

## تأثیر تمرین استقامتی و تناوبی با شدت بالا بر محتوای پروتئین‌های MSTN و فولیستاتین در بافت بطن چپ قلب موش‌های دیابتی نوع یک و دو

اکبر قدرت‌نما<sup>۱</sup>، مریم شعبانی<sup>۲\*</sup>، محمد شرافتی‌مقدم<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** دیابت از عوامل مهم در نقص‌های قلبی است که می‌تواند منجر به آترومی سلول‌های قلبی شود. فعالیت‌های ورزشی با تنظیم عوامل سلولی می‌تواند از عوارض دیابت جلوگیری کند. بنابراین هدف از انجام تحقیق حاضر، تأثیر تمرین استقامتی و تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های MSTN و فولیستاتین در بافت بطن چپ قلب موش‌های دیابتی نوع یک و دو است.

**روش‌ها:** در این مطالعه، ۳۶ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه نر از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن  $280 \pm 30$  گرم انتخاب شدند. پس از القاء دیابت‌های نوع یک (۱۸ سر) و دو (۱۸ سر) از طریق محلول استرپتوزوتوسین و نیکوتین‌آمید، به روش تصادفی هر نوع دیابت به ۳ گروه، تمرین استقامتی، HIIT و کنترل (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند؛ گروه‌های تمرینی ۴ روز در هفته به مدت ۴ هفته برنامه‌ی تمرینی استقامتی (۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت) و HIIT (شدت ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت) را انجام دادند؛ تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آزمون‌های آماری آنوای یک‌طرفه و تعقیبی توکی در نرم‌افزار SPSS انجام شد.

**یافته‌ها:** تمرین استقامتی و HIIT در گروه‌های تمرینی دیابتی منجر به کاهش معنی‌داری در محتوای پروتئین‌های MSTN ( $P=0/0001$ ) و افزایش محتوای پروتئین فولیستاتین شد ( $P=0/0001$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT با کاهش محتوای MSTN و افزایش فولیستاتین می‌تواند از آترومی بیش از حد میوکارد جلوگیری کند. بنابراین تمرین‌های ورزشی با شدت، مدت و نوع مناسب می‌تواند سازگار دفاعی و درمانی مناسبی برای افراد دیابتی جهت جلوگیری یا کاهش عوارض قلبی باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، تمرین تناوبی با شدت بالا، عضله‌ی قلبی، MSTN، فولیستاتین، دیابت

۱- گروه علوم ورزشی، مؤسسه‌ی آموزش عالی آپادانا، شیراز، ایران

۲- گروه عمومی و پایه، واحد هشتگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، البرز، ایران

\***تشناسی:** البرز، هشتگرد، پایین‌تر از میدان صنعت، خیابان شهید صدوقی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد هشتگرد، تلفن: ۰۹۱۲۵۴۷۶۳۹۷، کد پستی:

۳۳۶۱۶۵۹۹۱۳، پست الکترونیک: maryam.shabani@hiau.ac.ir

## مقدمه

نارسایی‌های قلبی و بیماری‌های مرتبط با آن و همچنین مرگ و میرهای ناشی از افزایش میزان هشداردهنده بیماری‌های قلبی، به دلیل افزایش درصد پیری، چاقی و دیابت است. در افراد مبتلا به دیابت، حضور اختلال عملکرد قلب در غیاب بیماری‌های عروق کرونر بالینی، بیماری‌های دریچه‌ای و دیگر عوامل عوارض قلبی-عروقی مانند فشار خون بالا و دیس لیپیدمی، منجر به توصیف اصطلاح، کاردیومیوپاتی دیابتی<sup>۱</sup> شده است [۱].

کاردیومیوپاتی دیابتی در ابتدا توسط فیروز میوکارد، بازسازی ناکارآمد و اختلال دیاستولیک و سیستولیک و در نهایت با نارسایی قلبی بالینی مشخص می‌شود [۲]. این تغییرات با پاتوفیزیولوژیک فیروز و سفتی قلب و اغلب به نارسایی قلبی مرتبط با کسر تخلیه طبیعی و اختلال عملکرد سیستولیک همراه با نارسایی قلبی با کاهش کسر تخلیه شده تکامل می‌یابد [۳].

هایپرتروفی قلب به‌عنوان رشد میوسیت‌ها در طول و/یا عرض در نظر گرفته شده است، که منجر به افزایش وزن قلب بدون افزایش تعداد کاردیومیوسیت‌ها می‌شود. در ابتدا، چنین رشدی یک پاسخ تطبیقی برای حفظ عملکرد پمپ قلب و کاهش تنش دیواره‌ی بطن است. با این حال، با افزایش هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی، منجر به ایجاد تغییرات ناسازگار در قلب می‌شود؛ این امر باعث افزایش قابل توجهی در خطر نارسایی‌های قلبی و افزایش مرگ و میر قلبی-عروقی می‌شود. پیشرفت‌های عمده‌ای در شناسایی ژن‌ها و مسیرهای سیگنالینگ درگیر در این فرآیند بیماری وجود دارد، اما پیچیدگی کلی بازسازی هایپرتروفی نشان می‌دهد که سازوکارهای نظارتی اضافی باقی می‌ماند [۴].

MSTN (یا میوستاتین)<sup>۲</sup> همچنین به‌عنوان عامل رشد و تمایز ۸ (GDF-8)<sup>۳</sup> شناخته شده است و یکی از اعضای خانواده‌ی بسیار بزرگ فاکتورهای بتا (TGF- $\beta$ )<sup>۴</sup> و از عوامل منفی قوی

جهت تنظیم رشد و عملکرد برای توده‌ی عضلانی است. در چندین گونه از جمله موش‌ها و انسان‌ها نشان داده شده است که حذف مهندسی‌شده‌ی MSTN به‌طور چشمگیری سبب هایپرتروفی عضلانی بیش از حد می‌شود. به‌طور کاربردی، MSTN نه تنها تکثیر و تمایز میوژنز عضلانی را تنظیم می‌کند، بلکه نقش تعیین‌کننده‌ای در تنظیم فرآیندهای متابولیک دارد [۵]. علاوه بر فعالیت‌های بیولوژیکی در تنظیم رشد عضلانی و فرآیندهای متابولیکی، تحت شرایط مختلف پاتولوژیک قلب، MSTN نیز به شدت تنظیم می‌شود، که نشان‌دهنده‌ی نقش خاص و مهم در پاتوفیزیولوژی قلبی است. گزارش شده است که بیان MSTN پس از انفارکتوس قلبی در قلب و عروق افزایش می‌یابد و بر رشد عضلات قلب تأثیرگذار است و این نشان می‌دهد که ممکن است سبب هایپرتروفی قلب شود. با این حال، سازکارهای مولکولی پایه MSTN در تنظیم عضله‌ی قلب هنوز به‌طور کامل درک نشده است [۶].

یکی دیگر از عوامل مرتبط با توده‌ی عضلانی که می‌توان به آن اشاره کرد پروتئین فولیستاتین است. فولیستاتین یک پلی‌پپتید تک‌زنجیره‌ای با عملکردی متنوع و یکی از اعضای خانواده‌ی بزرگ فاکتورهای رشدی بتا، بزرگ‌ترین خانواده ترشح‌کننده فاکتورهای رشد، تمایز و هموستازی بدن است. این خانواده نقش‌های بسیار مهمی را در تنظیم و پیشرفت رشد بافت‌های بدن ایفا می‌کند. از نقش‌های مهم فولیستاتین می‌توان به خنثی‌سازی اعمال پروتئین‌های خانواده انتقال‌دهنده فاکتور رشدی بتا، از جمله میوستاتین، رشد و تمایز بافت‌ها، بازسازی و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده اشاره کرد [۷].

با توجه به نقش مهمی که فولیستاتین و MSTN در عضلات ایفا می‌کنند، تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که با تمرینات مختلف ورزشی می‌توان سبب افزایش فولیستاتین و در نتیجه‌ی آن کاهش MSTN شد. فعالیت‌های ورزشی را می‌توان به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابتی در نظر گرفت [۸]. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که هنگام فعالیت ورزشی، تغییرات ساختاری و عملکردی بطنی نسبت به سایر بخش‌های قلب بیشتر است [۹]. فعالیت ورزشی منظم و فعالیت جسمانی به‌عنوان

<sup>1</sup> Diabetic Cardiomyopathy

<sup>2</sup> Myostatin

<sup>3</sup> Differentiation Factor 8

<sup>4</sup> Transforming Growth Factor  $\beta$

محتوای پروتئین‌های MSTN و فولیستاتین در بافت بطن چپ قلب موش‌های دیابتی نوع یک و دو است.

## روش‌ها

### نمونه و نوع تحقیق

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است که به صورت گروه تجربی و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۳۶ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن  $28.0 \pm 3.0$  گرم انتخاب شدند. موش‌های صحرایی از مرکز نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و در دانشکده‌ی فارماکولوژی دانشگاه شیراز با دمای  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگه‌داری شدند. غذای استاندارد (به صورت پلت) و آب (در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری) مورد نیاز حیوانات به صورت آزادانه در اختیار موش‌های صحرایی قرار داده شد.

### ایجاد دیابت نوع یک

برای ایجاد دیابت نوع یک در موش‌های صحرایی (۱۸ سر)، محلول استرپتوزوتوسین (STZ) (حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با  $\text{pH}=4/5$ ) به صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ از نمونه‌خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها توسط گلوکومتر اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع یک در نظر گرفته شد [۱۶، ۱۷].

### ایجاد دیابت نوع دو

برای ایجاد دیابت نوع دو در موش‌های صحرایی (۱۸ سر)، در مرحله‌ی اول محلول نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید و در مرحله‌ی بعد، بعد از ۱۵

راهبردی مؤثر برای پیشگیری و درمان بیماری چاقی و دیابت در نظر گرفته می‌شود [۱۰].

در این راستا در تحقیقی Lenk و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که در عضله‌ی اسکلتی، میوستاتین (MSTN) در طول دوره‌ی نقص قلبی مزمن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. اما بعد از ۱۲ هفته تمرین ورزشی، سطوح آن در عضله‌ی اسکلتی کاهش قابل توجهی یافته بود و نشان داده شد که این کاهش برگشت‌پذیری و تغییرات مولکولی را می‌تواند بهبود دهد و همچنین ممکن است فرآیند تخریب عضلانی را در نارسایی مزمن قلب متوقف کند [۱۱]. در مقابل در تحقیقی دیگر Esazadeh و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی تأثیر ترتیب تمرینات ترکیبی (گروه هوازی-مقاومتی، مقاومتی-هوازی) بر سطوح سرمی میوستاتین (MSTN) و فولیستاتین در زنان سالمند پرداختند. نتایج نشان داد غلظت میوستاتین و فولیستاتین بین گروه‌ها تفاوت معناداری ندارد [۱۲]. در ارتباط با تحقیقات ورزشی بر روی پروتئین فولیستاتین در تحقیقی Biglari و همکاران (۱۳۹۷) به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی خیلی شدید (HIIT) بر پروتئین فولیستاتین در عضله‌ی دوقلوی موش‌های نر سالم پرداختند، تغییر معناداری در بیان فولیستاتین گروه HIIT در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد [۱۳]. در تحقیقی دیگر Elliott و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تأثیر تمرین HIIT بر روی سطوح سرمی پروتئین فولیستاتین در مردان پرداختند، تفاوت معنی‌داری را بین قبل و بعد از تمرین HIIT مشاهده نکردند [۱۴].

کاردیومیوپاتی دیابتی در هر دو بیماری دیابت نوع یک و دو تأیید شده است. عوارض این بیماری اختلال عملکرد دیاستولیک، فیروز قلبی، التهاب، آپوپتوز، هایپرتروفی، اختلالات در سطح عملکرد رشته‌های عضلانی در قلب است [۱۵]. امروزه نشان داده شده است که تمرین‌های ورزشی به خصوص تمرین استقامتی و HIIT یک راهبرد مفید غیردارویی برای درمان بیماری‌های قلبی و عروقی است، که می‌تواند با تنظیم عوامل مهمی مانند MSTN و فولیستاتین منجر به کاهش عوارض بیماری‌های قلبی شود. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی و تناوبی با شدت بالا بر

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 موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه به مدت ۶ دقیقه سرد کردند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۴ هفته تغییری نداشت [۲۱].

### 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 موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای ترمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۲۲].

### روش بافت برداری

در مدت انجام برنامه‌ی تمرین استقامتی و HIIT، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین 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 بطن چپ قلب از بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- فریزر شد.

### اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا مخلوط بافت بطن چپ قلب در لیزکننده RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد

دقیقه، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>۱</sup> (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 تزریق شد [۱۸]. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر و نمونه‌ی خونی گرفته‌شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد و قند خون از ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۲۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن نوع دو در نظر گرفته شد [۱۹].

### برنامه‌های تمرینی

یک هفته پس از القای دیابت نوع یک و نوع دو بعد از آشنایی‌سازی موش‌های گروه‌های تمرین با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، موش‌های صحرایی هر نوع دیابت به روش تصادفی به ۳ گروه: (۱) گروه تمرین HIIT (۶ سر) (۲) گروه تمرین استقامتی (۶ سر) و (۳) گروه کنترل (۶ سر) تقسیم شدند.

### برنامه‌ی تمرینی استقامتی

گروه تمرینی استقامتی به مدت ۴ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم (به مدت ۶ دقیقه) کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی اصلی شامل ۳۲ دقیقه تمرین استقامتی با شدتی حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه (به مدت ۶ دقیقه) سرد کردند. کل مدت زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۴ هفته تغییری نداشت [۲۰].

### برنامه‌ی تمرینی تناوبی با شدت بالا (HIIT)

گروه تمرینی HIIT به مدت ۴ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. تمرین موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه به مدت ۶ دقیقه گرم کردند. سپس برنامه‌ی

<sup>۱</sup> Streptozotocin

(کاهش) معنی‌داری دارد ( $P=0/0001$ ) (شکل ۱، A1 و B1). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که این تفاوت در محتوای پروتئین MSTN بین جفت گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی ( $P=0/0001$ )، گروه‌های کنترل و تمرین HIIT ( $P=0/0001$ ) و همچنین بین گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین HIIT بوده است ( $P=0/0004$ ).

همچنین در گروه‌های موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو، چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT بر محتوای پروتئین MSTN در بافت بطن چپ قلب تأثیر (کاهش) معنی‌داری را نشان داد ( $P=0/0001$ ) (شکل ۱، A2 و B2). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که این تفاوت در محتوای پروتئین MSTN بین جفت گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی ( $P=0/0001$ )، گروه‌های کنترل و تمرین HIIT ( $P=0/0001$ ) و همچنین بین گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین HIIT بوده است ( $P=0/0001$ ).

نتایج مربوط به تجزیه و تحلیل داده‌های محتوای پروتئین فولیستاتین نشان دادند، که چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT بر محتوای پروتئین فولیستاتین، در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک تأثیر (افزایش) معنی‌داری دارد ( $P=0/0001$ ) (شکل ۲، A1 و B1). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که این تفاوت در محتوای پروتئین فولیستاتین بین جفت گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی ( $P=0/0001$ )، گروه‌های کنترل و تمرین HIIT ( $P=0/0001$ ) و همچنین بین گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین HIIT بوده است ( $P=0/0001$ ).

همچنین در گروه‌های موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو، چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT بر محتوای پروتئین فولیستاتین در بافت بطن چپ قلب تأثیر (افزایش) معنی‌داری را نشان داد ( $P=0/0001$ ) (شکل ۲، A2 و B2). آزمون تعقیبی توکی نشان داد که این تفاوت در محتوای پروتئین فولیستاتین بین جفت گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی ( $P=0/0001$ )، گروه‌های کنترل و تمرین HIIT ( $P=0/0001$ ) و همچنین بین گروه‌های تمرین استقامتی و تمرین HIIT بوده است ( $P=0/0001$ ).

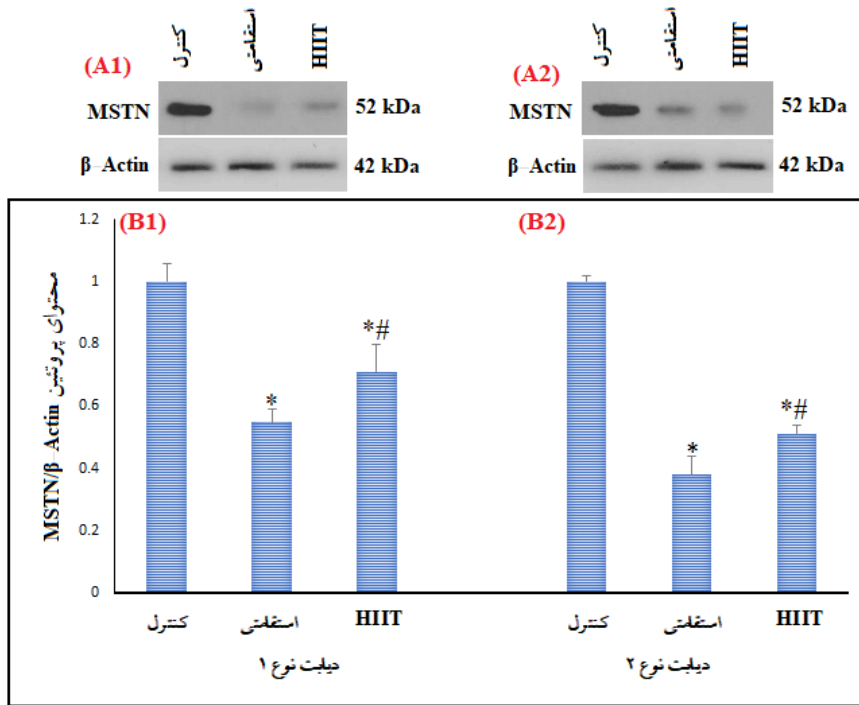
و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با محلول نمونه، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکرلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate; SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا ترانسفر شده (غشاء دی‌فوریید پلی‌وینیلیدین Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane (sigma) و بعد از پوشاندن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه در معرض آنتی‌بادی‌های رقیق‌شده (۱/۵۰۰) در محلول پوشاننده به مدت یک شب در دمای ۴ درجه قرار داده شدند. پس از سه بار شستشو با محلول فسفات نمکی توین‌دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی متصل به HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور گردیدند. ایمون کمپلکس‌های ایجاد شده با روش پرتوژی شیمیایی و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته‌ی باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه‌ی ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل کنترل داخلی (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه از کنترل ارائه شدند [۲۳].

### روش‌های آماری

ابتدا از آزمون کالموگروف-اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های پژوهش استفاده شد. با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک آنوای یک-طرفه و در صورت معنادار بودن از آزمون تعقیبی توکی استفاده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $P \leq 0/05$  در نظر گرفته شده است.

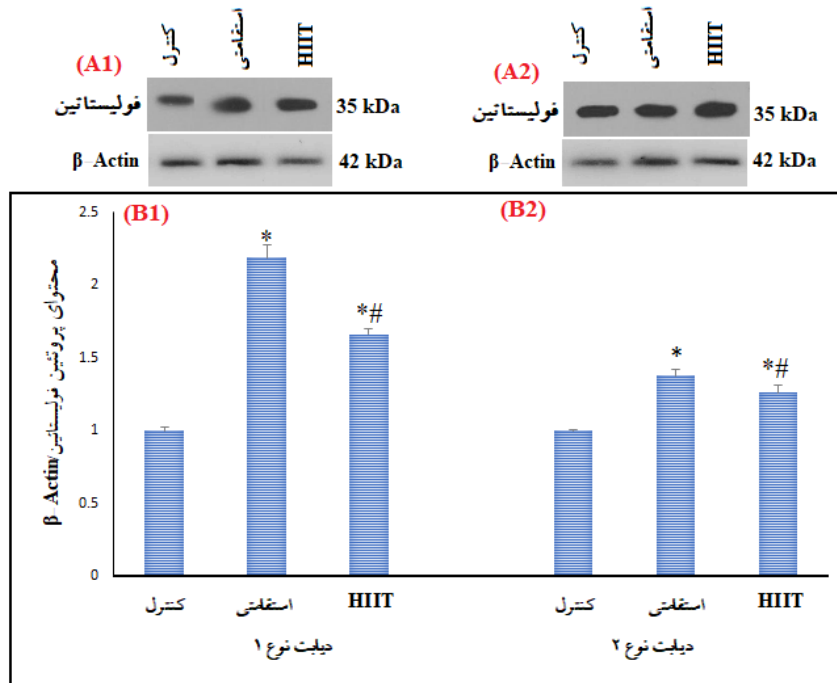
### یافته‌ها

بعد از تجزیه و تحلیل داده‌ها نتایج نشان دادند که چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT بر محتوای پروتئین MSTN، در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک تأثیر



شکل ۱- مقایسه محتوای پروتئین MSTN در گروه‌های مورد مطالعه

(A1,2). تصاویر وسترن بلات پروتئین MSTN و بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت بطن چپ قلب. (B1,2). نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین MSTN در مقابل کنترل داخلی (\* نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل) (# نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین استقامتی)



شکل ۲- مقایسه‌ی محتوای پروتئین فولیستاتین در گروه‌های مورد مطالعه

(A1,2). تصاویر وسترن بلات پروتئین فولیستاتین و بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت بطن چپ قلب. (B1,2). نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین فولیستاتین در مقابل کنترل داخلی (\* نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل) (# نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین استقامتی)

## بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر، پس از تجزیه و تحلیل نتایج نشان داده شد که چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT منجر به کاهش معنی داری پروتئین MSTN، در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک و نوع دو می‌شود. در مقابل چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT منجر به افزایش معنی داری در محتوای پروتئین فولیستاتین، در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع یک و نوع دو شد.

در تحقیقی Kazemi (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین ورزشی استقامتی بر بیان ژن MSTN (میوستاتین) در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک پرداختند. تمرین ورزشی بر روی تردمیل به مدت شش هفته، پنج روز/هفته انجام شد. نتایج نشان داد که تمرین ورزشی هوازی منجر به کاهش معنی داری در بیان ژن MSTN پلاسمایی و اسکلتی در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با موش‌های صحرایی غیردیابتی و دیابتی می‌شود. در نتیجه، این مطالعه نشان داد که تمرینات ورزشی هوازی با کاهش سطح MSTN در پلازما و عضلات اسکلتی در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک می‌تواند از آتروفی عضلانی جلوگیری کند [۲۴]. نتایج تحقیق Kazemi با نتایج تحقیق حاضر در یک راستا است؛ زیرا در هر دو تحقیق ما شاهد کاهش میزان MSTN هستیم. با وجود تفاوت‌هایی مانند نوع اندازه‌گیری سطوح MSTN و نوع بافت، در هر دو تحقیق تمرین استقامتی منجر به کاهش بیان ژن و محتوای MSTN شده است؛ در تحقیق Kazemi بیان ژن MSTN از طریق روش اندازه‌گیری Real-Time-PCR در پلازما و عضله اسکلتی بوده است و این در حالی است که در تحقیق حاضر محتوای پروتئین MSTN از طریق روش وسترن بلات در بافت قلب اندازه‌گیری شده است. با این وجود با کاهش بیان ژن MSTN در تحقیق Kazemi و محتوای پروتئین MSTN در تحقیق حاضر از طریق تمرین‌های ورزشی در آزمودنی‌های دیابتی نوع یک، تمرین ورزشی می‌تواند از آتروفی عضلانی در قلب یا عضله اسکلتی جلوگیری کند. شایان ذکر است که در هر دو تحقیق آزمودنی‌ها دیابتی بودند. در تحقیق Kazemi آزمودنی‌ها

دیابتی نوع یک و در تحقیق حاضر دیابت نوع یک و نوع دو بودند که در هر دو نوع دیابت ما شاهد کاهش سطوح MSTN بودیم.

در راستای تأثیرگذاری انواع تمرین‌های ورزشی مانند استقامتی، مقاومتی و شدت‌های مختلف در کاهش سطوح MSTN در تحقیقی Shanazari و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مقاومتی با شدت‌های متوسط و شدت بالا در غلظت سرمی MSTN در موش صحرایی نر بالغ پرداختند. کاهش معنی داری در MSTN در تمرین مقاومتی و استقامتی با شدت بالا و متوسط مشاهده شد. این محققان بیان کردن بنابراین، به نظر می‌رسد که تمرین مقاومتی، به‌ویژه HRT، برای افزایش واسطه‌های رشد در میان موش‌های مسن تر مؤثر است [۲۵]. نتایج تحقیق Shanazari و همکاران (تمرین استقامتی و مقاومتی با شدت‌های متوسط و شدت بالا) همراه با نتایج تحقیق حاضر (تمرین استقامتی و تمرین تناوبی با شدت بالا) نشان دهنده این مطلب است که سطوح MSTN بسیار به نوع، شدت و مدت تمرین‌های مختلف حساس است و بیشتر به‌صورت کاهشی است. زیرا در هر دو تحقیق انواع مختلف تمرینی همراه با شدت‌ها مختلف منجر به کاهش سطوح MSTN شده است. سازکار اصلی تأثیرگذاری MSTN مسیر میوستاتین-SMAD است که در مهار اندازه‌ی عضلات نقش اساسی دارد. عواملی مانند گلوکوکورتیکوئیدها و بی‌حرکی، معمولاً mRNA میوستاتین را افزایش می‌دهد؛ میوستاتین، رونویسی و ترجمه شده و سپس توسط پروتئاز شکسته می‌شود و به شکل یک دایمر ترشح می‌گردد [۲۶]. میوستاتین تنها زمانی فعال می‌شود که با گیرنده‌ی نوع II TGF $\beta$  متصل شود که گیرنده‌ی نوع I را فسفریله می‌کند و به آن متصل می‌شود و پس از آن Smad2/3 را در انتهای C-فسفریله می‌کند. گیرنده‌های Smad2/3 فسفریله شده و همراه با Smad4 وارد هسته می‌شوند. در آنجا، ژن‌های کنترل‌کننده‌ی توده‌ی عضلانی را تنظیم می‌کنند [۲۷].

در مقابل در تحقیقی Rashidlamir و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین مقاومتی و تمرین هوازی بر بیان ژن پروتئین‌های میوستاتین (MSTN) و فولیستاتین در

می‌شود [۳۰، ۳۱]. بنابراین با توجه به افزایش محتوای پروتئین فولیستاتین در آزمودنی‌های دیابتی به‌دنبال تمرین‌های استقامتی و تناوبی با شدت بالا، این افزایش می‌تواند سازگاری دفاعی از مرگ بیش از حد سلول‌های قلبی در بیماران دیابتی باشد که مستعد آپوپتوز و اتوفازای سلولی قلبی هستند. فولیستاتین با کاهش فعالیت مسیر پیام‌رسانی AKT/mTOR، سبب کاهش فعالیت مسیر پیام‌رسانی smad2/3 می‌شود. همین‌طور باعث خنثی کردن عمل میوستانین و سرکوب التهاب می‌شود که این عمل با آثار میوستانین مقابله می‌کند و نوزایی کاردیومیوست‌ها و در نتیجه عملکرد قلبی را افزایش می‌دهد. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر یعنی کاهش MSTN میوکارد و افزایش فولیستاتین می‌توان نقش متضاد این دو عامل مهم قلبی را بهتر نشان داد [۳۲].

در نهایت نتایج تحقیق حاضر نشان داد که چهار هفته تمرین استقامتی و HIIT منجر به کاهش محتوای MSTN و افزایش فولیستاتین در آزمودنی‌های دیابتی (نوع یک و دو) می‌شود، که این اثرگذاری می‌تواند از آتروفی بیش از حد میوکارد در این افراد جلوگیری کند. بنابراین تمرین‌های ورزشی با شدت، مدت و نوع مناسب تمرین می‌تواند سازگار دفاعی و درمانی مناسبی برای افراد دیابتی جهت جلوگیری یا کاهش عوارض قلبی باشد.

### 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.

عضله‌ی قلب پرداختند. تفاوت معنی‌داری در بیان ژن MSTN مشاهده نشد؛ در مقابل هشت هفته تمرین مقاومتی و هوازی منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین فولیستاتین نسبت به گروه کنترل در عضله‌ی قلب موش صحرایی شد [۲۸]. نتایج تحقیق Rashidlamir و همکاران در بحث اندازه‌گیری سطوح میوستانین (MSTN) با نتایج تحقیق حاضر متناقض است؛ زیرا در تحقیق حاضر به‌دنبال دو نوع تمرین استقامتی و تناوبی با شدت بالا سطوح MSTN کاهش یافت. اما در تحقیق Rashidlamir و همکاران بعد از هشت هفته تمرین مقاومتی و تمرین هوازی سطوح میوستانین (MSTN) تفاوتی را نشان نداد. از عوامل مهم مدت زمان تمرین‌های ورزشی و نوع آزمودنی‌ها می‌تواند باشد. در تحقیق حاضر مدت زمان تمرین‌های ورزشی ۴ هفته و آزمودنی‌ها دیابتی بودند و در تحقیق Rashidlamir و همکاران مدت زمان تمرین‌های ورزشی هشت هفته و آزمودنی‌ها سالم بودند؛ اما در بحث سطوح و محتوای پروتئین فولیستاتین، در هر دو تحقیق ما شاهد افزایش سطوح فولیستاتین هستیم. علاوه بر نتایج تحقیق حاضر و Rashidlamir و همکاران، در تحقیقی دیگر Arabzadeh و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فعالیت ورزشی استقامتی با شدت متوسط بر محتوای پروتئین فولیستاتین در عضله‌ی قلب موش‌های صحرایی دیابتی تأثیرگذار است و منجر به افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین فولیستاتین می‌شود [۲۹]. پروتئین فولیستاتین نیز همانند میوستانین (MSTN) بسیار حساس به تمرین‌های ورزشی است. علاوه بر این نشان داده شده است که پروتئین فولیستاتین در اثر بیماری‌های قلبی افزایش می‌یابد. نشان داده شده است بیان بیش از حد پروتئین فولیستاتین به دنبال آسیب‌های قلبی آثار محافظتی به‌دنبال دارد. بیان بیش از حد پروتئین فولیستاتین باعث کاهش مرگ سلول‌های قلبی

### مآخذ

- Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circulation research* 2018; 122(4):624-38.
- Jia G, DeMarco VG, Sowers JR. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in diabetic cardiomyopathy. *Nature Reviews Endocrinology* 2016; 12(3):144-53.
- Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the

- American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology* 2013; 62(16): e147-239.
4. Tham YK, Bernardo BC, Ooi JY, Weeks KL, McMullen JR. Pathophysiology of cardiac hypertrophy and heart failure: signaling pathways and novel therapeutic targets. *Archives of toxicology* 2015; 89(9):1401-38.
  5. Bataille S, Chauveau P, Fouque D, Aparicio M, Koppe L. Myostatin and muscle atrophy during chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2020. 1986-93
  6. Qi H, Ren J, Ba L, Song C, Zhang Q, Cao Y, et al. MSTN attenuates cardiac hypertrophy through inhibition of excessive cardiac autophagy by blocking AMPK/mTOR and miR-128/PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B. *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 2020; 19: 507-22.
  7. Hosseini SR, Rad MM, Hejazi K. Effects of Ramadan fasting and regular physical activity on serum myostatin and follistatin concentrations. *International Journal of Applied Exercise Physiology* 2016; 5(3). 38-45.
  8. Taheri F, Fathi M, Hejazi K. The Effect of 10 Weeks Core Muscle Training on Levels of Follistatin, Myostatin, and Pain in Elderly Women. *The Horizon of Medical Sciences* 2021; 27 (2) :164-181
  9. Mohammadi R, Matin Homaei H, Azarbayjani MA, Baesi K. The Effects of 12 week Endurance Training on glucose amount, Blood insulin and Heart Structure in type 2 diabetic Rats. *Community Health Journal* 2015; 9(3): 29-36.
  10. Thackray AE, Deighton K, King JA, Stensel DJ. Exercise, appetite and weight control: are there differences between men and women? *Nutrients* 2016; 8(9):583.
  11. Lenk K, Erbs S, Höllriegel R, Beck E, Linke A, Gielen S, et al. Exercise training leads to a reduction of elevated myostatin levels in patients with chronic heart failure. *European Journal of Preventive Cardiology* 2012; 19(3):404-11.
  12. Esazadeh L, Hosseini-Kakhk A, Khajeie R, Hejazi S. Effects of Concurrent Training Order on Physical Fitness and Functional Capacity and Myostatin and Follistatin Serum Levels in Postmenopausal Females. *Journal of Sport Biosciences* 2020; 12(2): 189-206.
  13. Biglari S, Gaeini AA, Kordi MR, Ghardashi Afousi A. The effect of 8 weeks high-intensity interval training on myostatin and follistatin gene expression in gastrocnemius muscle of the rats. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 2018; 21(1):1-0.
  14. Elliott BT, Herbert P, Sculthorpe N, Grace FM, Stratton D, Hayes LD. Lifelong exercise, but not short-term high-intensity interval training, increases GDF 11, a marker of successful aging: a preliminary investigation. *Physiological reports* 2017; 5(13): e13343.
  15. De Blasio MJ, Huynh N, Deo M, Dubrana LE, Walsh J, Willis A, et al. Defining the progression of diabetic cardiomyopathy in a mouse model of type 1 diabetes. *Frontiers in Physiology* 2020; 11:124.
  16. Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, Nargis S, Chattopadhyay M. Effect of exercise on neurogenic inflammation in spinal cord of Type 1 diabetic rats. *Brain research* 2016; 1642:87-94.
  17. Moradi M, Ravasi A, Khalafi M, Talebi V. The Effect of A High Intensity Interval Exercise (Hiie) on Hypothalamic Nesfatin-1 Gene Expression of Diabetic Male Rats. *Iranian journal of diabetes and Metabolism* 2018; 17 (3) :117-24.
  18. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of 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.
  19. 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.
  20. 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
  21. 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
  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. Jokar M, Sherafati Moghadam M, Salesi M. The effect of endurance exercise on the content of ampk and pgc-1 $\alpha$  proteins in the left ventricular heart tissue of rats with type 2 diabetes. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism* 2020; 19 (5) :252-260
  24. Kazemi F. Myostatin alters with exercise training in diabetic rats, possible interaction with glycosylated hemoglobin and inflammatory cytokines. *Cytokine* 2019; 120:99-106.
  25. Shanazari Z, Faramarzi M, Banitalebi E, Hemmati R. Effect of moderate and high-intensity endurance and resistance training on serum concentrations of MSTN and IGF-1 in old male Wistar rats. *Hormone*

- molecular biology and clinical investigation* 2019; 38(2): 1-10.
26. Kostyunina DS, Ivanova AD, Smirnova OV. Myostatin: Twenty Years Later. *Human Physiology* 2018; 44(1):88-101.
  27. Dschietzig TB. Myostatin—from the mighty mouse to cardiovascular disease and cachexia. *Clinical chimica acta* 2014; 433:216-24.
  28. Rashidlamir A, Hosseini SR, Hejazi K, Anberani SM. The effect of eight weeks resistance and aerobic training on myostatin and follistatin expression in cardiac muscle of rats. *Journal of cardiovascular and thoracic research* 2016;8(4):164-72.
  29. Arabzadeh E, Samadian Z, Tofighi A, Azar JT. Alteration of follistatin-like 1, neuron-derived neurotrophic factor, and vascular endothelial growth factor in diabetic cardiac muscle after moderate-intensity aerobic exercise with insulin. *Sport sciences for health* 2020:1-9.
  30. Maruyama S, Nakamura K, Papanicolaou KN, Sano S, Shimizu I, Asaumi Y, et al. Follistatin-like 1 promotes cardiac fibroblast activation and protects the heart from rupture. *EMBO molecular medicine* 2016; 8(8):949-66.
  31. Tanaka K, Valero-Muñoz M, Wilson RM, Essick EE, Fowler CT, Nakamura K, et al. Follistatin-like 1 regulates hypertrophy in heart failure with preserved ejection fraction. *JACC: Basic to Translational Science* 2016; 1(4):207-21.
  32. Hanani M, Gaeini A, Nuri R, Hemati Nafar M. The effect of intensity of interval training on expression of cordial myostatin and follistatin proteins in rats with myocardial infarction. *Razi Journal of Medical Sciences* 2020; 27 (8) :239-252.

## 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

Akbar Ghodratnama<sup>1</sup>, Maryam Shabani<sup>2\*</sup>, Mohammad Sherafati Moghadam<sup>1</sup>

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

2. Department of Pure and Basic Science, Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Diabetes is an important factor in heart defects that can lead to atrophy of heart cells. Exercise can prevent the complications of diabetes by regulating cellular factors. Therefore, the aim of the present study was to evaluate 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

**Methods:** In this study, 36 head 2-month-old male Sprague-Dawley male rats with a mean weight of  $280 \pm 30$  g were selected.

After induction of type 1 (18 head) and 2 (18 head) diabetics through streptozotocin and nicotinamide solution, each type of diabetes was randomly divided into 3 groups: endurance training, HIIT and control (6 heads per group); The training groups performed endurance (50 to 70% of maximum speed) and HIIT (intensity 85 to 95% of maximum speed) training program 4 days a week for 4 weeks; Data analysis was performed by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests in SPSS software.

**Results:** Endurance training and HIIT in diabetic training groups led to a significant decrease in MSTN protein content ( $P=0.0001$ ) and an increase in Follistatin protein content ( $P=0.0001$ ).

**Conclusion:** It seems that four weeks of endurance training and HIIT can prevent excessive myocardial atrophy by decreasing the MSTN content and increasing Follistatin. Therefore, exercise training with the intensity, duration and type can be a good defense and treatment mechanisms for diabetics to prevent or reduce heart complications.

**Keywords:** Endurance Training, High-Intensity Interval Training, Cardiac Muscle, MSTN, Follistatin, Diabetes

\* Hashtgerd Branch, Islamic Azad University, Shahid Sadoughi Street, Hashtgerd-Below Sanat Square, Hashtgerd, Alborz, Iran. Postal Code: 3361659913, Tel: +989125476397, Email: maryam.shabani@hiau.ac.ir

