

اثر تمرین هوازی بر بیان شاخص‌های هیپرتروفی و آتروفی میوکارد موش‌های صحرایی

هادی افشار^۱، احمد عبدی^{۲*}، علیرضا براری^۱، محمدعلی آذربایجانی^۲

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران، ^۲گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ وصول: ۱۳۹۸/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۹

چکیده

زمینه و هدف: سنتز و تخریب پروتئین فرآیندهای تنظیم شده پویایی هستند که میزان افزایش یا از دست دادن توده عضلات را کنترل می‌کند. با این وجود، مکانیزم مؤثر بر هیپرتروفی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی مبهم است، لذا هدف از مطالعه حاضر تعیین و بررسی اثر تأثیرات تمرین هوازی بر بیان شاخص‌های هیپرتروفی و آتروفی میوکارد موش‌های صحرایی نر بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، ۱۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ده هفته‌ای با وزن $299/74 \pm 19/32$ گرم وارد مطالعه شدند و به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تمرین تقسیم شدند. گروه تمرین به مدت شش هفته برنامه تمرین هوازی (۱۰ تا ۱۸ متر در دقیقه، ۴۰-۱۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته) را روی نوارگردان انجام دادند. در پایان هفته ششم نمونه بافت قلب جمع‌آوری شده و برای بررسی بیان ژن‌ها پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، پروتئین جعبه سرچنگالی 30a، آتروژین ۱- و عضله انگشت حلقه ۱) استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک و تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: شش هفته تمرینات هوازی باعث افزایش معنی‌داری در سطوح پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن بافت قلبی شد ($p=0/014$). همچنین مقادیر پروتئین جعبه سرچنگالی 30a ($p=0/022$)، آتروژین ۱- ($p=0/022$) و عضله انگشت حلقه ۱ ($p=0/028$) گروه تمرینی کاهش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی با بهبود در شاخص‌های مؤثر بر اندازه عضله قلب، باعث بهبود ساختار قلب شده و احتمالاً عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن، پروتئین جعبه سرچنگالی 30a، آتروژین ۱- و عضله انگشت حلقه ۱

*نویسنده مسئول: احمد عبدی، آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آمل، گروه فیزیولوژی ورزشی

Email: a.abdi58@gmail.com

مقدمه

بیماری قلبی - عروقی مهم‌ترین عامل مرگ و میر در سراسر جهان است (۱). پژوهش‌ها نشان داده که تمرینات ورزشی با شدت مناسب، می‌تواند خطر ابتلا به بیماری قلبی - عروقی را کاهش داده و از بیماری‌های قلبی - عروقی جلوگیری کند. فعالیت‌های ورزشی هوازی با تغییر در ساختار و عملکرد قلب می‌تواند باعث بهبود عملکرد قلب شده و هیپرتروفی فیزیولوژیک به وجود می‌آورد. هیپرتروفی فیزیولوژیک به تغییر در ساختار قلب، بیان ژن‌های هایپرتروفی قلب، افزایش سوخت و ساز و بهبود در عملکرد میوکارد می‌انجامد. به هر حال تجدید در ساختار قلب مستلزم بیان بسیاری از ژن‌های است که در ساختار عضله قلب دخالت دارند (۲). ترن‌اور (۱) پروتئین ناشی از میزان سنتز و تخریب پروتئین، در نهایت اندازه کاردیومیوسیت‌ها را کنترل می‌کند. جالب این که سنتز پروتئین زمانی صورت می‌گیرد که آتروفی قلبی انجام شود. امروزه اهمیت تخریب پروتئین در عضلات قلب شناخته شده است (۳). بسیاری از اطلاعاتی که در مورد تخریب پروتئین در قلب شناخته شده است، نتایج پژوهش‌ها در عضله اسکلتی می‌باشد. دو مسیر اصلی تنظیم کننده تخریب پروتئین در عضلات عبارتند از: مسیر یوبیکوئیتین پروتئاز (USP) و اتوفاژی (۴ و ۵). USP در چندین مرحله کنترل می‌شود که مهم‌ترین مراحل شامل یوبیکیتین شدن به وسیله پروتئین لیگاز یوبیکیتین است (۶). پژوهش‌ها نشان داده است که پروتئین

جعبه‌ی سرچنگالی 30a (FOXO3) (۳) در کنترل تنظیم مسیرهای درگیر در فرآیند آتروفی یعنی UPP و اتوفاژی - لیزوزم نقش دارد (۷). FOXO3a واسطه اصلی در فرآیند آتروژنز است و در صورتی که فعال شود، از سیتوزول هسته جا به جا شده و سبب فعال کردن دو پروتئین تخریب کننده عضلانی یعنی آتروژین-۱ یا آتروفی عضله F-Box (MAFbx) (۴) و عضله انگشت حلقه‌ی ۱ (MuRF1) (۵) می‌شود و در نتیجه تخریب آغاز می‌گردد (۸). رونویسی MAFbx و MuRF1 در مدل‌های مختلف آتروفی از قبیل بی‌حرکی، دیابت، روزه‌داری و نارسایی‌های کلیوی مشاهده شده است (۹ و ۱۰). همانند عضلات اسکلتی، عوامل رونویسی FOXO، طی آتروفی قلب فعال شده (۱۱) و بیان MAFbx و MuRF1 قلب را تنظیم می‌کند (۱۲). بیان بیش از حد MAFbx در قلب باعث کاهش هیپرتروفی فیزیولوژیک و پاتولوژیک قلبی در شرایط *in vivo* می‌شود (۱۳ و ۱۴). هم‌چنین بیان بیش از حد MuRF1 در کاردیومیوسیت‌ها مانع از هیپرتروفی در محیط آزمایشگاهی می‌شود (۱۵). در موش‌های که MuRF1 کمتری داشتند، در پاسخ به اضافه بار افزایش هیپرتروفی قلب به وجود آمد (۱۶). به نظر می‌رسد مسیر PI3K/Akt می‌تواند سبب مهار FOXO و در نتیجه جلوگیری از آتروفی شود (۱۷). با این وجود نشان داده شده فعالیت‌های ورزشی با تأثیر بر AMPK،

1-Turnover
2-Autophagy
3-Forkhead box O3(FOXO3)
4-Muscle Atrophy F-box(MAFbx)
5-Muscle RING-finger protein 1(MuRF)

آتروفی را در موش‌های چاق دیابتی (db/db) کاهش می‌دهد (۱۸). اولین تعدیل کننده سیگنالینگ سنتز پروتئین که مسئول هیپرتروفی عضلات قلب می‌باشد، AMPK است. فعال شدن AMPK منجر به افزایش بیان PGC-1 α شده (۱۹) و بیان آن در عضلات اسکلتی سبب بسیاری از تغییرات وابسته به فعالیت‌های استقامتی از قبیل؛ بیوژنز میتوکندریایی، تغییر نوع تار عضلانی و مقاومت در برابر آتروفی می‌شود (۲۰). فعالیت ورزشی یکی از مؤثرترین روش‌ها برای هیپرتروفی عضلات و کاهش آتروفی عضلات در بسیاری از شرایط می‌باشد. خرم‌شاهی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که پنج هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث کاهش معنی‌داری در بیان MAFbx عضلانی در موش‌های صحرایی دیابتی شده و باعث کاهش آتروفی ناشی از دیابت می‌شود (۲۱). همچنین پناهی و همکاران در پژوهش نشان دادند که چهار هفته تمرین مقاومتی با کاهش بیان MuRF1 باعث کاهش آتروفی عضلانی ناشی از دیابت در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۲). با این وجود شیبانی و همکاران بیان کردند که بی‌تمرینی بعد از ۶ هفته تمرین تناوبی شدید باعث افزایش FOXO3a، MAFbx شده و سطوح MuRF1 عضلانی کاهش داشت (۲۳). کاظمی و همکاران نشان داد که چهار هفته تمرین تناوبی شدید باعث افزایش معنی‌داری MAFbx عضله موش‌های پیر می‌شود (۲۴). علاوه بر این اثر فعالیت‌های ورزشی بر این ژن‌ها در بافت قلب محدود است. در یکی از این محدود بررسی‌ها نشان داده شده که تمرین هوازی باعث

کاهش بیان FOXO3a و MuRF1 بافت قلب می‌شود (۲۵). همچنین در پژوهش دیگری نشان داده شده که تمرین تناوبی با کاهش محتوای پروتئین FOXO3a و Beclin-1 بافت قلب همراه است (۲۶). با توجه به این‌که AMPK، FOXO3، MAFbx و MuRF1 مولکول‌های کلیدی در تنظیم مسیر هیپرتروفی و آتروفی عضلانی هستند، بررسی این مسیر در بافت قلب مهم می‌باشد. از طرف دیگر فعالیت ورزشی نقش مهمی در بهبود ساختار و عملکرد قلب داشته و با ایجاد هیپرتروفی و تجدید کاردیومیوسیت‌ها منجر به رشد قلب می‌شود، لذا با توجه به تناقض یافته‌ها در بافت عضلانی (۲۴-۲۱) و تحقیقات اندک در بافت قلب و همچنین اثر احتمالی تمرین ورزشی هوازی بر مسیر هیپرتروفی و آتروفی قلب، لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی اثر تأثیرات تمرین هوازی بر بیان شاخص‌های هیپرتروفی و آتروفی میوکارد موش‌های صحرایی نر بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۷ انجام شد، همه آزمایش‌های مربوط به حیوانات با توجه به سیاست‌های مربوط به حمایت از حیوانات (بر اساس خط مشی‌های قرارداد هلسینگی) انجام شد و قوانین راهنمای انستیتوی ملی سلامت در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر ۱۰ هفته‌ای با نژاد ویستار و میانگین وزن 299.74 ± 19.32 گرم از انستیتو پاستور تهیه شد و به آزمایشگاه

جانورشناسی پردیس بین‌الملل دانشگاه علوم پزشکی یزد منتقل شدند. حیوانات مورد آزمایش در گروه‌های ۴ تایی در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. دمای محیط $22 \pm 1/4$ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت $55/6 \pm 4$ درصد بود. تمامی حیوانات به آب و غذای ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. آزمودنی‌ها پس از ۴ روز آشنایی با محیط آزمایشگاه به روش تصادفی به ۲ گروه کنترل (۸ سر) و تمرین (۸ سر) تقسیم شدند.

معیار ورود به مطالعه حاضر شامل نر بودن موش‌ها، سلامت کامل موش‌ها و عدم استفاده از هرگونه دارو بود. معیار خروج از مطالعه عدم اجرای پروتکل تمرینی، مؤث‌ث بودن و آسیب حین اجرا تمرین بود.

قبل از اجرای پروتکل تمرینی، تمامی حیوانات به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند، برنامه آشنایی شامل ۵ جلسه راه رفتن و دویدن با سرعت ۵ تا ۸ متر در دقیقه و شیب صفر درصد و به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه بود. برنامه فعالیت‌بدنی استقامتی با افزایش تدریجی سرعت و زمان آغاز شد، به طوری که در هفته اول با سرعت ۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، در هفته دوم با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته سوم با سرعت ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، در هفته چهارم با سرعت ۱۵-۱۴ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه، در هفته پنجم با سرعت ۱۸-۱۷ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه و در هفته ششم با سرعت

۱۸-۱۷ متر در دقیقه و به مدت ۴۰ دقیقه بود. فعالیت‌بدنی به مدت ۵ روز در هفته بوده و در ابتدا و انتهای هر جلسه تمرین، ۳ دقیقه گرم‌کردن و سردکردن با سرعت ۵-۴ متر در دقیقه انجام گرفت. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد، بدین صورت که در جلسات اول، از محرک الکتریکی با ولتاژ کم، همراه با محرک صوتی استفاده شد و پس از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد (۲۷).

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام نمونه‌ها با شرایط کاملاً مشابه و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی) با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بافت مورد نظر بلافاصله پس از جداسازی و شست و شو با سالی‌ن فوراً در تیوب‌های حاوی RNA later جهت جلوگیری از تخریب RNA قرار داده شده و به نیتروژن مایع منتقل و سپس در یخچال در دمای -80 درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگهداری شد. برای جلوگیری از تأثیر آهنگ شبانه روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و $11:30$ به اتمام رسید. برای بررسی بیان ژن‌ها در هر گروه از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج

گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

طراحی، آماده سازی پرایمر: جدول ۱ الگوی پرایمر را نمایش می‌دهد. پرایمرهای ژن‌ها به همراه یک ژن کنترل یا رفرانس (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) GAPDH طراحی شد و برای سنتز به شرکت سیناکلون (Sinaclon) سفارش داده شد (جدول ۲).

RNA با استفاده از کیت کیاژن (آلمان) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا کلیه پرایمرهای طراحی شده مربوط به تمامی ژن‌ها، مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از روش کمی RT-qPCR انجام گرفت. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیاژول، RNA کل

سلول‌ها استخراج شد. سپس کیفیت RNAهای استخراج شده با دستگاه اسپکتروفتومتر (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. cDNA تک رشته‌ای از پرایمر Oligo dt (MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه برداری معکوس (Fermentas) بر اساس پروتکل مربوطه تهیه شد. هر واکنش PCR با استفاده از SYBER PCR master mix (Applied Biosystems) و Applied Biosystems,) ABI Step One در دستگاه (Sequences Detection Systems. Foster City, CA پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دمای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۵۸-۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

داده‌ها آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو-ویلک و آزمون تی مستقل تجزیه و تحلیل شدند.

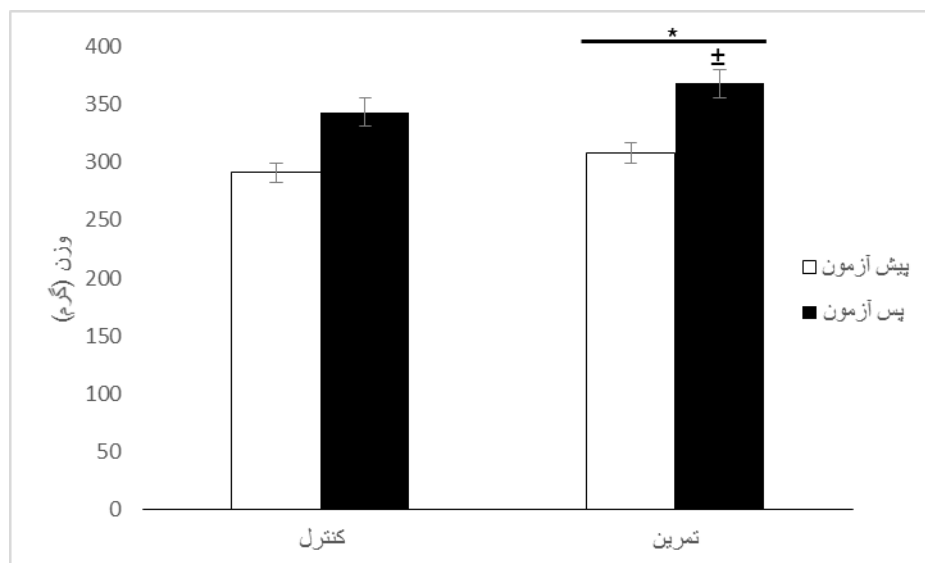
جدول ۱: الگوی پرایمر AMPK، FOXO3، MAFbx و MuRF1

Genes	Sequence (5' → 3')
Forward AMPK	GCCTCATCTCAAAGCTGGGT
Reverse AMPK	TGCTCTGGAGTAGGGATGCT
Forward FOXO3	TGT GTT CAA AGT CTG CTG CC
Reverse FOXO3	ACG CTG TAA GGT CTG GTC AA
Forward MAFbx	AGGGCAGGTGGATTGGAAGAAGA
Reverse MAFbx	GTTGGGGTGAAAGTGAGACGGAG
Forward MuRF1	GGTGTGACGAAGGTGGAAGAGA
Reverse MuRF1	CAAGGCAGATGGGGCAGATGAG
Forward GAPDH	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
Reverse GAPDH	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C

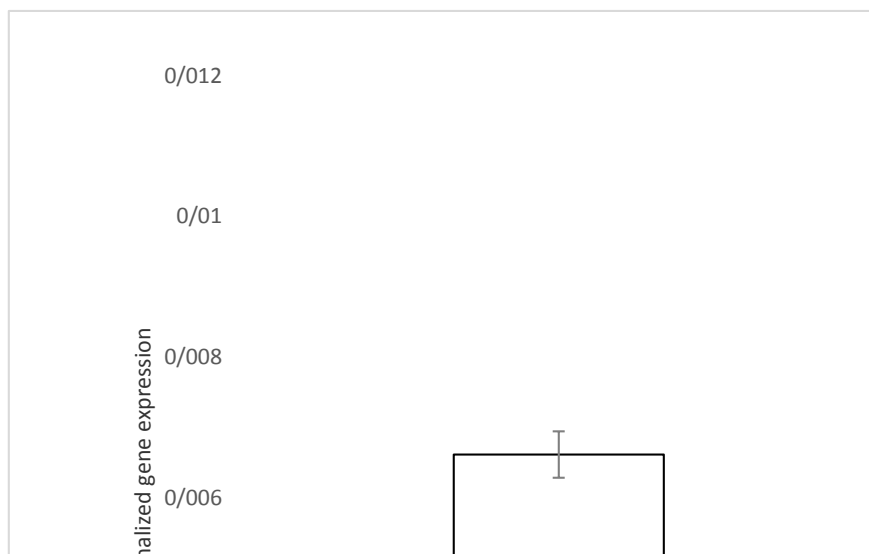
یافته‌ها

دارد ($p=0/014$) (نمودار ۲). همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که میزان بیان FOXO3 ($p=0/022$)، MAFbx ($p=0/022$) و MuRF1 ($p=0/028$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری دارد (نمودار ۳-۵).

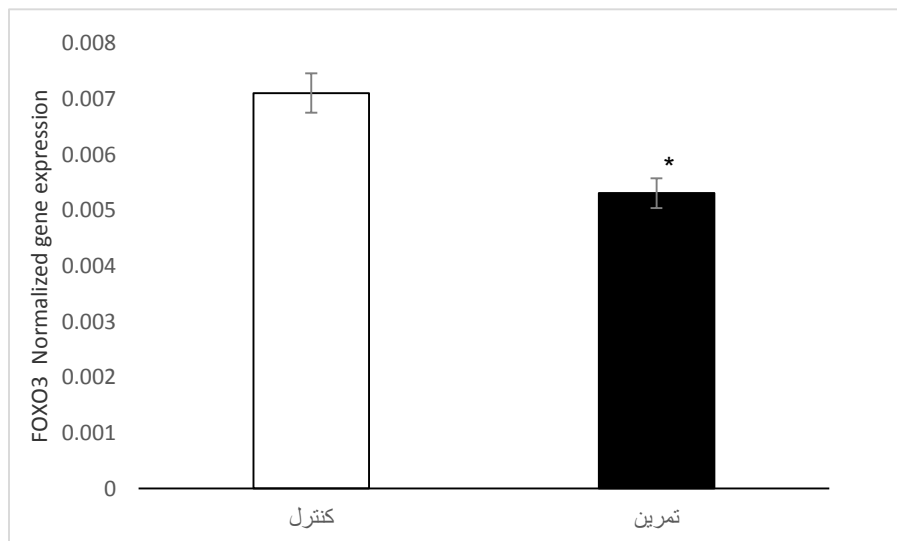
تغییرات وزن موش‌ها در گروه‌های کنترل و تمرین در نمودار ۱ آورده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بیان AMPK بافت قلب در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری



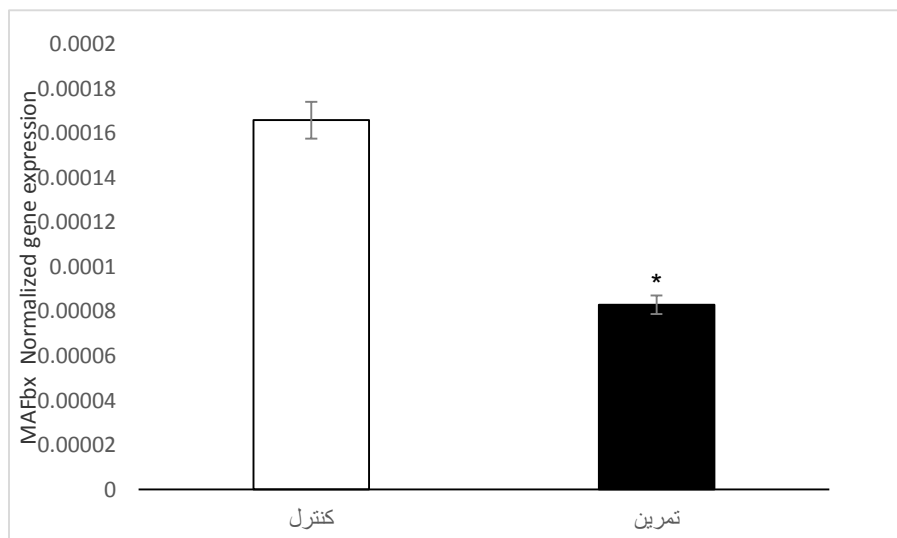
نمودار ۱: تغییرات وزن موش‌ها بر اساس آزمون ۱ در در گروه‌های مورد مطالعه
* تفاوت با گروه کنترل ± تفاوت با پیش‌آزمون



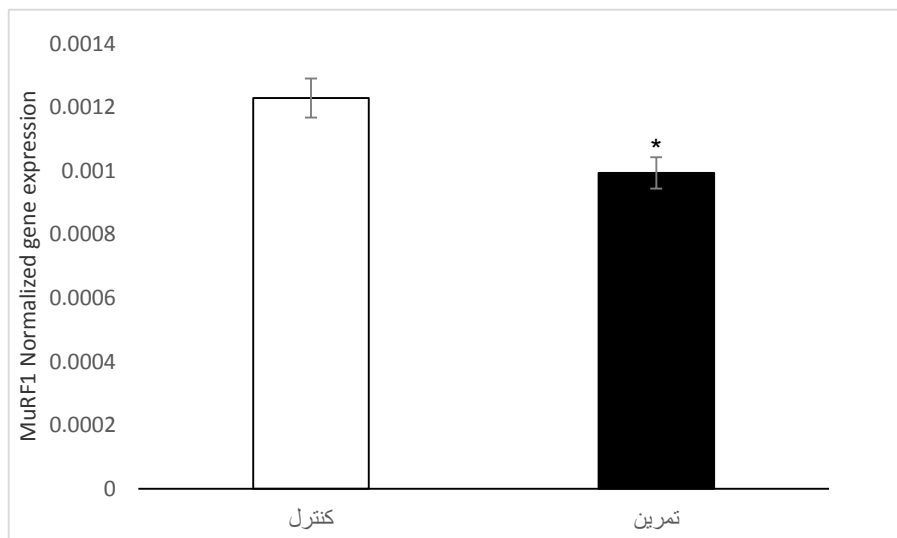
نمودار ۲: تغییرات بیان AMPK عضله قلبی موش‌ها
* تفاوت با گروه کنترل



نمودار ۳: تغییرات بیان FOXO3 عضله قلبی موش‌ها
* تفاوت با گروه کنترل



نمودار ۴: تغییرات بیان MAFbx عضله قلبی موش‌ها
* تفاوت با گروه کنترل



نمودار ۵: تغییرات بیان MuRF1 عضله قلبی موش‌ها
* تفاوت با گروه کنترل

بحث

هتروتیرمی است که با افزایش نسبت AMP/ATP در کاردیومیوسیت‌ها فعال می‌شود (۳۰). AMPK به عنوان سنسور وضعیت انرژی سلولی، می‌تواند در نتیجه گرسنگی، فعالیت ورزشی و انقباض عضلانی فعال شود (۳۰). افزایش فعالیت AMPK باعث فعال شدن فرآیندهای آنابولیک درگیر در هیپرتروفی می‌شود (۳۱). به نظر می‌رسد AMPK با تأثیر بر واسطه اصلی سنتز پروتئین و رشد سلولی یعنی mTOR، این عمل را انجام می‌دهد (۳۲ و ۳۳). علاوه بر این، AMPK با سایر عوامل که نقش مهمی در کنترل رونویسی هیپرتروفی دارند، یعنی کینازهای تنظیم شده سیگنال خارج سلولی (ERK) و محور FoxO/MAFbx/MuRF1 در تعامل است (۳۴). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان بیان FOXO3a، MAFbx و MuRF1 کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. در این راستا برخی پژوهش‌ها کاهش بیان ژن و پروتئین MAFbx و MuRF1

فعالیت ورزشی هوازی نقش مهمی در تنظیم ملکول‌های کلیدی مسیر هیپرتروفی و آتروفی قلب دارد (۲۵). با این وجود پژوهش‌های اندک و متناقضی مشاهده شده است، لذا هدف از پژوهش حاضر تعیین و بررسی اثر تأثیرات تمرین هوازی بر بیان شاخص‌های هیپرتروفی و آتروفی میوکارد موش‌های صحرایی نر بود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دوره تمرین هوازی باعث افزایش بیان AMPK میوسیت‌های قلبی موش‌های صحرایی شد. هم‌راستا با این پژوهش، چوی و همکاران نشان دادند که به دنبال یک دوره تمرین هوازی اینتروال میزان AMPK میوکارد موش‌های دیابتی افزایش معنی‌داری داشت (۲۸)، همچنین نشان داده شد که تمرین هوازی می‌تواند باعث افزایش بیان AMPK عضلات اسکلتی در موش‌های C57 شود (۲۹). AMPK یک آنزیم

را به دنبال تمرین در انسان‌ها و حیوان‌ها گزارش کرده‌اند (۳۶ و ۳۵). در پژوهشی که به وسیله اسمعیلی و همکاران روی موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد، نشان داده شد که تمرین هوازی باعث کاهش بیان FOXO3a و MuRF1 کاردیومیوسیت‌ها می‌شود (۲۵). همچنین جوکار و همکاران نشان دادند که هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا باعث کاهش محتوای پروتئین FOXO3a و Beclin-1 بافت قلب در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود (۲۶). زانوچی و همکاران نشان دادند که یک دوره تمرین مقاومتی باعث کاهش معنی‌دار در بیان MAFbx و MuRF1 موش‌های صحرایی شد (۳۵). در مطالعه‌ای دیگر روی مدل موش‌های نشان داده شد که هشت هفته تمرین استقامتی با کاهش استرس اکسیداتیو باعث کاهش بیان MuRF1 شد (۳۷). MuRF1 در تجزیه چندین پروتئین‌های کلیدی سارکومر از قبیل: تیتین، MHC، نبولین، NRAP، TnT، MLC-2، مایوتیلین و T-cap نقش دارد (۳۹ و ۳۸). به نظر می‌رسد آتروفی به شکل بالقوه به وسیله مهار مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT و فعال شدن محور مقابل آن یعنی FoxO/MAFbx/MuRF1 رخ می‌دهد (۴۰).

در سطح سلولی، هیپرتروفی قلب با تعادل مثبت پروتئین افزایش می‌یابد. به نظر تغییر در این روند از طریق برخی مکانیزم‌ها باعث تخریب پروتئین می‌شود. مهم‌ترین مسیر تخریب پروتئین سیستم یوبیکوئیتین پروتئازوم (UPS) می‌باشد (۴۱). پژوهش‌های زیادی نشان می‌دهد که کاتالیز لیگاز

یوبیکوئیتین E3 به وسیله پروتئین MAFbx باعث شکاف در پروتئین‌های ساختاری قلب شده و نقش مهمی در آتروفی قلب دارد. پژوهش‌ها بیان کردند که، AMPK باعث تنظیم رونویسی MAFbx شده و در نتیجه باعث کاهش تخریب پروتئین قلب از مسیر UPS می‌شود. MAFbx نه تنها کاهش پروتئین را تنظیم می‌کند، بلکه سنتز پروتئین را نیز کاهش داده و نقش مهمی در کنترل توده قلب دارد (۴۲). به نظر می‌رسد فعالیت‌های ورزشی با افزایش بیان AMPK باعث مهار بیان MAFbx در کاردیومیوسیت‌ها شده و از این طریق از آتروفی قلب جلوگیری می‌کند (۳۵). علاوه بر این نشان داده شده که فعالیت‌های ورزشی باعث افزایش PGC1 α عضلات می‌شود (۴۳). مشخص شده که پروتئین تجزیه کننده بافت عضلانی FOXO، با کوفاکتور حیاتی در بیورژنز میتوکندری یعنی PGC1 α اثر متقابلی داشته و سطوح بالای PGC1 α می‌تواند سبب مهار این فاکتور تخریب‌کننده پروتئین عضلانی شود (۴۴). FOXO3a واسطه اصلی در فرآیند آتروژنز است و در صورتی که فعال شود از سیتوزول هسته جابه جا شده و سبب فعال کردن دو پروتئین تخریب کننده بافت عضلانی یعنی MAFbx و MuRF1 می‌گردد و در نتیجه تخریب آغاز می‌گردد (۸). از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم استفاده از تکنیک‌های دیگر مثل اکوگاردیوگرافی برای بررسی تغییرات بافت قلب به دلیل نداشتن امکانات و همچنین هزینه‌ها می‌باشد. از آنجای تغییر در ساختار قلب در یک دوره طولانی مدت رخ می‌دهد، شاید طول دوره پژوهش در تحقیق حاضر از

محدودیت‌های مهم دیگر برای بررسی دقیق اثرات تمرین ورزشی بر مسیر هیپرتروفی و آتروفی قلب باشد، لذا پیشنهاد می‌شود در پروتکل‌های بعدی از دوره‌های طولانی‌تر استفاده شود و این پروتکل تمرینی برای بهبود کارایی قلب مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر این شاخص‌های دیگری نیز برای ارزیابی هیپرتروفی و آتروفی قلب وجود دارد که می‌تواند نقش مهمی در این مسیر داشته باشد. ارزیابی این شاخص‌ها می‌تواند درک بهتری از اثر تمرین را بر تغییرات ساختار قلب ارایه دهد، بنابراین پژوهش‌های بیشتری در این زمینه لازم است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین ورزشی هوازی با بهبود در شاخص‌های هیپرتروفی و آتروفی در موش‌های صحرایی باعث بهتر شدن ساختار عضلات قلب می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره دکتری رشته فیزیولوژی ورزش با کد اخلاق IR.PNU.REC.1397.033 دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی می‌باشد، که با حمایت مالی و معنوی این دانشگاه انجام شد.

REFERENCES

1. Moraga P, Collaborators GCoD. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* 2017; 390(10100): 1151-210.
2. Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacology & Therapeutics* 2010; 128(1): 191-227.
3. Morgan HE, Rannels DE, Kao RL. Factors controlling protein turnover in heart muscle. *Circulation Research* 1974; 35(3): III-22-III-31.
4. Lecker SH, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *The Journal of Nutrition* 1999; 129(1): 227S-37S.
5. Wang XJ, Yu J, Wong SH, Cheng AS, Chan FK, Ng SS, et al. A novel crosstalk between two major protein degradation systems: regulation of proteasomal activity by autophagy. *Autophagy* 2013; 9(10): 1500-8.
6. Mearini G, Schlossarek S, Willis MS, Carrier L. The ubiquitin-proteasome system in cardiac dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Molecular Basis of Disease* 2008; 1782(12): 749-63.
7. West DW, Burd NA, Churchward-Venne TA, Camera DM, Mitchell CJ, Baker SK, et al. Sex-based comparisons of myofibrillar protein synthesis after resistance exercise in the fed state. *Journal of Applied Physiology* 2012; 112(11): 1805-13.
8. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117(3): 399-412.
9. Gomes MD, Lecker SH, Jagoe RT, Navon A, Goldberg AL. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001; 98(25): 14440-5.
10. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK-M, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001; 294(5547): 1704-8.
11. 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.
12. Skurk C, Izumiya Y, Maatz H, Razeghi P, Shiojima I, Sandri M, et al. The FOXO3a transcription factor regulates cardiac myocyte size downstream of AKT signaling. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280(21): 20814-23.
13. Li H-H, Kedar V, Zhang C, McDonough H, Arya R, Wang D-Z, et al. Atrogin-1/muscle atrophy F-box inhibits calcineurin-dependent cardiac hypertrophy by participating in an SCF ubiquitin ligase complex. *The Journal of Clinical Investigation* 2004; 114(8): 1058-71.
14. Li HH, Willis MS, Lockyer P, Miller N, McDonough H, Glass DJ, et al. Atrogin-1 inhibits Akt-dependent cardiac hypertrophy in mice via ubiquitin-dependent coactivation of Forkhead proteins. *The Journal of Clinical Investigation* 2007; 117(11): 3211-23.
15. Arya R, Kedar V, Hwang JR, McDonough H, Li HH, Taylor J, et al. Muscle ring finger protein-1 inhibits PKC ϵ activation and prevents cardiomyocyte hypertrophy. *J Cell Biol* 2004; 167(6): 1147-59.
16. Willis MS, Ike C, Li L, Wang DZ, Glass DJ, Patterson C. Muscle ring finger 1, but not muscle ring finger 2, regulates cardiac hypertrophy in vivo. *Circulation Research* 2007; 100(4): 456-9.
17. Henríquez-Olguín C, Díaz-Vegas A, Utreras-Mendoza Y, Campos C, Arias-Calderón M, Llanos P, et al. NOX2 inhibition impairs early muscle gene expression induced by a single exercise bout. *Frontiers in Physiology* 2016; 7: 282.

- 18.Liu HW, Chang SJ. Moderate exercise suppresses NF- κ B signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1 α axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in Physiology* 2018; 9: 636.
- 19.Cantó C, Auwerx J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure. *Current Opinion in Lipidology* 2009; 20(2): 98.
- 21.Leick L, Lyngby SS, Wojtasewski JF, Pilegaard H. PGC-1 α is required for training-induced prevention of age-associated decline in mitochondrial enzymes in mouse skeletal muscle. *Experimental Gerontology* 2010; 45(5): 336-42.
- 21.Khoramshahi S, Kordi MR, Delfan M, Gaeini A, Safa M. 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.
- 22.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. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services* 2016; 38(2): 6-13.
- 23.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* 2018; 20(1): 31-9.
- 24.Kazemi A, dehesh T. The effect of 4 weeks of high intensity training on gene expression of mst1 and mafbx in edl muscle of aged mice. *Sport Physiology & Management Investigations* 2019; 11(3): 47-58.
- 25.Esmalee B, Abdi A, farzanegi P, Abbassi Dalooi A. Protective effect of aerobic training along with resveratrol on the expression of some atrophic biomarkers of cardiomyocytes in diabetic rats. *Journal Of Neyshabur University Of Medical Sciences* 2019; 7(3): 27-37.
- 26.Jokar M, Sherafati Moghadam M. High intensity interval training inhabits 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 Lipid Disorders* 2019; 18(6): 292-9.
- 27.Seo H, Park C-H, Choi S, Kim W, Jeon B-D, Ryu S. Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry* 2016; 20(3): 16.
- 28.Cai H, Chen S, Liu J, He Y. An attempt to reverse cardiac lipotoxicity by aerobic interval training in a high-fat diet-and streptozotocin-induced type 2 diabetes rat model. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2019; 43(11): 1-12.
- 29.Niu Y, Yuan H, Fu L. Aerobic Exercise's reversal of insulin resistance by activating ampk α -acc-cpt1 signaling in the skeletal muscle of c57bl/6 mice. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 2010; 20(5): 370-80.
- 30.Arad M, Seidman CE, Seidman J. AMP-activated protein kinase in the heart: role during health and disease. *Circulation Research* 2007; 100(4): 474-88.
- 31.Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL, Bertrand L. AMP-activated protein kinase in the control of cardiac metabolism and remodeling. *Current Heart Failure Reports* 2012; 9(3): 164-73.
- 32.Tan VP, Miyamoto S. Nutrient-sensing mTORC1: Integration of metabolic and autophagic signals. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2016; 95: 31-41.
- 33.Sciarretta S, Volpe M, Sadoshima J. Mammalian target of rapamycin signaling in cardiac physiology and disease. *Circulation Research* 2014; 114(3): 549-64.
- 34.Esposito G, Prasad SVN, Rapacciuolo A, Mao L, Koch WJ, Rockman HA. Cardiac overexpression of a Gq inhibitor blocks induction of extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase activity in in vivo pressure overload. *Circulation* 2001; 103(10): 1453-8.
- 35.Zanchi NE, de Siqueira Filho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, de Oliveira Carvalho CR, et al. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3 β and p70S6K levels in rats. *European Journal of Applied Physiology* 2009; 106(3): 415-23.

36. Murton A, Constantin D, Greenhaff P. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Molecular Basis of Disease* 2008; 1782(12): 730-43.
37. Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, Wang S, Zhao ZW. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life Sciences* 2011; 89(1-2): 44-9.
38. Witt SH, Granzier H, Witt CC, Labeit S. MURF-1 and MURF-2 target a specific subset of myofibrillar proteins redundantly: towards understanding MURF-dependent muscle ubiquitination. *Journal of Molecular Biology* 2005; 350(4): 713-22.
39. Clarke BA, Drujan D, Willis MS, Murphy LO, Corpina RA, Burova E, et al. The E3 Ligase MuRF1 degrades myosin heavy chain protein in dexamethasone-treated skeletal muscle. *Cell Metabolism* 2007; 6(5): 376-85.
40. Foletta VC, White LJ, Larsen AE, Léger B, Russell AP. The role and regulation of MAFbx/atrogen-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology* 2011; 461(3): 325-35.
41. Willis MS, Patterson C. Into the heart: the emerging role of the ubiquitin–proteasome system. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2006; 41(4): 567-79.
42. Baskin KK, Rodriguez MR, Kansara S, Chen W, Carranza S, Frazier OH, et al. MAFbx/Atrogen-1 is required for atrophic remodeling of the unloaded heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2014; 72: 168-76.
43. Hood DA, Irrcher I, Ljubcic V, Joseph AM. Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *Journal of Experimental Biology* 2006; 209(12): 2265-75.
44. Puigserver P, Rhee J, Donovan J, Walkey CJ, Yoon JC, Kitamura Y, et al. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1–PGC-1 α interaction. *Nature* 2003; 423(6939): 550.

The Effect of Aerobic Training on Expression of Indices of Myocardial Hypertrophy and Atrophy in Rats

Afshar H¹, Abdi A^{1*}, Barari A¹, Azarbayjani MA²

¹Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran,

²Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 19 Jan 2020

Accepted: 28 April 2020

Abstract:

Background & aim: Protein synthesis and degradation are dynamically regulated processes that to control the accretion or loss of muscle mass. However, the mechanisms responsible exercise-induced heart hypertrophy remains elusive. The aim of the present study was to investigate the effect of aerobic training on expression of some indices of myocardial hypertrophy and atrophy in male rats.

Methods: In this experimental study conducted in 2018, 16 wistar male rats 10 weeks old with 299.74 ± 19.32 g weight were randomly classified into control and training groups. Training group performed an aerobic running program (at 10-18 m/min, 10-40 min/day, and 5 days/week) on a motor-driven treadmill for six weeks. At the end of six week's heart tissue samples were collected and used for determination of gene expression (AMP-activated protein kinase, fork head Box O3, Muscle atrophy F-box and Muscle RING finger 1). Data were analyzed using Independent t test at $p < 0.05$.

Result: Six weeks aerobic training significant increased the heart AMP-activated protein kinase in rats ($p = 0.014$). Also heart fork head Box O3 ($p = 0.022$), Muscle atrophy F-box ($p = 0.032$) and Muscle RING finger 1 ($p = 0.028$) was significantly decrease than training group.

Conclusion: Aerobic exercise improved the heart structure by improving the parameters that affect cardiac size, possibly improving cardiac function.

Keywords: Aerobic Exercise, AMP-Activated Protein Kinase, fork head Box O3, Muscle Atrophy Fbox and Muscle RING finger 1

Corresponding author: Abdi A, Department of Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Email: a.abdi58@gmail.com

Please cite this article as follows:

Afshar H, Abdi A, Barari A, Azarbayjani MA. The Effect of Aerobic Training on Expression of Indices of Myocardial Hypertrophy and Atrophy in Rats. Armaghane-danesh 2021; 26(1): 45-58.