

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین تناوبی طولانی مدت شدید بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو

عبدالناصر سیدی^۱، ندا آقایی بهمن‌بگلو^{۱*}، حبیب اصغرپور^۱، مژگان احمدی^۲

چکیده

مقدمه: پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 عوامل مهم در مسیر یوبی‌کوئیتین و مسئول آتروفی عضلانی هستند. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تمرین تناوبی طولانی مدت پُرشدت (HIIT) بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو است.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۸ سر رت نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن 270 ± 20 گرم انتخاب شدند. ۱۲ سر از رت‌ها از طریق تزریق درون صفاقی محلول‌های استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید دیابتی شدند. این رت‌ها به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی و کنترل دیابتی (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل سالم (۶ سر) نیز در نظر گرفته شد. گروه تمرینی ۴ روز در هفته، به مدت ۸ هفته به HIIT پرداختند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ و آزمون‌های آنوای یک‌طرفه و تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: محتوای پروتئین MAFbx به دنبال ۸ هفته HIIT، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/0001$)؛ آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی و همچنین بین جفت گروه‌های کنترل دیابتی و کنترل سالم است ($P=0/0001$). محتوای پروتئین MuRF1 کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/0001$)؛ این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی، گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل سالم و همچنین گروه‌های کنترل دیابتی و کنترل سالم بود ($P=0/0001$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد HIIT، با کاهش محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی روند آتروفی و اتوفاژی کاردیومیوسست‌های را مهار کند.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی پرشدت، بطن چپ، پروتئین آتروفی عضله F-Box، پروتئین عضله انگشت حلقه‌ی-۱، دیابت نوع دو

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران

۲- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* **نشانی:** گلستان، شهرستان علی‌آباد کتول، بلوار دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول، کد پستی: ۹۶۱۷۹۳۴۵۱، تلفن: ۰۹۱۹۱۹۹۲۹۹۶، پست

الکترونیک: nedaghaei@gmail.com

مقدمه

دیابت یک مشکل مهم برای سلامت عمومی و نشان‌دهنده‌ی یک نگرانی بزرگ برای جوامع جهانی است. شیوع دیابت نوع دو در افراد مبتلا به نارسایی قلبی در حال افزایش است. دیابت با افزایش خطر ابتلا به نارسایی قلبی همراه است. این بیماری همچنین خطر ابتلا به مرگ زودرس را پس از تشخیص نارسایی قلبی افزایش می‌دهد. اگرچه نارسایی قلبی به نظر می‌رسد یکی از عوارض بیماری دیابت است، اما هنوز بسیاری از عوامل مهم و سلولی آن شناخته نشده است [۱].

در دیابت نوع دو مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی مرتبط با آن می‌تواند سبب توسعه‌ی یک شکل خاص از کاردیومیوپاتی شود که مستقل از دیگر بیماری‌های قلبی است. این عارضه کاردیومیوپاتی دیابتی نامیده می‌شود؛ این نوع از کاردیومیوپاتی یکی از دلایل اصلی بیماری و مرگ‌ومیر در کشورهای توسعه یافته است و شیوع این بیماری به‌طور موازی با افزایش میزان بروز چاقی و دیابت نوع دو افزایش می‌یابد [۲]. کاردیومیوپاتی دیابتی در حالت‌های مقاومت به انسولین یا هیپرانسولیمیک با اختلال در سیگنالینگ انسولین میوکارد، اختلال عملکرد میتوکندری قلبی، اختلال هموستاز کلسیم قلب مشاهده شده است. این تغییرات پاتوفیزیولوژیک باعث استرس اکسیداتیو، فیبروز، هایپرتروفی، اختلال عملکرد دیاستولی قلبی و نارسایی قلبی سیستمیک می‌شود [۳].

بسیاری از اطلاعات در مورد تخریب پروتئین عضله ناشناخته مانده است. یکی از مسیرهای اصلی تنظیم‌کننده‌ی تخریب پروتئین مسیر یوبی‌کوئیتین پروتئاز است و در چندین مرحله کنترل می‌شود. فعال‌شدن عوامل این مسیر منجر به فعال‌شدن دو پروتئین تخریب‌کننده یعنی آتروژین-۱ یا آتروفی عضله‌ی F-Box (MAFbx)^۱ و عضله‌ی انگشت حلقه‌ی-۱ (MuRF1)^۲ می‌شود و در نتیجه فرآیند تخریب عضلانی آغاز می‌شود [۴]. پروتئین آتروفیک MAFbx که به‌عنوان Atrogin-1 نیز شناخته

می‌شود و پروتئین MuRF1 که در آتروفی عضلانی نقش دارد، در افراد دیابتی افزایش می‌یابد. پروتئین آتروفی MAFbx مسئول تخریب پروتئین‌های تعدیل‌کننده یوبیکوئیتین است. بیان بیش از حد MAFbx در قلب باعث کاهش هیپرتروفی فیزیولوژیک می‌شود. مطالعات نشان داده است موش‌های فاقد MAFbx در برابر آتروفی مقاوم هستند، درحالی‌که بیان بیش از حد MAFbx در سلول‌های عضلانی قلبی منجر به آتروفی می‌شود. افزایش رونویسی MAFbx در مدل‌های مختلف آتروفی از قبیل بی‌حرکی، دیابت، روزه‌داری و نارسایی‌های کلیوی مشاهده شده است [۵]. پروتئین MuRF1 یک یوبی‌کوئیتین-لیگاز E3 بیان شده در بافت‌های عضلانی اسکلتی و قلب است که در انسان توسط ژن TRIM63 کُدگذاری می‌شود و نقش مهمی در بازسازی عضلانی دارد. تعدیل‌کننده رونویسی ژن MuRF1 در آتروفی عضلانی اسکلتی شرکت می‌کند و بر خلاف آن کمبود بیان پروتئین MuRF1 منجر به هایپرتروفی قلب می‌شود [۶]. MuRF1 متعلق به یک خانواده از پروتئین‌های MuRF است که شامل MuRF1، MuRF2 و MuRF3 است. مطالعات تجزیه و تحلیل میوکارد بر روی جوندگان نشان می‌دهد که MuRF1 و MuRF2 نقش مهمی در تنظیم هایپرتروفی فیزیولوژیک قلبی دارند [۷].

محرک‌های شدید با شدت بالا همانند تمرین‌های تناوبی با شدت بالا (HIIT)^۳ منجر به بهبود هر دو ظرفیت هوازی و بی‌هوازی در زمان کمتری نسبت به روش‌های تمرین‌های سنتی‌تر می‌شود. HIIT به تمرینی گفته می‌شود که شامل فعالیت و استراحت (به صورت استراحت فعال و مطلق) است؛ در این نوع تمرین‌ها نوبت‌های تکراری با فعالیت‌های تناوبی به نسبت کوتاه با شدت بالا یا شدتی نزدیک به شدت $VO_{2peak} \geq 90\%$ (به عنوان کار در نظر گرفته می‌شود؛ یک نوبت HIIT ممکن است از چند ثانیه تا چندین دقیقه طول بکشد. نوبت‌های با شدت بالا توسط چند دقیقه استراحت کامل یا فعالیت با شدت کم از هم

¹ Muscle Atrophy F-box(MAFbx)

² Muscle RING-finger protein 1(MuRF)

³ High-Intensity Interval Training (HIIT)

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است. در این پژوهش، ۱۸ سر رت نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزنی 270 ± 20 گرم انتخاب شدند. رت‌ها در آزمایشگاه حیوانی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ و دمای هوای 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد با رطوبت ۴۰-۵۰ درصد نگهداری شدند. غذای حیوانات به صورت پلت و آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی در اختیار رت‌ها قرار داده شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آنها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کُد اخلاقی IR.SUMS.REC.1396.S1062) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

روش القاء دیابت

۱۲ سر از ۱۸ سر رت به صورت تصادفی انتخاب و برای ایجاد دیابت نوع دو، در مرحله‌ی اول محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. سپس ۱۵ دقیقه بعد محلول استرپتوزوتوسین (STZ)^۱ (حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با $\text{pH}=4/5$) به صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید [۱۱]. جهت اطمینان از دیابتی شدن رت‌ها، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک دستگاه اندازه‌گیری قند خون (شرکت اکیوچک ساخت کشور آلمان) و نمونه‌ی خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی رت‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بین ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۲۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع دو در نظر گرفته شد [۱۲].

پروتکل تمرینی

پس از القای دیابت، رت‌ها به روش تصادفی به ۲ گروه تمرین دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند. رت‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰

جدا می‌شوند [۸]. فعالیت‌های HIIT یک گزینه‌ی مناسب جهت کنترل و بهبود گلیسمی، ترکیب بدن، تناسب اندام هوازی، فشار خون و اندازه‌گیری لیپیدی در افراد مبتلا به دیابت است [۹].

در بحث تمرین‌های تناوبی با شدت بالا و تأثیر آن بر پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بافت قلب آزمودنی‌های دیابتی تاکنون تحقیقی مشاهده نشده است. با این وجود در تحقیقی Kazemi و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر HIIT بر بیان ژن پروتئین MuRF1 در عضله‌ی اسکلتی EDL رت‌های پیر پرداختند. HIIT منجر به کاهش معنی‌داری در بیان ژن MuRF1 در گروه تمرین پیر نسبت به گروه کنترل پیر شد. اما نسبت به گروه تمرین جوان و کنترل جوان افزایش چشم‌گیری را نشان داد. این محققان بیان کردند بالا رفتن سن همراه با افزایش بیان ژن‌های MuRF1 است، که احتمالاً در تغییرات توده‌ی عضلانی همراه با افزایش سن درگیرند و با توجه به اینکه HIIT بیان این ژن‌ها را کاهش می‌دهد، این تمرینات می‌توانند در دوران سالمندی به منظور حفظ توده‌ی عضلانی استفاده شوند [۱۰].

سؤال‌های زیادی در مورد تغییرات آتروفی وجود دارد که در پاسخ به فعالیت‌های HIIT پاسخ داده نشده است. مقادیر تغییرات پروتئینی و سلولی در پاسخ به HIIT و همچنین سازکارهای مربوط به این تغییرات، مشخص نیست. تاکنون، اطلاعات محدودی در موضوع آتروفی وابسته پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 وجود دارد. بینش بهتر به سازگاری سازکارهای مولکولی در عضله‌ی قلبی در پاسخ به تمرین‌های ورزشی، برای بهینه‌سازی سلولی از طریق تمرین ورزشی برای ارتقاء سلامت ضروری است. محتوای این دو پروتئین تاکنون در قلب بیماران دیابتی نوع دو به دنبال فعالیت‌های HIIT در آزمودنی‌های دیابتی که مستعد بیماری کاردیومیوپاتی دیابتی هستند، اندازه‌گیری نشده است. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی طولانی‌مدت پُرشدت بر محتوای درون سلولی پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو است.

¹ Streptozotocin

متر بر دقیقه، روی نوارگردان دیدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. رت‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم می‌کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی شامل ۵ وهله ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز رت‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد می‌کردند. کل مدت زمان دویدن رت‌های در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت [۱۳].

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت ترمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی (چسبیدن رت‌ها به انتهای ترمیل) برسند. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۱۴].

روش بافت برداری

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 جلسه‌ی تمرین، در زمان صبح رت‌ها 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 [۱۵].

روش‌های آزمایشگاهی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت بطن چپ قلب از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی‌مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS)^۱ به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (sigma) استفاده شد. به این ترتیب که ۱۰۰

میلی‌گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد و نیم ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده‌ی پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگه‌داری شد، سپس هموژن به دست آمده به نسبت ۱:۱ با نمونه‌ی لودینگ بافر (mm50 تریس-کلرید هیدروژن، ۲ درصد سدیم دو دسیل سولفات، ۱۰ درصد گلیسرول، ۵ درصد بتا-مرکاپتواتانول و ۰/۰۰۵ درصد برموفنول آبی) مخلوط گردید. در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به مدت ۱ ساعت در ۵ درصد BSA در Tris-Buffered Saline و ۰/۱ درصد (Tween 20 TBST) مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه شد. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ۴ درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه و تحلیل densitometry با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد. آنتی‌بادی اولیه و ثانویه anti-MAFbx (F-9) (Sc-166806) (شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا) و anti-MURF1 (C-11) (Sc-398608) (شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا) مورد استفاده قرار گرفتند [۱۶].

تحلیل آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف (KS)^۲ برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون‌های آنوای یک‌طرفه و تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری

² Kolmogorov-Smirnov test

¹ Sodium Dodecyl Sulfate

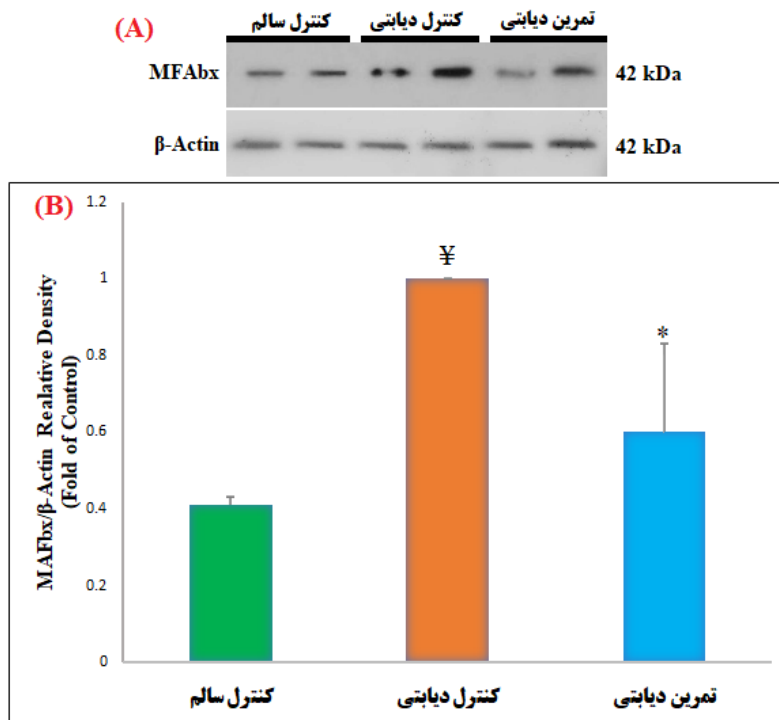
دیابتی و کنترل سالم ($P=0/0001$) است. بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل سالم تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/07$) (شکل ۱، A و B).

همچنین محتوای درون سلولی پروتئین MuRF1 به‌دنبال ۸ هفته HIIT، در بین گروه تمرین دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم در بافت بطن چپ عضله قلبی تغییر معنی‌داری را نشان داد ($P=0/0001$) (شکل ۲، A و B). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی ($P=0/0001$)، بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل سالم ($P=0/0001$) و همچنین جفت گروه‌های کنترل دیابتی و کنترل سالم است ($P=0/0001$) (شکل ۲، A و B).

تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس آزمون آماری آنوای یک‌طرفه نشان داد، محتوای درون سلولی پروتئین MAFbx به‌دنبال ۸ هفته HIIT، در بین گروه تمرین دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم در بافت بطن چپ عضله قلبی تغییر معنی‌داری را نشان داد ($P=0/0001$) (شکل ۱، A و B). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنی‌دار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی ($P=0/0001$) و همچنین بین جفت گروه‌های کنترل



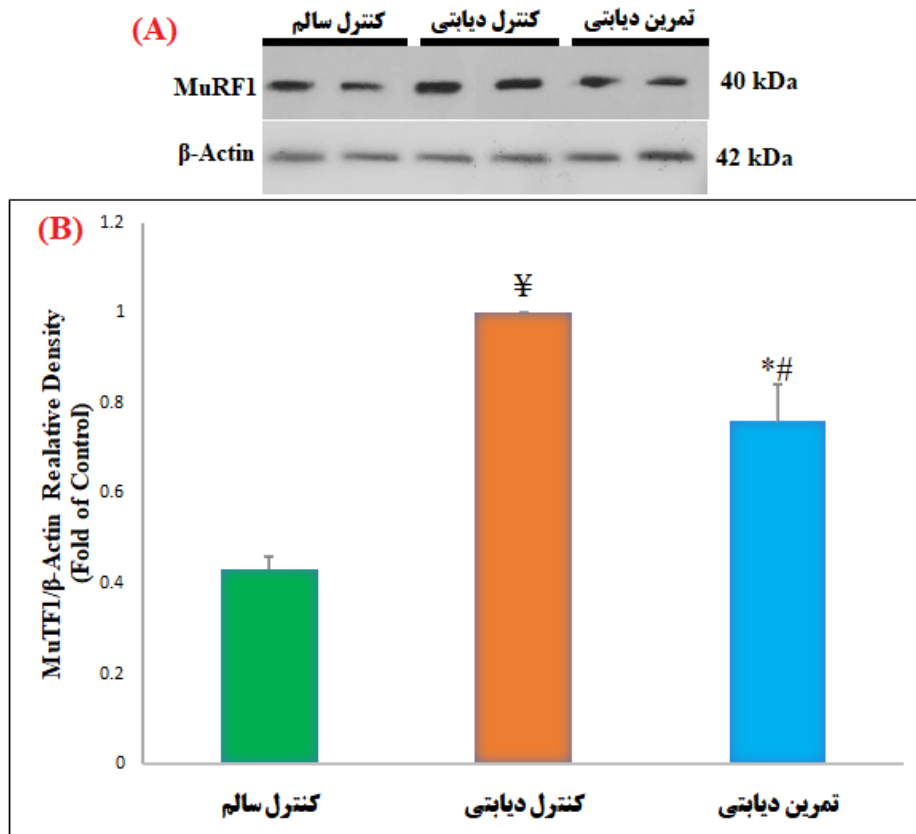
شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین MAFbx در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین MAFbx و بتا-اکتین (β -Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بطن چپ

(B). نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای محتوای پروتئین MAFbx در مقابل کنترل داخلی

(* اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی)

(† اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم)



شکل ۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین MuRF1 در گروه‌های مورد مطالعه

(A). تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین MuRF1 و بتا-اکتین (β -Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بطن چپ نمودار ستونی نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای محتوای پروتئین MuRF1 در مقابل کنترل داخلی (B).
 (*#) اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی)
 (#) اختلاف معنی‌داری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم)
 (†) اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل

بحث

دیابتی نسبت به کنترل سالم افزایش معنی‌داری را نشان داد. اختلالات قلبی ایجاد شده توسط بیماری دیابت نوع دو می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر در افراد مبتلا به دیابت شود. عارضه‌های پاتوفیزیولوژیک و مولکولی منجر به توسعه و در نهایت بدتر شدن اختلالات قلبی می‌شود. مطالعات محدودی درباره مسیر آتروفنی وابسته پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 وجود دارد. با این وجود در تحقیقی Sheibani و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر HIIT بر بیان ژن‌های MAFbx و MuRF1 در عضله قلبی و نعلی رت‌های نر پرداختند. نتایج نشان دادند که بیان ژن پروتئین MuRF1 در عضله نعلی تغییری ندارد، اما در قلب کاهش معنی‌داری را نشان داد. بیان ژن پروتئین MAFbx در هر دو عضله نعلی و قلب کاهش معنی‌داری را نشان داد. این

نتایج نشان داد، محتوای درون سلولی پروتئین MAFbx به‌دنبال ۸ هفته HIIT، در بافت بطن چپ عضله قلبی کاهش معنی‌داری می‌یابد. این کاهش معنی‌دار بین گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی و همچنین بین گروه‌های کنترل سالم نسبت به کنترل دیابتی بود. همچنین محتوای درون سلولی پروتئین MuRF1 به‌دنبال ۸ هفته HIIT، در بافت بطن چپ عضله قلبی کاهش معنی‌داری را نشان داد. این کاهش معنی‌دار بین گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی و همچنین بین گروه‌های کنترل سالم نسبت به کنترل دیابتی است. با این حال محتوای درون سلولی پروتئین MuRF1 در گروه تمرین

اغلب به عنوان عوامل «آتروژنز» خوانده می‌شوند. با این حال، سازکار بیان پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در پاسخ به بارهای مکانیکی (تمرین‌ها یا فعالیت‌های ورزشی) می‌تواند به طور موقت تغییر یابد و بنابراین می‌تواند با فرآیند بازسازی همراه باشد. در این راستا در تحقیقی Cui و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر ۴ و ۸ هفته HIIT بر پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بافت عضله‌ی اسکلتی پرداختند. HIIT منجر به افزایش بیان پروتئین MuRF1 پس از ۴ هفته و پس از ۸ هفته، محتوای آن کاهش یافت. HIIT پس از ۴ و ۸ هفته، MAFbx را کاهش دادند [۱۹]. نتایج تحقیق Cui و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است؛ زیرا به دنبال ۸ هفته HIIT منجر به کاهش معنی‌داری در بیان پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 شده است. از عوامل تأثیرگذار می‌توان به مدت فعالیت‌های HIIT اشاره کرد. ما در تحقیق Cui و همکاران شاهد بودیم که به دنبال ۴ هفته HIIT بیان پروتئین MuRF1 افزایش و سپس بعد از ۸ هفته کاهش یافت. این نشان می‌دهد مدت زمان تمرین ورزشی می‌تواند یک عامل کلیدی در تنظیم این پروتئین باشد و تمرین‌های طولانی‌تر تأثیر مفیدی بر محتوای پروتئین MuRF1 دارد. نشان داده شده است که بیان بیش از حد پروتئین MURF1 در قلب باعث نازک‌شدن دیواره و اختلال در عملکرد قلبی می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که MURF1 ممکن است هنگام بیان بیش از حد نارسایی قلبی را تقویت کند [۲۰].

در بافت‌های عضلانی مانند عضله‌ی اسکلتی و قلبی، بیان پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در پاسخ به محرک‌های متنوعی که باعث کاهش عضلات می‌شوند، به شدت تنظیم می‌شود. از جمله این محرک‌ها و عوامل کاهش انسولین، گلوکوکورتیکوئیدها، حالت اسیدوز، عدم تحرک و افزایش میوستاتین است. این محرک‌های کاتابولیک هم‌هی پروتئین‌های خانواده FOXO از فاکتورهای رونویسی را فعال می‌کنند، که واسطه‌ی رونویسی بسیاری از آتروژن‌ها، از جمله پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 و بسیاری از ژن‌ها برای اتوفازی هستند. در نتیجه، FOXO3 فعال و به خودی خود باعث ایجاد آتروفی عمیق عضلات اسکلتی و قلبی می‌شود [۲۱]. در مقابل، سازکار آتروفی توسط فاکتورهای رشد سرکوب می‌شود (به‌عنوان مثال،

محققان بیان کردند که در کاردیومیوسیت‌ها همانند عضله‌ی اسکلتی، پروتئین FoxO3a نسخه‌برداری از پروتئین MAFbx را فعال می‌کند که منجر به کند کردن یا جلوگیری از هایپرتروفی می‌شود. اما تغییرات در MuRF1 نشان داد که احتمالاً مسیر FoxO3a/MuRF1 در عضله‌ی قلبی و اسکلتی سازکارهای تنظیم‌کننده‌ی متفاوتی دارند و به شکل متفاوتی واکنش نشان می‌دهند [۱۷]. نتایج تحقیق Sheibani و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است. در تحقیق حاضر همانند تحقیق Sheibani و همکاران محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در قلب کاهش معنی‌داری را نشان داد. شایان ذکر است که در تحقیق Sheibani و همکاران بیان ژن را از طریق روش آزمایشگاهی Real-Time-PCR اندازه‌گیری کرده است و این در حالی است که در تحقیق حاضر محتوای درون سلولی پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 از طریق روش آزمایشگاهی وسترن بلات اندازه‌گیری شده است. این مطلب نشان می‌دهد مکان بیان ژن (میزان ترشح) و محتوای درون سلولی این عوامل از طریق انجام تمرین‌های ورزشی می‌تواند تغییر یابد و این تغییر به سمت کاهش است، که می‌تواند از آتروفی عضله‌ی قلبی یا عضلات اسکلتی جلوگیری کند.

پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 از عوامل کلیدی لیگازهای مسیر یوبی‌کوئیتین است که در بافت‌های عضلانی مانند قلب و اسکلتی بیان می‌شوند و عواملی مانند بیماری و فعالیت‌های ورزشی می‌تواند بر روی آن تأثیرگذار باشد. نشان داده شده است که بیماری‌های مانند دیابت می‌تواند سطوح آن را افزایش دهد و منجر به اختلال در سازکار سلول‌های قلبی شود؛ از طرفی دیگر فعالیت‌های ورزشی می‌تواند با معکوس کردن فرآیند آتروفی بیش از حد عملکردهای فیزیولوژیکی کاردیومیوسیت‌ها را افزایش دهد [۱۸]. نشان داده شده است که سرکوب یا مهار کامل بیان بیش از حد پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 از طریق تمرین‌های ورزشی منجر به صرفه‌جویی در بافت‌های عضلانی می‌شود و در همین راستا نتایج تحقیق منجر به کاهش این عوامل از طریق انجام HIIT شده است.

از آنجا که بیان پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در طی چندین شرایط ناشی از آتروفی مانند بیماری دیابت افزایش می‌یابد، آنها

خانواده FOXO و پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 را بیان می‌کنند، مهم است [۲۶].

نتیجه‌گیری

در نهایت نشان داده شد که انجام ۸ هفته HIIT، منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی می‌شود؛ این کاهش می‌تواند روند آتروفی و اتوفاژی کاردیومیوست‌ها را مهار کند. بنابراین مشخص می‌شود انجام تمرین‌های هوازی پرشدت منجر به افزایش سازکارهای سلولی مفید مانند هایپرتروفی قلبی فیزیولوژیکی و مهار سازکارهای مضر مانند افزایش آتروفی و اتوفاژی در افراد بیمار مانند بیماران دیابتی می‌شود. با این وجود برای تجویز برنامه‌های با شدت بالا باید شرایط بالینی آزمودنی‌ها، حجم، شدت و همچنین مدت زمان و دیگر مؤلفه‌ها مانند تکرار را مد نظر قرار داد.

سپاسگزاری

نتایج گزارش شده حاصل تلاش نویسندگان این مقاله است که در دانشگاه علی‌آباد کتول و دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است. از تمام افرادی که در انجام و جمع‌آوری این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

IGF-1 و انسولین) که مسیر PI3K-AKT را تحریک و در نتیجه سنتز پروتئین را ترویج می‌کند و با غیرفعال کردن پروتئین‌های خانواده FOXO پروتئولیز را کاهش می‌دهد [۲۲، ۲۳]. این دو عمل با هم، هم‌افزایی می‌کنند تا باعث افزایش هایپرتروفی شوند. علاوه بر این، کوفاکتور رونویسی ناشی از فعالیت‌های ورزشی، PGC-1 α ، باعث تولید میتوکندری می‌شود؛ همچنین باعث فعال شدن پروتئین FOXO3 می‌شود و این عمل به توضیح ظرفیت ورزشی برای جلوگیری از آتروفی عضلانی کمک می‌کند [۲۴]. علی‌رغم اهمیت آن در تنظیم پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در شرایط کاتابولیک (از جمله میوسیت‌های قلبی محروم از فاکتورهای رشد)، نشان داده شد که محتوای پروتئین FOXO3 در هنگام هایپرتروفی قلبی هم‌زمان با محتوای پروتئین MAFbx تغییری نمی‌کند [۲۵].

بنابراین، با توجه به مباحث بیان شده بسیار محتمل است، یک فاکتور رونویسی که در عین حال ناشناخته است به اضافه بار فشار و کاتکول‌آمین‌ها پاسخ دهد تا رونویسی از پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 را تحریک کند. بنابراین، سازکارهای سیگنالینگ پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در آتروفی و هایپرتروفی به‌طور اساسی متفاوت به نظر می‌رسد؛ بنابراین، مطالعات مشابه هایپرتروفی جبرانی از طریق فعالیت‌های ورزشی در بافت‌های عضلانی برای روشن شدن اینکه آیا آنها همچنین در پاسخ به افزایش بار توسط یک سازکار مستقل از پروتئین‌های

مآخذ

- Ohkuma T, Komorita Y, Peters SA, Woodward M. Diabetes as a risk factor for heart failure in women and men: a systematic review and meta-analysis of 47 cohorts including 12 million individuals. *Diabetologia* 2019; 62(9):1550-60.
- Jia G, DeMarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. *Nature Reviews Endocrinology* 2016; 12(3):144-53.
- Jia G, Whaley-Connell A, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: a hyperglycaemia-and insulin-resistance-induced heart disease. *Diabetologia* 2018; 61(1):21-8.
- Wang XJ, Yu J, Wong SH, Cheng AS, Chan FK, Ng SS, et al. A novel crosstalk between two major protein degradation systems: regulation of proteasomal activity by autophagy. *Autophagy* 2013; 9(10):1500-8.
- Esmalee 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. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2020; 27(2):150-60.
- Heras G, Namuduri AV, Traini L, Shevchenko G, Falk A, Bergström Lind S, et al. Muscle RING-finger protein-1 (MuRF1) functions and cellular localization are regulated by SUMO1 post-translational modification. *Journal of Molecular Cell Biology* 2019; 11(5):356-70.
- Willis MS, Wadosky KM, Rodríguez JE, Schisler JC, Lockyer P, Hilliard EG, et al. Muscle ring finger

- 1 and muscle ring finger 2 are necessary but functionally redundant during developmental cardiac growth and regulate E2F1-mediated gene expression in vivo. *Cell Biochemistry and Function* 2014; 32(1):39-50.
8. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia* 2017; 60(1):7-23.
 9. Da Silva DE, Grande AJ, Roeber L, Tse G, Liu T, Biondi-Zoccai G, et al. High-intensity interval training in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Current Atherosclerosis Reports* 2019; 21(2):1-0.
 10. Kazemi A, Barbat S. The Effect of High Intensity Interval Training on Gene Expression of MuRF1 and TRAF6 in Extensor Digitorum Longus (EDL) Muscle of Aged Mice. *Journal of Sport Biosciences* 2019; 11(2):225-237.
 11. Zarei F, Sherafati Moghadam M, Shabani M, Jokar M. The effects of 4 weeks high intensity interval training on mammalian rapamycin target protein (mTOR) and sterol transcription factor regulatory protein-1 (srebp1) proteins content in diabetics obese rats adipose tissue. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2020; 19 (1):26-35.
 12. Ghodrattnama A, Shabani M, Sherafati Moghadam M. The effect of endurance and high-intensity interval training on the content mstn and follistatin proteins in the left ventricular tissue of the heart of type 1 and 2 diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2022; 21 (5):287-297.
 13. Sherafati Moghadam M, Salesi M, Daryanoosh F, Hemati Nafar M, Fallahi A. The Effect of 4 Weeks of High Intensity Interval Training on the Content of AKT1, mTOR, P70S6K1 and 4E-BP1 in Soleus Skeletal Muscle of Rats with Type 2 Diabetes: An Experimental Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2018; 17(9):843-54.
 14. Shabani M, Sherafati Moghadam M, Moghaddami K. The effect of endurance training on protein kinase-b and mechanical target of rapamycin in the left ventricle of the heart of diabetic rats induced by streptozotocin and nicotinamide. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2020; 19 (6):309-317.
 15. Jokar M, Sherafati Moghadam M. High Intensity Interval Training Inhibits Autophagy In The Heart Tissue Of Type 2 Diabetic Rats By Decreasing The Content Of Foxo3a And Beclin-1 Proteins. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2019; 18 (6):292-299.
 16. Jokar M, Amirahmadi M, Sherafati Moghadam M. 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. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2021; 20 (3):191-199.
 17. Sheibani S, Daryanoosh F, Tanideh N, Rahimi M, Jamhiri I, Refahiat MA. Effect of high intensity interval training and detraining on gene expression of AKT/FoxO3a in cardiac and soleus muscle of male rats. *Ebnesina* 2020; 22(2):15-23.
 18. Labeit S, Hirner S, Bogomolovas J, Cruz A, Myrzabekova M, Moriscot A, et al. Regulation of Glucose Metabolism by MuRF1 and Treatment of Myopathy in Diabetic Mice with Small Molecules Targeting MuRF1. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22(4):2225.
 19. Cui X, Zhang Y, Wang Z, Yu J, Kong Z, Ruzic L. HIIT changes the expression of MuRF1 and MAFbx proteins and proteins involved in the MTOR pathway and autophagy in rat skeletal muscle. *Experimental Physiology* 2019; 104:1505-17.
 20. Maejima Y, Usui S, Zhai P, Takamura M, Kaneko S, Zablocki D, et al. Muscle-specific RING finger 1 negatively regulates pathological cardiac hypertrophy through downregulation of calcineurin A. *Circulation: Heart Failure* 2014; 7(3):479-90.
 21. Zhang Q, Wang L, Wang S, Cheng H, Xu L, Pei G, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022; 7(1):1-38.
 22. Yoshida T, Delafontaine P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Cells* 2020; 9(9):1970.
 23. Gogiraju R, Bochenek ML, Schäfer K. Angiogenic endothelial cell signaling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Frontiers in Cardiovascular Medicine* 2019; 6:20.
 24. Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, et al. PGC-1 α protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; 103(44):16260-5.
 25. Usui S, Maejima Y, Pain J, Hong C, Cho J, Park JY, et al. Endogenous muscle atrophy F-Box mediates pressure overload-induced cardiac hypertrophy through regulation of Nuclear Factor- κ B. *Circulation research* 2011;109(2):161-71.
 26. Lee D, Goldberg A. Atrogin1/MAFbx: what atrophy, hypertrophy, and cardiac failure have in common. *Circulation Research* 2011;109(2):123-6.

The Effect of Long-Term High-Intensity Interval Training on the Intracellular Content of Mafbx and Murf1 Proteins in the Left Ventricular of the Heart of Rats With Type 2 Diabetes

Abdol Nasser Seidi¹, Neda Aghaei Bahmanbeglou^{1*}, Habib Asgharpour¹, Mozghan Ahmadi²

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Iran

2. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: MAFbx and MuRF1 proteins are important factors in the ubiquitin pathway and are responsible for muscle atrophy. The purpose of this study was to investigate the effect of long-term high-intensity interval training (HIIT) on the intracellular content of MAFbx and MuRF1 proteins in the left ventricular of the heart of rats with type 2 diabetes.

Methods: In this experimental study, 18 rats 2-month-old male Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270 ± 20 g were selected. 12 rats became diabetic by intraperitoneal injection of Streptozotocin and nicotinamide solutions. These rats were randomly divided into 2 groups: diabetic training and diabetic control; A healthy control group was also considered. The training group practiced HIIT 4 days a week for 8 weeks. Data were analyzed using SPSS software version 23 and one-way ANOVA and Tukey post hoc tests.

Results: MAFbx protein content showed a significant decrease after 8 weeks of HIIT ($P=0.0001$); Tukey post hoc test showed that this change was significant between pairs groups of diabetic training and diabetic control and also between pairs groups of diabetic control and healthy control ($P=0.0001$). MuRF1 protein content showed a significant decrease ($P=0.0001$); This was a significant difference between the pairs groups of diabetic training and diabetic control, diabetic training and healthy control groups, as well as diabetic control and healthy control groups ($P=0.0001$).

Conclusion: HIIT seems to can inhibit the process of atrophy and autophagy of cardiomyocytes by reducing the content of MAFbx and MuRF1 proteins in the hearts of diabetic subjects.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Left Ventricle, Muscle Atrophy F-box Protein, Muscle Ring-Finger Protein 1, Type 2 Diabetes

* Islamic Azad University, Aliabad Katoul Branch, University Blvd, Aliabad Katoul, Golestan, Iran. Postal Code: 4941793451, Tel: +989191992996, Email: nedaghaei@gmail.com

