مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد- شهریور ۱۳۹۸؛ دوره ۱۸ (شماره ۶) ۲۹۹-۲۹۲

مقاله پژوهشی

تمرین تناوبی با شدت بالا با کاهش محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 اتوفاژی را در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو مهار می‌کند

مسعود جوکار[۱]، محمد شرافتی مقدم*[۲]

چکیده

مقدمه: کاردیومیوپاتی دیابتی عارضه‌ای از دیابت نوع دو است که می‌تواند منجر به اتوفاژی سلولی عضله‌ی قلب از طریق پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 شود؛ بنابراین، هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 در بافت عضله‌ی قلب موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی مبتلا به دیابت نوع دو است.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگوداولی با میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء STZ و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی (٦ سر) و کنترل دیابتی (٦ سر) تقسیم شدند؛ گروه تمرینی ٤ روز در هفته مطابق با برنامه‌ی تمرینی (هر جلسه ٤٢ دقیقه، سرعت بین ۱۰ تا ۳۰ متر بر دقیقه) به‌مدت ۸ هفته به تمرین HIIT پرداختند؛ در حالی که گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از آزمون t-مستقل استفاده شد. سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها: هشت هفته تمرین HIIT منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های FOXO3a (P=۰/۰۰۸) و Beclin-1 (P=۰/۰۰۲) گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی شد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت که هشت هفته تمرین HIIT با کاهش محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 منجر به مهار مسیر اتوفاژی FOXO3a/Beclin-1 شده است؛ بنابراین استفاده از تمرینات HIIT می‌تواند برای آزمودنی‌های دیابتی که مستعد کاردیومیوپاتی دیابتی هستند، مفید باشد.

واژگان کلیدی: تمرین تناوبی با شدت بالا، عضله‌ی قلبی، پروتئین FOXO3a، پروتئین Beclin-1، دیابت نوع دو

۱- دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد هشتگرد، البرز، ایران

نشانی: استان البرز، هشتگرد،پایین‌تر از میدان صنعت، خیابان شهید صدوقی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد، کد پستی: ۳۳٦۱٦۵۹۹۱۳ ، تلفن: ۰۲٦٤٤۲۱۰۱٦۵ ، پست الکترونیک: m.sherafati@hiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۳ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۸/۰۶/۲۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۶/۲۹

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

مقدمه

کاردیومیوپاتی دیابتی (Diabetic cardiomyopathy) یک پدیده‌ی متمایز در ارتباط با اختلال عملکرد قلبی است. این عارضه منجر به از دست دادن سلول‌های قلب و بیماری‌هایی مانند آترواسکلروز و فشارخون بالا می‌شود. با این حال، سازوکار دقیق مرگ سلولی در کاردیومیوپاتی دیابتی هنوز روشن نشده است. اتوفاژی یک مسیر تخریب سلولی فیزیولوژیک است که نقش مهمی در هموستاز سلولی دارد و نقش آن در کاردیومیوپاتی ناشناخته است [۱].

مفهوم مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (Apoptosis) در برگیرنده‌ی "مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده (نوع ۱)، اتوفاژی (Autophagy) (نوع ۲) و نکروز (Necrosis) مرگ سلولی" است. اتوفاژی فرآیندی است که در آن وزیکول‌های با غشاء دولایه می‌توانند پروتئین‌ها و اندامک‌های آسیب‌دیده را برای تخریب، به لیزوزوم انتقال دهند و انرژی تولید کنند [۲]. اتوفاژی پاسخی به فرآیند آنابولیکی ساختن ماکرو-مولکول‌ها است و به‌منظور حفظ هموستاز انرژی، تأمین‌کننده انرژی است [۳]. همچنین اتوفاژی یک فرآیند کاتابولیک درون‌سلولی است که مواد سیتوپلاسمی (به‌عنوان مثال مولکول‌های استفاده نشده و پاتوژن‌های مهاجم) را به‌صورت وابسته در لیزوزوم تخریب می‌کند [٤]. یکی از مسیرهای مهم در کاردیومیوپاتی قلبی مسیر FOXO3a/Beclin-1 است. بیماری دیابت می‌تواند از طریق این مسیر منجر به اتوفاژی سلولی در سلول‌های قلب شود [٥].

پروتئین جعبه‌ی سرچنگالی 3Oa (Forkhead Box O3)، همچنین به عنوان FOXO3 یا FOXO3a شناخته می‌شود و پروتئینی است که توسط ژن FOXO3 رمزگذاری شده است. FOXO3a متعلق به زیر کلاس O از خانواده فاکتورهای رونویسی چنگالی است که توسط یک دامنه‌ی اتصال‌دهنده چنگال مانند به DNA متصل می‌شود [٦]. این پروتئین رفتارهای گوناگونی از خود نشان می‌دهد. نشان داده شده است که FOXO3a مانع/معکوس‌کننده‌ی هیپرتروفی پاتولوژیک میوکارد است [٧]. همچنین، مهار آن منجر به نارسایی قلبی و مرگ در موش‌ها می‌شود [٨]؛ بنابراین، FOXO3a با مهار رشد کاردیومیوسیت‌ها و ترویج اتوفاژی، اندازه‌ی کاردیومیوسیت‌ها را حفظ می‌کند. FOXO3a با چندین مولکول درون سلولی ارتباط برقرار می‌کند و یک مسیر بازخورد را از طریق مسیرهای مستقیم یا غیرمستقیم تشکیل می‌دهد [٩]. یکی از این پروتئین‌های کلیدی در بحث اتوفاژی پروتئین Beclin-1 است. پروتئین Beclin-1 یک جزء اصلی از کمپلکس Beclin-1/PI3KC3 و یک کمپلکس لیپیدکیناز درگیر در اتوفاژی هسته است [۱۰]. این پروتئین در انسان توسط ژن BECN1 رمزگذاری می‌شود. این پروتئین با پروتئین‌های BCL-2 یا PI3k کلاس III در تعامل است و نقش مهمی در تنظیم اتوفاژی و مرگ سلولی ایفا می‌کند [۱۱]. تغییر در سطح پروتئین Beclin-1 قلب در بسیاری از شرایط بیماری مشاهده شده است. این پروتئین نقش احتمالی تنظیم اولیه در توسعه‌ی اتوفاژی میوکارد را نشان می‌دهد [۱۲]. Beclin-1 یک مولکول کلیدی در کنترل فعالیت اتوفاژی است؛ فعالیت آن توسط سازوکارهای متعددی از جمله اصلاح پس از ترجمه، تعامل پروتئین با پروتئین و محلی‌سازی درون‌سلولی تنظیم می‌شود. با این حال، Beclin-1 با تنظیم اتوفاژی و آپوپتوز نقش مهمی را به‌عنوان "چهارراه مرگ سلولی" ایفا می‌کند [۱۳]. فعالیت بدنی که در مقابل بیماری‌های قلبی- عروقی راه‌حل کاربردی مناسبی به شمار می‌رود باعث کاهش عوامل خطرزای قلبی، جلوگیری از تخریب میوکارد و افزایش عملکرد قلب می‌شود. سازگاری سلولی به فعالیت بدنی می‌تواند به عوامل سلولی و مولکولی مربوط باشد: ۱) فعالیت بدنی با ایجاد هیپرتروفی و تجدید کاردیومیوسیت‌ها منجر به رشد قلبی می‌شود و ۲) همچنین باعث تکثیر، تفکیک و جابه‌جایی سلول‌های اندوتلیال نابالغ به سلول‌های اندوتلیال بالغ‌شده می‌شود [١٤]. در سال‌های اخیر، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT; High Intensity Interval Training) به‌عنوان یک مداخله‌ی ورزشی مؤثر شناخته شده است که می‌تواند منافع مشابه و بیشتری از تمرینات تدوامی با شدت‌های متفاوت به‌همراه داشته باشد [۱۵]. تمرینات HIIT منجر به اثرات مشابه با تمرینات دیگر در سازگاری‌های متابولیکی عضله‌ی اسکلتی، آمادگی قلبی عروقی و ترکیب بدن را نشان داده است. همچنین مشخص‌شده است که HIIT می‌تواند آثار مفیدتری برای بهبود کنترل گلیسیمی داشته باشد [١٦]. در تحقیقی Sheibani و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرین HIIT و بی‌تمرینی بر سطوح FOXO3a در عضله‌ی نعلی موش‌های نر پرداختند. تمرین تناوبی با شدت ۸۵ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به‌مدت شش هفته انجام شد. سپس گروه‌ها بی‌تمرین شدند. سطوحFOXO3a بعد از تمرین افزایش و بعد از دوره‌ی بی‌تمرینی کاهش معناداری داشت [۱۷]. در تحقیقی دیگر Mejías-Peña و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تأثیر تمرین مقاومتی بر محتوای پروتئین Beclin-1 در افراد مسن پرداختند. تمرین مقاومتی شامل ١٦ جلسه تمرین به‌مدت ۸ هفته بود. محتوای پروتئین Beclin-1 بعد از هشت هفته تمرین مقاومتی نسبت به پیش‌آزمون افزایش معنی‌داری یافته بود

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

[۱۸]. بنابراین، با توجه به نقش‌های بسیار مهم پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 در تنظیم مسیر اتوفاژی و همچنین نقش این پروتئین‌ها در ایجاد کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی در عضله‌ی قلب، بررسی این مسیر سلولی در افراد دیابتی که مستعد این عارضه هستند مهم است. از طرفی دیگر، تمرینات ورزشی را می‌توان به‌عنوان 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. تحقیقات بسیار کمی، نقش سازوکار سلولی اتوفاژی را در قلب افراد دیابتی نوع دو بررسی کرده‌اند؛ بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 در بافت عضله‌ی قلب موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی مبتلا به دیابت نوع دو است.

روش‌ها

نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز با دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگه‌داری شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز حیوانات به‌صورت 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.

روش القاء دیابت

در هفته دهم بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (Streptozotocin; STZ) (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵) به‌صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید [۱۹]. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه‌ی خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها قند خون اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۲۰].

پروتکل تمرینی

پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به‌مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. برنامه‌ی گروه تمرینی به‌مدت ۸ هفته و هر هفته ٤ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم می‌کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی شامل ۵ وهله ٤ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ٦۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد می‌کردند. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ٤٤ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت [۲۱].

آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای تردمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۲۲]. در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند.

روش بافت برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی 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 عضله‌ی قلبی 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 [۲۳].

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

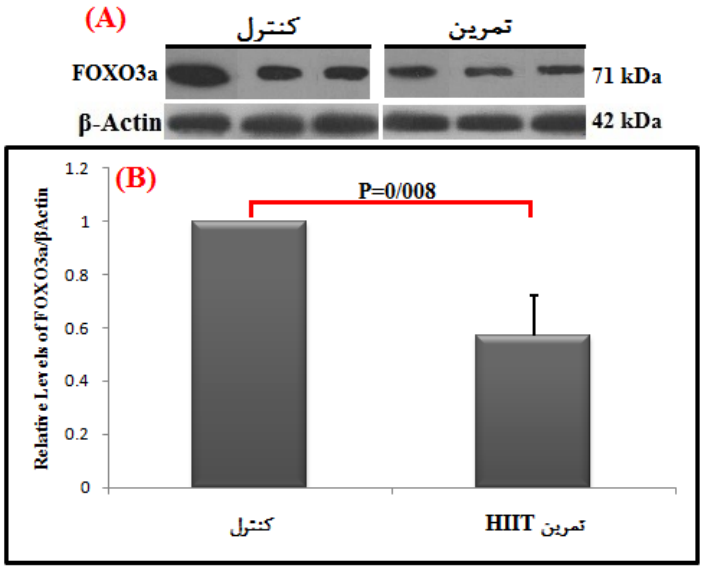
با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت قلب از بافر RIPA حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس (pH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA، یک درصد سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) به اضافه ۰/۱ درصد آنتی‌پروتئاز کوکتیل (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 ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد و سپس در یک سانتریفوژ یخچال‌دار (bo, sw14rfroil) در دور ۱۲۰۰۰ و ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد؛ سپس مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین کننده‌ی پروتئین (Bio-Rad) اندازه‌گیری گردید (در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد). در نهایت در ۲۰ درجه زیر صفر نگه‌داری شد، سپس هموژن به‌دست 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 به‌مدت ۵ دقیقه جوشانده شدند تا تمام پروتئین‌ها کاملاً دناتوره شوند. پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل SDS-Polyacrylamide جدا شده و به غشای نیترو سلولز منتقل شدند. غشاء به‌مدت 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 به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در ٤ 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-FOXO3a (DP-12) (sc-48348) و anti-Beclin-1 (E-8) (Sc-48341) شرکت سانتاکروز ساخت کشور آمریکا مورد استفاده قرار گرفتند [٢٤].

روش‌های آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t مستقل برای مقایسه‌ی بین گروهی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر، P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به‌دنبال هشت هفته تمرین HIIT، کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین FOXO3a بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت عضله‌ی قلبی وجود دارد (P=۰/۰۰۸) (شکل ۱).

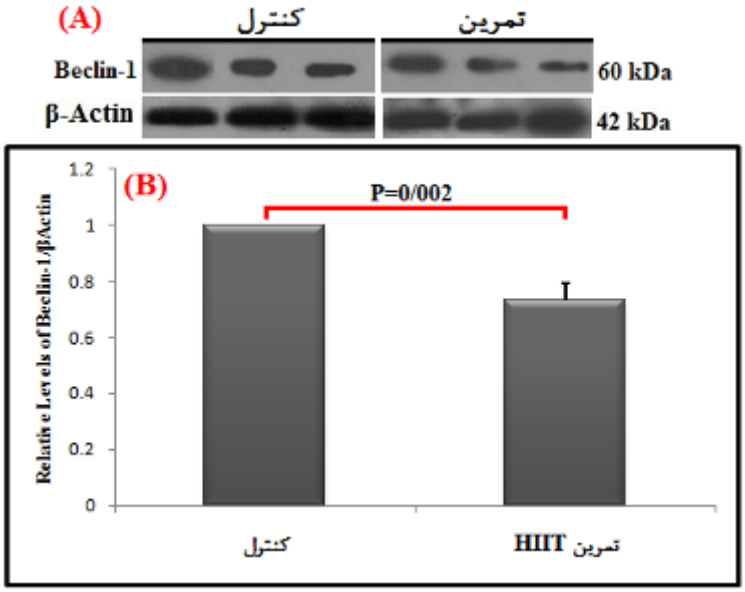


شکل ۱- مقایسه‌ی محتوای پروتئین FOXO3a در گروه‌های مورد مطالعه

A، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین FOXO3a و β-Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله‌ی قلب. B، نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین FOXO3a در مقابل لودینگ کنترل که به‌صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه‌شده است.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

همچنین، هشت هفته تمرین HIIT منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین Beclin-1 (P=۰/۰۰۲) بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت عضله‌ی قلبی شد (شکل ۲).



شکل۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین Beclin-1 در گروه‌های مورد مطالعه

A، تصاویر وسترن‌بلات پروتئین Beclin-1 و β-Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بافت عضله‌ی قلب. B، نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین Beclin-1 در مقابل لودینگ کنترل که به‌صورت چند برابر از گروه کنترل ارائه‌شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

هشت هفته تمرین HIIT منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی شد.

کاردیومیوپاتی دیابتی یکی از مهم‌ترین عوارض ناشی از دیابت نوع دو است. کاردیومیوپاتی دیابتی را به‌عنوان بیماری ویژه‌ی عضله‌ی قلب می‌دانند [۲۵]. در این عارضه هرگونه اختلال غیرعادی در گلوکز پلاسما و میزان انسولین، سلول‌های عضله‌ی قلبی را مستعد مرگ سلولی می‌کند و در نهایت موجب تغییر انقباضی عضلانی می‌شود [۲۶].

تحقیقات بسیار اندکی به بررسی محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 بر روی آزمودنی‌های دیابتی که مستعد کاردیومیوپاتی دیابتی و مرگ سلول عضله قلبی هستند، پرداخته‌اند. براساس شواهد هنوز ماهیت تمرینات ورزشی به‌خصوص تمرینات HIIT بر روی فرآیند اتوفاژی به‌درستی مشخص نشده است. با این وجود، Marfe و همکاران (۲۰۱۲) پس از یک وهله فعالیت بدنی طولانی‌مدت تا رسیدن به درماندگی در بافت عضله‌ی قلب و اسکلتی موش‌ها، کاهش رونویسی FOXO3a را مشاهده کردند [۲۷]. نتایج تحقیق Marfe و همکاران که به انجام یک تمرین یک جلسه‌ای درمانده‌ساز پرداخته بودند با نتایج تحقیق حاضر که تمرین HIIT را به‌مدت هشت هفته انجام داده‌اند هم‌راستا است. از عوامل مهم در تحقیق حاضر می‌توان شدت تمرینات را مدنظر قرار داد؛ در هر دو تحقیق (Marfe و همکاران و تحقیق حاضر) تمرین ورزشی توانسته است محتوای پروتئین FOXO3a را کاهش دهد. با توجه به ماهیت این پروتئین که در اتوفاژی و آتروفی عضلانی نقش مهمی را ایفا می‌کند می‌توان گفت که تمرینات ورزشی و به‌خصوص تمرین HIIT در تحقیق حاضر می‌توانند با تنظیم این پروتئین از اتوفاژی سلولی قلبی جلوگیری کنند. در این راستا در تحقیقی دیگر Kavazis و همکاران (۲۰۱٤) به بررسی تأثیر تمرین تداومی هوازی بر بیان ژن FOXO3a پرداختند. این محققان نشان دادند تمرین ورزشی کوتاه‌مدت، در اثر وجود دوکسوروبیسین (Doxorubicin) منجر به کاهش رونویسی FOXO3a mRNA در عضله‌ی قلب و در عضله‌ی نعلی می‌شود [۲۸]. نتایج تحقیق Kavazis و همکاران نیز همانند نتایج تحقیق Marfe و همکاران و تحقیق حاضر از این مطلب که تمرینات ورزشی می‌توانند یک عامل کلیدی در تنظیم این پروتئین مهم باشد، حمایت می‌کند. تنظیم اتوفاژی توسط تمرینات ورزشی می‌تواند فرآیندی کلیدی در سازوکارهای سلولی و مولکولی باشد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

مشخص‌شده است که تمرین ورزشی با شدت مناسب می‌تواند باعث اتوفاژی برای تخریب ضایعات متابولیک شود تا حالت ثبات سلول حفظ شود [۲۹]. تمرینات ورزشی (هوازی) می‌تواند اتوفاژی را برای محافظت از سلول‌های میوکارد القا کند [۳۰]. همچنین تمرین ورزشی می‌تواند انفارکتوس میوکارد را در حین آسیب سلولی میوکارد در موش‌ها کاهش دهد، عملکرد قلب و عروق را تقویت کند، اتوفاژی و ترویج تخریب پروتئین‌های آسیب‌دیده را بهبود دهد [۳۱].

محققان حاضر تاکنون تحقیقی را که محتوای پروتئین Beclin-1 را در عضله‌ی قلب در بیماران دیابتی اندازه‌گیری کرده باشند مشاهده نکرده‌اند. با این وجود، در تحقیقی Brandt و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر تمرینات ورزشی در نشانگرهای اتوفاژی (پروتئین Beclin-1) در عضله‌ی اسکلتی انسان پرداختند. تمرینات ورزشی به‌مدت ۸ هفته دوچرخه‌سواری مداوم با شدت متوسط (به‌مدت ٦۰ دقیقه در روز) و دوچرخه‌سواری با شدت متوسط همراه با ۳۰ ثانیه سرعت (هر ۱۰ دقیقه تمرین متوسط ۳۰ ثانیه سرعت انجام می‌شد) بود. محتوای پروتئین Beclin-1 در زمان قبل، شروع و پایان تمرینات ورزشی اندازه‌گیری شد. در گروه تمرینات دوچرخه سواری مداوم با شدت متوسط محتوای پروتئین Beclin-1 در زمان شروع و پایان تمرین ورزشی نسبت به زمان قبل از تمرین ورزشی افزایش معنی‌داری را نشان داد؛ اما در گروه تمرین دوچرخه‌سواری با شدت متوسط همراه با ۳۰ ثانیه سرعت، تغییر معنی‌داری در محتوای پروتئین Beclin-1 مشاهده نشد [۳۲]. نتایج تحقیق Brandt و همکاران با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا نیست؛ زیرا در تحقیق حاضر ما کاهش معنی‌داری را در محتوای پروتئین Beclin-1 مشاهده کردیم. از تفاوت‌های دو تحقیق می‌توان به نوع تمرینات اشاره کرد. در تحقیق حاضر تمرین HIIT بوده است و این در حالی است که Brandt و همکاران از تمرینات دوچرخه‌سواری با شدت متوسط استفاده کرده‌اند. همچنین نوع آزمودنی‌ها و بیمار بودن (در تحقیق حاضر دیابتی نوع دو بودند) آزمودنی‌های تحقیق حاضر می‌تواند عوامل مهم در نتایج گزارش‌شده باشند؛ اما شایان ذکر است که در تحقیق Brandt و همکاران در گروه تمرین دوچرخه‌سواری با شدت متوسط همراه با ۳۰ ثانیه سرعت، محتوای پروتئین Beclin-1 تغییر معنی‌داری نکرده است و این نشان دهنده‌ی این است که شدت تمرین ورزشی می‌تواند عامل بسیار مهم دیگری در تنظیم پروتئین Beclin-1 جهت اتوفاژی باشد. این احتمال وجود دارد که تمرینات ورزشی می‌توانند فرآیند اتوفاژی را تغییر دهند. اگر اتوفاژی تنظیم شود، می‌تواند از طریق تخریب پروتئین‌های دناتوره‌شده و تولید اسیدهای آمینه در سلول‌های میوکارد زمینه‌ی اصلی رشد و بقای میوکارد را فراهم می‌کند. ایسکمی میوکارد می‌تواند اتوفاژی را برای حفظ سطح ATP در سلول‌ها القا کند؛ بنابراین متابولیسم و عملکرد انرژی میوکارد را حفظ می‌کند؛ همچنین بقای سلول میوکارد را تقویت می‌کند. میوکارد غنی از میتوکندری است، در حالی که محیط نامطلوب می‌تواند منجر به آسیب میتوکندری شود؛ بنابراین فاکتورهای آپوپتوز را آزاد کرده و باعث بروز آپوپتوز می‌شود [۳۳]. در تحقیقی دیگر kim و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی پاسخ اتوفاژیک به تمرینات ورزشی در عضله‌ی اسکلتی در موش‌های مسن و جوان پرداختند. تمرین به‌مدت ۸ هفته با سرعت ۱٦/٤ متر در دقیقه با شیب ۵ درجه به‌مدت ٤۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته اجرا شد. محتوای پروتئین Beclin-1 در عضله‌ی EDL و دوقلو بررسی شد. در عضله‌ی EDL محتوای پروتئین Beclin-1 در هر دو گروه جوان و پیر تمرین دیده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافته بود؛ اما این کاهش در عضله‌ی دوقلو معنی‌دار نبود [۳٤]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق kim و همکاران در عضله‌ی EDL در یک راستا است. شایان ذکر است که نتایج تحقیق حاضر در عضله‌ی قلب اندازه‌گیری شده است و این در صورتی است که kim و همکاران محتوای پروتئین Beclin-1 را در عضله‌ی اسکلتی اندازه‌گیری کرده‌اند.

میوسیت‌های قلب سلول‌های متفاوتی هستند و دارای ظرفیت بازسازی‌کننده‌ی بسیار محدودند؛ بنابراین حفظ میوسیت‌های قلب بالغ در سراسر طول عمر فرد به‌طور قابل توجهی به زندگی سالم کمک می‌کند. اتوفاژی یک فرآیند ضروری برای عملکرد طبیعی قلب است. بنابراین، تنظیم فرآیند اتوفاژی از طریق فعالیت‌های ورزشی می‌تواند یک روش درمانی مفید باشد [۳۵]. مسیر اصلی پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 توسط سازوکارهای تنظیمی پیچیده‌ای تنظیم می‌شود که می‌توان به سیگنال‌های ورودی گوناگون از جمله مواد مغذی، فاکتورهای رشدی، هورمون‌ها، غلظت کلسیم داخل سلولی، میزان ATP، هیپوکسی و... باشد. مسیر اصلی تنظیم‌کننده‌ی این عوامل مسیر mTORC1 است که در پاسخ‌های سلولی مانند رشد، تکثیر، سنتز پروتئین و اتوفاژی فعال می‌شود. مسیر mTORC1 با تنظیم پروتئین‌های ULK1، ATG13 و FIP200 می‌تواند مهارکننده یا فعال‌کننده سازوکار اتوفاژی باشد [۳٦].

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

البته، سنجش پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 به تنهایی برای ارزیابی تغییرات قلبی در پاسخ به بیماری دیابت که منجر به کاردیومیوپاتی قلبی می‌شود و همچنین در پاسخ به تمرینات HIIT کافی نیست و به‌نظر می‌رسد که نقش سایر پروتئین‌های درگیر در فرآیند اتوفاژی میوسیت‌ها قابل‌توجه باشند. همچنین در زمینه‌ی مرگ سلولی، سایر سازوکارها مانند نکروز و آپوپتوز نیز دخیل هستند [۳۷]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین HIIT منجر به کاهش محتوای پروتئین‌های FOXO3a و Beclin-1 در بافت قلب می‌شود؛ بنابراین، می‌توان گفت که هشت هفته تمرین HIIT با کاهش محتوای این پروتئین‌ها منجر به مهار مسیر اتوفاژی FOXO3a/Beclin-1 شده است؛ از این‌رو تمرینات HIIT می‌تواند در قلب افراد دیابتی نوع دو که مستعد کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی هستند، نقش یک عامل بازدارنده را ایفا می‌کند؛ بنابراین استفاده از تمرینات HIIT می‌تواند برای آزمودنی‌های دیابتی که مستعد کاردیومیوپاتی دیابتی هستند، مفید باشد. با این جود باید تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شود.

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.

مآخذ

1. Munasinghe PE, Katare R. Maladaptive autophagy in diabetic heart disease. *International Journal of Clinical and Experimental Physiology* 2016; 3:155-65.
2. Taji F, Kouchesfehani HM, Sheikholeslami F, Baesi K, Motavalli F, Abdoli A. Induction of Autophagy by the Beclin 1 Gene and Its Effect on MDCK Cell Line Necrosis. Pathobiology *Research* 2017; 20(1):1-15.
3. Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nature cell biology* 2010; 12(9): 814-22.
4. Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 2011; 147(4):728-41.
5. Kobayashi S, Liang Q. Autophagy and mitophagy in diabetic cardiomyopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2015; 1852(2):252-61.
6. Xin Z, Ma Z, Jiang S, Wang D, Fan C, Di S, et al. FOXOs in the impaired heart: New therapeutic targets for cardiac diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2017; 1863(2):486-98.
7. Cao DJ, Jiang N, Blagg A, Johnstone JL, Gondalia R, Oh M, et al. Mechanical unloading activates FoxO3 to trigger Bnip3-dependent cardiomyocyte atrophy. *Journal of the American Heart Association* 2013; 2(2):e000016.
8. Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, Erikci E, Kardasinski M, Batkai S, et al. The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. *Nature communications* 2012; 3:1078.
9. Seok HY, Chen J, Kataoka M, Huang ZP, Ding J, Yan J, et al. Loss of MicroRNA-155 protects the heart from pathological cardiac hypertrophy. *Circulation research* 2014; 114(10):1585-95.
10. Xie Y, Kang R, Tang D. Role of the Beclin 1 Network in the Cross-Regulation Between Autophagy and Apoptosis. *InAutophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging* 2016; 75-88.
11. Maejima Y, Isobe M, Sadoshima J. Regulation of autophagy by Beclin 1 in the heart. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2016; 95:19-25.
12. Ma S, Wang Y, Chen Y, Cao F. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2015; 1852(2):271-6.
13. Wirawan E, Lippens S, Vanden Berghe T, Romagnoli A, Fimia GM, Piacentini M, et al. Beclin1: a role in membrane dynamics and beyond. *Autophagy* 2012; 8(1):6-17.
14. Tao L, Bei Y, Zhang H, Xiao J, Li X. Exercise for the heart: signaling pathways. *Oncotarget* 2015; 6(25):20773-84.
15. Little JP, Jung ME, Wright AE, Wright W, Manders RJ. Effects of high-intensity interval exercise versus continuous moderate-intensity exercise on postprandial glycemic control assessed by continuous glucose monitoring in obese adults. *Applied physiology, nutrition, and metabolism* 2014; 39(7):835-41.
16. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes* 2013; 62(7):2287-94.
17. Sheibani S, Daryanoosh F, Salesi M, Koushkie jahromi M, Tanideh N. The effect of high-intensity training and detraining on FOXO3a/MuRF1 and MAFbx levels in soleus muscle of male rats. *EBNESINA- Journal of Medical* 2018; 20 (1):31-39.
18. Mejías-Peña Y, Estébanez B, Rodriguez-Miguelez P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, de Paz JA, et al. Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging* 2017; 9(2):408-18.
19. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 2018; 22(5):493-501.
20. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of Asian natural products research* 2017; 19(10):1011-21.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1α content and endurance exercise performance in rats. *Journal of the international society of sports nutrition* 2017; 14 (1): 1-8.
25. Miki T, Yuda S, Kouzu H, Miura T. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart failure reviews* 2013; 18(2):149-66.
26. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of low intensity exercise against apoptosis and oxidative stress in Streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 2017; 125(09):583-91.
27. Marfe G, Manzi V, Tafani M, Pucci B, Gambacurta A, Russo MA, et al. The modulation of sirtuins and apoptotic proteins in rats after exhaustive exercise. *Journal of Molecular and Integrative Physiology* 2012; 2(3):65-74.
28. Kavazis AN, Smuder AJ, Powers SK. Effects of short_term endurance exercise training on acute doxorubicin_induced foxO transcription in cardiac and skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2014; 117(3):223-30.
29. He C, Sumpter, Jr R, Levine B. Exercise induces autophagy in peripheral tissues and in the brain. *Autophagy* 2012; 8(10):1548-51.
30. Le Page C, Noirez P, Courty J, Riou B, Swynghedauw B, Besse S. Exercise training improves functional post-ischemic recovery in senescent heart. *Experimental Gerontology* 2009; 44(3):177-82.
31. Chen CY, Hsu HC, Lee BC, Lin HJ, Chen YH, Huang HC, et al. Exercise training improves cardiac function in infarcted rabbits: involvement of autophagic function and fatty acid utilization. *European journal of heart failure* 2010; 12(4):323-30.
32. Brandt N, Gunnarsson TP, Bangsbo J, Pilegaard H. Exercise and exercise training-induced increase in autophagy markers in human skeletal muscle. *Physiological reports* 2018; 6(7):e13651.
33. Zhang Y, Chen N. Autophagy is a promoter for aerobic exercise performance during high altitude training. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018; 1-11.
34. Kim YA, Kim YS, Oh SL, Kim HJ, Song W. Autophagic response to exercise training in skeletal muscle with age. *Journal of physiology and biochemistry* 2013; 69(4):697-705.
35. Lee Y, Kwon I, Jang Y, Song W, Cosio-Lima LM, Roltsch MH. Potential signaling pathways of acute endurance exercise-induced cardiac autophagy and mitophagy and its possible role in cardioprotection. *The Journal of Physiological* Sciences 2017; 67(6):639-54.
36. Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling at a glance. *Journal of cell science* 2009; 122(20):3589-94.
37. Tian XF, Cui MX, Yang SW, Zhou YJ, Hu DY. Cell death, dysglycemia and myocardial infarction (Review). *Biomedical Reports* 2013; 1:341-6.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]

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

Masoud Jokar[1], Mohammad Sherafati Moghadam[2*]

1. *Kharazmi University, Tehran, Iran*
2. *Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran*

ABSTRACT

Background: Diabetic cardiomyopathy is a complication type 2 diabetes mellitus that can lead to cardiac muscle autophagy through the proteins FOXO3a and Beclin-1. Therefore, the aim of this study is to investigate the effect of 8 weeks High intensity interval training (HIIT) on the content of FOXO3a and Beclin-1 proteins in heart muscle tissue of Sprague-Dawley rats with type 2 diabetic rats.
Methods: In this experimental study, 12 two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270±20 g were selected. After diabetic induction with STZ and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, diabetic training (6 heads) and diabetic control (6 heads). The training group trained for 4 days a week in accordance with the training program (each session 42 minutes, 10-30 m/m) for 8 weeks, while the control group did not have any training program. Also, rats did not receive any insulin treatment during the study period. The independent t-test was used to analyze the data. Significance level is considered $p \leq 0.05$.
Results: Eight weeks of HIIT training resulted in a significant decrease in FOXO3a (P=0.008) and Beclin-1 (P=0.002) proteins content in diabetic training group compared to diabetic control group.
Conclusion: It can be said that eight weeks of HIIT training decreased the FOXO3a/Beclin-1 autophagy pathway by decreasing FOXO3a and Beclin-1 protein content. Therefore, the use of HIIT exercises may be useful for diabetic subjects who are prone to diabetic cardiomyopathy.

Keywords: High Intensity Interval Training, Heart Muscle, Protein FOXO3a, Protein Beclin-1, Type 2 Diabetes

*Alborz Province-Hashtgerd-Below Sanat Square-Shahid Sadoughi Street-Islamic Azad University-Hashtgerd Branch, Postal Code: 3361659913, TEL: 026 4421 0164, Emial: m.sherafati@hiau.ac.ir

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-20]