Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

The Effect of Endurance Training on the Intracellular Content of Proteins Related to the Ubiquitin-Proteasome Pathway in the Left Ventricle of Type-2 Diabetic Rats

Abdol Nasser Seidi [1], Neda Aghaei Bahmanbeglou [2]✉, Habib Asgharpour [3], Mozhgan Ahmadi [4]

1. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Golestan, Iran. E-mail: nasserseidey@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Golestan, Iran. E-mail: nedaghaei@gmail.com
3. Department of Physical Education and Sport Sciences, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad Katoul, Golestan, Iran. E-mail: habibasgharpour@gmail.com
4. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahr-e-Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. E-mail: mahmadi1376@gmail.com

Article Info

Article type:
Research

Article history:
Received:
4 July 2022
Received in revised form:
11 February 2023
Accepted:
1 March 2023
Published online:
25 April 2023

Keywords:
Endurance training,
Left ventricle,
Muscle atrophy F-Box protein,
Muscle Ring-Finger protein-1,
Type-2 diabetes.

ABSTRACT

Introduction: The Ubiquitin pathway is responsible for muscle atrophy; the Atrogin-1 or muscle atrophy F-box (MAFbx) and the muscle Ring-Finger protein-1 (MuRF1) are the important factors in this pathway. This study aimed to investigate the effect of endurance training on the intracellular content of proteins related to the Ubiquitin-Proteasome pathway in the left ventricular tissue of rats with type-2 diabetes.

Methods: In this experimental study, 18 three-month-old male Sprague-Dawley rats with a mean weight of 270±20 grams were selected. Type-2 diabetes was induced in 12 rats by intraperitoneal injection of streptozotocin and nicotinamide solutions. These rats were randomly divided into two diabetic training and diabetic control groups. A healthy control group (six rats in each group) was also considered. The training group did endurance training four days a week according to the training program for eight weeks. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc tests via SPSS software version 23.

Results: MAFbx protein content showed a significant change after eight weeks of endurance training (P=0.0001); Tukey's post hoc test showed that this significant change was between pairs of the diabetic training compared with diabetic control (decrease) groups (P=0.0001) and diabetic training compared with the healthy control (increase) groups (P=0.004). MuRF1 protein content showed a significant decrease (P=0.0001); This reduction was significant between pairs of diabetic training compared with diabetic control groups (P=0.0001).

Conclusion: Endurance training can prevent atrophy and lead to proper left ventricular function by reducing the content of MAFbx and MuRF1 proteins in the heart of diabetic rats.

Cite this article: Seidi A.N., Aghaei N.B., Asgharpour H., & Ahmadi M. The Effect of Endurance Training on the Intracellular Content of Proteins Related to the Ubiquitin-Proteasome Pathway in the Left Ventricle of Type-2 Diabetic Rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2023; 15 (1):21-35.

DOI: http//doi.org/10.22059/JSB.2023.345403.1544

Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0.
Web site: https://jsb.ut.ac.ir/ | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s). Publisher: University of Tehran Press.

University of Tehran Press

Journal of Sport Biosciences

Online ISSN: 2676-4148

Extended Abstract

Introduction

Type-2 diabetic patients suffer from many cardiovascular complications and it is one of the important factors of death in these patients. Diabetes and defects in the insulin messenger can cause muscle atrophy and increase the destruction of proteins in muscle cells. Activation of the ubiquitin-proteasome system leads to its important role in the breakdown of known proteins such as muscle proteins. Among the most important regulatory proteins of muscle proteolysis in the ubiquitin-proteasome system are the destructive proteins namely atherogen-1 or muscle atrophy F-Box (MAFbx) and muscle Ring-Finger protein-1 (MuRF1). MAFbx protein increases in diabetics and is responsible for the destruction of muscle proteins. Overexpression of MAFbx in the heart causes a decrease in physiological hypertrophy. Another member of the ubiquitin pathway is the protein MuRF1, which is related to a family of MuRF proteins including MuRF1, MuRF2, and MuRF3. Transcriptional regulation of MAFbx causes a reduction in heart protein degradation from the ubiquitin pathway. MAFbx not only regulates protein degradation but also reduces protein synthesis and plays an important role in controlling heart mass. As a unique form of physiological stress, regular exercise training can lead to cardiac muscle adaptation and ultimately cause physiological hypertrophy. A better understanding of cellular-molecular mechanisms in cardiac muscle in response to physical training, especially endurance training, is very important to improve the health of diabetic subjects. Therefore, in the current study, researchers are looking for the answer that endurance training can regulate and optimize the intracellular content of proteins involved in the ubiquitin-proteasome pathway (MAFbx and MuRF1) in the left ventricular tissue of rats with type-2 diabetes.

Methods

The current research was an experimental one in which 18 three-month-old male Sprague Dawley rats were included. In the first stage, to induce type-2 diabetes, a dose of 110 mg/kg nicotinamide solution was injected. Then, 15 minutes later, a dose of 60 mg/kg streptozotocin solution dissolved in 0.1 M citrate buffer, pH=4.5 was injected into the peritoneum of the rats only for one time. Blood sugar between 126 mg/dL and 260 mg/dL was considered an indicator of type-2 diabetes. At the beginning of each session, the rats in the training group warmed up for six minutes at a speed of about 10 to 12 m/min. Then, the main training program included 32 minutes of endurance training with a speed of 15 to 24 m/min. At the end of each session, the rats cooled down for six minutes at a speed of about 10 to 12 m/min. Endurance training was performed for eight weeks and four sessions per week. The treadmill incline was set at zero degrees. Twenty-four hours after the last training session, the rats were anesthetized with an intraperitoneal injection of 30-50 mg/kg ketamine and 3-5 mg/kg xylazine. finally, the left ventricular tissue was removed and frozen at -80 degrees for further measurements. The data of the present research variables were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests at the α=0.05 level of significance.

Results

Significant differences in weight and blood sugar levels were observed in the first and eighth weeks among the diabetic training group, diabetic control, and healthy control ($P \leq 0.05$). The intracellular content of MAFbx protein after eight weeks of endurance training showed a significant change between the research groups in the tissue of the left ventricle of the heart muscle ($P=0.0001$). Also, the intracellular content of MuRF1 protein after eight weeks of endurance training showed a significant change between the research groups in the tissue of the left ventricle of the heart muscle ($P=0.0001$).

Conclusion

Eight weeks of endurance training led to a decrease in the content of MAFbx and MuRF1 proteins in the hearts of diabetic rats. Because the variables of the present study play a significant role in the ubiquitin-proteasome pathway, reducing the content of these proteins through endurance training can reduce the process of atrophy (decrease of heart cells) and autophagy (death of heart cells) of cardiomyocytes in rats, so that it prevents type-2 diabetes in rats that are prone to heart defects. Therefore, endurance training affects the correct performance and efficiency of the left ventricle of type-2 diabetic rats by regulating the intracellular content of these proteins. Nevertheless, the prescription of endurance programs for diabetics needs

Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

an examination of the clinical conditions of the subjects such as the type of diabetes, the volume, and severity of the complications of the disease, as well as the conditions of the training programs such as the duration, intensity, and other components, so that the best results can be achieved for these people.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: In the present research, all the ethical points of working with laboratory animals were observed and carried out.

Funding: Financial resources provided by the authors.

Authors' contribution: This article is derived from Abdol Nasser Seidi's Ph.D. thesis.

Conflict of interest: the authors declare that they have no mutual interest in writing or publishing this article and there is no conflict of interest.

Acknowledgments: This research has been conducted at Islamic Azad University, Aliabad Katul branch. We are grateful for all the loved ones who helped us in this important matter.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

علوم زیستی ورزشی
انتشارات دانشگاه تهران
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲

عبدالناصر سیدی[۱]، ندا آقایی بهمن‌بگلو[۲]✉، حبیب اصغرپور[۳]، مژگان احمدی[۴]

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: nasserseidey@gmail.com

۲. نویسندهٔ مسؤول، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: nedaghaei@gmail.com

۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران. رایانامه: habibasgharpour@gmail.com

۴. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: mahmadi1376@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۱۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۱/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۲/۰۵

کلیدواژه‌ها:
بطن چپ،
پروتئین آتروفی عضلهٔ F-Box،
پروتئین عضلهٔ انگشت حلقه-۱،
تمرین استقامتی،
دیابت نوع ۲.

چکیده

مقدمه: مسیر یوبی‌کوئیتین مسئول آتروفی عضلانی است؛ پروتئین‌های آتروژین-۱ یا آتروفی عضلهٔ F-Box (MAFbx) و عامل عضلهٔ انگشت حلقه-۱ (MuRF1) از عوامل مهم در این مسیر هستند. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم (MAFbx و MuRF1) در بافت بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ است.

روش پژوهش: در این تحقیق تجربی، ۱۸ سر رت نر سه‌ماههٔ نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۷۰±۲۰ گرم انتخاب شدند. ۱۲ سر از طریق تزریق درون‌صفاقی محلول‌های استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید دیابتی شدند. این رت‌ها به روش تصادفی به دو گروه تمرین دیابتی و کنترل دیابتی تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل سالم (هر گروه شش سر) نیز در نظر گرفته شد. گروه تمرینی چهار روز در هفته مطابق با برنامهٔ تمرینی به مدت هشت هفته به تمرین استقامتی پرداختند. برای بررسی داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۳ و آزمون‌های آنوای-یکطرفه و تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: محتوای پروتئین MAFbx در پی هشت هفته تمرین استقامتی، تغییر معناداری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱)؛ آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنادار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (کاهش) (P=۰/۰۰۰۱) و گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم (افزایش) (P=۰/۰۰۴) است. محتوای پروتئین MuRF1 کاهش معناداری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱)؛ این کاهش معنادار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (P=۰/۰۰۰۱) بود.

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی، با کاهش محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی می‌تواند از آتروفی جلوگیری کند و به عملکرد درست بطن چپ منجر شود.

استناد: سیدی، عبدالناصر؛ آقایی بهمن‌بگلو، ندا؛ اصغرپور، حبیب؛ و احمدی، مژگان. تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های مرتبط با مسیر یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم در بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲. نشریهٔ *علوم زیستی ورزشی*. ۱۴۰۲؛ ۱۵(۱): ۱۹-۵.

DOI: http//doi.org/10.22059/JSB.2023.345403.1544

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کریتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.| آدرس نشریه: https://jsb.ut.ac.ir/ | ایمیل: jsb@ut.ac.ir

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران. © نویسندگان.

مقدمه

دیابت یک مشکل مهم بهداشت جهانی است که حدوداً بالای ۴۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار داده است و افراد دیابتی نیز بیشتر مبتلا به دیابت نوع ۲ هستند (۱). دیابت عامل خطر اصلی برای نارسایی قلبی است که سازوکارهای پیچیده‌ای دارد؛ این سازوکارها تا حد زیادی به قند خون بالا[1]و ناهنجاری‌های سوخت‌وسازی مانند کاردیومیوپاتی دیابتی مرتبط است (۲). بیماران دیابتی نوع ۲، از عوارض قلبی–عروقی بسیاری رنج بسیار می‌برند و از عوامل مهم مرگ‌ومیر در این بیماران است. خطر ابتلا به نارسایی قلبی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ با بسیاری از عوامل فیزیولوژیایی مانند افزایش سطوح هموگلوبین خون و مقاومت به انسولین نیز همبستگی و وابستگی نزدیکی دارد (۳، ۴).

بیماری دیابت و نقص در دستگاه پیام‌رسانی انسولین می‌تواند موجب کاهش حجم عضلانی (آتروفی)[2]و افزایش تخریب پروتئین‌ها در سلول‌های عضلانی (قلب و عضلهٔ اسکلتی) شود (۵). فعال‌سازی دستگاه یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم[3]به ایفای نقش مهم آن در تجزیهٔ پروتئین‌های شناخته‌شده مانند پروتئین‌های عضلانی منجر می‌شود. دستگاه یوبی‌کوئیتین به‌عنوان اهداف بالقوه برای تعدیل کاهش حجم عضلاتی قلبی و اسکلتی مهم است (۶). مسیر یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم شامل آنزیم‌های فعال‌کنندهٔ مسیر یوبی‌کوئیتین، آنزیم‌های متصل‌کننده و لیگازهای یوبی‌کوئیتین است (۷).

از مهم‌ترین پروتئین‌های تنظیمی پروتئولیز عضلانی در دستگاه یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم، پروتئین‌های تخریب‌کننده یعنی آتروژین–۱ یا آتروفی عضلهٔ F-Box[4]و عامل عضلهٔ انگشت حلقه–۱[5]هستند (۸). پروتئین MAFbx در افراد دیابتی افزایش می‌یابد و مسئول تخریب پروتئین‌های عضلانی است. بیان بیش‌ازحد MAFbx در قلب موجب کاهش هایپرتروفی فیزیولوژیایی می‌شود. مشخص شده است که کاهش پروتئین MAFbx به هایپرتروفی عضلانی می‌انجامد؛ درحالی‌که بیان بیش‌ازحد MAFbx در سلول‌های عضلانی قلبی به کاهش حجم منجر می‌شود. افزایش رونویسی MAFbx در الگوهای مختلف کاهش حجم، مانند کم‌تحرکی، دیابت، روزه‌داری و نارسایی‌های کلیوی دیده شده است (۹). عضو دیگر مسیر یوبی‌کوئیتین پروتئین MURF1 است، که به خانواده‌ای از پروتئین‌های MURF از جمله MURF1، MURF2 و MURF3 وابسته است (۱۰). تحقیقات نشان می‌دهد که کاتالیز لیگاز یوبی‌کوئیتین E3 توسط پروتئین MAFbx، سبب شکاف در پروتئین‌های ساختاری قلب می‌شود و نقش مهمی در کاهش حجم قلب دارد. تنظیم رونویسی MAFbx موجب کاهش تخریب پروتئین قلب از مسیر یوبی‌کوئیتین می‌شود. MAFbx علاوه‌بر تنظیم کاهش پروتئین، ساخت پروتئین را نیز کاهش می‌دهد و نقش مهمی در کنترل تودهٔ قلب دارد (۱۱).

هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب عملکردهای آن را بدون کاهش یا مرگ سلولی حفظ یا تقویت می‌کند. به‌عنوان یک شکل منحصربه‌فرد از فشار فیزیولوژیایی، تمرین‌های منظم ورزشی می‌تواند به سازگاری عضلهٔ قلبی و در نهایت هایپرتروفی فیزیولوژیایی منجر شود. در نارسایی‌های قلبی، اختلال عملکرد قلبی سبب کاهش بازسازی سلول‌های قلبی می‌شود. فعالیت‌های ورزشی اهداف درمانی جدیدی ایجاد می‌کنند، که برای طراحی راهبردهای درمانی مؤثر و مفید خواهد بود. فعالیت‌های ورزشی مانند تمرین‌های استقامتی تأثیر محافظتی بر قلب دارد و حتی می‌تواند تا حدی آسیب قلبی را جبران کند و عملکرد قلب را بهبود بخشد (۱۲). در پژوهشی اورهان و همکاران (۲۰۲۱) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر محتوای پروتئین‌های MuRF1 و MAFbx در عضلهٔ اسکلتی رت‌ها پرداختند. برنامهٔ تمرینی رت‌ها دویدن بر روی نوار گردان و شامل ۲۵ متر بر دقیقه، ۴۵ دقیقه در روز و پنج روز در هفته به مدت هشت هفته بود. محتوای پروتئین‌های MuRF1 و MAFbx در عضلهٔ اسکلتی به‌دنبال تمرین استقامتی نسبت به گروه بی‌تحرک کاهش معناداری را نشان داد (۱۳). در پژوهشی دیگر رضایی‌پور و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین‌های استقامتی و مقاومتی و همچنین یک دورهٔ بی‌تمرینی بر بیان ژن‌های MuRF1 و MAFbx عضلهٔ اسکلتی نعلی رت‌های فعال پرداختند. بیان ژن‌های MuRF1 و MAFbx در

---

1. Hyperglycemia
2. Atrophy
3. Ubiquitin Proteasome System
4. Muscle Atrophy F-box (MAFbx)
5. Muscle RING-Finger Protein 1(MuRF)

عضلهٔ اسکلتی نعلی کاهش یافته بود. این پژوهشگران بیان کردند که به‌نظر می‌رسد تمرین مقاومتی با کاهش بیان ژن‌های MuRF1 و MAFbxاز کاهش حجم عضلانی جلوگیری کرده است و احتمالاً تمرین مقاومتی راه‌حل مناسبی برای کاهش حجم عضلانی ناشی از بی‌تحرکی عضلانی است (۱۴)).

درک بهتر سازوکارهای سلولی-مولکولی در عضلهٔ قلبی در پاسخ به تمرین‌های ورزشی به‌ویژه تمرین‌های استقامتی، برای ارتقای سلامت آزمودنی‌های دیابتی بسیار مهم است. بیشتر پژوهش‌ها به بررسی تأثیر تمرین‌های ورزشی بر پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در عضلات اسکلتی پرداخته‌اند که می‌توان گفت بیشتر پژوهش‌ها بر روی افراد یا رت‌های سالم بوده است و کمتر پژوهشی مشاهده شد که نقش تمرین ورزشی را روی آزمودنی‌های دیابتی بررسی کرده باشد. همچنین در تحقیق حاضر آزمودنی‌های جوان انتخاب شدند، زیرا بسیار مشاهده شده است که آزمودنی‌های جوان به علت بیماری مختلف مانند دیابت نوع ۲ بیشتر کارایی قلبی برای پمپاژ خون را از دست می‌دهند و برای انجام بیشتر فعالیت‌های ورزشی در سنین پایین مشکل دارند. از آنجا که در پژوهش حاضر بطن چپ بررسی شده است، پژوهشگران تحقیق حاضر تمرین استقامتی را بر روی مدنظر قرار دادند تا علاوه‌بر تأثیرهای فیزیولوژیایی مانند کنترل وزن و قند خون، محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در آزمودنی‌های دیابتی که مستعد بیماری کاردیومیوپاتی دیابتی هستند، نیز بررسی شود. بنابراین پژوهشگران حاضر به‌دنبال این پاسخ می‌باشند که تمرین استقامتی می‌تواند محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های درگیر در مسیر یوبی‌کوئیتین-پروتئازوم (MAFbx و MuRF1) در بافت بطن چپ قلب رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ را تنظیم بهینه کند؟

روش‌شناسی پژوهش

نمونه و نوع پژوهش

پژوهش حاضر تجربی-بنیادی است که در آن ۱۸ سر رت نر دوماههٔ نژاد اسپراگ‌داولی شرکت داشتند. رت‌ها از دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و با چرخهٔ تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ و دمای هوای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد با رطوبت ۴۰-۵۰ درصد در آزمایشگاه مخصوص حیوانات نگه‌داری شدند. غذای حیوانات در قالب پلت و آب در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری به‌صورت آزادانه و استاندارد در اختیار رت‌ها قرار داده شد. رت‌ها به مدت چهار هفته تحت غذای کنترل‌شدهٔ پرچرب در قالب پلت، ترکیبی از پودر غذای استاندارد رت (۳۶۵ گرم/کیلوگرم)، چربی گوسفندی (۳۱۰ گرم/کیلوگرم)، مخلوط ویتامین‌ها و مواد معدنی (۶۰ گرم/کیلوگرم)، DL میتونین (سه گرم/کیلوگرم)، پودر مخمر (۱ گرم/کیلوگرم) و کلریدسدیم (یک گرم/کیلوگرم) قرار گرفتند تا به میانگین وزن ۲۰±۲۷۰ گرم رسیدند (۱۵).

روش القای دیابت

پس از به وزن رسیدن رت‌ها، ۱۲ سر رت به‌صورت تصادفی انتخاب و برای ایجاد دیابت نوع ۲، در مرحلهٔ اول محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق شد. سپس ۱۵ دقیقه بعد محلول استرپتوزوتوسین (STZ)[1]به‌صورت حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH=۴/۵ و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به درون صفاق رت‌ها تزریق شد (۱۶). قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با استفاده از دستگاه تست قند خون شرکت اکیوچک ساخت آمریکا و نمونهٔ خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی به‌منظور اطمینان از دیابتی شدن بررسی و اندازه‌گیری شد؛ قند خون بین ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۲۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع دو در نظر گرفته شد (۱۷). پس از القای دیابت رت‌ها به‌صورت تصادفی به دو گروه تمرین دیابتی (شش سر) و کنترل دیابتی (شش سر) تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل سالم (شش سر) نیز در نظر گرفته شد.

برنامهٔ تمرینی

پیش از شروع برنامهٔ تمرین اصلی استقامتی، آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت بر روی گروه پایلوت که حدود یک هفته جلوتر از گروه

[1]. Streptozotocin

تمرین اصلی بودند، به‌منظور تنظیم و کنترل سرعت رت‌های گروه تمرین اصلی انجام می‌گرفت. این رت‌های گروه پایلوت با سرعت پنج متر بر دقیقه شروع به دویدن می‌کردند و هر سه دقیقه سرعت نوار گردان پنج متر بر دقیقه افزایش می‌یافت تا رت‌ها به خستگی برسند. معیار خستگی رت‌ها چسبیدن به انتهای تردمیل بود. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی می‌رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته می‌شد (۱۸).

رت‌های گروه تمرین در شروع هر جلسه به مدت شش دقیقه (با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه) گرم کردند. سپس برنامه تمرینی اصلی شامل ۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت (با سرعتی حدود ۱۵ تا ۲۴ متر بر دقیقه) انجام گرفت. در پایان هر جلسه نیز رت‌ها به مدت شش دقیقه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد کردند. تمرینی استقامتی به مدت هشت هفته و هر هفته چهار جلسه انجام شد. شیب نوار گردان صفر درجه بود (جدول ۱) (۱۹).

جدول ۱. برنامه تمرین استقامتی

مراحل تمرین	گرم کردن	بدنهٔ اصلی تمرین	سرد کردن
مؤلفهٔ تمرین			
زمان تمرین (دقیقه)	۶ دقیقه	۳۲ دقیقه	۶ دقیقه
درصد سرعت دویدن بر اساس حداکثر سرعت	۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت	۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت	۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت
سرعت دویدن (متر بر دقیقه)	۱۰ تا ۱۲	۱۵ تا ۲۰	۱۰ تا ۱۲
شیب نوار گردان (درجه)	صفر	صفر	صفر

روش بافت‌برداری

پس از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از ۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کتامین و سه تا پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن زایلازین، بی‌هوش شدند. پس از آن بافت بطن چپ جدا و در سرم فیزیولوژیک به‌منظور برطرف کردن آلودگی‌های خونی و بافتی تمیز و درون میکروتیوب‌ها قرار داده شدند. سپس با استفاده از مایع ازت برای سنجش‌های بعدی با دمای منفی ۸۰ منجمد شدند.

روش‌های آزمایشگاهی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا مخلوط بافت بطن چپ در لیزکنندهٔ RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (سیگما) تهیه شد. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ (مدل اپندروف 5415 R) در دمای چهار درجهٔ سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. از طریق روش بردفورد غلظت پروتئین تعیین شد. از BSA به‌عنوان پروتئین استاندارد برای اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. نمونه‌های پروتئینی تهیه‌شده قبل از ریخته شدن در چاهک هم‌غلظت شده و با بافر نمونه مخلوط و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد جوشانده شدند. سپس ژل SDS page از پلیمرآکریل آمید ساخته و بیس آکریل‌آمید این پلیمر به‌صورت عرضی به‌هم مرتبط شد. مواد لازم برای تهیهٔ محلول‌های استوک اکریل آمید، بافر ژل پایین، بافر ژل بالا و بافر ژل تانک الکتروفوز انجام شد. سپس الکتروفوز بر ژل SDS page انجام گرفت. پس از اتمام الکتروفوز ژل به‌آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار داده شد. سپس کاغذ PVDF به اندازهٔ ژل بریده و برای فعال شدن به مدت ۱ دقیقه در متانول شیک و با آب مقطر شسته شد و درون بافر انتقال قرار گرفت. انتقال پروتئین از ژل به کاغذ در دستگاه وسترن‌بلات صورت گرفت. در مرحلهٔ بلاکینگ، محلول بلاکینگ به‌منظور پوشاندن کاغذ برای جلوگیری از واکنش غیراختصاصی آنتی‌بادی اولیه به‌کار رفت. برای ساختن این محلول ۲ درصد شیر خشک بدون چربی در بافر TBS–T اضافه شد. پس از اتمام انتقال پروتئین‌ها بر سطح کاغذ PVDF کاغذ به مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق با محلول بلاکینگ شیک می‌شود. سپس مرحلهٔ

انکوبه کردن با آنتی‌بادی اولیه انجام شد. پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای که با محلول بلاکینگ به مقدار معین آنتی‌بادی اولیه مخلوط و رقیق‌شده است، به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه شد. بعد از آن مرحلهٔ انکوبه کردن با آنتی‌بادی ثانویه صورت گرفت. پس از اتمام مرحلهٔ قبل کاغذ ۳ بار و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه با بافر TBS-T شست‌وشو داده شد. سپس کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه آنتی–خرگوش با غلظت (1:1000) برای تمام آنتی‌بادی‌های اولیه به مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد. در پایان این مرحله نیز کاغذ سه بار و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه با بافر TBS-T شست‌وشو داده شد. سپس دقیق‌ترین و حساس‌ترین تکنیک‌های آشکارسازی باند پروتئینی موردنظر انجام گرفت. برای مشاهدهٔ باند پروتئینی موردنظر فیلم عکاسی را بر کاغذ دارای پوشش نایلونی گذاشته و در کاست بسته شد. پس از خارج کردن فیلم از کاست، ابتدا در تشتک حاوی محلول ظهور به مدت ۲۰ ثانیه قرار داده شد تا باندها ظاهر شوند. سپس در تشتک آب فیلم را به مدت ۲۰ ثانیه شسته و بعد از آن به مدت ۲۰ ثانیه در محلول ثبوت تکان داده شد. سپس مجدداً فیلم با آب جاری شسته شده و با گیره آویزان شد تا خشک شود. پروتئین‌ها با واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و با تجزیه‌وتحلیل چگالی‌سنجی با نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد (۲۰).

تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف[1] بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، داده‌های متغیرهای تحقیق حاضر از طریق آزمون‌های آماری آنوای یکراهه و تعقیبی توکی تجزیه‌وتحلیل شدند. بررسی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت. سطح معناداری پژوهش حاضر، P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شده است. نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۹ طراحی شد.

یافته‌های پژوهش

نتایج آماری آنوای یکطرفهٔ وزن (گرم) و قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در جدول ۲ گزارش شده است. تفاوت‌های معنادار در میزان وزن و قند خون در هفته‌های اول و هشتم در بین گروه تمرین دیابتی، کنترل دیابتی و کنترل سالم مشاهده شد (P≤۰/۰۵) (جدول ۲). آزمون تعقیبی توکی در هفتهٔ اول در میزان وزن (گرم) تفاوت معناداری را بین گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم نشان داد (P=۰/۰۰۳). میزان تفاوت معنادار وزن (گرم) در هفتهٔ هشتم بین جفت‌گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (۱۳/۱۱ درصد کاهش) (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم بود (P=۰/۰۰۰۱).

آزمون تعقیبی توکی در هفته اول در میزان قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) تفاوت معناداری را بین گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم (P=۰/۰۰۰۱) نشان داد. میزان تفاوت معنادار قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در هفتهٔ هشتم در بین جفت‌گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به گروه‌های کنترل دیابتی (۳۹/۱۰ درصد کاهش) (P=۰/۰۰۰۱) و کنترل سالم (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین بین گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم بود (P=۰/۰۰۰۱).

جدول ۲. نتایج آزمون آماری آنوای یکطرفهٔ میزان وزن (گرم) و قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در بین گروه‌های پژوهش

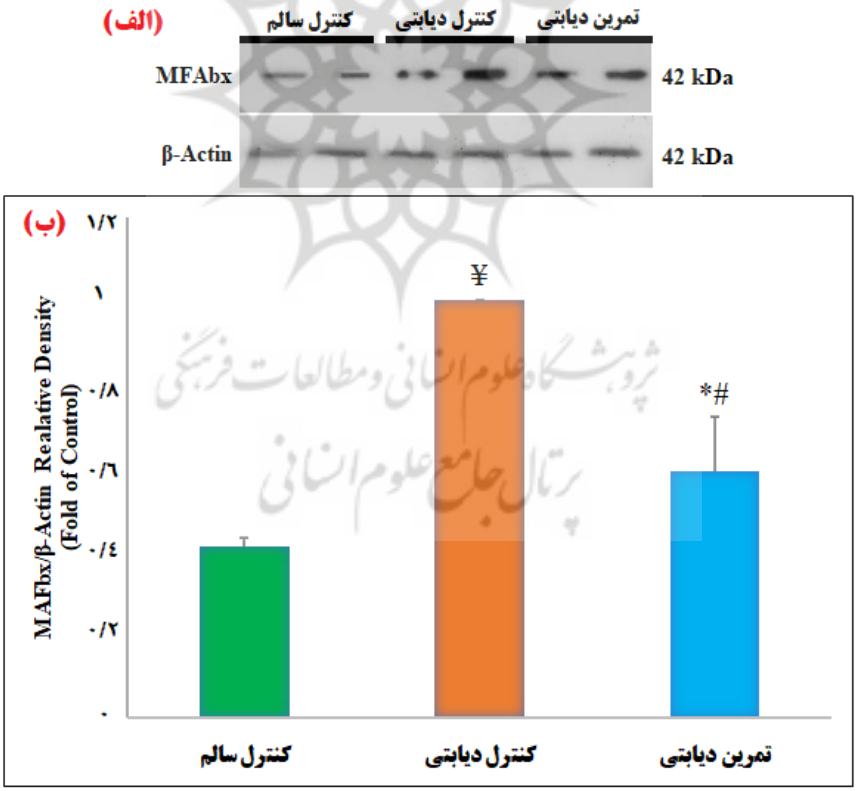
متغیر	گروه‌ها	میانگین	انحراف استاندارد	F	معناداری
وزن هفتهٔ اول (گرم)	کنترل دیابتی	۲۸۴/۰۰	۴/۶۲	۸/۲۱	۰/۰۰۴
	تمرین دیابتی	۲۸۸/۰۸	۳/۵۹		
	کنترل سالم	۲۷۹/۶۷	۲/۱۶		
وزن هفتهٔ هشتم (گرم)	کنترل دیابتی	۳۴۵/۷۵	۳/۹۰	۳۸۷/۴۵	۰/۰۰۰۱
	تمرین دیابتی	۳۰۰/۴۲	۲/۸۱		
	کنترل سالم	۳۰۰/۳۳	۲/۹۴		

[1]. Kolmogorov–Smirnov test (KS)

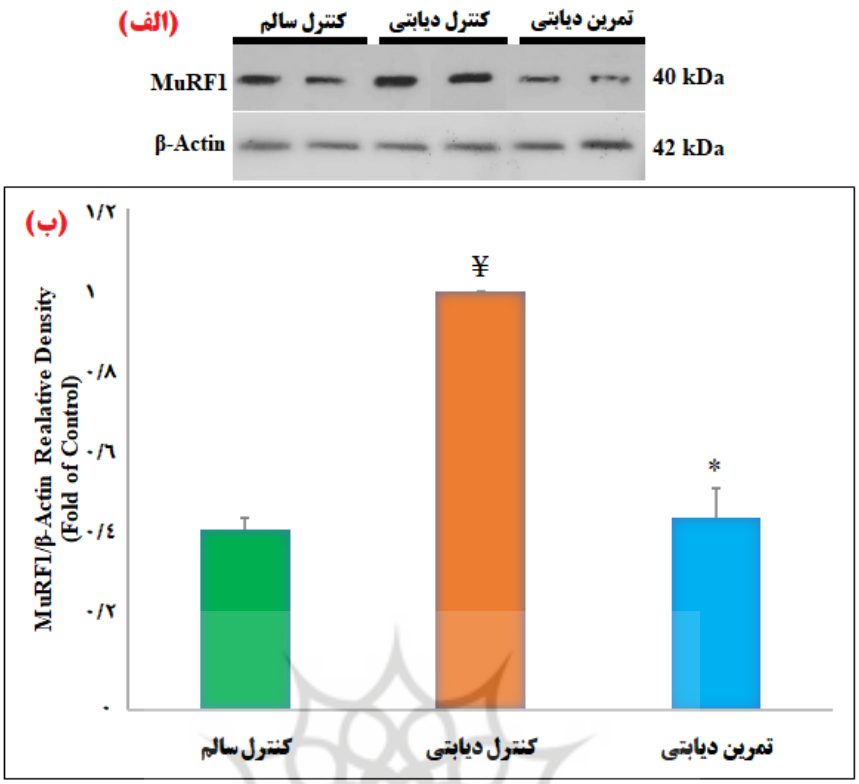
قند خون هفتهٔ اول (mg/dl)	کنترل دیابتی	۲۴۶/۳۳	۶/۸۰	۱۲۴۲/۰۰	۰/۰۰۰۱
	تمرین دیابتی	۲۵۱/۰۰	۸/۸۵		
	کنترل سالم	۸۲/۰۰	۱/۷۸		
قند خون هفتهٔ هشتم (mg/dl)	کنترل دیابتی	۴۰۵/۳۳	۴/۸۸	۷۱۰۷/۰۰	۰/۰۰۰۱
	تمرین دیابتی	۲۴۶/۸۳	۵/۸۴		
	کنترل سالم	۸۵/۶۰	۲/۵۸		

بررسی داده‌ها بر اساس آزمون آماری آنوای-یکطرفه نشان داد، محتوای درون‌سلولی پروتئین MAFbx به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، بین گروه‌های پژوهش در بافت بطن چپ عضلهٔ قلبی تغییر معناداری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۱، الف و ب). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنادار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (۴۱ درصد کاهش) (P=۰/۰۰۰۱)، بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم (P=۰/۰۰۴) و همچنین جفت گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم است (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۱، الف و ب).

همچنین محتوای درون‌سلولی پروتئین MuRF1 به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، بین گروه‌های پژوهش در بافت بطن چپ عضلهٔ قلبی تغییر معناداری را نشان داد (P=۰/۰۰۰۱) (شکل ۲، الف و ب). آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تغییر معنادار بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل دیابتی (۵۴ درصد کاهش) (P=۰/۰۰۰۱) و همچنین بین جفت گروه‌های کنترل دیابتی نسبت به کنترل سالم (P=۰/۰۰۰۱) است. بین جفت گروه‌های تمرین دیابتی نسبت به کنترل سالم تغییر معناداری مشاهده نشد (P=۰/۶۳) (شکل ۲، الف و ب).



شکل ۱. مقایسه محتوای پروتئین MAFbx در گروه‌های مورد بررسی
الف) تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین MAFbx و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی
ب) نمودار ستونی نشان‌دهندهٔ مقادیر کمی‌شدهٔ باندهای محتوای پروتئین MAFbx در مقابل کنترل داخلی
(* اختلاف معناداری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی) ؛ (# اختلاف معناداری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم)؛
(¥ اختلاف معناداری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم)



شکل ۲. مقایسهٔ محتوای پروتئین MuRF1 در گروه‌های مورد بررسی

الف) تصاویر وسترن بلات محتوای پروتئین MuRF1 و بتا-اکتین (β-Actin) به‌عنوان کنترل داخلی در بافت قلبی

ب) نمودار ستونی نشان‌دهندهٔ مقادیر کمی‌شدهٔ باندهای محتوای پروتئین MuRF1 در مقابل کنترل داخلی

(* اختلاف معناداری بین گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی) ؛ (¥ اختلاف معناداری بین گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد محتوای پروتئین MAFbx به دنبال هشت هفته تمرین استقامتی، کاهش معناداری می‌یابد؛ در همین زمینه محتوای پروتئین MuRF1 نیز کاهش معناداری یافت.

پژوهش‌ها نشان داده است که تمرین‌های با شدت، مدت و نوع مناسب، می‌تواند خطر ابتلا به بیماری قلبی و عروقی را کاهش دهد و از این بیماری‌ها جلوگیری کند. فعالیت‌های ورزشی هوازی مانند استقامتی و تناوبی با تغییر ساختار قلب می‌تواند سبب بهبود عملکرد قلب شده و حجیم‌شدگی (هایپرتروفی) فیزیولوژیایی به وجود آورد (۲۱). حجیم‌شدگی فیزیولوژیایی به تغییر در ساختار سلول‌های قلبی، تغییر پروتئین‌های مرتبط با حجیم‌شدگی قلب در خصوص سنتز پروتئین، افزایش و بهبود سوخت‌وساز و تنظیم عملکرد سلول‌های قلبی می‌انجامد. به هر حال تجدید در ساختار قلب مستلزم بیان بسیاری از ژن‌های است که در ساختار قلب دخالت دارند (۱۲). در پژوهشی افشار و همکاران (۲۰۲۱) بیان ژن پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در رت‌ها را به دنبال انجام تمرین استقامتی بررسی کردند. برنامه تمرین استقامتی شامل شش هفته، پنج روز در هفته، ۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه، ۱۰ تا ۴۰ دقیقه در روز دویدن روی نوار گردان بود. بیان ژن پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در بافت قلب سنجیده شد و کاهش معناداری را نشان داد. این پژوهشگران بیان کردند تمرین هوازی با بهبود در شاخص‌های مؤثر بر اندازه عضلهٔ قلب، سبب بهبود ساختار قلب می‌شود و احتمالاً عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد (۲۲). در پژوهشی دیگر قرخانلو و همکاران (۲۰۲۱) بیان ژن‌های MuRF-1 و MAFbx را به‌دنبال شش هفته تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بررسی کردند. تمرین استقامتی با شدتی حدود ۶۰-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی انجام گرفت. تمرین مقاومتی به‌صورت صعود همراه با وزنه از نردبان یک متری انجام شد. تمرین ترکیبی نیز تلفیقی از تمرین مقاومتی و استقامتی بود. نتایج نشان داد که

تمرین مقاومتی، استقامتی و ترکیبی بیان ژن‌های MuRF-1 و MAFbx کاهش می‌یابد (۲۳). نتایج پژوهش‌های افشار و همکاران (۲۰۲۱) و همچنین قرخانلو و همکاران (۲۰۲۱) با نتایج پژوهش حاضر در یک راستاست؛ زیرا در هر سه پژوهش محتوای پروتئین‌های MuRF-1و MAFbx به‌دنبال انجام تمرین‌های استقامتی کاهش یافت. این مطلب نشان می‌دهد که انجام تمرین‌های استقامتی می‌تواند عامل بازدارندهٔ کاهش سلول‌های عضلانی در قلب باشد. در پژوهش حاضر محتوای درون‌سلولی پروتئین‌های MuRF-1 و MAFbxبه‌دنبال انجام تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش یافت و میزان آن را تا حدود آزمودنی‌های گروه سالم پایین آورد. این موضوع نشان می‌دهد که در افراد سالم محتوای این پروتئین‌ها و فعالیت مسیر مرتبط با آن یعنی مسیر یوبی‌کوئیتین نسبت به افراد دیابتی کمتر است. همچنین شرایط تمرین استقامتی را باید مدنظر قرار داد. در پژوهش حاضر مدت زمان تمرین هشت هفته و تعداد جلسات چهار روز در هفته بود؛ از طرفی شدت تمرین حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت بود. می‌توان گفت در پژوهش افشار و همکاران و قرخانلو و همکاران مدت و شدت تمرین در حدود پژوهش حاضر بوده است.

عوامل بسیاری به تنظیمات سلولی در شرایط فیزیولوژیایی گوناگون منجر می‌شود. یکی از عوامل بسیار مهم در پژوهش حاضر دیابتی بودن آزمودنی است که می‌تواند در سازوکار عملکرد این پروتئین‌های درگیر در مسیر یوبی‌کوئیتین تأثیرگذار باشد. نتایج دیگر پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فعالیت‌های ورزشی می‌تواند مانع بیان MAFbx و MuRF1 شود و در نتیجه به بازگرداندن تعادل سوخت‌وساز در دیابت نوع ۲ کمک کند (۹). بیماری دیابت نوع ۲ می‌تواند با ایجاد شرایط مختلفی مانند مقاومت به انسولین، التهاب، افزایش استرس اکسیداتیو، گلوکوکورتیکوئیدها، سایتوکاین‌ها و اختلال در تنظیم گلوکز مسیر یوبی‌کوئیتین و آبشار مربوط به پروتئین‌های MuRF-1 و MAFbxرا دچار اختلال کند. برای مثال اختلال در گلوکز مرتبط با دیابت نوع ۲ می‌تواند تخریب پروتئین لیگاز یوبیکوئیتین E3 حاوی دامنهٔ ۱۵[1]را از طریق مسیر پروتئازوم تحریک کند. کاهش WWP1 از تخریب وابسته به یوبیکوئیتین فاکتور شبه‌کروپل ۱۵[2]جلوگیری و سپس بیان KLF15 را تنظیم می‌کند. این امر بیان ژن‌های مرتبط با کاهش حجم عضلانی را افزایش می‌دهد و در نتیجه تودهٔ عضلانی از بین می‌رود و می‌تواند در قلب ایجاد اختلال کند (۲۴، ۲۵). شایان ذکر است که باید بسیاری از شرایط فیزیولوژیایی مانند شدت بیماری، سن، وجود بیماری دیگر و دیگر عوامل بررسی و بعد برنامه‌های تمرینی تجویز شود. تعدادی از پژوهش‌ها تلاش کرده‌اند که «دوز» آستانه‌ای را تعریف کنند که در آن این مزایا به حداکثر برسد و بیان کرده‌اند که مقدار بهینه و مناسب ایده‌آل تمرین‌های ورزشی برای حداکثر سود سه تا پنج برابر حداقل توصیه فعلی باشد (۲۶، ۲۷).

در زمینهٔ تأثیرگذاری بیماری دیابت و تأثیر تمرین‌های ورزشی پژوهش‌ها کاهش بیان ژن و پروتئین MAFbx را در انسان و حیوان‌ها گزارش کرده‌اند. در این خصوص در پژوهشی اسماعیلی و همکاران (۲۰۲۰) بیان ژن پروتئین MAFbx را در بافت قلب رت‌های دیابتی به دنبال هشت هفته تمرین هوازی به‌صورت دویدن بر روی نوار گردان بررسی کردند. بیان ژن پروتئین MAFbx در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش و نسبت به گروه کنترل سالم، افزایش نشان داد (۹). نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش اسماعیلی و همکاران همسوست. در هر دو پژوهش شاهد کاهش میزان پروتئین MAFbx در آزمودنی‌های دیابتی بودیم. با توجه به اینکه نوع و مدت زمان تمرین ورزشی استقامتی و همچنین مکان اندازه‌گیری و نوع آزمودنی‌ها در هر دو پژوهش یکی بوده است، اما روش اندازه‌گیری متفاوت است. در پژوهش حاضر روش آزمایشگاهی انجام‌گرفته از نوع وسترن بلات بود که محتوای درون‌سلولی پروتئین MAFbx را می‌سنجد و این در حالی است که در پژوهش اسماعیلی و همکاران از روش آزمایشگاهی Real-Time-PCR استفاده شده است (۹). این روش میزان بیان و ترشح پروتئین را می‌سنجد. با وجود این تمرین استقامتی توانست میزان پروتئین MAFbx را کاهش دهد، این مسئله نشان می‌دهد این نوع تمرین ورزشی می‌تواند از کاهش حجم سلول‌های قلبی در آزمودنی‌های دیابتی که مستعد کاهش سلول‌های قلبی سالم هستند، جلوگیری کند (۲۸).

یکی از عوامل سلولی بسیار مهم گلوکوکورتیکوئیدها هستند که یک هورمون هیپوگلیسمی است و سبب افزایش گلوکونئوژنز و تجزیه گلیکوژن می‌شود؛ در نتیجه با عملکرد انسولین مقابله می‌کند و سطوح گلوکز خون را افزایش می‌دهد (۲۹). هنگامی‌که گلوکوکورتیکوئیدها به

---

[1]. Domain-Containing E3 Ubiquitin Protein Ligase 1 (WWP1)
[2]. Kruppel Like Factor 15 (KLF15)

گیرندهٔ گلوکوکورتیکوئید متصل می‌شود، سیگنال‌های عوامل رشدی مانند انسولین و IGF-1 را مهار و سپس مقاومت به انسولین را القا می‌کند (۳۰). از طرف دیگر گلوکوکورتیکوئیدها تولید میوستاتین را افزایش می‌دهند که سنتز پروتئین را از طریق مسیر AKT-mTOR کاهش می‌دهد (۳۱). گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید همچنین بیان REDD1 و KLF15 را تنظیم می‌کند و می‌تواند کاتابولیسم عضلانی را با تنظیم MAFbx و MuRF1 تنظیم کند (۳۲). همچنین سایتوکاین‌ها که به‌طور فزاینده‌ای در بیماری‌های قلبی بیان می‌شود، سبب تخریب تروپونین I از طریق مسیر وابسته به MAFbx/MuRF-1 می‌شود. این با اختلال در انقباض همراه است و ممکن است از سازوکارهای دخیل در فرایند بازسازی نامطلوب در نارسایی مزمن قلبی باشد (۳۳).

در مقایسه با دیگر روش‌های تمرینی با تمرین‌های استقامتی نتایج همسویی به دست آمده است. در این زمینه در پژوهشی خرم‌شاهی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که تمرین HIIT به‌دلیل بهبود سطوح قند خون، می‌تواند بیان پروتئین MAFbx را تغییر دهد و کاهش حجم عضلانی را که از عوارض بیماری دیابت است، کاهش دهد (۲۸). در پژوهشی دیگر پناهی و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که انجام تمرین مقاومتی به‌صورت کوتاه‌مدت بیان پروتئین MuRF1 را کاهش می‌دهد و می‌تواند روند کاهش حجم عضلانی ناشی از دیابت را در رت‌های دیابتی معکوس کند. این پژوهشگران بیان کردند که تمرین کوتاه‌مدت مقاومتی می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان کاهش حجم عضلانی در شرایط بیمارگونهٔ دیگر که ویژگی‌های کاتابولیکی مشترکی با دیابت دارند نیز باشد که البته نیازمند مطالعات و بررسی‌های بیشتری است (۳۴)). نتایج پژوهش‌های خرم‌شاهی و همکاران و پناهی و همکاران با نتایج پژوهش حاضر همسوست. در هر سه پژوهش شاهد کاهش میزان این پروتئین‌ها چه در قلب و چه در عضلهٔ اسکلتی بودیم. نتایج این پژوهش‌ها می‌تواند از این تئوری که تمرین‌های ورزشی می‌تواند راهکار درمانی مؤثری برای آزمودنی‌های دیابتی باشد حمایت کند.

در زمینهٔ سازوکارهای سلولی مرتبط با پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 می‌توان گفت که محرک‌ها و عواملی که سبب کاهش میزان ترشح انسولین می‌شوند یا به مقاومت به انسولین و کاهش حساسیت منجر می‌شوند می‌توانند در این مسیر اختلال ایجاد کنند. همچنین عوامل دیگر مانند حالت اسیدوز، عدم تحرک و افزایش پروتئین‌های مانند میوستاتین می‌تواند تأثیرگذار باشد. عدم تعادل در این محرک‌های کاتابولیکی همه می‌توانند پروتئین‌های خانوادهٔ FOXO از عوامل رونویسی را فعال کنند، که واسطهٔ رونویسی بسیاری از آتروژن‌ها، از جمله پروتئین‌های MAFbx وMuRF1 و بسیاری از ژن‌ها برای اتوفاژی هستند (۳۵). باوجود اهمیت آن در تنظیم پروتئین‌های MAFbx وMuRF1 در شرایط کاتابولیک (از جمله میوسیت‌های قلبی محروم از عوامل رشد)، نشان داده شد که محتوای پروتئین FOXO3 هنگام هایپرتروفی قلبی همزمان با محتوای پروتئین MAFbx تغییری نمی‌کند (۳۶).

باید خاطرنشان کرد که اندازه‌گیری پروتئین‌های MAFbx وMuRF1 به‌تنهایی نمی‌تواند شواهد محکمی برای کاهش حجم و اختلال قلبی به‌خصوص در بطن چپ باشد. همان‌طور که در بحث بالا مکانیسم‌های سلولی مرتبط با پروتئین‌های MAFbx وMuRF1 آورده شد، پروتئین‌ها و مسیرهای سلولی دیگری مانند عوامل رشدی (انسولین و IGF-I)، میوستاتین، پروتئین‌های خانوادهٔ FOXO (FOXO1 و FOXO3a)، مسیر سلولی mTOR و دیگر عوامل مهم نیز تأثیرگذارند که پژوهشگران در مطالعات آیندهٔ خود علاوه بر متغیرهای تحقیق حاضر می‌توانند این عوامل گزارش شده را نیز مدنظر قرار دهند. همچنین علاوه بر تمرین استقامتی می‌توانند دیگر تمرین‌های ورزشی با شدت و مدت زمان‌های متفاوت را بررسی کنند.

انجام هشت هفته تمرین استقامتی، به کاهش محتوای پروتئین‌های MAFbx و MuRF1 در قلب آزمودنی‌های دیابتی منجر شد؛ با توجه به این موضوع که متغیرهای پژوهش حاضر نقش بسزایی در مسیر یوبی‌کوئیتین–پروتئازوم دارند، کاهش محتوای این پروتئین‌ها از طریق انجام تمرین ورزشی استقامتی می‌تواند فرایند کاهش حجم (کاهش سلول‌های قلبی) و اتوفاژی (مرگ سلول‌های قلبی) کاردیومیوست‌های قلبی را در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ که مستعد نقص‌های قلبی‌اند، مهار کند. بنابراین تمرین استقامتی با تنظیم محتوای درون‌سلولی این پروتئین‌ها می‌تواند در عملکرد و بازده صحیح بطن چپ آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ تأثیرگذار باشد. با وجود این به‌منظور تجویز برنامه‌های استقامتی برای افراد دیابتی باید شرایط بالینی آزمودنی‌ها مانند نوع دیابت، حجم و شدت عوارض بیماری و همچنین شرایط برنامه‌های تمرینی مانند مدت زمان، شدت و دیگر مؤلفه‌ها را بررسی کرد تا بتوان بهترین نتایج را برای این افراد رقم زد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق حاصل رسالهٔ دکتری است که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علی‌آباد کتول به سرانجام رسیده است. همهٔ منابع مالی پژوهش توسط نویسندگان تأمین شده است. از تمامی عزیزانی که در این امر مهم ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

References

1.Ogurtsova K, da Rocha Fernandes J, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. Diabetes research and clinical practice. 2017;128:40-50.doi.org/10.1016/j.diabres.2017.03.024

2.Triposkiadis F, Xanthopoulos A, Bargiota A, Kitai T, Katsiki N, Farmakis D, et al. Diabetes mellitus and heart failure. Journal of clinical medicine. 2021;10(16):3682. doi.org/10.3390/jcm10163682

3.Jia G, DeMarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. Nature Reviews Endocrinology. 2016;12(3):144-53. doi.org/10.1038/nrendo.2015.216

4.Verboven M, Van Ryckeghem L, Belkhouribchia J, Dendale P, Eijnde BO, Hansen D, et al. Effect of exercise intervention on cardiac function in type 2 diabetes mellitus: a systematic review. Sports medicine. 2019;49(2):255-68. doi.org/10.1007/s40279-018-1003-4

5.Delfan M, Bouriaei T. Synergistic Effect of 4 Weeks of Endurance Training With Probiotic Supplementation on the Expression of Atrogin-1 and Murf-1 Genes in the Soleus Muscle of Diabetic Rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism. 2021;21(4):198-209. (in pearsian)

6.Nguyen T, Bowen TS, Augstein A, Schauer A, Gasch A, Linke A, et al. Expression of MuRF1 or MuRF2 is essential for the induction of skeletal muscle atrophy and dysfunction in a murine pulmonary hypertension model. Skeletal Muscle. 2020;10(1):1-10.

7.Paneru B, Ali A, Al-Tobasei R, Kenney B, Salem M. Crosstalk among lncRNAs, microRNAs and mRNAs in the muscle 'degradome'of rainbow trout. Scientific reports. 2018;8(1):1-15. doi.org/10.1038/s41598-018-21441-7

8.Shaalan WM, El-Hameid NAA, El-Serafy SS, Salem M. Expressions and characterization of MuRFs, Atrogin-1, F-box25 genes in tilapia, Oreochromis niloticus, in response to starvation. Fish Physiology and Biochemistry. 2019;45(4):1321-30. doi.org/10.1007/s10695-019-00667-w

9.Esmailee B, Abdi A, Abbassi Daloii A, Farzanegi P. The effect of aerobic exercise along with resveratrol supplementation on AMPK and MAFbx gene expression of myocardial diabetic rats. J Birjand Univ Med Sci. 2020;27(2):150-60. (in pearsian)

10.Mayans O, Labeit S. MuRFs specialized members of the TRIM/RBCC family with roles in the regulation of the trophic state of muscle and its metabolism. TRIM/RBCC Proteins. 2012:119-29. doi.org/10.1007/978-1-4614-5398-7_9

11.Baskin KK, Rodriguez MR, Kansara S, Chen W, Carranza S, Frazier OH, et al. MAFbx/Atrogin-1 is required for atrophic remodeling of the unloaded heart. Journal of molecular and cellular cardiology. 2014;72:168-76. doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.03.006

12.Xiang K, Qin Z, Zhang H, Liu X. Energy metabolism in exercise-induced physiologic cardiac hypertrophy. Frontiers in Pharmacology. 2020;11:1133. doi.org/10.3389/fphar.2020.01133

13.Orhan C, Sahin E, Er B, Tuzcu M, Lopes AP, Sahin N, et al. Effects of Exercise Combined with Undenatured Type II Collagen on Endurance Capacity, Antioxidant Status, Muscle Lipogenic Genes and E3 Ubiquitin Ligases in Rats. Animals. 2021;11(3):851. doi.org/10.3390/ani11030851

14.Rezaeipour S, Kordi MR, Gaeini AA, Gharakhanloo R. An Investigation of the Effect of Upper Limb Resistance Training after Lower Limb Immobilization on FoxO3a, MuRF1 and MAFbx Gene Expressions of Soleus Muscle in Trained Rats. 2020. (in pearsian)

15.Fathi R, Ebrahimi M, Khenar Sanami S. Effects of High Fat Diet and High Intensity Aerobic Training on Interleukin 6 Plasma Levels in Rats. Pathobiology Research. 2015;18(3):109-16. (in pearsian)
16.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. (in pearsian)
17.Ghodratnama A, Sherafati Moghadam M, Shabani M. The effect of endurance and high-intensity interval training on the content of mTOR, CRTC1 and CRTC2 proteins in subcutaneous adipose tissue of type 1 and 2 diabetic rats. Daneshvar Medicine. 2022;30(2):24-36. (in pearsian)
18.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. PMID: 28533932
19.Khanjani H, Esmaelzadeh Toloee M. The effect of six weeks of high-intensity interval training (HIIT) and endurance on blood glucose and Follistatin protein content in the left ventricular tissue of the heart of male rats with type 1 diabetes. Journal of Sport Biosciences. 2021;13(3):351-65. (in pearsian)
20.Kazemi F. Myostatin alters with exercise training in diabetic rats; possible interaction with glycosylated hemoglobin and inflammatory cytokines. Cytokine. 2019;120:99-106. doi.org/10.1016/j.cyto.2019.04.012
21.Xiao J, Chen P, Qu Y, Yu P, Yao J, Wang H, et al. Telocytes in exercise-induced cardiac gr owth. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2016;20(5):973-9. doi.org/10.1111/jcmm.12815
22.Afshar H, Abdi A, Barari A, Azarbayjani M. The Effect of Aerobic Training on Expression of Indices of Myocardial Hypertrophy and Atrophy in Rats. Armaghane Danesh. 2021;26(1):45-58. (in pearsian)
23.Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani MA. Effect of Reduced Physical Activity on Murf-1 and Atrogin-1 Gene Expression in Soleus Muscle of Wistar Rats Following Endurance, Resistance and Combined Training. The Scientific Journal of Rehabilitation Medicine. 2022;11(2):250-63. (in pearsian)
24.Hirata Y, Nomura K, Senga Y, Okada Y, Kobayashi K, Okamoto S, et al. Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1/KLF15 axis. JCI insight. 2019;4(4). doi.org/10.1172/jci.insight.124952
25.Shen Y, Li M, Wang K, Qi G, Liu H, Wang W, et al. Diabetic muscular atrophy: Molecular mechanisms and promising therapies. Frontiers in Endocrinology. 2022;13. doi.org/10.3389/fendo.2022.917113
26.Arem H, Moore SC, Patel A, Hartge P, De Gonzalez AB, Visvanathan K, et al. Leisure time physical activity and mortality: a detailed pooled analysis of the dose-response relationship. JAMA internal medicine. 2015;175(6):959-67. doi:10.1001/jamainternmed.2015.0533
27.Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, Mumford JE, Afshin A, Estep K, et al. Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. bmj. 2016;354. doi.org/10.1136/bmj.i3857
28.Khoramshahi S. Effect of five weeks of high-intensity interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in gastrocnemius muscles of diabetic male rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2017;18(5):361-7. (in pearsian)
29.Martín AI, Priego T, López-Calderón A. Hormones and muscle atrophy. Muscle Atrophy. 2018:207-33. doi.org/10.1007/978-981-13-1435-3_9

30.Beaupere C, Liboz A, Fève B, Blondeau B, Guillemain G. Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced insulin resistance. International journal of molecular sciences. 2021;22(2):623. doi.org/10.3390/ijms22020623
31.Xie Y, Perry BD, Espinoza D, Zhang P, Price SR. Glucocorticoid-induced CREB activation and myostatin expression in C2C12 myotubes involves phosphodiesterase-3/4 signaling. Biochemical and biophysical research communications. 2018;503(3):1409-14. doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.07.056
32.Cid-Díaz T, Leal-López S, Fernández-Barreiro F, González-Sánchez J, Santos-Zas I, Andrade-Bulos LJ, et al. Obestatin signalling counteracts glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy via NEDD4/KLF15 axis. Journal of cachexia, sarcopenia and muscle. 2021;12(2):493-505. doi.org/10.1002/jcsm.12677
33.Adams V, Linke A, Wisloff U, Döring C, Erbs S, Kränkel N, et al. Myocardial expression of Murf-1 and MAFbx after induction of chronic heart failure: effect on myocardial contractility. Cardiovascular research. 2007;73(1):120-9. doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.10.026
34.Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, et al. The effect of 4 weeks resistance training on murf1 gene expression and muscle atrophy in diabetic wistar rats. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2016;38(2):6-13. (in pearsian)
35.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. doi.org/10.1038/s41392-022-00925-z
36.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-κB. Circulation research. 2011;109(2):161-71. doi/full/10.1161/CIRCRESAHA.110.238717

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی