

پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش

دوره ۱۴، شماره ۲، پاییز ۱۴۰۱

ص ص : ۱۲۳ - ۱۱۵

## تأثیر تمرین استقامتی بر بیان AMPK و AKT بافت کبد رت‌های نر مبتلا به دیابت

محمد محمدی<sup>۱</sup> - روح‌الله حق‌شناس<sup>۲\*</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران ۲. دانشیار

فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۹، تاریخ تصویب: ۱۴۰۱/۰۴/۰۸)

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن و پروتئین، پروتئین کیناز فعال شده توسط ادنوزین مونو فسفات (AMPK) و پروتئین کیناز B (AKT) بافت کبد رت‌های نر مبتلا به دیابت است. در این تحقیق تجربی، ۳۲ سر رت نر ویستار به‌طور تصادفی به چهار گروه دیابت (D)، گروه کنترل (C)، گروه ورزش (E) و گروه دیابت و ورزش (ED) تقسیم شدند. سپس ۱۶ سر از رت‌ها، با تزریق استروپتوزوسین به دیابت مبتلا شدند. گروه‌های E و ED به مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته پروتکل تمرین هوازی را اجرا کردند. پس از اتمام پروتکل، بافت کبد رت‌ها استخراج، و از روش RT-PCR برای سنجش بیان ژن و از روش وسترن بلات و ایمونو هیستوشیمی به ترتیب برای بیان پروتئین AMPK و AKT استفاده شد. مقدار RNA با استفاده از فرمول  $2^{-DDCT}$  محاسبه و سپس داده‌های با استفاده از آزمون تحلیل واریانس تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که بین AMPK و AKT گروه‌های E و C هم در سطح RNA و هم در سطح پروتئین، تفاوت معناداری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در گروه D نسبت به گروه C در سطح پروتئین، هر دو متغیر به‌طور معناداری کاهش یافت ( $P < 0.001$ ). در سطح RNA به‌طور معناداری کاهش ( $P < 0.003$ ) و AMPK به‌طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0.001$ ). هر دو متغیر در سطح پروتئین در گروه ED نسبت به گروه D به‌طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0.001$ ), در حالی که تغییرات در سطح RNA معنادار نبود. دیابت با کاهش AMPK و AKT و اختلال در مسیرهای وابسته به این متغیرها، تأثیرات مخرب خود بر بافت کبد را اعمال می‌کند و ورزش هوازی می‌تواند با افزایش این دو متغیر دیابت را تا حدودی بهبود بخشد.

### واژه‌های کلیدی

پروتئین کیناز، رت، دیابت، سوخت‌وساز، ورزش هوازی.

## مقدمه

طریق فعال کردن مسیر پیام‌رسانی AMPK/AKT در موش‌های مبتلا به دیابت میانجی‌گری می‌کند (۸). لای<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۹) احتمال داده‌اند که ویتامین D3 با فعال کردن مسیر پیام‌رسانی اتوفاژی AMPK/AKT/mTOR اختلال تنظیم چربی در کبد را در دیابت بهبود می‌بخشد (۹).

از طرفی از جمله تأثیرگذارترین روش‌های درمانی بر دیابت، فعالیت بدنی و ورزش است، اما کمتر تحقیقی به بررسی اثر ورزش بر این مسیر در بافت کبد پرداخته و تنها در عضله اسکلتی نشان داده شده است که ورزش به‌طور چشمگیری فعالیت AMPK، AKT در دیابت را افزایش می‌دهد (۱۰، ۱۱) و بیشتر پژوهش‌ها در زمینه ورزش و دیابت در زمینه این مسیر بر روی عضله اسکلتی است. کاو<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۲) گزارش داده‌اند که ورزش کوتاه‌مدت و بلندمدت بر بیان AMPK و فسفو اینوزیتید ۳ کیناز<sup>۷</sup> (PI3K) تأثیر می‌گذارد و از این طریق عملکرد انتقال‌دهنده گلوکز نوع<sup>۴</sup> (GLUT4) را در عضله اسکلتی بهبود می‌بخشد (۱۲). از آنجا که کمتر تحقیقی به تأثیر ورزش بر مسیر پیام‌رسانی AMPK/AKT در بافت کبد در اثر دیابت پرداخته است، و استفاده از ورزش با هدف ایجاد تغییر در مسیر پیام‌رسانی AMPK/AKT نیز می‌تواند راهکار درمانی مناسبی برای دیابت باشد، هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن و پروتئین AMPK و AKT بافت کبد رت‌های نر مبتلا به دیابت است.

دیابت، چاقی و بیماری‌های کبد بیشتر از آنچه تصور می‌شود با یکدیگر مرتبط‌اند و چنین ارتباطی خطر مرگ‌ومیر را به‌همراه دارد (۱، ۲). در واقع اختلال در مسیرهای پیام‌رسانی متابولیک بدن می‌تواند از دلایل اصلی ابتلا به دیابت باشد و مولکول‌ها و مسیرهای پیام‌رسان مؤثر در اختلالات متابولیک که ناشناخته‌های زیادی در مورد آنها وجود دارد در این زمینه نقش بسزایی دارند. پروتئین کیناز فعال‌شده توسط ادنوزین مونو فسفات (AMPK)،<sup>۱</sup> عامل کلیدی در دیابت و سندروم متابولیک است که با عدم تنظیم وضعیت متابولیک مرتبط است (۳). اختلال در مسیر پیام‌رسانی AMPK/پروتئین کیناز B (AKT)، در شروع و پیشرفت دیابت نقش دارد و فعال‌سازی AMPK می‌تواند اختلالات متابولیکی ناشی از دیابت را بهبود بخشد (۴). AMPK تولید گلوکز کبد و لیپوژنز را مهار می‌کند و افزایش بیان AMPK سبب کاهش قند خون و ژن‌های درگیر در گلوکونئوژنز در موش‌های دیابتی می‌شود (۵، ۶). همچنین گزارش شده است که هورمون رزیستین ترشح‌شده از بافت چربی، تولید گلوکز کبد را با مهار AMPK افزایش می‌دهد (۷). از این‌رو تحقیقات فراوانی سعی کرده‌اند با بررسی تأثیر داروهای مختلف و تأثیر آنها بر مسیر پیام‌رسانی AMPK/AKT به درمان بیماری دیابت کمک کنند. برای نمونه گزارش شده است که فعال‌سازی AMPK توسط داروی متفورمین اختلالات مرتبط با دیابت و سندروم متابولیک را بهبود می‌بخشد و به راهبرد درمانی برای این بیماری‌ها تبدیل شده است (۳). لیو<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که ماده جینسنوساید PK3، تجمع چربی و گلوکونئوژنز کبد را از

5. Li  
6. Cao  
7. Phosphoinositide 3-kinases  
8. Glucose transporter type 4

1. Adenosine monophosphate-activated protein kinase  
2. Protein kinase B  
3. Liu  
4. Ginsenoside Rk3

## روش پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که پس از تصویب و تأیید در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شماره IR.SEMUMS.REC.1399.291، ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار، با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از مؤسسه رازی تهران خریداری و پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، مدل دیابت در ۱۶ سر رت با تزریق درون صفاقی استروپتوزوسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد. برای تعیین و تشخیص مدل ایجادشده دیابت، از اندازه‌گیری قند خون سه روز پس از تزریق استفاده شد. پس از تأیید مدل دیابت، رت‌ها به چهار گروه کنترل (C) (n=۸)، گروه تمرین (E) (n=۸)، گروه دیابت (D) (n=۸)، گروه دیابت و تمرین هوازی (ED) (n=۸)، تقسیم شدند. رت‌ها در قفس پلی‌کربنات شفاف، تحت چرخه روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت  $65 \pm 5$  درصد و درجه حرارت  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. رت‌های گروه تمرین به‌منظور آشناسازی با پروتکل تمرین به مدت دو هفته روی نوار گردان قرار گرفتند و آموزش‌های لازم به آنها داده شد. سپس رت‌ها به مدت ۸ هفته پروتکل تمرین هوازی را اجرا کردند. در تمامی مراحل کار با حیوانات حداکثر تلاش برای رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد تا کمترین میزان آزار و اذیت به حیوانات وارد شود. عمل بافت‌برداری، در پایان هفته هشتم و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، بعد از بی‌هوشی با گاز CO<sub>2</sub> و پس

از ۸ تا ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه رأس ساعت ۸ تا ۱۰ صبح انجام گرفت و بافت کبد رت‌ها استخراج و پس از شست‌وشو با سرم فیزیولوژیک و جدا کردن قسمت‌های زائد، به نیتروژن مایع انتقال یافت و در دمای منفی ۸۵ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش، نگهداری شد.

روش آزمایشگاهی: به‌منظور بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت کبد طبق پروتکل شرکت سازنده و پرایمر طراحی‌شده انجام گرفت (جدول ۱). برای استخراج mRNA، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد با روش هموژنیزه کردن مواد، استفاده شد. به‌منظور جداسازی mRNA، از کیت RNA-PLUS از شرکت CinnaGen، طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و سپس با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر درجه خلوص نمونه RNA به‌صورت کمی به‌دست آمد ( $A_{260} \times \epsilon \times d / 1000 = C (\mu\text{g}/\mu\text{l})$ ). پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا از تمامی نمونه‌های مورد بررسی مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده به‌منظور انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. ابتدا پرایمرهای طراحی‌شده، مربوط به ژن AMPK و AKT بررسی شد و سپس بررسی بیان ژن AMPK و AKT با استفاده از روش کمی Q-RT PCR انجام گرفت. برای اندازه‌گیری بیان پروتئین AMPK از روش وسترن بلات و از روش ایمونوهیستوشیمی برای اندازه‌گیری بیان پروتئین AKT استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. توالی پرایمر طراحی‌شده AMPK، Akt

rGap R	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C
rGap F	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
AMPK F	TGT GTT CAA AGT CTG CTG CC
AMPK R	ACG CTG TAA GGT CTG GTC AA
Akt1 F	CCC TTC CTT ACA GCC CTC AAG
Akt1 R	ACA CAA TCT CCG CAC CGT AG

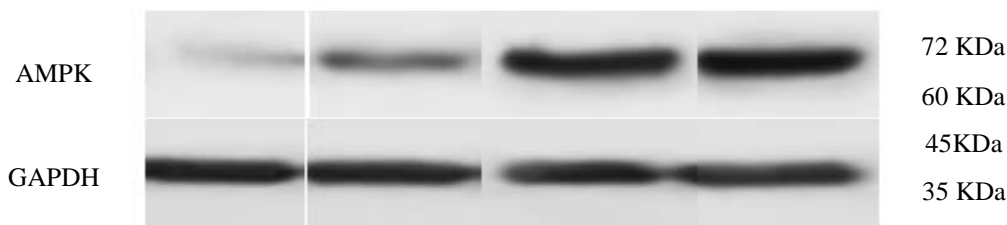
## پروتکل تمرین

پس از تأیید دیابت، رت‌ها دوره آشنایی با محیط و پروتکل تمرین را به مدت دو هفته شروع کردند. به منظور آشناسازی با پروتکل تمرین، رت‌های گروه‌های تمرین، به وسیله راه رفتن آرام به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵-۱۰ متر بر دقیقه روی نوار گردان به تمرین پرداختند. در ادامه رت‌های گروه‌های تمرین، پروتکل تمرین هوازی را به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته اجرا کردند. شدت تمرین در طول دوره تمرینی به صورت فزاینده افزایش می‌یافت. بدین صورت که شدت تمرین از ۱۰ متر بر دقیقه و مدت ۲۳ دقیقه در هفته اول به ۲۳ متر بر دقیقه و مدت ۵۹ دقیقه در هر جلسه در هفته هشتم رسید (۱۳، ۱۴). مدت تمرین در هفته اول با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن ۲۳ دقیقه و شدت تمرین حداکثر ۱۰ متر در دقیقه بود. در ادامه برای رعایت اصل اضافه بار به صورت هفتگی به طور میانگین ۶ دقیقه (هر روز یک دقیقه) به مدت تمرین و ۲ متر در دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین در هفته هشتم به ۵۹ دقیقه و حداکثر سرعت ۲۶ متر بر دقیقه برسد. هر جلسه تمرین پس از گرم کردن (با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه) ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه

شروع می‌شد و هر ۳ دقیقه، ۲ متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه شد تا به سرعت مورد نظر تعیین شده هفتگی برسد و با همان سرعت تمرین خاتمه می‌یافت و به مدت ۳ دقیقه به آرامی سرعت دستگاه کاهش می‌یافت (۱۵، ۱۶).

## روش آماری

از میانگین و انحراف معیار برای بخش آمار توصیفی استفاده شد. همچنین پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک و مفروضات تحلیل واریانس، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و تعیین تفاوت بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس تک‌متغیره و برای نشان دادن تفاوت دو به دو گروه‌ها، از آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری  $P < 0.05$  با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS نسخه ۲۴ استفاده شد. همچنین از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۸،۰،۲ برای ترسیم نمودارها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل بیان ژن داده‌های آستانه چرخه (CT) هر واکنش استخراج و با روش  $2^{-\Delta\Delta C(0)}$  بیان ژن‌های هدف در بافت‌ها محاسبه شد. برای این منظور پس از محاسبه اختلاف ژن هدف و ژن رفرنس، اختلاف هر گروه با میانگین گروه کنترل محاسبه و سپس ۲ به توان منفی عدد به دست آمده شد و  $2^{-\Delta\Delta C(0)}$  به این صورت محاسبه شد.



شکل ۱. تصاویر مربوط به بیان پروتئین AMPK در گروه‌های مورد بررسی

همان‌طور که مشاهده می‌شود، دیابت رت‌ها تأیید شده است. پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس برای متغیرهای بیان ژن و پروتئین AMPK و AKT نتایج این تحلیل تفاوت

## یافته‌ها

نتایج مربوط به وزن و گلوکز رت‌ها در مرحله پیش‌آزمون و پس‌آزمون در جدول ۲ گزارش شده و

توکی استفاده شد که نتایج در شکل ۱ نشان داده شده است.

معناداری را بین گروه‌های مورد بررسی نشان داد ( $F=8.08/61, P \leq 0.001$ ). در ادامه برای مقایسه دو به دو گروه‌ها و مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی

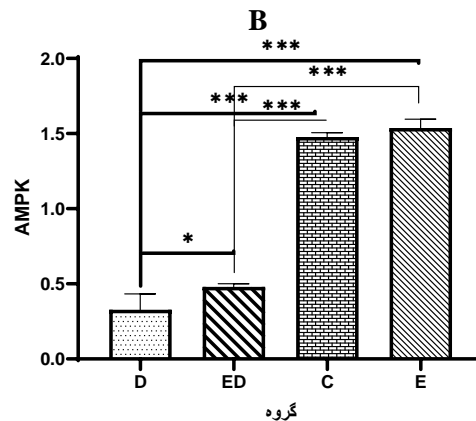
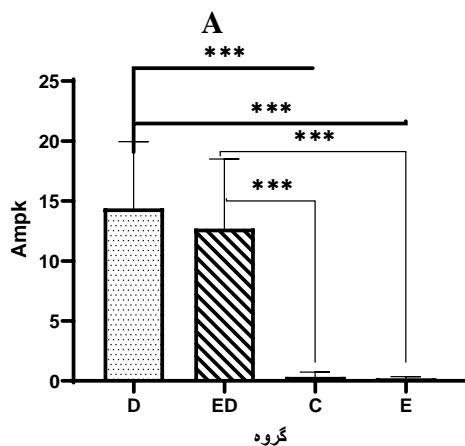
جدول ۲. نتایج مربوط به وزن و گلوکز

شاخص	گروه	پیش‌آزمون (SD) میانگین	معناداری	پس‌آزمون (SD) میانگین	معناداری
وزن (گرم)	E	۲۰۶/۶۲ (۴/۹۸)	۰/۱۷۵	۲۸۳/۵۰ (۱۳/۶۴)	<۰/۰۰۱
	D	۱۹۹/۶۳ (۱۴/۰۶)		*۲۵۲/۲۵ (۹/۹۰)	
	ED	۲۱۰/۶۲ (۱۰/۶۸)		*۲۶۴/۰۰ (۹/۱۸)	
گلوکز (mg/dl)	C	۲۰۶/۵۰ (۶/۲۸)	<۰/۰۰۱	†۳۰۷/۵۰ (۱۴/۸۳)	<۰/۰۰۱
	E	†۱۰۲/۰ (۱۲/۸۷)		†۹۰/۲۵ (۱۱/۳۱)	
	D	*۳۰۵/۵۰ (۵۳/۵۰)		*۲۵۲/۵۰ (۲۷/۱۰)	
	ED	*۲۹۳/۲۵ (۵۰/۵۷)		†*۱۸۵/۷۵ (۱۱/۴۲)	
	C	†۱۰۲/۵۰ (۱۱/۲۲)		†۹۰/۷۵ (۵/۸۷)	

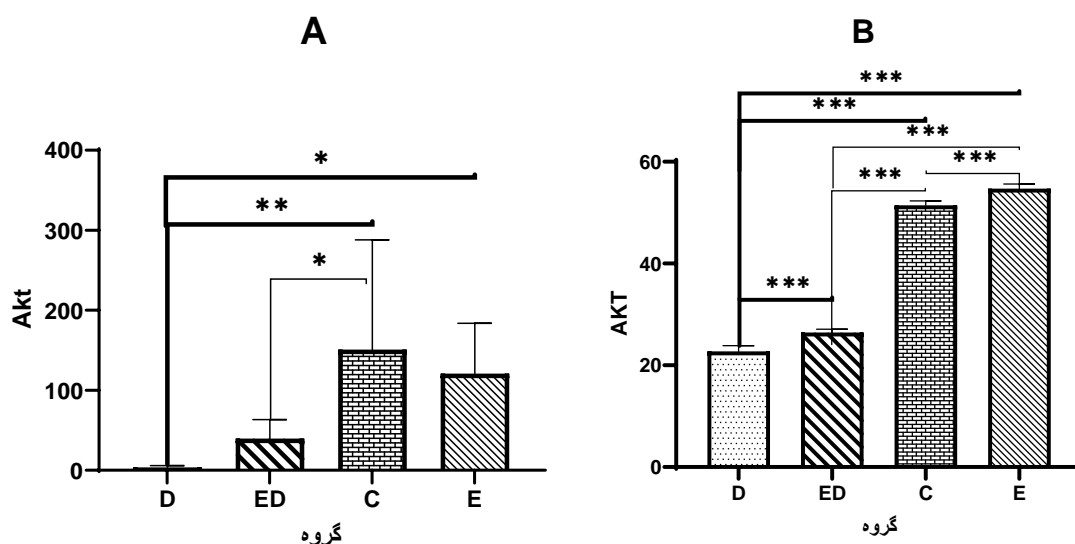
\* معنادار نسبت به گروه کنترل † معنادار نسبت به گروه دیابت

کاهش یافت ( $P < 0.033$ )، درحالی که AMPK به‌طور معناداری افزایش یافته بود ( $P < 0.001$ ). در گروه ED نسبت به گروه D هر دو متغیر AMPK و AKT در سطح پروتئین به‌طور معناداری افزایش یافته بود ( $P < 0.001$ )، درحالی که تغییرات در سطح RNA معنادار نبود (شکل‌های ۲ و ۳).

نتایج نشان داد که در هر دو متغیر AMPK و AKT تفاوت معناداری بین گروه E و گروه C هم در سطح RNA و هم در سطح پروتئین، وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). همچنین در سطح پروتئین، هر دو متغیر AMPK و AKT به‌طور معناداری در گروه D نسبت به گروه C کاهش یافته بود ( $P < 0.001$ ). در سطح RNA نیز AKT به‌طور معناداری



شکل ۲. نتایج مربوط به بیان ژن (A) و پروتئین (B) متغیر AMPK بافت کبد رت‌ها



شکل ۳. نتایج مربوط به بیان ژن (A) و پروتئین (B) متغیر AKT بافت کبد رت‌ها

D: گروه دیابت، ED: گروه تمرین دیابت، C: گروه کنترل و E: گروه تمرین. \* معناداری در سطح کمتر از ۰/۰۵ \*\*\* معنادار در سطح

R ۰۰۱

کبد برای بحث‌های درمانی در بیماری دیابت ضروری و لازم است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هر دو متغیر AMPK و AKT در گروه ED نسبت به گروه D در سطح پروتئین به‌طور معناداری افزایش یافته بود، درحالی‌که تغییرات در سطح RNA معنادار نبود. همسو با نتایج پژوهش حاضر تحقیقات دیگر، تأثیر مثبت ورزش بر دیابت در انسان و موش‌ها را گزارش کرده‌اند (۲۳-۱۹).

تمرینات ورزشی می‌تواند بر بهبود مسیر پیام‌رسانی AMPK/AKT/AS160 در آزمودنی‌ها چاق مبتلا به دیابت تأثیرگذار باشد و این افراد به شدت بالاتری از تمرین نسبت به افراد لاغر نیاز دارند و شدت ورزش را عامل تعیین‌کننده‌ای در میزان تغییرات AMPK و AKT بیان داده‌اند (۲۴). در پژوهش حاضر، با افزایش سرعت تمرین در طول هر جلسه و هر سه دقیقه یک بار میزان شدت تمرین تا حد امکان افزایش یافت تا فشار تمرینی لازم به آزمودنی‌ها اعمال شود.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که دیابت به‌طور معناداری در بافت کبد، سطح بیان ژن AMPK را افزایش و بیان ژن AKT را کاهش می‌دهد. در سطح پروتئین دیابت هم بیان پروتئین AMPK و هم AKT در بافت کبد، را به‌طور معناداری کاهش داد. احتمالاً دیابت با اختلال در AMPK و AKT و مسیرهای وابسته به این متغیرها، تأثیرات مخرب خود را بر بافت کبد، اعمال می‌کند. AMPK می‌تواند مسیر پیام‌رسان PI3K/AKT را فعال کند (۱۷) و حساسیت به انسولین کبد را افزایش دهد (۱۸). محور پیام‌رسان تشکیل‌شده توسط تیروزین کینازها، گیرنده‌های PI3K و AKT هستند. این محور باید کاملاً تنظیم شود، زیرا اختلال در پیام‌رسان AKT و PI3K زیربنای بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، دیابت و ... است. کاهش خیلی زیاد و معنادار AMPK و AKT در کبد در اثر دیابت نشان می‌دهد که AMPK و AKT به‌شدت در اثر دیابت در کبد تخریب می‌شود و توجه به سطح AMPK و AKT در بافت

بیان AMPK در کبد موجب کاهش سطح گلوکز خون می‌شود. دسترسی کم گلوکز به استفاده از اسیدهای چرب منجر می‌شود که در نتیجه توده بافت چربی سفید کاهش و تجمع چربی در کبد افزایش می‌یابد که به‌نظر می‌رسد انجام تمرینات ورزشی و به‌ویژه تمرینات استقامتی با تکیه بر مصرف چربی‌ها بتواند از تجمع چربی در کبد و مشکلات بعدی پیشگیری کند، البته در پژوهش حاضر هیچ‌کدام از متغیرها مرتبط با سوخت‌وساز چربی‌ها اندازه‌گیری نشد. همچنین در پژوهش حاضر نوع آزمودنی‌های مورد استفاده در پژوهش و نحوه ابتلا کردن آنها به دیابت احتمالاً نمونه دقیقاً مشابهی از دیابت در انسان نباشد و تعمیم آن به نمونه‌های انسانی باید با احتیاط صورت گیرد.

در کل نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که دیابت بیان ژن AKT و بیان پروتئین AMPK و AKT در بافت کبد را کاهش می‌دهد که احتمالاً به‌علت بالا بودن ذخایر کربوهیدراتی کبد در افراد دیابتی است که به تخریب بافت کبد و احتمالاً تجمع چربی در این بافت منجر می‌شود. از طرفی تمرین هوازی از طریق افزایش سطح AMPK و AKT احتمالاً موجب کاهش مقاومت به انسولین و در نتیجه بهبود سطح گلوکز خون در رت‌های دیابتی می‌شود.

#### تقدیر و تشکر

از حمایت‌ها و همکاری شرکت بافت و ژن پاسارگاد به‌سبب انجام مراحل آزمایشگاهی این طرح کمال سپاسگزاریم.

فعال شدن پیام‌رسان PI3K به فعال‌سازی AKT منجر می‌شود. اگرچه سطح AMPK پس از ابتلا به دیابت کاهش می‌یابد، در تحقیق حاضر مشخص شد که تمرینات ورزشی هوازی از کاهش سطوح AMPK و AKT جلوگیری می‌کند. در راستای تأیید پژوهش حاضر، کوا و همکاران (۲۰۱۹) افزایش سطح AMPK در بافت کبد رت‌های مبتلا به دیابت را در اثر تمرین هوازی گزارش کردند (۲۵).

ورزش و فعالیت بدنی موجب افزایش انقباض عضلانی و در نتیجه مصرف ATP می‌شود و مصرف ATP در عضلات، خود کاهش نسبت AKT/AMPK و افزایش فعالیت AMPK را در پی دارد. نتیجه این واکنش‌ها جابه‌جایی GLUT4 از درون سلول به سطح غشاست. آنزیم هتروتیرمیک AMPK با مهار گلوکز تولیدی توسط کبد، سبب افزایش گلوکز مصرفی توسط عضلات می‌شود و سطح گلوکز را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد (۲۶). اما اینکه در بافت کبد چه عوامل یا مسیرهایی بر AMPK می‌توانند تأثیرگذار باشند، هنوز چندان مشخص نیست و احتمالاً اگر تمرینات ورزشی از لحاظ شدت و مدت تمرین در حدی باشند که به تخلیه گلیکوژن کبد منجر شوند، می‌توانند تأثیر بیشتری روی مسیر پیام‌رسانی AMPK کبد داشته باشند. افزون‌بر این AMPK با مهار گلوکز تولیدی توسط کبد و افزایش گلوکز مصرفی توسط عضلات، سطح افزایش‌یافته گلوکز را در بیماران دیابتی کاهش می‌دهد. فعالیت ورزشی سبب کاهش گلوکز، افزایش فسفوریلاسیون و بیان AMPK کاهش دفسفوریلاسیون سوپسترای AMPK و استیل کوا کربوکسیلاز (ACC) می‌شود و تمرین بلندمدت با تنظیم مثبت فسفوریلاسیون و بیان واکنش‌های قبل از AMPK و LKBI سبب کاهش گلوکز و افزایش AMPK، AKT، PI3K و GLUT4 می‌شود که در نهایت به بهبود کنترل قند خون کمک می‌کند (۲۷).

## References

1. Moscatiello S, Manini R, Marchesini G. Diabetes and liver disease: an ominous association. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2007;17(1):63-70.
2. Chiang DJ, Pritchard MT, Nagy LE. Obesity, diabetes mellitus, and liver fibrosis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2011;300(5):G697-G702.
3. Umezawa S, Higurashi T, Nakajima A. AMPK: therapeutic target for diabetes and cancer prevention. *Current pharmaceutical design*. 2017;23(25):3629-44.
4. Garcia D, Mihaylova MM, Shaw RJ. AMPK: Central Regulator of Glucose and Lipid Metabolism and Target of Type 2 Diabetes Therapeutics. *The Liver: Biology and Pathobiology*. 2020:472-84.
5. Oakhill JS, Scott JW, Kemp BE. AMPK functions as an adenylate charge-regulated protein kinase. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2012;23(3):125-32.
6. Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, Saintillan Y, Grondin P, Kahn A, et al. Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes*. 2005;54(5):1331-9.
7. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, et al. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science*. 2004;303(5661):1195-8.
8. Liu Y, Deng J, Fan D. Ginsenoside Rk3 ameliorates high-fat-diet/streptozocin induced type 2 diabetes mellitus in mice via the AMPK/Akt signaling pathway. *Food & function*. 2019;10(5):2538-51.
9. Li Y, Huang D, Zheng L, Cao H, Fan Z. Effect of microRNA-141 on the development of diabetic nephropathy through regulating AKT/AMPK signaling pathway by targeting insulin receptor substrate 2. *Journal of cellular biochemistry*. 2019;120(5):8008-15.
10. O'Neill HM. AMPK and exercise: glucose uptake and insulin sensitivity. *Diabetes & metabolism journal*. 2013;37(1):1.
11. Maghami M, Keshavarz S, Haghshenas R, Eftekhari E. The Effect of Endurance Training and Nettle Consumption on Protein and Gene Expression of AKT and GLUT4 in Soleus Muscle of Diabetic Male Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*. 2021;21(4):240-9.
12. Cao S, Li B, Yi X, Chang B, Zhu B, Lian Z, et al. Effects of exercise on AMPK signaling and downstream components to PI3K in rat with type 2 diabetes. *PLoS One*. 2012;7(12):e51709.
13. Haghshenas R, Ravasi A, Kordi M, Hedayati M, Shabkhiz F, Shariatzade Joneidi M. Effects of twelve weeks endurance training on weight, food intake, and plasma levels of nesfatin-1 in obese male rats. *J Sport Biomotor Sci*. 2012;5(1):77-85.
14. Nori P, Haghshenas R. Effects of eight weeks aerobic training on kynurenine and gene and protein expression of aryl hydrocarbon receptor in the heart of male rats. *Koomesh*. 2022;24(1):162-7.



15. Hagh Shenas R, Gilani N, Jafari M. Effect of 16 weeks endurance training and high fat diet on plasma level of interleukins-6, 10 and nesfatin-1 of rats. *Sport Physiology*. 2015;6(24):49-60.
16. Haghshenas R, Ravasi AA, Kordi MR, Hedayati M, Shabkhiz F, Shariatzadeh M. The effect of a 12-week endurance training on IL-6, IL-10 and Nesfatin-1 plasma level of obese male rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2013;5(4):109-22.
17. Liu Y, Deng J, Fan DJF, function. Ginsenoside Rk3 ameliorates high-fat-diet/streptozocin induced type 2 diabetes mellitus in mice via the AMPK/Akt signaling pathway. 2019;10(5):2538-51.
18. Zheng T, Yang X, Wu D, Xing S, Bian F, Li W, et al. Salidroside ameliorates insulin resistance through activation of a mitochondria-associated AMPK/PI3K/Akt/GSK 3 $\beta$  pathway. *British journal of pharmacology*. 2015;172(13):3284-301.
19. Friedrichsen M, Mortensen B, Pehmøller C, Birk JB, Wojtaszewski JF. Exercise-induced AMPK activity in skeletal muscle: role in glucose uptake and insulin sensitivity. *Molecular and cellular endocrinology*. 2013;366(2):204-14.
20. Ruderman N, Park H, Kaushik V, Dean D, Constant S, Prentki M, et al. AMPK as a metabolic switch in rat muscle, liver and adipose tissue after exercise. *Acta physiologica Scandinavica*. 2003;178(4):435-42.
21. Nazari GT, Ebrahimi M, Haghshenas R, Saeidi ZT. The effect of 12-week yoga selected exercise on fasting glucose, glycosylated hemoglobin and lipid profile in patients with type 2 diabetes. 2014.
22. Sobhani F, Haghshenas R, Rahimi M. Effect of eight weeks aerobic training and supplementation of green tea on apelin plasma levels and insulin resistance in elderly women with type 2 diabetes. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2019;28(170):84-93.
23. Maghami M, Keshavarz S, Haghshenas R, Eftekhari E. Effect of aerobic exercise on gene expression of Drp1 and Cyp1a1 and protein expression of CYP1A1 in the soleus muscle of male diabetic rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2021;13(3):301-12.
24. Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, Balbontin GB, Reyna SM, Barrientes J, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. *Diabetes*. 2007;56(3):836-48.
25. Ko JR, Seo DY, Kim TN, Park SH, Kwak H-B, Ko KS, et al. Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(5):666.
26. Lee H, Zandkarimi F, Zhang Y, Meena JK, Kim J, Zhuang L, et al. Energy-stress-mediated AMPK activation inhibits ferroptosis. *Nature cell biology*. 2020;22(2):225-34.
27. Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Uchida M, Iemitsu K, Inoue K, et al. Effect of combination of chlorella intake and aerobic exercise training on glycemic control in type 2 diabetic rats. *Nutrition*. 2019;63:45-50.

## The Effect of Endurance Training on Expression of AMPK and AKT in Liver Tissue of Diabetics' Male Rats

Mohammad Mohammadi<sup>1</sup>- Rouhollah Haghshenas<sup>\*2</sup>

1. Master of science exercise physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran 2. Associate Professor of Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran

(Received:2021/10/01;Accepted:2022/06/29)

### Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of endurance training on the gene and protein expression of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and protein kinase B (AKT) in liver tissue of male rats with diabetes. In this experimental study, 32 male Wistar rats were randomly divided to 4 groups: diabetic group (D), control group (C), exercise group (E), Exercise and diabetic group (ED). Then 16 rats received Streptozocin injection to induce diabetes. Groups of E and ED performed the designed aerobic exercise protocol five sessions per week for eight weeks. At the end of the protocol, rat liver tissue was extracted, RT-PCR was used to measure gene expression and Western blot and immunohistochemistry were used to express AMPK and AKT proteins, respectively. Then RNA was calculated using the formula of  $2^{-DDCT}$  and the data of gene and protein expression AMPK were analyzed with univariate analysis of variance. The results showed that there was no significant difference between AMPK and AKT between group E and group C in both RNA and protein levels ( $P>0.05$ ). In group D compared to group C in the level of protein, both variables were significantly reduced ( $P<0.001$ ), AKT was significantly decreased at RNA level ( $P<0.033$ ) and AMPK was significantly increased ( $P<0.001$ ). Both variables in protein level were significantly increased in group ED compared to group D ( $P<0.001$ ), while changes in RNA level were not significant. Diabetes exerts destructive effects on liver tissue by reducing AMPK and AKT and disrupting pathways dependent on these variables, and aerobic exercise may improve diabetes by increasing these two variables to some extent.

### Keyword

Aerobic Exercise, Diabetes, Metabolism, Protein kinas, Rats

\* Corresponding Author: Email: rhm@semnan.ac.ir; Tell:+989133298826