DOI: 10.48305/jims.v43.i808.0255

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و سوم/شماره‌ی ۸۰۸/هفته‌ی چهارم اردیبهشت ۱۴۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴ تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹

# تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمیک (ER) در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۲

فاطمه صلح‌دوست[۱]، حامد علیزاده پهلوانی[۲]، محمد شرافتی مقدم[۱]

مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** در سال‌های اخیر تمرین تناوبی با شدت بالا HIIT (Hight-intesity interval training) به عنوان یک روش ورزشی مؤثر برای بهبود سلامت قلب و عروق در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد توجه قرار گرفته است. لذا هدف از مطالعه‌ی حاضر، تأثیر HIIT بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمیک PERK و NRF2 در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۲ بود.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۲ سر رت نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن ۲۰ ± ۲۸۰ گرم انتخاب شدند. دیابت نوع ۲ از طریق تزریق محلول‌های نیکوتین‌آمید و استرپتوزوتوسین القاء شد. رت‌ها به روش تصادفی به گروه HIIT و کنترل دیابتی تقسیم شدند؛ برنامه‌ی HIIT شامل ۵ نوبت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت (معادل ۲۰ تا ۳۲ متر بر دقیقه) و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت (معادل ۱۵ تا ۱۸ متر بر دقیقه) بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آنوای–یک‌طرفه و تعقیبی Tukey انجام شد. سطح معنی‌داری $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شده است.

**یافته‌ها:** برنامه HIIT پس از ۸ هفته سبب افزایش PPERK و NRF2 (به ترتیب $P = ۰/۰۰۹$ و $P = ۰/۰۲$) در رت‌های دیابتی نوع ۲ می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد برنامه HIIT می‌تواند در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی توسط متخصصان سلامت توصیه شود.

**واژگان کلیدی:** تمرین تناوبی با شدت بالا؛ استرس شبکه آندوپلاسمی؛ بطن چپ قلب؛ دیابت نوع ۲.

**ارجاع:** صلح‌دوست فاطمه، علیزاده پهلوانی حامد، شرافتی مقدم محمد. **تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمیک (ER) در بطن چپ رت‌های دیابتی نوع ۲.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۰۸): ۲۵۵-۲۶۳.

## مقدمه

در سال‌های اخیر تمرین تناوبی با شدت بالا ( Hight-intesity interval training) HIIT به عنوان یک روش ورزشی مؤثر برای بهبود سلامت قلب و عروق، عملکرد متابولیک و آمادگی کلی مورد توجه قرار گرفته است. این رویکرد تمرینی شامل دوره‌های کوتاه تمرین شدید و به دنبال آن دوره‌های استراحت یا فعالیت با شدت کم است (۱). تحقیقات نشان داده‌اند که HIIT می‌تواند به سازگاری‌های فیزیولوژیکی مختلف از جمله بهبود حساسیت به انسولین، افزایش عملکرد میتوکندری و افزایش کارآیی قلبی–عروقی منجر شود. این مزایا به طور ویژه برای افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ (T2D) مناسب هستند، وضعیتی که با مقاومت به انسولین مشخص می‌شود و با عوارض مختلفی از جمله بیماری قلبی– عروقی همراه است (۱، ۲).

دیابت نوع ۲ (T2D) یک اختلال متابولیک مزمن است که ۵۷۰ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳). این بیماری با افزایش سطح گلوکز خون به دلیل مقاومت به انسولین و اختلال در ترشح انسولین مشخص می‌شود. بطن چپ ( Left ventricle) LV قلب نقش مهمی در حفظ گردش خون سیستمیک ایفا می‌کند و عملکرد آن می‌تواند به شدت در افراد مبتلا به T2D به خطر بیفتد (۴).

یکی از مکانیسم‌های اساسی اختلال عملکرد قلب در دیابت، استرس شبکه آندوپلاسمی (Endoplasmic reticulum) ER است که می‌تواند منجر به آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی شود (۵).

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

۲ – گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، صندوق پستی ۸۸۹- ۱۴۶۶۵ تهران، ایران.

**نویسنده‌ی مسؤول:** حامد علیزاده پهلوانی: گروه آموزش تربیت بدنی، دانشگاه فرهنگیان، صندوق پستی ۸۸۹- ۱۴۶۶۵ تهران، ایران

Email: ha.alizadeh@cfu.ac.ir

ER برای تاخوردگی پروتئین (Protein folding)، سنتز لیپیدها و هموستاز کلسیم ضروری است. هنگامی که ER به دلیل تجمع پروتئین‌های تانشده یا اختلال در تعادل کلسیم، استرس را تجربه می‌کند، مجموعه‌ای از پاسخ‌های سلولی را ایجاد می‌کند که در مجموع به عنوان پاسخ پروتئین تانشده (Unfolded protein response) UPR شناخته می‌شوند. اگر استرس حل نشده باشد، می‌تواند منجر به مرگ سلولی شود که به پاتوفیزیولوژی کاردیومیوپاتی دیابتی کمک می‌کند (۵، ۶). در میان پروتئین‌های مختلف درگیر در UPR، پروتئین کیناز مشابه RNA کیناز ER ( Protein kinase RNA -like ER kinase) PERK و فاکتور ۲ مربوط به اریتروئید هسته‌ای (NRF2) به دلیل نقش آنها در میانجی‌گری پاسخ‌های سلولی به استرس ERتوجه محققان را به خود جلب کرده است (۷، ۸). PERK یک حسگر کلیدی استرس ER است که با کاهش سنتز پروتئین سراسری نسبت به کاهش انباشت پروتئین‌های تاشده کمک می‌کند و در عین حال به طور انتخابی ترجمه پروتئین‌های پاسخگو به استرس از جمله NRF2 را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر، NRF2 یک فاکتور رونویسی است که بیان پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی را تنظیم مثبت می‌کند و برای دفاع سلولی در برابر استرس اکسیداتیو بسیار مهم است. تعامل بین PERK و NRF2 برای حفظ هموستاز سلولی، به ویژه تحت شرایط دیابت همراه با استرس اکسیداتیو و التهاب شایع، حیاتی است (۹). محیط هیپرگلیسمی مزمن در T2D منجر به افزایش تولید محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته ( Advanced Glycation End Products) AGEs می‌شود که می‌تواند باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت‌های قلبی شود. این آبشار از رویدادها به فعال شدن UPR کمک می‌کند، که منجر به تنظیم مثبت نشانگرهای استرس ER، از جمله PERK می‌شود. فعال‌سازی PERK منجر به فسفوریلاسیون فاکتور شروع ترجمه یوکاریوتی ۲ آلفا (Eukaryotic initiation factor-2α) eIF2α می‌شود که سنتز پروتئین سراسری را کاهش می‌دهد در حالی که ترجمه mRNAهای خاص، از جمله آنهایی که فاکتورهای ضد آپوپتوز را کد می‌کنند، افزایش می‌دهد (۱۰، ۱۱).

تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که HIIT ممکن است با تعدیل بیان و فعالیت پروتئین‌های مرتبط با استرس ER و مسیرهای بقا، اثرات مفیدی بر سلامت قلب داشته باشد. نشان داده شده است HIIT حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد، چربی بدن را کاهش می‌دهد و آمادگی قلبی عروقی را افزایش می‌دهد. این سازگاری‌ها به طور ویژه برای افراد مبتلا به T2D مهم هستند، زیرا به کاهش خطر ابتلا به عوارض قلبی- عروقی کمک می‌کنند (۱۲). علاوه بر این، نشان داده شده است که HIIT بر پاسخ‌های استرس سلولی تأثیر می‌گذارد و می‌تواند بیان پروتئین‌های شوک حرارتی و سایر عوامل محافظتی را افزایش دهد که استرس سلولی را کاهش می‌دهد. در عین حال، این سؤال مطرح می‌شود که آیا HIIT نیز می‌تواند بیان پروتئین‌های مرتبط با استرس ER مانند PERK و NRF2 را در بطن چپ موش‌های دیابتی تعدیل کند.

در این زمینه، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات HIIT بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با استرس ER، به ویژه PERK و NRF2، در بطن چپ موش های T2D انجام می‌شود. درک اینکه چگونه HIIT بر بیان PERK و NRF2 تأثیر می گذارد می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را برای توسعه مداخلات ورزشی هدفمند برای افراد مبتلا به T2D ارائه دهد و در نهایت سلامت قلبی- عروقی و کیفیت زندگی آنها را بهبود بخشد. با توجه به اثرات نامطلوب T2D بر سلامت قلب و مزایای بالقوه HIIT، بررسی اینکه چگونه این روش ورزشی بر بیان پروتئین‌های مرتبط با استرس ER و آپوپتوز در LV موش‌های دیابتی تأثیر می‌گذارد ضروری است. با بررسی این پروتئین‌ها، می‌توانیم بینشی در مورد مکانیسم‌های مولکولی به دست آوریم که از طریق آن HIIT ممکن است اثرات محافظتی قلبی در شرایط دیابت ایجاد کند.

## روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی- بنیادی بود که تعداد ۱۲ سر موش صحرایی ۲ ماهه نر از نژاد اسپراگ‌داولی با وزن متوسط ۲۰ ± ۱۸۰ گرم به صورت تصادفی خریداری شدند. سپس موش‌ها به آزمایشگاه حیوانی دانشگاه شیراز انتقال یافتند و در اتاقی مخصوص برای نگهداری موش‌های صحرایی با دمای ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲-۱۲ که به صورت خودکار تنظیم می‌شدند، قرار گرفتند. موش‌های صحرایی به مدت یک هفته با محیط آزمایشگاه آشنا شدند؛ به علت ایجاد بیماری دیابت هر ۲ سر موش صحرایی در یک قفس مخصوص از جنس پلی‌کربنات قرار گرفتند. غذای موش‌ها به صورت آزاد و استاندارد برای حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب مورد نیاز موش‌ها به صورت آزاد در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری مخصوص حیوانات آزمایشگاهی در دسترس آن‌ها بود. این مطالعه دارای کد اخلاق IR.US.PSYEDU.REC.1403.042 می‌باشد.

### به وزن رساندن موش‌های صحرایی

موش‌های صحرایی به‌مدت چهار هفته تحت غذای کنترل‌شده 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 (۳

گرم/کیلوگرم)، پودر مخمر (۱ گرم/کیلوگرم) و کلریدسدیم (۱ گرم/کیلوگرم) قرار گرفتند تا به میانگین وزن ۲۰ ± ۲۸۰ گرم رسیدند (۱۳). لازم به ذکر است غذای گروه شاهد و گروه تمرین یکسان بود.

### روش القای دیابت نوع ۲

برای ایجاد T2D دو مرحله تزریق به موش‌های صحرایی شد. مرحله‌ی اول، محلولی از نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن را به صورت داخل صفاقی تزریق شد. مرحله‌ی دوم، ۱۵ دقیقه بعد از اولین تزریق، محلولی از استرپتوزوتوسین (STZ) حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH = ۴/۵ بود با دوز ۶۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن را به صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای مطمئن شدن از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، سه روز بعد از تزریق، قند خون آن‌ها با دستگاه اندازه‌گیری قند خون ساخت کشور آلمان، حاصل از سیاهرگ دم موش‌ها، سنجیده شد. قند خون بین ۱۲۶ تا ۲۶۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر شاخص دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۱۴، ۱۵). سپس موش‌های صحرایی به گروه شاهد و گروه تمرین (هر گروه ۶ سر) تقسیم شدند.

### مؤلفه‌های تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)

### آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت

قبل از شروع برنامه تمرین اصلی HIIT، آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت بر روی گروه پایلوت (۵ سر) که حدوداً یک هفته جلوتر از گروه تمرین اصلی بودند، جهت تنظیم و کنترل سرعت رت‌های گروه تمرین اصلی انجام گرفت. این رت‌های گروه پایلوت با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه سرعت نوارگردان ۵ متر بر دقیقه افزایش یافت تا رت‌ها به خستگی رسیدند. معیار خستگی رت‌ها چسبیدن به انتهای تردمیل بود. سرعتی که در آن رت‌ها به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد (۱۶). این آزمون فقط برای گروه پایلوت انجام شد و گروه تمرین اصلی یک هفته بعد بر اساس حداکثر سرعت تعیین شده دویدند.

### پروتکل اصلی HIIT

قبل از شروع پروتکل اصلی موش‌های صحرایی گروه تمرین به مدت یک هفته با تردمیل آشنا شدند و به این صورت که دو روز اول موش‌های صحرایی فقط بروی تردمیل خاموش قرار داده شدند و در پنج روز بعدی با سرعتی حدود ۲ تا ۱۰ متر بر دقیقه آشناسازی انجام شد. برنامه‌ی تمرینی اصلی به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هر هفته انجام شد. برنامه HIIT به این صورت بود که موش‌های صحرایی قبل از هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه (معادل ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت) گرم کردند. سپس برنامه‌ی تمرین شامل ۵ نوبت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت (معادل ۲۰ تا ۳۲ متر بر دقیقه) و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت (معادل ۱۵ تا ۱۸ متر بر دقیقه) انجام شد. در پایان هر جلسه نیز رت‌ها با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه (معادل ۳۰ تا ۵۰ درصد حداکثر سرعت) سرد کردند. شیب تردمیل در مدت هشت هفته، صفر بود (۱۷).

### روش بافت‌برداری

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس رت‌ها در زمان اجرای برنامه تمرینی، بعد از ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، رت‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت بطن چپ قلب بدن حیوان برداشته و بعد از شستشو در سرم فیزیولوژیک، بلافاصله در تانک ازت منجمد شد. سپس نمونه‌های بافتی برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر گذاشته شد.

### روش آزمایشگاهی وسترن‌بلات

از روش وسترن‌بلات برای سنجش میزان PERK و NRF2 در بافت بطن چپ قلب استفاده شد. برای لیز کردن بافت‌ها از Lysis buffer استفاده شد و سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ مدل Eppendorph 5415 R در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع شفاف (Supernatant) حاوی پروتئین استخراج و در فریزر منفی ۲۰ نگهداری شد. تعیین غلظت پروتئین به‌وسیله بردفورد انجام شد. سپس آب را قطره‌قطره اضافه گردید تا محلول حاصل به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید. محلول تهیه شده با کاغذ صافی دو بار صاف شده و در بطری تیره داخل یخچال نگهداری شد. تهیه غلظت های مختلف BSA برای کشیدن منحنی استاندارد به منظور اندازه‌گیری میزان پروتئین استفاده شد. نمونه‌های پروتئینی تهیه شده به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. ژل SDS page از پلیمرآکریل آمید ساخته شد و سپس محلول ژل در فضایی بین دو شیشه ریخته شد به‌طوری که تا دوسوم شیشه‌ها پر گردید. شیشه‌های حاوی ژل، درون تانک الکتروفوز قرار داده شدند. بافر الکتروفور اضافه گردید و سپس به میزان دو میکرولیتر در چاهک اول و نمونه‌ها در سایر چاهک‌ها به میزان ۱۲ میکرولیتر توسط سرنگ همیلتون ریخته شدند. سپس الکترودها را به دستگاه مولد جریان وصل گردید و تا رسیدن پروتئین‌ها به ژل پایین، حدود ۴۵ دقیقه جریان با ولتاژ ۱۲۰ برقرار شد. انتقال نمونه‌ها از ژل به کاغذ توسط جریان الکتریکی صورت گرفت. بعد از اتمام الکتروفوز ژل به آرامی از شیشه‌ها جدا شده و در بافر انتقال قرار گرفت. سپس کاغذ PVDF به اندازه‌ی ژل بریده شده و برای فعال‌شدن به مدت ۱ دقیقه در متانول شیک‌شده و با آب مقطر شسته شد و درون بافر انتقال قرار گرفت. در نهایت

دستگاه و با ولتاژ ۱۲۰ میلی‌ولت به مدت یک ونیم ساعت به منبع مولد جریان متصل گشته و پروتئین‌های موجود در ژل به کاغذ منتقل گردید. پس از پایان یافتن زمان بلاکینگ کاغذ با آنتی‌بادی اولیه‌ای به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت انکوبه گردید. سپس کاغذ با آنتی‌بادی ثانویه با غلظت (۱:۱۰۰۰) برای تمام آنتی‌بادی‌های اولیه به مدت یک ساعت و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق شیک شد. پس از شستشوی نهایی کاغذ PVDF روی سلفون قرار گرفت و محلول کمولومینسانس با سمپلر روی نواحی باند مورد نظر ریخته شد. کاغذ در سلفون گذاشته شد و درون کاست فیلم قرار داده شد. برای مشاهده باند پروتئینی فیلم عکاسی را بر کاغذ گذاشته شد و در کاست بسته شد. 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 را با آب جاری شسته و با گیره آویزان کرده تا خشک شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

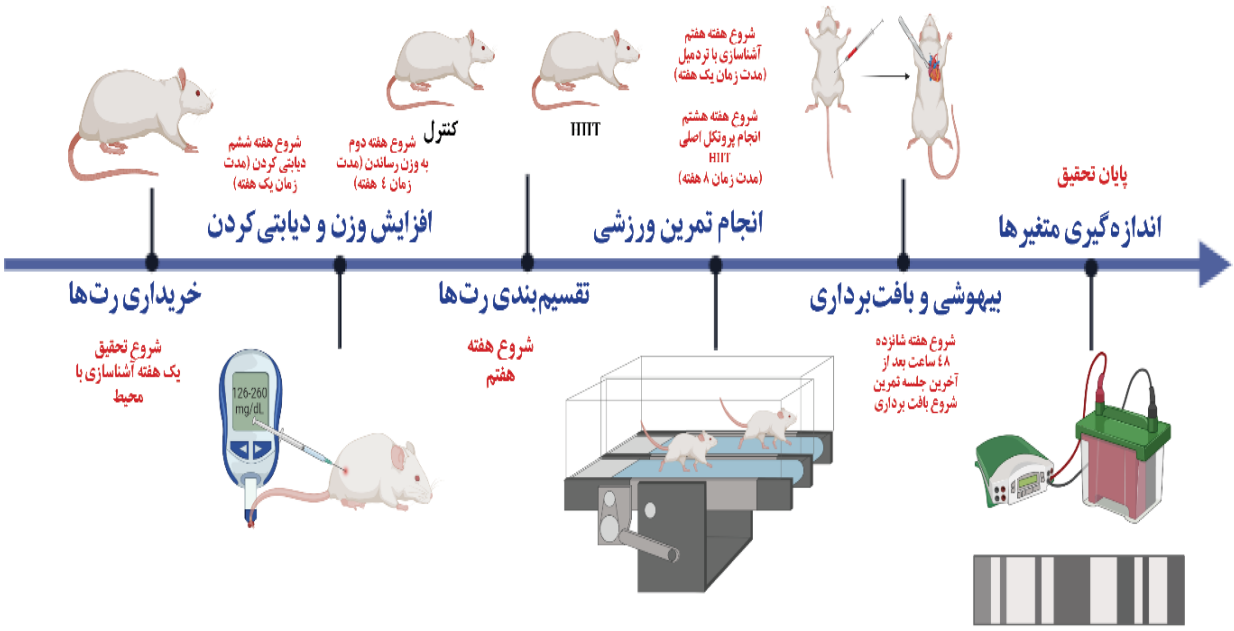
نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون آماری Shapiro-Wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، داده‌های متغیرهای مطالعه از طریق آزمون های آماری Independent sample T-test تجزیه و تحلیل شدند. بررسی داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه‌ی ۲۹ (version 29, IBM Corporation, Armonk, NY) و گراف‌پد پریسم نسخه ۱۰/۲/۳ انجام گرفت. اندازه‌ی اثر از طریق آزمون Choen'd بررسی شد. شکل ۱ از طریق نرم‌افزار ادوبی ایندیزاین نسخه‌ی ۲۰۲۳ و شکل ۲ از طریق نرم‌افزار گراف‌پد پریسم طراحی گردید. سطح معنی‌داری $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

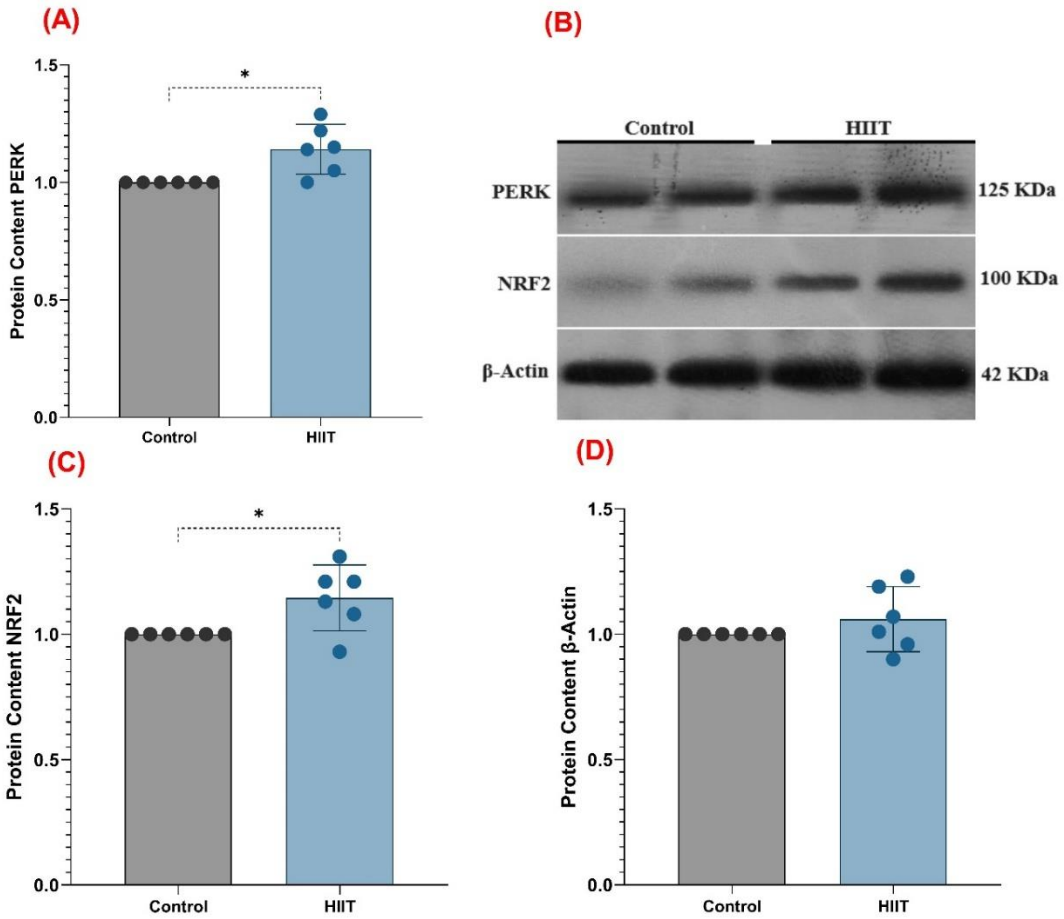
تجزیه و تحلیل محتوای پروتئین PERK به دنبال ۸ هفته HIIT، با مقدار Independent sample T-test (۳/۲۶) تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد در بطن چپ قلب نشان داد ($P = ۰/۰۰۹$) (شکل ۲). اندازه‌ی اثر Choen'd، برای پروتئین PERK برابر با ۱/۸۸ بود ($EF = ۱/۸۸$).

همچنین محتوای پروتئین NRF2 به دنبال ۸ هفته HIIT، با مقدار آزمون Independent sample T-test (۲/۷۰) تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد در بطن چپ قلب نشان داد ($P = ۰/۰۲$) (شکل ۲). اندازه‌ی اثر Choen'd، برای پروتئین NRF2 برابر با ۱/۵۶ بود ($EF = ۱/۵۶$).

در مقابل محتوای پروتئین β-Actin به دنبال ۸ هفته مقاومتی، با مقدار آزمون Independent sample T-test (۱/۱۳) تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد در بطن چپ قلب نشان نداد ($P = ۰/۲۳$) (شکل ۲). اندازه‌ی اثر Choen'd، برای پروتئین β-Actin برابر با ۰/۶۵ بود ($EF = ۰/۶۵$).




شکل ۱. تصویر شماتیک از فرایند اجرای مطالعه




**شکل ۲. مقایسه‌ی محتوای پروتئین‌ها در گروه‌های تمرین HIIT و شاهد در بطن چپ قلب.**

**(A). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین PERK در مقابل لودینگ کنترل.**

**(B). تصاویر وسترن‌بلات محتوای پروتئین‌ها و β-Actin به‌عنوان لودینگ کنترل در بطن چپ قلب.**

**(C). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین NRF2 در مقابل لودینگ کنترل.**

**(D). نمودار ستونی نشان‌دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین β-Actin در مقابل لودینگ کنترل.**

**(*: وجود افزایش معنی‌دار بین گروه تمرین HIIT نسبت به گروه شاهد در سطح P = ۰/۰۵)**

## بحث

در سال‌های اخیر، برنامه‌ی HIIT به دلیل فواید بالقوه‌ی آن برای سلامت قلب و عروق، عملکرد متابولیک و عملکرد بدنی مورد توجه قرار گرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی تأثیر HIIT بر محتوای پروتئین‌های مرتبط با استرس شبکه آندوپلاسمیک در بطن چپ قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ انجام شد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان‌دهنده‌ی افزایش قابل توجه محتوای پروتئین PERK و NRF2 در بطن چپ قلب پس از یک برنامه ۸ هفته‌ای HIIT در مقایسه با گروه شاهد بود. این نتیجه همسو با مطالعه‌ای است که گزارش داد، هر دو پروتئین PERK و NRF2 نقش مهمی از طریق بهبود استرس شبکه‌ی آندوپلاسمی با افزایش PERK و NRF2 در بافت میوکارد موش پس از آسیب ایسکمی و خون‌رسانی مجدد دارند (۱۸).

استرس ER که به شدت با بیماری‌های قلبی- عروقی مرتبط است، با اختلال در عملکرد ER به دلیل تا شدن ا شتباه پروتئین ایجاد می شود (۱۹). اختلال طولانی‌مدت ER باعث ا ستر س ER و فعال شدن پا سخ پروتئین تا نشده می‌شود و منجر به بیماری های مختلف می‌گردد. سلول‌های یوکاریوتی از طریق حسگر ا صلی PERK که به غشای ER متصل هستند به استرس ER پاسخ می‌دهند. در نتیجه ممکن است PERK در پاسخ به استرس ER فعال شود و منجر به کاهش سنتز پروتئین عمومی شود و به سلول اجازه دهد تا روی تا کردن مجدد پروتئین‌های معیوب و بازیابی عملکرد طبیعی تمرکز کند (۱۹).

علاوه بر این، کاهش استرس ER اخیرا به عنوان یک هدف درمانی بالقوه برای درمان بیماری‌های قلبی عروقی مانند نارسایی قلبی، فشار خون بالا و آترواسکلروز پذیرفته شده است (۱۹). در مقابل تمرین ورزشی یک رویکرد غیردارویی مؤثر برای پیشگیری و کاهش بیماری‌های قلبی- عروقی در نظر گرفته شده است که می‌تواند این هدف را محقق سازد (۱۹). افزایش محتوای پروتئین PERK ممکن است توانایی قلب برای مدیریت استرس ER را افزایش دهد، که می‌تواند به طور ویژه در دوره‌های افزایش بار کاری، مانند هنگام تمرین، مفید باشد. در مورد برنامه HIIT، افزایش سطوح PERK ممکن است نشان‌دهنده‌ی یک مکانیسم سازگاری برای کنترل استرس فیزیولوژیکی تحمیل شده توسط تمرین با شدت بالا باشد تا از حفظ هموستاز سلول‌های قلبی اطمینان حاصل کند. بنابراین به نظر می‌رسد محتوای پروتئین PERK یک بازیکن کلیدی در پاسخ پروتئین تا نشده (UPR) است که به سلول‌ها کمک می‌کند تا با شرایط استرس مانند شرایط ناشی از ورزش کنار بیایند.

به طور مشابه، در مطالعه‌ی حاضر محتوای پروتئین NRF2 نیز افزایش قابل توجهی را در بطن چپ پس از HIIT نشان داد. به نظر می‌رسد مکانیسم این یافته با نتایج مطالعه‌ای همسو بود که نشان داد NRF2 به دلیل نقش خود در تنظیم پاسخ‌های آنتی اکسیدانی و محافظت از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو شناخته شده است، که به طور ویژه به عملکرد قلب مرتبط است (۲۰). قابل ذکر است NRF2 در درجه اول بیان ژن‌های آنتی اکسیدانی را تنظیم می‌کند و در شرایط استرس اکسیداتیو، NRF2 به هسته منتقل می‌شود و رونویسی ژن‌های دخیل در سم‌زدایی و دفاع آنتی اکسیدانی را فعال می‌کند (۲۰). افزایش قابل توجه سطح NRF2 پس از HIIT نشان می‌دهد که قلب به استرس اکسیداتیو مرتبط با تمرین شدید پاسخ می‌دهد و توانایی آن را برای مقابله با آسیب احتمالی افزایش می‌دهد (۲۱). این سازگاری می‌تواند به بهبود عملکرد قلب و انعطاف‌پذیری در برابر آسیب‌های ناشی از استرس منجر شود. افزایش سطح NRF2 نشان دهنده تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در قلب است. این یافته بسیار مهم است زیرا تمرین شدید می‌تواند منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شود که می‌تواند به سلول‌های قلبی آسیب برساند. با افزایش فعالیت NRF2، قلب می‌تواند استرس اکسیداتیو را بهتر مدیریت کند و به طور بالقوه خطر آسیب قلبی ناشی از تمرین شدید را کاهش دهد (۲۱). این نتایج با مطالعه‌ای همسو بود که بیان کرد، تمرین بدنی مسمومیت سلولی را کاهش می‌دهد و بیان NRF2 را در سلول‌های گردش خون بیماران مبتلا به بیماری شریان محیطی تنظیم می‌کند (۲۲).

اگرچه PERK و NRF2 از طریق مکانیسم‌های متفاوتی عمل می‌کنند، اما ممکن است به صورت هم افزایی تعامل داشته باشند. فعال‌سازی UPR از طریق PERK می‌تواند محیط سلولی را به گونه‌ای تحت تأثیر قرار دهد که فعالیت NRF2 را افزایش دهد. به عنوان مثال، اگر فعال سازی PERK منجر به بهبود تاخوردگی پروتئین و کاهش استرس سلولی شود، ممکن است شرایطی ایجاد کند که اقدامات محافظتی NRF2 در برابر آسیب اکسیداتیو را تسهیل کند (۲۳). یافته های مربوط به PERK و NRF2 به طور وسیع‌تر به چگونگی تأثیر HIIT بر سلامت قلبی عروقی مرتبط هستند. از این‌رو، تعجب‌آور نیست که برنامه‌ی HIIT برای بهبود پارامترهای مختلف قلبی- عروقی، از جمله تغییرات ضربان قلب، فشارخون و برونده کلی قلب شناخته شده است (۲۳). از این‌رو به نظر می‌رسد افزایش PERK و NRF2 ممکن است با افزایش توانایی قلب برای پاسخ به استرس و بهبودی نیازهای فیزیولوژیکی تمرین شدید همراه باشد. لذا به نظر می‌رسد سازگاری بافت قلب با HIIT یک پدیده‌ی چندوجهی است. زیرا افزایش بیان پروتئین PERK و NRF2 ممکن است بخشی از یک پاسخ تطبیقی گسترده‌تر باشد که شامل تغییرات در عملکرد میتوکندری، رگ‌زایی و بهبود کارآیی متابولیک است. این سازگاری‌ها به طور کلی توانایی قلب را برای عملکرد تحت استرس و ریکاوری بعد از تمرین افزایش می‌دهند.

درک مکانیسم‌های مولکولی پشت سازگاری‌های ناشی از HIIT می‌تواند پیامدهای اقدامات بالینی را شفاف‌تر کند. برای افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی یا کسانی که در معرض خطر هستند، گنجاندن HIIT در برنامه‌های توانبخشی می‌تواند مفید باشد. افزایش پروتئین‌های پاسخ به استرس مانند PERK و NRF2 ممکن است به کاهش خطرات مرتبط با ورزش و بهبود سلامت کلی قلب کمک کند. در حالی که یافته‌ها امیدوارکننده هستند، تحقیقات بیشتری برای بررسی اثرات بلندمدت HIIT بر بیان PERK و NRF2 و پیامدهای عملکردی آنها مورد نیاز است. مطالعات می‌توانند بررسی کنند که چگونه تغییرات در پروتکل‌های HIIT (به عنوان مثال، مدت، شدت، فرکانس) بر این پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارد و آیا سازگاری‌های مشابه در جمعیت های مختلف، از جمله افراد مسن یا افرادی که تحت شرایط بیماری قلبی هستند، رخ می‌دهد یا خیر.

به طور خلاصه، افزایش قابل توجه محتوای پروتئین PERK و NRF2 در بطن چپ پس از ۸ هفته HIIT، پاسخ‌های سازگاری قلب به تمرینات بدنی شدید را برجسته می‌کند. با تمرکز بر روی PERK و NRF2 برای پاسخ‌های استرس ER که دفاع آنتی‌اکسیدانی را تقویت می‌کند هر دو پروتئین نقش مهمی در مدیریت استرس سلولی ایفا می‌کنند. فعل و انفعال بین این پروتئین‌ها مکانیسم هماهنگ سلولی را نشان می‌دهد که توسط آن قلب با نیازهای ورزش‌های شدید

سازگار می‌شود. این یافته‌ها نه تنها به درک ما از فیزیولوژی قلب کمک می‌کند، بلکه بر پتانسیل HIIT به عنوان یک استراتژی درمانی برای افزایش سلامت قلب و عروق تاکید می‌کند. تحقیقات آینده باید به بررسی پیامدهای این سازگاری‌ها و ارتباط آنها در جمعیت‌های مختلف مبتلا به بیماری های قلبی ادامه دهد و در نهایت با هدف بهینه‌سازی مداخلات ورزشی برای بهبود نتایج قلبی تلاش کنند.

## نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های این مطالعه به نظر می‌رسد ورزش HIIT می‌تواند از طریق محتوای پروتئین PERK و NRF2 در بطن چپ پس از ۸ هفته HIIT استرس سلولی و استرس ER را کاهش دهد و یک ابزار طلایی برای افراد مبتلا به بیماری قلبی در نظر گرفته شود.

یکی از محدودیت های مطالعه، هزینه‌بر بودن همزمان مسیر های بالادستی و پایین دستی استرس شبکه آندوپلاسمی است که توصیه می‌شود محققان آتی پروتئین های مذکور در این مطالعه را همراه با پروتئین های بالادستی و پایین دستی این فرایند بررسی نمایند. شایان ذکر است استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی همزمان مثل وسترن بلات و ریل تایم PCR می‌توانند بر تأیید بیشتر یافته‌های این مقاله کمک نمایند.

## تشکر و قدردانی

نتایج گزارش شده حاصل تلاش رساله‌ی کارشناسی ارشد (۱۶۷۷۶۸) نویسندگان این مقاله است که در مؤسسه آموزش عالی آپادانا شیراز انجام شده است. از همه‌ی افرادی که در انجام و جمع‌آوری این پژوهش ما را یاری کردند، کمال تشکر را داریم.

## References

1. Sherafati-Moghadam M, Pahlavani HA, Daryanoosh F, Salesi M. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on protein expression in Flexor Hallucis Longus (FHL) and soleus (SOL) in rats with type 2 diabetes. J J Diabetes Metab Disord 2022; 21(2): 1499-508.
2. Pahlavani HA, Rajabi H, Nabiuni M, Motamedi P, Khaledi N. The effect of anaerobic exercise with melatonin consumption on the expression of Bax and Bcl-2 markers in rat myocardium after ischemic-reperfusion [in Persian]. Med J Tabriz Uni Med Sciences 2019; 41(3): 68-77.
3. Mahmoudi Kohani HA, Aghaee Meybodi SMR, Askari M. Diabetes family school: benefits and difficulties [in Persian]. J Jiroft Univ Med Sci 2021; 7(4): 478-9.
4. Shabani M, Sharafati Moghadam M, Daryanoosh F, Alizade Pahlavani H. The effect of four weeks high intensity interval training (HIIT) and aerobic training on troponin T content in healthy male Wistar rats myocardial tissue [in Persian]. J Sabzevar Univ Med Sci 2017; 24(5): 305-10.
5. Kostina A, Lewis-Israeli YR, Abdelhamid M, Gabalski MA, Volmert BD, Lankerd H, et al. ER stress and lipid imbalance drive embryonic cardiomyopathy in a human heart organoid model of pregestational diabetes. bioRxiv. 2023: 2023.
6. Doğanyiğit Z, Okan A, Taheri S, Yılmaz Z, Akyüz E, Demir N. Evaluation of linagliptin and insulin combined therapy on unfolded protein response in type 1 diabetic mouse heart. Chem Biol Drug Des 2023; 102(5): 1085-96.
7. Prasad MK, Victor PS, Ganesh GV, Juttada U, Kumpatla S, Viswanathan V, et al. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor suppresses endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in diabetic nephropathy through Nrf2 signaling: a clinical and experimental study. J Clin Pharmacol 2024; ;64(10): 1193-203.
8. Du H, Ma Y, Wang X, Zhang Y, Zhu L, Shi S, et al. Advanced glycation end products induce skeletal muscle atrophy and insulin resistance via activating ROS-mediated ER stress PERK/FOXO1 signaling. Am J Physiol Endocrinol Metab 2023; 324(3): E279-E87.
9. Yuvaraj S, Ajeeth AK, Puhari SSM, Abhishek A, Ramprasath T, Vasudevan V, et al. Chrysin protects cardiac H9c2 cells against H2O2-induced endoplasmic reticulum stress by up-regulating the Nrf2/PERK pathway. Mol Cell Biochem 2023; 478(3): 539-53.
10. Liu Z-W, Zhu H-T, Chen K-L, Dong X, Wei J, Qiu C, et al. Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) signaling pathway plays a major role in reactive oxygen species (ROS)-mediated endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in diabetic cardiomyopathy. Cardiovasc Diabetol 2013; 12: 258.
11. Lakshmanan AP, Harima M, Suzuki K, Soetikno V, Nagata M, Nakamura T, et al. The hyperglycemia stimulated myocardial endoplasmic reticulum (ER) stress contributes to diabetic cardiomyopathy in the transgenic non-obese type 2 diabetic rats: a differential role of unfolded protein response (UPR) signaling proteins. Int J Biochem Cell Biol 2013; 45(2): 438-47.
12. Chang X, Liu R, Li R, Peng Y, Zhu P, Zhou H. Molecular mechanisms of mitochondrial quality control in ischemic cardiomyopathy. I Int J Biol Sci 2023; 19(2): 426.
13. Fathi R, Ebrahimi M, Khenar Sanami S. Effects of high fat diet and high intensity aerobic training on interleukin 6 plasma levels in rats [in Persian]. Pathobiology Research 2015; 18(3): 109-16.
14. Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Sivakumar SM, 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. Korean J Physiol Pharmacol 2018; 22(5): 493-501.
15. Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with

simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. J Asian Nat Prod Res 2017; 19(10): 1011-21.
**16.** 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. Am J Cardiovasc Dis 2017; 7(2): 64.
**17.** Khoramshahi S, Kordi M, 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 [in Persian]. Iranian J Endocrinol Metabol 2017; 18(5).
**18.** Wang J, Lu L, Chen S, Xie J, Lu S, Zhou Y, et al. Up-regulation of PERK/Nrf2/HO-1 axis protects myocardial tissues of mice from damage triggered by ischemia-reperfusion through ameliorating endoplasmic reticulum stress. Cardiovasc Diagn Ther 2020; 10(3): 500-11.
**19.** Hong J, Kim K, Kim J-H, Park Y. The role of endoplasmic reticulum stress in cardiovascular disease and exercise. Int J Vasc Med 2017; 2017(1): 2049217.
**20.** Narasimhan M, Rajasekaran N-S. Cardiac Aging–Benefits of Exercise, Nrf2 Activation and Antioxidant Signaling. Adv Exp Med Biol 2017; 999: 231-55.
**21.** Vargas-Mendoza N, Morales-González Á, Madrigal-Santillán EO, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I, García-Melo LF, et al. Antioxidant and adaptative response mediated by Nrf2 during physical exercise. Antioxidants (Basel) 2019; 8(6): 196.
**22.** Pasini AMF, Stranieri C, Rigoni AM, De Marchi S, Peserico D, Mozzini C, et al. Physical exercise reduces cytotoxicity and up-regulates nrf2 and upr expression in circulating cells of peripheral artery disease patients: an hypoxic adaptation? J Atheroscler Thromb 2018; 25(9): 808-20.
**23.** Fronchetti L, Nakamura FY, De-Oliveira FR, Lima-Silva AE, De Lima JR. Effects of high-intensity interval training on heart rate variability during exercise. Journal of Exercise Physiology Online 2007; 10(4).

DOI: 10.48305/jims.v43.i808.0255

**Journal of Isfahan Medical School** **Vol. 43, No. 808, 4th Week, May 2025**

Received: 10.09.2024 Accepted: 13.04.2025 Published: 19.05.2025

# The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the Content of Endoplasmic Reticulum (ER) Stress-Related Proteins in the Left Ventricle of the Heart of Type 2 Diabetic Rats

Fatemeh Solhdoust[1], Hamed Alizadeh Pahlavani[2], Mohammad Sherafati Moghadam[1]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** In recent years, high-intensity interval training (HIIT) has been considered as an effective exercise method to improve cardiovascular health in people with type 2 diabetes. Therefore, the aim of the current study was to investigate the effect of HIIT on the content of endoplasmic reticulum stress-related proteins PERK and NRF2 in the left ventricle of type 2 diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 12 2-month-old male Sprague Dawley rats with an average weight of 280 ± 20 grams were selected. Type 2 diabetes was induced by injecting nicotinamide and streptozotocin solutions. The rats were randomly divided into 2 groups, resistance training and diabetic control; The HIIT program consisted of 5 bouts of 4 minutes with an intensity equal to 85 to 95% of the maximum speed (equivalent to 20 to 32 m/min) and active rest periods of 3 minutes with an intensity equal to 50 to 60% of the maximum speed (equivalent to 15 to 18 m/min). Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc tests at a significance level of $P \leq 0.05$.

**Findings:** The HIIT program increases PPERK and NRF2 (P = 0.009 and P = 0.02, respectively) after 8 weeks of exercise in type 2 diabetic rats.

**Conclusion:** It seems that HIIT exercise can be recommended by health professionals for people with type 2 diabetes to prevent heart disease.

**Keywords:** High-intensity interval training; Endoplasmic reticulum stress; Left heart ventricle; Type 2 diabetes

**Citation:** Solhdoust F, Alizadeh Pahlavani H, Sherafati Moghadam M. **The Effect of High-Intensity Interval Training (HIIT) on the Content of Endoplasmic Reticulum (ER) Stress-Related Proteins in the Left Ventricle of the Heart of Type 2 Diabetic Rats.** J Isfahan Med Sch 2025; 43(808): 255-63.

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

2- Department of Physical Education, Farhangian University, P.O. Box 14665-889, Tehran, Iran

**Corresponding Author:** Hamed Alizadeh Pahlavani, Department of Physical Education, Farhangian University, P.O. Box 14665-889, Tehran, Iran; Email: ha.alizadeh@cfu.ac.ir