزول حل کرده و با دستگاه همگن‌کننده بافت هموژن شد. برای فاز آبی از ۲۰۰ از میکروگرم کلروفرم استفاده شد. مایع رویی را برداشته و به حجم آن ایزوپروپانول سرد به هدف خالص سازی RNA اضافه کرده و بعد از سانتریفوژ، رسوب شفاف انتهای تیوب را با اتانول ۷۰٪ استریل شسته و در ۲۰ میکرولیتر آب تزریقی حل شد. برای سنجش کمی RNA از دستگاه بیوفتومتر با طول ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده بود. سنتز cDNA هم با استفاده از کیت thermo و براساس دستور شرکت سازنده انجام شد. جهت ارزیابی ژن‌های PGC1 $\alpha$  و TFAM واکنش Real time PCR بر روی cDNA‌های سنتز شده با استفاده از Amplicon 2x master mix انجام گرفته و از دستگاه ترموسایکلر one step با استفاده از برنامه زیر استفاده شد: ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۲۰ ثانیه در ۶۹ درجه سانتی‌گراد و ۶۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد که واکنش محل دوم به بعد ۴۰ بار تکرار شد. میزان بیان ژن مورد نیاز با روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  محاسبه شد.

**آنالیزهای آماری:** توصیف کمی داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد انجام شد. برای بررسی تغییرات معنی‌داری هر یک از تغییرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری جهت تعیین محل ANOVA از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری  $P < 0,05$  برای تمام محاسبات در

جدول ۳- نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در پنج گروه مربوط به سیتوکروم C و AMPK

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	سطح معنی داری
AMPK	بین گروهی	۱۵.۹۲۱	۶	۲.۶۵۴	۱۶.۲۱۸	۰.۰۰۰
	درون گروهی	۴.۵۸۱	۲۸	۰.۱۶۴		
سیتوکروم C	بین گروهی	۱۰.۵۷۰	۶	۱.۷۶۲	۷.۵۳۹	۰.۰۰۰
	درون گروهی	۶.۵۴۳	۲۸	۰.۲۳۴		

معنی داری در سطح  $P \leq 0.05$ .

نمودار ۱- مقایسه میانگین بیان AMPK در بین گروه‌ها

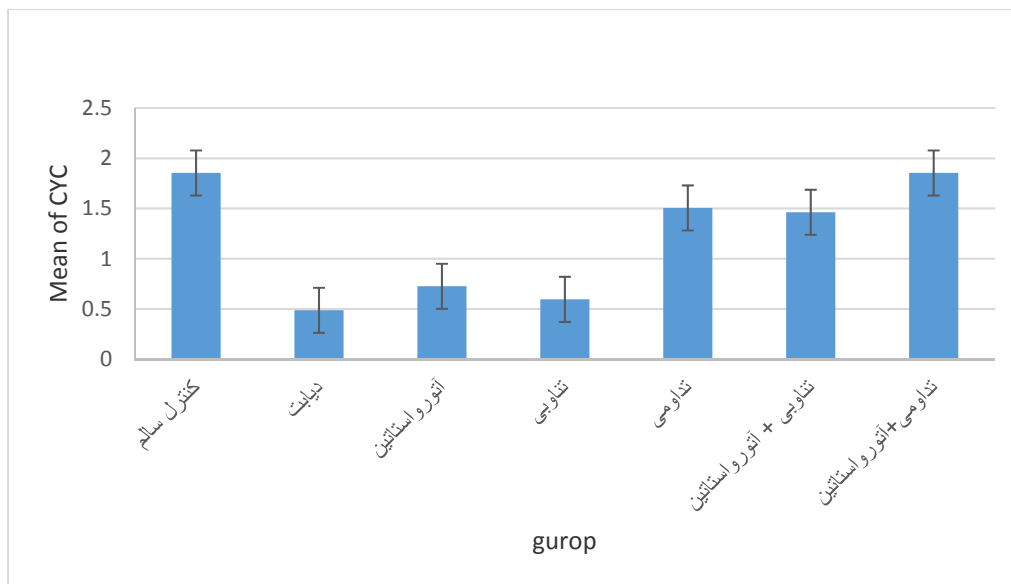
\*\* اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل سالم \* اختلاف معنادار نسبت به گروه بیمار و دارو

است. بنابراین، اکثریت تلاش‌های بالینی در حال حاضر تمرکز خود را به استراتژی‌های مرتبط با سندرم متابولیک: چاقی، دیابت، دیس لیپیدی و فشار خون بالا متمرکز کرده‌اند (۲۸). میتوکندری به عنوان نیروگاه انرژی در نظر گرفته می‌شود که برای تولید ATP در قلب وجود دارند. میتوکندری تقریباً ۳۰ درصد از حجم قلب بالغ را اشغال می‌کند. همچنین، علاوه بر متابولیسم اکسیداتیو، میتوکندری تنظیم کننده‌ی چند مسیر سیگنالینگ فیزیولوژیکی برای واکنش‌های بیوشیمیایی و انتقال سیگنالینگ است. تمرین ورزشی از جمله استرس‌های متابولیکی است که سبب افزایش نسبت AMP به ATP سلولی می‌شود و بنابراین در فعال کردن AMPK مؤثر می‌باشد. در پژوهش حاضر نیز افزایش شدید در بیان AMPK گروه‌های تمرینی نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۱). مطالعات در دو دهه گذشته نشان دادند که AMPK در نمونه انسانی به وسیله انقباض عضلانی تحریک می‌شود

در مقایسه بیمار + دارو، با گروه بیمار+تمرین تداومی+دارو ( $p = 0.015$ ) اختلاف معناداری مشاهده شد. اما در سایر گروه‌ها این اختلاف معنی دار نبود. همچنین در مقایسه گروه‌های تمرینی و ترکیبی نسبت به هم در مقایسه گروه تمرین تناوبی در گروه بیمار+تمرین تداومی+دارو ( $p = 0.005$ ) اختلاف معناداری مشاهده شد. همچنین در مقایسه دو گروه ترکیبی با هم اختلاف معناداری مشاهده نشد (نمودارهای ۱ و ۲).

### بحث

در پژوهش حاضر، تاثیر تمرین ورزشی تداومی و تناوبی همراه با تجویز آتورواستاتین بر بیان ژن AMPK و سیتوکروم C میوسیت‌های قلبی رت‌های سالمند دیابتی مورد بررسی قرار گرفته است. اگر چه مطالعات بر روی درمان‌ها برای دیابت متمرکز شده است، تاکنون هیچ عامل دارویی جهت درمان کامل آن تایید نشده



نمودار ۲- مقایسه میانگین بیان سیتوکروم C در بین گروه‌ها (داده‌ها براساس فولد تغییر نسبت به GAPDH)

\*\*\*: اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل سالم؛ \* : اختلاف معنادار نسبت به گروه بیمار و آترواستاتین، †: اختلاف معنادار نسبت به گروه‌های تناوبی و تناوبی

ورزشی منجر به افزایش میزان پروتئین AMPK شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تمرین هر دو تحقیق از نوع استقامتی بوده است و با توجه به این که در تحقیق سان و همکاران تمرین استقامتی در یک جلسه بوده است که میزان پروتئین AMPK در سه زمان افزایش یافته بود. نتایج هر دو تحقیق نشان دهنده ی این مطلب است که احتمالاً تمرین استقامتی با توجه به شدت و مدت زمان آن می‌تواند بر میزان AMPK تأثیر گذار باشد.

عمل AMPK برای تنظیم متابولیسم سلولی بسیار مربوط به بیماری‌های قلبی است، که در آن اختلال در تعادل انرژی می‌تواند به اختلال در عملکرد انقباضی قلب و مرگ سلولی منجر شود. به‌طور معمول، قلب در حفظ هموستاز انرژی برای تولید ATP در درجه ی اول وابسته به اکسیداسیون مواد میتوکندری است (۳۰). فعالیت ورزشی و فعالیت بدنی موجب افزایش مصرف ATP می‌گردد و مصرف ATP در عضلات، خود کاهش نسبت ATP/AMP و افزایش فعالیت AMPK را به دنبال دارد. نتیجه ی این واکنش‌ها، افزایش جابجایی GLUT4 از درون سلول به سطح غشاء است. آنزیم هتروتیرمیک AMPK از طریق افزایش جابجایی و بیان GLUT4 به بهبود برداشت گلوکز کمک می‌کند. علاوه

(۲۶ و ۲۷). ترن اوور ATP در عضلات در طول فعالیت ورزشی به ۱۰۰ برابر می‌رسد باعث افزایش AMP و ADP می‌شود. تمامی این عوامل که در شارژ انرژی سلول دخیل هستند در افزایش AMPK نقش دارند. در حال حاضر محققان برای فعال سازی AMPK، توجه خاصی به روش‌ها و مداخله‌هایی مثل: فعالیت بدنی، دارو، تغذیه و مکمل‌های غذایی داشته‌اند که بنظر می‌رسد می‌توانند از پیری قلب جلوگیری کنند. این عامل تحت تاثیر استرس‌های مختلف می‌تواند فعال شود. استرس ناشی از فعالیت ورزشی به ویژه فعالیت‌های استقامتی، می‌تواند از طریق فعال کردن افزایش مصرف انرژی و کاهش سطوح ATP آن را فعال کند (۲۹).

در راستای تحقیق انجام شده سان و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر میزان پروتئین AMPK در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به اسکمی پرداختند. موش‌ها تمرین ورزشی دویدن روی تردمیل با مدت زمان ۱۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه با سرعت ۰٫۶ مایل در ساعت، ۱۲٫۵ درصد را انجام دادند. میزان پروتئین AMPK در زمان‌های ۱۰، ۳۰، ۶۰ دقیقه نسبت به زمان صفر افزایش معنی‌داری یافته بود. نتایج تحقیق سان و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است؛ زیرا در هر دو تحقیق تمرین

آتورواستاتین موجب اثربخشی بیشتر شده است. بنابراین انجام تمرینات بلندمدت هوازی همراه با استفاده از آتورواستاتین به افزایش بیشتر شاخص های بایوژنز میتوکندریایی، در مدت زمان معین در مقایسه با انجام فعالیت بدنی به تنهایی می شود. همچنین از فواید احتمالی این روش، می توان به تحریک سازوکارهای تأثیرگذار در روند بایوژنز میتوکندریایی بافت قلبی و کاهش عوارض قلبی در بیماران دیابتی (از طریق افزایش بایوژنز میتوکندریایی و افزایش هزینه انرژی) اشاره کرد.

### References

1. Desbois AC, Cacoub P. Diabetes mellitus, insulin resistance and hepatitis C virus infection: A contemporary review. *World J Gastroenterol.* 2017;23(9):1697-711.
2. De Groot P, Hjeltnes N, Heijboer A, Stal W, Birkeland K. Effect of training intensity on physical capacity, lipid profile and insulin sensitivity in early rehabilitation of spinal cord injured individuals. *Spinal Cord.* 2003; 41(12): 673-9.
3. Madrasa MA. The effect of light and moderate endurance training protocols on mitochondrial dysfunction in type 2 diabetic male mice. PhD Thesis - Biochemistry and Sports Metabolism, Faculty of Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad. 2018.
4. Nisoli E, Clementi E, Carruba MO, Moncada S. Defective mitochondrial biogenesis: a hallmark of the high cardiovascular risk in the metabolic syndrome?. *Circ Res.* 2007 Mar 30;100(6):795-806.
5. Szendroedi J, Frossard M, Klein N, Bieglmayer C, Wagner O, Pacini G, Decker J, Nowotny P, Müller M, Roden M. Lipid-induced insulin resistance is not mediated by impaired transcapillary transport of insulin and glucose in humans. *Diabetes.* 2012 Dec;61(12):3176-80.
6. Gafari A. The effect of intermittent aerobic exercise with and without vitamin D supplementation on mitochondrial function in tumor tissue of breast cancer mice. PhD Thesis. 1397. Kurdistan University, Faculty of Humanities and Social Sciences. 2018.
7. David A. Hood, Ayesha Saleem exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. Elsevier J. 2007.
8. Nikroo H, Hosseini SR, Fathi M, Sardar MA, Khazaei M. The effect of aerobic, resistance, and combined training on PPAR- $\alpha$ , SIRT1 gene expression, and insulin resistance in high-fat diet-

بر این فعال سازی AMPK می تواند به طور مستقیم منجر به تنظیم فاکتورهای رونویسی مانند پروتئین های FOXO و PGC-1 $\alpha$  شود که نقش مهمی در تنظیم هموستاز قلبی در افزایش انرژی دارند (۳۱).

با توجه به نبود مطالعات در مورد اثرات آتورواستاتین بر بایوژنز میتوکندریایی میوسیت قلبی دیابتی نمی توان مطالعات مشابه را در این بحث ذکر کرد. اما با توجه به نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر ممکن است اثرات آتورواستاتین در بیماران مختلف و با نژادهای متفاوت اصولاً متفاوت باشد و هم چنین اثرات آن وابسته به دوز و یا مدت زمان مصرف و نیز نوع استاتین مصرف شده متفاوت باشد. یکی از مکانیسم های تأثیر آتورواستاتین بر متابولیسم قند خون از طریق بهبود عملکرد سلول های اندوتلیال و کاهش روند التهاب و افزایش آنژیوژنز می باشد.

با این وجود، اثر مصرف توام آتورواستاتین و تمرین ورزشی بر AMPK و سیتوکروم C بافت قلب بررسی نشده است. توجه به نتایج حاصل از این تحقیقات، آتورواستاتین با داشتن خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و محافظتی در برخی شرایط پاتولوژیک بالای خود، شرایط استرس اکسیداتیو و التهاب را در انواعی از بیماری های سندرم متابولیک نظیر دیابت کاهش داده و لذا با مهار آسیب میتوکندری سبب بهبود این بیماری ها می گردد، بنابراین به نظر می رسد با توجه به اثرات مثبت تمرین ورزشی و آتورواستاتین به تنهایی و استفاده ترکیبی از هر دو، اثرات درمانی موثرتری بر روی بیماری دیابت نوع ۲ داشته باشد همچنین نتایج این مطالعه بر بهبود کارایی قلب توسط مطالعات پیشین نیز تایید شده است.

### نتیجه گیری

در مجموع یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که دیابت با کاهش سطح بیان ژن های سیتوکروم C، AMPK میوسیت های قلبی همراه بود. اما هشت هفته تمرینات تناوبی، تناوبی و آتورواستاتین موجب افزایش معنادار این ژن ها شد. همچنین مداخله تمرین همراه آتورواستاتین در مقایسه با تمرین مجزا یا مصرف

- induced NAFLD male rats. *Physiology & Behavior*. 2020 Dec 1;227:113149.
9. Brandt N, Dethlefsen MM, Bangsbo J, Pilegaard H. PGC-1 $\alpha$  and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. *PLoS One*. 2017;12(10):e0185993.
  10. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem*. 2010;47:69-84
  11. Ahmadizad S, Haghighi AH, Hamedinia MR. Effects of resistance versus endurance training on serum adiponectin and insulin resistance index. *Eur J Endocrinol*. 2007; 157(5): 625-31.
  12. Stewart KJ. Role of exercise training on cardiovascular disease in persons who have type 2 diabetes and hypertension. *Cardiology clinics*. 2004;22(4):569-86.
  13. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal medicine*. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 17th ed. 2008;2(1365):1581.
  14. Buttar HS, Li T, Ravi N. Prevention of cardiovascular diseases: Role of exercise, dietary interventions, obesity and smoking cessation. *Experim Clin Cardiol*. 2005;10(4):229.
  15. Kromhout D, Menotti A, Kesteloot H, Sans S. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. *Circulation*. 2002;105(7): 893-8.
  16. Ahmadizad S, Haghighi AH, Hamedinia MR. Effects of resistance versus endurance training on serum adiponectin and insulin resistance index. *Eur J Endocrinol*. 2007;157(5):625-31.
  17. 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 Natural Prod Res*. 2017;19(10):1011-1021.
  18. Zhang M, Zheng J, Nussinov R, Ma B. Release of cytochrome C from Bax pores at the mitochondrial membrane. *Sci Rep*. 2017;7(1):1-13.
  19. Ma S, Wang Y, Chen Y, Cao F. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Basis Dis*. 2015;1852(2):271-276.
  20. Esmaili B, Abdi A, Abbassi Dalooi A, Farzanegi P. The effect of aerobic exercise along with resveratrol supplementation on AMPK and MAFbx gene expression of myocardial diabetic rats. *J Birjand Univ Med Sci*. 2020;27(2):150-60.
  21. Daniels A, Van Bilsen M, Janssen BJA, Brouns AE, Cleutjens JPM, Roemen THM, et al. Impaired cardiac functional reserve in type 2 diabetic db/db mice is associated with metabolic, but not structural, remodelling. *Acta Physiol*. 2020;200(1):11-22.
  22. Khalafi M, Mohebbi H, Symonds ME, Karimi P, Akbari A, Tabari E, et al. The impact of moderate-intensity continuous or high-intensity interval training on adipogenesis and browning of subcutaneous adipose tissue in obese male rats. *Nutrients*. 2020;12(4):925.
  23. Sturgeon K, Muthukumaran G, Ding D, Bajulaiye A, Ferrari V, Libonati JR. Moderate-intensity treadmill exercise training decreases murine cardiomyocyte cross-sectional area. *Physiological reports*, 2015;3(5):e12406.
  24. Zaha VG, Young LH. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. *Circul Res*. 2012;111(6):800-814.
  25. Liu HT, Pan SS. Late exercise preconditioning promotes autophagy against exhaustive exercise-induced myocardial injury through the activation of the AMPK-mTOR-ULK1 pathway. *BioMed Research International*, 2019.
  26. Richter EA, Ruderman NB. AMPK and the biochemistry of exercise: implications for human health and disease. *Biochem J*. 2009;418(2):261-275.
  27. Chen X, Hu X, Zou Y, Pi R, Liu M, Wang T, et al. Combined treatment with minocycline and prednisone attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice. *J Neuroimmunol*. 2009 May 29;210(1):22-9.
  28. Sahlin K, Tonkonogi M, Söderlund K. Energy supply and muscle fatigue in human. *Acta Physiol Scand*. 1998;162(3):261-6.
  29. Aghaei F, Mohsenzadeh M, Nameni F, Feizollahi F. The effect of high intensity interval training on retinol binding protein 4 and AMP-activated protein kinase gene expression in skeletal muscle of rats with type ii diabetes. *Armaghane Danesh*. 2019;23(6):709-721.
  30. Conway D, Cohen JA. Combination therapy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2010 Mar 31;9(3):299-308.
  31. Goyal A, Singh S, Tandon N, Gupta N, Gupta YK. Effect of atorvastatin on pancreatic Beta-cell function and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus patients: a randomized pilot study. *Can J Diabetes*. 2014;38(6):466-72.
  32. Li J, Sun YM, Wang LF, Li ZQ, Pan W, Cao HY. Comparison of effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative stress in patients with coronary heart disease. *Clin Cardiol*. 2010 Apr 1;33(4):222-7.
  33. Mohammadi MT, Amini R, Jahanbakhsh Z, Shekarforoush S. Effects of atorvastatin on the hypertension-induced oxidative stress in the rat brain. *Iran Biomed J*. 2013 Jul 1;17(3):152.
  34. Adamo M, Codella R, Casiraghi F, Ferrulli A, Macri C, Bazzigaluppi E, et al. Active subjects with autoimmune diabetes have better metabolic profiles than sedentary controls. *Cell Transpl*. 2017;26(1):23-32.

35. Mozafari M, Nekooeian AA, Panjeshahin MR, Zare HR. The Effects of Resveratrol in Rats with Simultaneous Type 2. Iran J Med Sci. 2015 Mar; 40(2):152–160.
36. Abdi, Hadi, Azamian Jazi A, Hafezi MK, Shamsaei N. "Combined effect of endurance training and different doses of atorvastatin on structural deformation of the heart after myocardial infarction in male rats." J Knowl Health Bas Med Sci. 2015;11(1): 32-40.
37. Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, et al. Treating NAFLD in OLETF Rats with Vigorous-Intensity Interval Exercise Training. Med Sci Sports Exerc. 2015 March;47(3):556–567.