

تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 در بافت بطن چپ عضله قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک

مسعود جوکار^۱، موسی امیراحمدی^۲، محمد شرافتی^{۳*}

چکیده

مقدمه: مسیر میوستاتین/SMAD یکی از مسیرهای مهم تنظیم‌کننده آتروفی سلول‌های عضلانی قلب است. دیابت می‌تواند در این مسیر اختلال ایجاد کند؛ بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر میزان پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 در بافت بطن چپ عضله قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک است.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه نر از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن 300 ± 20 گرم انتخاب شدند. پس از القاء دیابت از طریق محلول استرپتوزوتوسین، به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین استقامتی دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند؛ گروه‌های تمرینی ۴ روز در هفته به مدت ۶ هفته برنامه تمرینی را شامل ۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام دادند؛ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون آماری t-مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری، $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تمرین استقامتی منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های میوستاتین ($P=0/024$) و SMAD2/3 ($P=0/001$) بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت عضله قلبی شد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت تمرین استقامتی با کاهش محتوای پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 در بطن چپ قلبی به احتمال توانسته است از آتروفی قلبی در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک جلوگیری کند. این کاهش می‌تواند منجر به هیپرتروفی فیزیولوژیک قلبی شود.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، عضله قلبی، پروتئین میوستاتین، پروتئین SMAD2/3، دیابت نوع یک

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- گروه علوم ورزشی، موسسه آموزش عالی آپادانا، شیراز، ایران

* **نشانی:** فارس، شیراز، میدان معلم، ایمان شمالی، روبروی بانک سپه، ساختمان مرکزی موسسه آموزش عالی آپادانا، کد پستی:

۷۱۸۷۹۸۵۴۴۳، تلفن: ۰۷۱۳۶۹۸۷، پست الکترونیک: m.sherafati@hiau.ac.ir

مقدمه

سلول‌های عضله‌ی قلبی (کاردیومیوسیت‌ها) در بزرگسالان متمایز هستند. بافت قلبی انعطاف‌پذیری دارد که قلب را قادر می‌سازد تا به خواسته‌های زیست محیطی پاسخ دهد و سلول‌های قلبی می‌توانند در واکنش به تنش‌های فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک مختلف رشد کنند یا بمیرند [۱]. هیپرتروفی قلبی فیزیولوژیک زمانی رخ می‌دهد که قلب عملکرد طبیعی داشته باشد و هیپرتروفی قلبی پاتولوژیک زمانی است که عملکرد قلبی با اختلال همراه است. هیپرتروفی قلبی فیزیولوژیکی طبیعی قلب عمدتاً از طریق هیپرتروفی کاردیومیوسیت‌ها در پاسخ به فعالیت ورزشی رخ می‌دهد [۲].

یک لینک دو طرفه بین دیابت و نارسایی قلبی وجود دارد. نارسایی قلبی در افراد مبتلا به دیابت در بالاترین سطوح است. علاوه بر این، دیابت می‌تواند به‌طور مستقل علت تغییرات تحت بالینی در ساختار و عملکرد قلب باشد که منجر به توسعه و پیشرفت نارسایی قلبی می‌شود. کاردیومیوپاتی دیابتی به‌طور کلی به اختلال عملکرد قلبی مرتبط با دیابت در غیاب سایر عوارض گفته می‌شود [۳].

از آنجا که هیپرتروفی قلبی نقش مهمی در بازسازی قلب دارد و یک عامل خطر مستقل برای حوادث قلبی است، درک این فرآیند بسیار مهم است. میوستاتین^۱، همچنین به‌عنوان فاکتور رشد و تمایز ۸ (GDF8)^۲ شناخته می‌شود؛ این پروتئین یک عضوی از خانواده‌ی بزرگ $TGF-\beta^3$ است که تنظیم‌کننده‌ی تمایز و رشد عضله است [۴]. اگرچه محل اصلی بیان آن عضله است؛ اما میوستاتین همچنین می‌تواند در عضله‌ی قلب و بافت چربی بیان شود [۵]. در عضله‌ی اسکلتی، میوستاتین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی منفی عمده از رشد عضلانی عمل می‌کند [۶]. با توجه به اثرات میوستاتین در عضله‌ی اسکلتی، اثرات ضد هیپرتروفیک قلبی را می‌توان پیش‌بینی کرد. با این حال، در مقابل عضلات اسکلتی، اثرات قلبی میوستاتین به خوبی درک نشده است. نشان داده شده است که مسیر

میوستاتین-SMAD در مهار اندازه عضلات نقش اساسی دارد. عواملی مانند گلوکوکورتیکوئیدها و بی‌حرکتی، معمولاً mRNA میوستاتین را افزایش می‌دهد؛ میوستاتین، رونویسی و ترجمه شده و سپس توسط پروتئاز شکسته می‌شود و به شکل یک دایمر ترشح می‌گردد [۷]. میوستاتین تنها زمانی فعال می‌شود که با گیرنده‌ی نوع $TGF\beta$ II متصل شود که گیرنده‌ی نوع I را فسفریله می‌کند و به آن متصل می‌شود و پس از آن Smad2/3 را در انتهای-C فسفریله می‌کند. گیرنده‌های Smad2/3 فسفریله شده و همراه با Smad4 وارد هسته می‌شوند. در آن جا، ژن‌های کنترل‌کننده‌ی توده‌ی عضلانی را تنظیم می‌کنند [۸]. در حالی که نتایج برخی از مطالعات (اما نه همه) نشان می‌دهد تمرینات ورزشی باعث کاهش میوستاتین می‌شود. در کل، سازوکارهای سلولی و مولکولی تغییرات در عملکرد بافت قلبی به‌دنبال تمرینات ورزشی به درستی بررسی و درک نشده است، که این درک ضعیف نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. فعالیت‌های ورزشی را می‌توان به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفت. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که هنگام فعالیت ورزشی، تغییرات ساختاری و عملکردی بطنی نسبت به سایر بخش‌های قلب بیشتر است [۹]. فعالیت ورزشی منظم و فعالیت جسمانی به‌عنوان راهبردی مؤثر برای پیشگیری و درمان بیماری چاقی و دیابت در نظر گرفته می‌شود [۱۰]. در تحقیقی رشیدلمیر و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن میوستاتین عضله‌ی قلبی در موش‌های نر و بیستار سالم پرداختند. موش‌های گروه تجربی هشت هفته صعود همراه با وزنه از یک نردبان ۲۶ پله‌ای یک‌متری با شیب ۸۵ درجه را انجام دادند. هشت هفته تمرین مقاومتی در بیان ژن میوستاتین عضله‌ی قلبی موش‌های نر و بیستار سالم، تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد [۱۱]. در تحقیقی دیگر عیسی‌زاده و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر ترتیب تمرینات ترکیبی (گروه هوازی- مقاومتی، مقاومتی-هوازی) بر سطوح سرمی میوستاتین و فولیستاتین در زنان سالمند پرداختند. نتایج نشان داد غلظت میوستاتین و فولیستاتین بین گروه‌ها تفاوت معناداری ندارد [۱۲]. در تحقیقی Wang و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین هوازی با شدت متوسط بر محتوای

¹ Myostatin

² Growth Differentiation Factor

³ Transforming Growth Factor Beta

روش القاء دیابت

برای ایجاد دیابت نوع یک در موش‌ها، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵) به صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ از نمونه‌خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع یک در نظر گرفته شد [۱۵، ۱۴]. پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه (۱) گروه تمرین استقامتی دیابتی (۶ سر) و (۲) گروه کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند.

تمرین استقامتی

موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به مدت ۶ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم (به مدت ۶ دقیقه) کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی اصلی شامل ۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه (به مدت ۶ دقیقه) سرد کردند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۶ هفته تغییری نداشت [۱۶].

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تدریجی ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای ترمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی

پروتئین‌های SMAD2/3 پرداختند. نتایج نشان داد که فیروز میوکارد در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو از طریق مهار استرس اکسیداتیو و مسیر SMAD کاهش می‌یابد [۱۳].

با این حال، رابطه‌ی بین مهار میوستاتین و گیرنده‌های آن طی سازگاری‌های ورزشی برای اندازه و عملکرد عضله قلب تعیین نشده است. به طور خاص، آیا مهار میوستاتین توسط تمرین استقامتی بر هیپرتروفی فیزیولوژیک عضله قلب تاثیرگذار است؟ بنابراین، با توجه به نقش‌های بسیار مهم پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 در تنظیم مسیر آتروفی و نقص‌های قلبی، تمرین ورزشی استقامتی را می‌توان به عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفت. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که تمرینات ورزشی، منجر به تغییرات ساختاری و عملکردی قلبی می‌شود. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر شش هفته تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 در بافت بطن چپ عضله قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک است.

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن 300 ± 20 گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگره‌داری شدند. غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.SUMS.REC.1396.S1062) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

anti-SMAD2/3 (C-8) (Sc-133098) و 11) (sc-393335) (ساخت شرکت سانتاکروز کشور آمریکا) رقیق شده (۱/۵۰۰) در محلول پوشاننده به مدت یک شب در دمای ۴ درجه قرار داده شدند. پس از سه بار شستشو با محلول فسفات نمکی توین دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی متصل به HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور گردیدند. ایمون کمپلکس‌های ایجاد شده با روش پرتوزایی شیمیایی و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته‌ی باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه‌ی ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل کنترل داخلی (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه از کنترل ارائه شدند [۱۸].

روش‌های آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع نمرات در متغیرها، از آزمون پارامتریک t-مستقل برای مقایسه گروه‌ها استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به دنبال شش هفته تمرین استقامتی، کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین میوستاتین بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت بطن چپ عضله قلبی وجود دارد ($P=0.024$) (شکل ۱، A و B). همچنین، شش هفته تمرین استقامتی منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین SMAD2/3 ($P=0.001$) بین گروه‌های تمرین و کنترل در بافت عضله قلبی شد (شکل ۲، A و B).

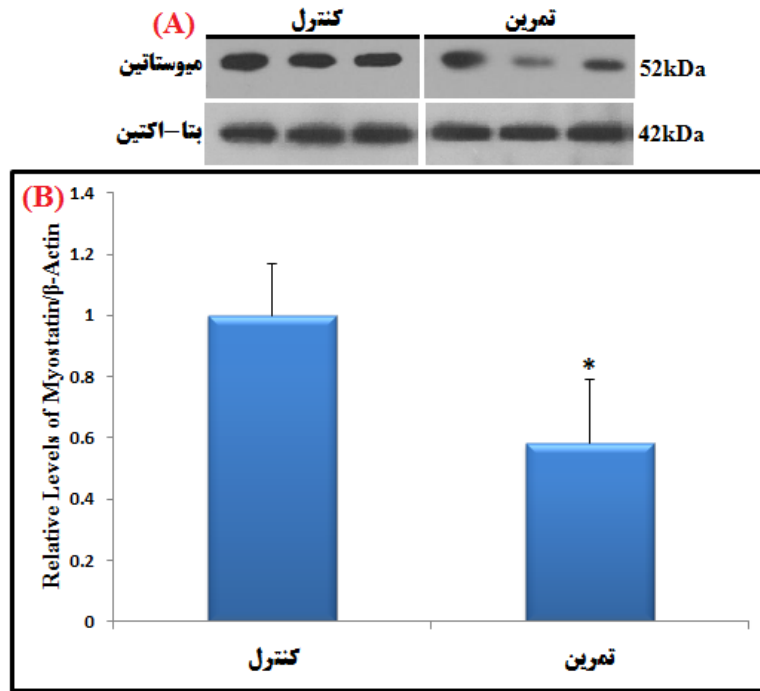
به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۱۷].

روش بافت برداری

در مدت انجام برنامه‌ی تمرین استقامتی، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرائی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ قلب از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- فریزر شد.

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا مخلوط بافت بطن چپ قلب در لیزکننده RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با محلول نمونه، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا ترانسفر شده (غشاء دیفورید پلی‌وینیلیدین Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane sigma) و بعد از پوشاندن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه در معرض آنتی‌بادی anti-GDF-8/11 (H-

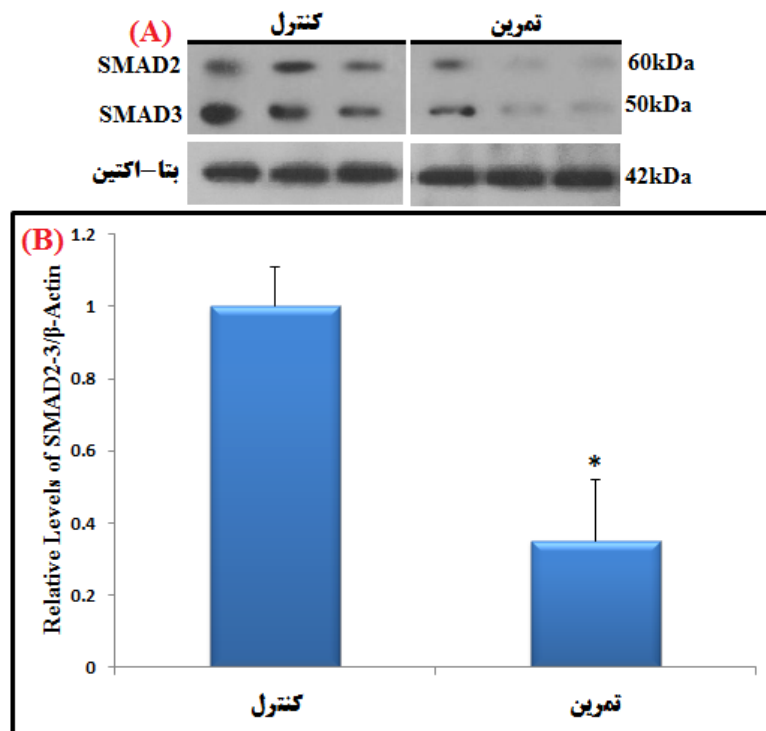


شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین میوستاتین در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن‌بلات پروتئین میوستاتین و β -اکتین (به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت بطن چپ عضله‌ی قلب.

(B). میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین میوستاتین در مقابل کنترل داخلی (β -اکتین)

(* تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل)



شکل ۲- مقایسه محتوای پروتئین SMAD2/3 در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن‌بلات پروتئین SMAD2/3 و β -اکتین (به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت بطن چپ عضله‌ی قلب.

(B). میانگین و انحراف معیار، نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین SMAD2/3 در مقابل کنترل داخلی (β -اکتین)

(* تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین نسبت به گروه کنترل)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان دادند که به دنبال شش هفته تمرین استقامتی، کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 بین گروه‌های تمرین استقامتی و کنترل در بافت بطن چپ عضله قلبی وجود دارد.

کاردیومیوپاتی دیابتی در هر دو بیماری دیابت نوع یک و دیابت دو تأیید شده است. عوارض این بیماری اختلال عملکرد دیاستولیک، فیروز قلبی، التهاب، آپیتوز، هیپرتروفی، اختلالات در سطح عملکرد رشته‌های عضلانی در قلب است [۱۹]. امروزه نشان داده شده است که تمرین استقامتی یک راهبرد مفید غیردارویی برای درمان بیماری‌های قلبی و عروقی است. تمرین استقامتی نه تنها در ارتباط با کاهش عوامل خطر بیماری‌های قلبی و عروقی است، بلکه در ارتباط با هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب به واسطه‌ی مسیرهای سلولی و سازوکارهای مولکولی در مقابل هیپرتروفی پاتولوژیک است [۲۰].

در تحقیقی رشیدلمیر و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن پروتئین میوستاتین در عضله قلب پرداختند. بیان ژن پروتئین میوستاتین در گروه تمرین نسبت به کنترل کاهش معنی‌داری یافته بود [۲۱]. نتایج تحقیق رشیدلمیر و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا است؛ زیرا در هر دو تحقیق ما شاهد کاهش محتوا و بیان ژن پروتئین میوستاتین هستیم. در هر دو تحقیق تمرین استقامتی توانست محتوای پروتئین میوستاتین را کاهش دهد و این می‌تواند نشان دهنده‌ی این مطلب باشد که تمرین‌های استقامتی می‌تواند منجر به مهار مسیر میوستاتین و در نتیجه افزایش هیپرتروفی فیزیولوژیک شود. البته شایان ذکر است که نتایج کاهش محتوای پروتئین میوستاتین از طریق تمرین‌های ورزشی برابری نمی‌کند با ایجاد نقص ژنتیک. در این راستا در تحقیقی که توسط Butcher و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد و در این تحقیق اثرات حذف میوستاتین را بر روی سیستم قلبی و عروقی تعیین کردند. یافته‌های کلیدی این تحقیق شامل (۱) حذف میوستاتین در یک حیوان لاغر هیچ تأثیرات عمده‌ای بر متابولیسم پایه ایجاد نمی‌کند (۲) حذف میوستاتین باعث افزایش کوتاه شدن انقباض

قلب می‌شود و (۳) افزایش پاسخ عروقی به محرک‌های اندوتلیال، به‌طور ویژه در عضلات وجود دارد [۲۲].

با این حال نشان داده شده است که تمرینات ورزشی با اثرات چندگانه بر نارسایی قلبی، آترواسکلروز، فشار خون بالا و غیره که در شرایط پاتولوژیک به‌وجود می‌آیند، مفید هستند [۲۴]. در تحقیقی Lenk و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که در عضله اسکلتی، میوستاتین در طول دوره نقص قلبی مزمن (CHF)^۱ به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. اما بعد از ۱۲ هفته تمرین ورزشی، سطوح میوستاتین در عضله اسکلتی کاهش قابل توجهی یافته بود و نشان داده شد که این کاهش برگشت‌پذیری و تغییرات مولکولی را می‌تواند بهبود دهد و همچنین ممکن است فرآیند تخریب عضلانی را در نارسایی مزمن قلب متوقف کند [۲۵]. در تحقیقی دیگر نشان دادند که سطوح میوستاتین می‌تواند شدت CHF را منعکس کند و پیش‌بینی‌کننده شرایط نامطلوب بیماران CHF باشد [۲۶]. در تحقیقی که توسط Hittel و همکاران (۲۰۱۰) انجام و محتوای پروتئین میوستاتین به دنبال انجام تمرین هوازی در عضله اسکلتی انسان اندازه‌گیری شد؛ علاوه بر کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین میوستاتین منجر به کاهش مقاومت به انسولین شد [۲۷]. با توجه به بررسی ادبیات تحقیقاتی در مورد این موضوع، ما متوجه می‌شویم که عوامل دیگر مانند فولیستاتین^۲، FLRG^۳ و GASP-1^۴ و گیرنده‌های میوستاتین بر عملکرد میوستاتین تأثیرگذار هستند. در این زمینه، میوستاتین به شیوه‌های مختلفی، مانند مهار فعالیت سلول‌های ماهواره‌ای، تکثیر میوبلاست‌ها و تمایز میوزنیک عمل می‌کند [۲۸].

در تحقیقی Wang و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین هوازی با شدت متوسط بر محتوای پروتئین‌های SMAD2/3 پرداختند. نتایج نشان داد که فیروز میوکارد در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو از طریق مهار استرس اکسیداتیو و مسیر TGF-β1/Smad کاهش می‌یابد [۱۳]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Wang و همکاران هم‌راستا است. زیرا که در

¹ Congestive Heart Failure

² Follistatin

³ Follistatin-Related Gene Protein

⁴ G-Protein Coupled Receptor-Associated Sorting protein 1

ایجاد می‌کند [۳۳]، که موجب تغییر در غشاء خارج سلول به دلیل مهار فاکتورهای میوژنین از راه تولید پروتئین‌های SMADها می‌شود؛ بنابراین سنتز پروتئین‌های سطح غشاء نسبت به تجزیه پیشی می‌گیرد و تغییرات پاتولوژی در ساختار سلول ایجاد می‌کند. همچنین در زمان افزایش مقاومت به انسولین خون و اکسیژن‌رسانی به قلب کاهش می‌یابد و افزایش موقتی در فشار بطن چپ به‌عنوان پاسخی جبرانی باعث افزایش تراکم کلاژن در غشاء بیرونی میوسیت می‌شود. متعاقب این تغییرات سفتی و سختی در ساختار قلب به دلیل بالارفتن کلاژن‌های نوع یک و دو ایجاد می‌شود [۳۴].

در نهایت نتایج تحقیق حاضر نشان دادند محتوای پروتئین میوستاتین و گیرنده‌های آن یعنی SMAD2/3 به‌دنبال تمرین استقامتی کاهش یافته است. کاهش یافتن این پروتئین و گیرنده‌های آن می‌تواند در آتروفی سلول‌های قلبی و همچنین رفع نقص‌های قلبی مؤثر باشد. با این حال، براساس ادبیات علمی، پزشکان باید تمرین‌های ورزشی را به‌عنوان یک راهبرد معتبر برای مقابله با اثرات متابولیسم متابولیک و قلبی و عروقی در آزمودنی‌های دیابتی تجویز کنند.

سپاسگزاری

این پژوهش حاصل تلاش نویسندگان این تحقیق است که در دانشگاه علوم پزشکی شیراز و دانشگاه شیراز انجام شده است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می‌شود.

هر دو تحقیق ما شاهد کاهش محتوای پروتئین‌های پروتئینی SMAD2/3 بودیم. نشان داده شده است که سطوح گلوکز بالا به خودی خود قادر به افزایش فرآیندهای فیبروتیک است. در واقع، افزایش میزان رسوب ماتریس خارج سلولی (ECM)^۱ و تغییرات TGF- β ، هر دو با کاهش فعالیت آنزیم متالوپروتئیناز ماتریس خارج سلولی، عوامل اصلی در توسعه فیبروز هستند [۲۹]. همچنین افزایش مشاهده شده در سیتوکین‌های پروتئینی التهابی در بیماران دیابتی می‌تواند سلول‌های فیبروژنیک را استخدام کند و سیگنال وابسته به SMAD را فعال کند، که به تنهایی می‌تواند فیبروبلاست‌های ناشی از رسوب ماتریس خارج سلولی را فعال کند [۳۰].

در تحقیقی دیگر Yang و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین میوستاتین و SMAD2/3 در عضله‌ی موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک پرداختند. محتوای پروتئین میوستاتین نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری یافته بود. همچنین محتوای پروتئین SMAD2/3 در گروه تمرین نسبت به گروه تمرینی دیابتی کاهش معنی‌داری را نشان داد [۳۱]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق Yang و همکاران هم‌راستا است. در هر دو تحقیق ما شاهد کاهش محتوای پروتئین‌های میوستاتین و SMAD2/3 بودیم. می‌توان گفت تنها تفاوت در هر دو تحقیق مکان اندازه‌گیری بوده است. زیرا که در تحقیق حاضر ما محتوای پروتئین‌ها را در بافت قلب اندازه‌گیری کردیم و این در حالی است که در تحقیق Yang و همکاران در عضله‌ی اسکلتی بوده است. عنوان شده افراد مبتلا به دیابت چهار برابر افراد غیر دیابتی در معرض ابتلا به کاردیومیوپاتی هستند؛ مسیرهای مختلفی در روند پاتولوژی ساختار و عملکرد قلب مبتلایان به دیابت ذکر شده که از جمله آنها می‌توان به پاتوژن‌های مربوط به متابولیسم گلوکز، لیپید و پروتئین‌های فاکتور رونویسی که در مقاومت به انسولین، باعث سیگنال دهی به ماتریکس خارج سلول می‌شوند، اشاره کرد [۳۲]. افزایش قند خون و تولید محصولات پیشرفته گلیکاسیونی، استرس اکسایشی و التهاب

¹ Extracellular Matrix

مآخذ

1. Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2016; 97:245-62.
2. Shimizu I, Minamino T, Toko H, Okada S, Ikeda H, Yasuda N, et al. Excessive cardiac insulin signaling exacerbates systolic dysfunction induced by pressure overload in rodents. *The Journal of Clinical Investigation* 2010; 120(5):1506-14.
3. Oktay AA, Aktürk HK, Paul TK, O'Keefe JH, Ventura HO, Koch CA, et al. Diabetes, Cardiomyopathy, and Heart Failure. *Endotext* 2020.1-10.
4. Damatto RL, Lima AR, Martinez PF, Cezar MD, Okoshi K, Okoshi MP. Myocardial myostatin in spontaneously hypertensive rats with heart failure. *International Journal of Cardiology* 2016; 215:384-7.
5. Biesemann N, Mendler L, Wietelmann A, Hermann S, Schäfers M, Krüger M, et al. Myostatin regulates energy homeostasis in the heart and prevents heart failure. *Circulation Research* 2014; 115(2):296-310.
6. Castillero E, Akashi H, Wang C, Najjar M, Ji R, Kennel PJ, et al. Cardiac myostatin upregulation occurs immediately after myocardial ischemia and is involved in skeletal muscle activation of atrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015; 457(1):106-11.
7. Kostyunina DS, Ivanova AD, Smirnova OV. Myostatin: Twenty Years Later. *Human Physiology* 2018; 44(1):88-101.
8. Dschietzig TB. Myostatin—from the mighty mouse to cardiovascular disease and cachexia. *Clinical chimica acta* 2014; 433:216-24.
9. Mohammadi R, Matin Homaei H, Azarbayjani MA, Baesi K. The Effects of 12 week Endurance Training on glucose amount, Blood insulin and Heart Structure in type 2 diabetic Rats. *Community Health Journal* 2015; 9(3): 29-36.
10. Thackray AE, Deighton K, King JA, Stensel DJ. Exercise, appetite and weight control: are there differences between men and women?. *Nutrients* 2016; 8(9):583.
11. Rashidlamir A, Basami MR, SR AH, Hejazi K, Motevalli Anberani SM. 8 Weeks of Resistance Training Effect on Myostatin Gene Expression of Myocardium in Healthy Male Wistar Rat s. *The Horizon of Medical Sciences* 2016; 22(2):111-6.
12. Esazadeh L, Hosseini-Kakhk A, Khajeie R, Hejazi S. Effects of Concurrent Training Order on Physical Fitness and Functional Capacity and Myostatin and Follistatin Serum Levels in Postmenopausal Females. *Journal of Sport Biosciences* 2020; 12(2): 189-206.
13. Wang SQ, Li D, Yuan Y. Long-term moderate intensity exercise alleviates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats via inhibitions of oxidative stress and TGF- β 1/Smad pathway. *The Journal of Physiological Sciences* 2019; 69(6):861-73.
14. Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, Nargis S, Chattopadhyay M. Effect of exercise on neurogenic inflammation in spinal cord of Type 1 diabetic rats. *Brain research* 2016; 1642:87-94.
15. Moradi M, Ravasi A, Khalafi M, Talebi V. The Effect Of A High Intensity Interval Exercise (Hiie) On Hypothalamic Nesfatin-1 Gene Expression Of Diabetic Male Rats. *Iranian journal of diabetes and Metabolism* 2018; 17 (3) :117-24.
16. Aghaei N, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F, Shadmehri S, Jahani Golbar S. The effect of 4 weeks' aerobic training on the content of mtorc1 signaling pathway proteins in heart tissue of type 1 diabetes rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (3) :116-125
17. Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr^{-/-} mice: role of aerobic exercise training. *American Journal Of Cardiovascular Disease* 2017; 7(2):64-71.
18. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Salesi M. The effect of endurance exercise on the content of ampk and pgc-1 α proteins in the left ventricular heart tissue of rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2020; 19 (5) :252-260
19. De Blasio MJ, Huynh N, Deo M, Dubrana LE, Walsh J, Willis A, et al. Defining the progression of diabetic cardiomyopathy in a mouse model of type 1 diabetes. *Frontiers in Physiology* 2020; 11:124.
20. Wang H, Bei Y, Lu Y, Sun W, Liu Q, Wang Y, et al. Exercise prevents cardiac injury and improves mitochondrial biogenesis in advanced diabetic cardiomyopathy with PGC-1 α and Akt activation. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2015; 35(6):2159-68.
21. Rashidlamir A, Hosseini SR, Hejazi K, Anberani SM. The effect of eight weeks resistance and aerobic training on myostatin and follistatin expression in cardiac muscle of rats. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research* 2016; 8(4):164.
22. Butcher JT, Ali MI, Ma MW, McCarthy CG, Islam BN, Fox LG, et al. Effect of myostatin deletion on cardiac and microvascular function. *Physiological Reports* 2017; 5(23):e13525.
23. Adams V, Reich B, Uhlemann M, Niebauer J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2017; 313(1):H72-88.
24. Phillips SA, Mahmoud AM, Brown MD, Haus JM. Exercise interventions and peripheral arterial function: implications for cardio-metabolic disease. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2015; 57(5):521-34.
25. Lenk K, Erbs S, Höllriegel R, Beck E, Linke A, Gielen S, et al. Exercise training leads to a reduction

- of elevated myostatin levels in patients with chronic heart failure. *European Journal of Preventive Cardiology* 2012; 19(3):404-11.
26. Chen P, Liu Z, Luo Y, Chen L, Li S, Pan Y, et al. Predictive value of serum myostatin for the severity and clinical outcome of heart failure. *European Journal of Internal Medicine* 2019; 64:33-40.
27. Hittel DS, Axelson M, Sarna N, Shearer J, Huffman KM, Kraus WE. Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Medicine and Science in Sports And Exercise* 2010; 42(11):2023.
28. White TA, LeBrasseur NK. Myostatin and sarcopenia: opportunities and challenges-a mini-review. *Gerontology* 2014; 60(4):289-93.
29. Crisafulli A, Pagliaro P, Roberto S, Cugusi L, Mercurio G, Lazou A, et al. Diabetic cardiomyopathy and ischemic heart disease: prevention and therapy by exercise and conditioning. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21(8):2896.
30. Russo I, Frangogiannis NG. Diabetes-associated cardiac fibrosis: cellular effectors, molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2016; 90:84-93.
31. Yang J, Sun L, Fan X, Yin B, Kang Y, Tang L, et al. Effect of exercise on bone in poorly controlled type 1 diabetes mediated by the ActRIIB/Smad signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2018; 16(4):3686-93.
32. Serra N, Rosales R, Masana L, Vallvé JC. Simvastatin increases fibulin-2 expression in human coronary artery smooth muscle cells via RhoA/Rho-kinase signaling pathway inhibition. *PloS one* 2015; 10(7):e0133875.
33. Li W, Zho P, Wang G, Lu X, Jiang Y, Zhao X. Anti-inflammatory effects of lycopene prevents cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *International Journal of Clinical and Experimental medicine* 2016; 9(5):8047-54.
34. Fereshtian S, Peeri M, Agha-Alinejad H, Delfan M. Comparison of the effects of two types of high intensity interval training on the gene expression of collagen 1, 2, and SMAD/3 in the left ventricle of male rats in type 2 diabetes induced by streptozotocin. *Daneshvar* 2020; 28(3):42-54.

THE EFFECT OF ENDURANCE TRAINING ON THE CONTENT MYOSTATIN AND SMAD2/3 PROTEINS IN THE LEFT VENTRICULAR TISSUE OF THE HEART MUSCLE OF TYPE 1 DIABETIC RATS

Masoud Jokar¹, Mousa Amirahmadi², Mohammad Sherafati Moghadam^{3*}

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

2. Department of Sport Sciences, School of Education and Psychology, University of Shiraz, Shiraz, Iran

3. Department of Sport Sciences, Apadana Institute of Higher Education, Shiraz, Iran

ABSTRACT

Background: The myostatin/SMAD pathway is one of the most important regulatory pathways in heart muscle cells atrophy. Diabetes can disorder this pathway. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effect of six weeks of endurance training on the content myostatin and SMAD2/3 proteins in the left ventricular tissue of the heart muscle of type 1 diabetic rats.

Methods: In this study, 12 head 2-month-old male Sprague-Dawley male rats with a mean weight of 300 ± 20 g were selected. After induction of diabetes through streptozotocin solution, they were randomly divided into 2 groups: diabetic endurance training (6 heads) and diabetic control (6 heads); The training groups performed the training program 4 days a week for 6 weeks, including 32 minutes of endurance training with an intensity of about 50 to 70% of the maximum speed; SPSS software version 23 and independent t-test were used to analyze the data. Significance level was considered $p \leq 0.05$.

Findings: Endurance training resulted in a significant decrease in myostatin ($P=0.024$) and SMAD2/3 ($P=0.001$) proteins content between training and control groups in myocardial tissue.

Conclusion: It can be said that endurance training by reducing the content of myostatin and SMAD2/3 proteins in the left ventricle of the heart may have been able to prevent cardiac atrophy in type 1 diabetic subjects. This reduction can lead to physiological cardiac hypertrophy.

Keywords: Endurance Training, Cardiac Muscle, Myostatin Protein, SMAD2/3 Protein, Type 1 Diabetes

* Fars Province-Shiraz-Moallem Square, North Iman, in Front of Sepah Bank, the Central Building of Apadana Institute of Higher Education, Postal Code: 7187985443, TEL: 071 36987, Email: m.sherafati@hiau.ac.ir