



Effect of Aerobic Interval Training on the Expression of Cardiac A20 and CYLD Proteins in a Rat Model of Myocardial Infarction

Neghar Rostami^{1*}, Roghayyeh Afroundeh¹, Farnaz Seifi Askshahr¹, Ameneh Pourrahim Ghouroghchi¹

Receive 2025 March 04; Accepted 2025 May 20

Abstract

Aim: Myocardial ischemia/reperfusion injury (MI/RI) is one of the determining factors of cardiovascular disease disorders, which is associated with cell death caused by inflammation and impaired activity of deubiquitinating proteins. The aim of the present study was to determine the effect of Interval aerobic training on the expression of A20 and CYLD proteins in the heart tissue of male myocardial infarction model mice. **Methods:** In this experimental study, 30 16-week-old male Wistar rats weighing 220 to 280 gr were randomly divided into three groups: control (healthy), myocardial infarction (MI), and interval training. Myocardial infarction was performed by direct intervention with LAD occlusion for 30 minutes. Interval protocol with moderate intensity of 60 minutes of intermittent running on a treadmill, each interval including 4 minutes of running with an intensity of 65-70% of VO₂max and 2 minutes of active recovery with an intensity of 50-60% of VO₂max, three days a week and for 8 weeks. Western blotting was used to examine the expression of A20 and CYLD proteins. Data were compared using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test at a significance level of $p < 0.05$. **Result:** The result of Tukey's post hoc test for the A20 variable showed that the expression level of this protein in the MI group was significantly lower than that of the healthy control group ($p = 0.01$). Also, the expression level of A20 protein in the interval training+MI group was significantly increased compared to the MI group and the healthy control group ($p = 0.001$, $p = 0.03$, respectively). The results showed that although the expression level of CYLD protein in the MI group was reduced compared to the healthy control group; but it was not statistically significant ($p = 0.06$). Also, the expression level of CYLD protein in the interval training+MI group was increased compared to the healthy control and MI groups ($p = 0.01$, $p = 0.001$, respectively). **Conclusion:** Interval aerobic training may prevent inflammation-induced cell death by increasing the expression of cardiac A20 and CYLD proteins. Therefore, Interval aerobic training can be suggested as an effective non-pharmacological intervention in the management and treatment of inflammation associated with myocardial infarction. However, due to the lack of evidence and research limitations, further investigation is still required.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

*(corresponding author)

(rostami.n86@gmail.com)

Keywords: Aerobic interval training, myocardial infarction, A20, CYLD

Cite as: Rostami, Neghar. Afroundeh, Roghayyeh. Seifi Skishahr, Farnaz. Pourrahim Ghouroghchi, Ameneh. Effect of Aerobic Interval Training on the Expression of Cardiac A20 and CYLD Proteins in a Rat Model of Myocardial Infarction. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2026; 13(1): 144-155.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/jahssp.2025.30394.1723

:



Extended abstract

Background

Myocardial ischemia/reperfusion injury (MI/RI) is one of the determining factors of cardiovascular disease disorders, which is associated with cell death caused by inflammation and impaired activity of deubiquitinating proteins. The aim of the present study was to determine the effect of Interval aerobic training on the expression of A20 and CYLD proteins in the heart tissue of male myocardial infarction model mice.

Materials and Methods

Experimental design

In this experimental study, 30 16-week-old male Wistar rats weighing 220 to 280 gr were randomly divided into three groups: control (healthy), myocardial infarction (MI), and interval training. Myocardial infarction was performed by direct intervention with LAD occlusion for 30 minutes. All animal experiments were done according to ethical guidelines and license of University of Mohaghegh Ardabili with IR number. IR.UMA.REC.1403.012 is done.

Training protocol

Determination of speed vVO₂max of rats: First, an exercise capacity test was performed to estimate VO₂max. For this purpose, each rat first warmed up for 10 minutes at a speed of 10 m/min and a slope of 10 degrees. Then, an incremental exercise test was started, in which the incline of the treadmill was fixed at 25 degrees and every two minutes, the speed of the treadmill was increased by 0.03 m/s (about 1.8-2 m/min) until the rat was unable to continue the exercise activity (the criterion was 3 falls on the shock or exiting the treadmill). The speed of reaching exhaustion was recorded as the speed vVO₂max.

High-intensity interval training protocol: Interval protocol with moderate intensity of 60 minutes of intermittent running on a treadmill, each interval including 4 minutes of running with an intensity of 65-70% of VO₂max and 2 minutes of active recovery with an intensity of 50-60% of VO₂max, three days a week and for 8 weeks.

Extraction of laboratory animal tissue: After the intervention, the rats were dissected. For dissection, the rats were first anesthetized with ketamine (150 mg/kg) and xylazine (15 mg/kg), then placed on their backs on the dissection board, their arms and legs were stretched and tied in a cruciform position, and finally, after cutting and removing the superficial tissues, the heart muscle was removed. Tissue samples were extracted by homogenization in lysis buffer with a concentration of 100 mg of tissue per ml of buffer. The homogenized samples were centrifuged on ice for 40 minutes at 12,000 rpm. Then, the superficial part of the centrifuge was collected and stored at -80°C until analysis.

Assessment of studied factors: In this study, the expression of cardiac A20 and CYLD proteins was measured. For this purpose, the primary antibodies A20 (A20/TNFAIP3 Antibody (59A426):sc-52910) and CYLD (cylindromatosis 1 Antibody (E-10):sc-74435) were diluted 1:500 in antibody binding buffer overnight at 4°C. Then, the immunoblotted samples were washed three times in TBS buffer for 10 minutes and then incubated in secondary antibody solution diluted 1:500 for one hour. Subsequently, the immunoblotted proteins were detected using ECL luminal reagent (Santa Cruz Biotechnology) after washing three times in TBS buffer. Then, after being covered with a nylon sheet, the radiographic film was exposed to luminescence light and the density of the bands was determined after normalization with beta-actin using software (Image J, Maryland, USA).

Statistical analysis

After collecting data and calculating the mean and standard deviation of data using descriptive statistics, Shapiro Wilk test was used to determine the normal distribution of data. Data were compared using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test at a significance level of $p < 0.05$.

Results

The result of Tukey's post hoc test for the A20 variable showed that the expression level of this protein in the MI group was significantly lower than that of the healthy control group ($p = 0.01$). Also, the expression level of A20 protein in the interval training+MI group was significantly increased compared to the MI group and the healthy control group ($p = 0.001$, $p = 0.03$, respectively). The results showed that although the expression level of CYLD protein in the MI group was reduced compared to the healthy control group; but it was not statistically significant ($p = 0.06$). Also, the expression level of CYLD protein in the interval training+MI group was increased compared to the healthy control and MI groups ($p = 0.01$, $p = 0.001$, respectively).



Discussion

It is thought that the decrease in the expression of cardiac A20 and CYLD proteins occurred as a regulatory response to inhibit excessive inflammation and protect cardiac tissue from further damage. Studies show that myocardial ischemia increases inflammatory cytokines and exacerbates cardiomyocyte cell death, which is associated with structural and functional damage to the myocardium. Several studies have shown that deubiquitinases act as important molecular switches by regulating signaling pathways including: cellular inflammation, apoptosis, autophagy, mitochondrial homeostasis, degradation, localization, and protein function by reversing substrate ubiquitination, and play a role in the progression of various diseases including cardiovascular disorders and metabolic changes. Very few studies have investigated the effect of interval training on the expression of deubiquitinated proteins A20 and CYLD; however, some possible mechanisms can be proposed based on existing physiological and molecular processes. Deubiquitination enzymes (DUBs) play a crucial role in regulating inflammation-induced cell death. These enzymes control inflammatory signaling and regulate cell death pathways such as apoptosis and necrosis by removing ubiquitin groups from proteins (7, 46). It is likely that interval training, by manipulating and increasing the expression of A20 and CYLD genes, is associated with reduced ubiquitination of molecules such as RIPK1 and RIPK3, preventing the activation of the inflammation-induced cell death pathway and necroptosis. This process protects cells from TNF- α -induced cell death and inflammation (47). Aerobic exercise is also associated with increased antioxidant capacity, reduced production of reactive oxygen species, and oxidative stress (48); reducing oxidative stress can improve the activity of DUBs such as A20 and CYLD, as these enzymes are downregulated under conditions of high oxidative stress (19). On the other hand, aerobic exercise, due to its anti-inflammatory effects, is likely to reduce TNF- α levels and TNFR1 expression, thereby reducing the sensitivity of cells to TNF- α . These changes in inflammatory signaling directly affect the expression of deubiquitinated proteins (DUBs) such as A20 and CYLD (49).

Article message

According to the research findings, interval aerobic training may prevent inflammation-induced cell death by increasing the expression of cardiac A20 and CYLD proteins. Therefore, Interval aerobic training can be suggested as an effective non-pharmacological intervention in the management and treatment of inflammation associated with myocardial infarction. However, due to the lack of evidence and research limitations, further investigation is still required.

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال سیزدهم، شماره اول؛

بهار و تابستان 1405؛ صفحات 144-155



مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین هوازی تناوبی بر مقدار بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی موش‌های نر مدل سکت قلبی

نگار رستمی^{1*}، رقیه افرونده¹، فرناز سیفی اسگ شهر¹، آمنه پوررحیم قورچی¹

تاریخ دریافت: 1403/12/14 تاریخ پذیرش: 1404/02/30

چکیده



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در
سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید.

1. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم
تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق
اردبیلی، اردبیل، ایران.
(نویسنده مسئول):
(rostami.n86@gmail.com)

هدف: آسیب ایسکمی/ خون‌رسانی مجدد میوکارد (MI/RI) یکی از عوامل تعیین‌کننده اختلالات بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد که با مرگ سلولی ناشی از التهاب و اختلال در فعالیت پروتئین‌های دیوبی کوئیتینه‌کننده همراه است. هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD در بافت قلب موش‌های نر مدل سکت قلبی بود. **روش پژوهش:** در مطالعه تجربی حاضر 30 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار 16 هفته‌ای با وزن 220 تا 280 گرم به‌طور تصادفی به سه گروه کنترل (سالم)، انفارکتوس میوکارد (MI) و MI+تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط تقسیم شدند. انفارکتوس میوکارد توسط مداخله مستقیم با بستن LAD به مدت 30 دقیقه انجام شد. پروتکل تمرین هوازی تناوبی با شدت متوسط 60 دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل، هر تناوب شامل 4 دقیقه دویدن با شدت 65-70 درصد VO_{2max} و 2 دقیقه بازیافت فعال با شدت 50-60 درصد VO_{2max} ، سه روز در هفته و به مدت 8 هفته انجام شد. به‌منظور بررسی بیان پروتئین‌های A20 و CYLD از روش وسترن بلات استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ مقایسه شدند. **یافته‌ها:** نتیجه آزمون تعقیبی توکی برای متغیر A20 نشان داد که میزان بیان این پروتئین در گروه MI به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل سالم بود ($p=0/01$). همچنین، میزان بیان پروتئین A20 در گروه تمرین MI+ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه MI و کنترل سالم افزایش داشت (به ترتیب: $p=0/001$, $p=0/03$). نتایج نشان داد هرچند میزان بیان پروتئین CYLD در گروه MI نسبت به گروه کنترل سالم کاهش یافت؛ اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/06$). همچنین، میزان بیان پروتئین CYLD در گروه تمرین MI+ نسبت به گروه کنترل سالم و MI افزایش یافت (به ترتیب: $p=0/01$, $p=0/001$). **نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی تناوبی احتمالاً با افزایش پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی و کاهش التهاب، از مرگ سلولی ناشی از آن جلوگیری می‌کند. با این حال، به دلیل کمبود شواهد و محدودیت‌های تحقیق، همچنان نیازمند بررسی‌های بیشتر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی تناوبی، سکت قلبی، A20، CYLD قلبی

نحوه ارجاع: رستمی، نگار، افرونده، رقیه، سیفی اسگ شهر، فرناز، پوررحیم قورچی، آمنه. "تأثیر تمرین هوازی تناوبی بر مقدار بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی موش‌های نر مدل سکت قلبی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. 1405؛ 13 (1): 144-155.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: 2676-6507

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/jahssp.2025.30394.1723

:



Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

افزایش A20 می‌تواند از سکتة مغزی ناشی از ایسکمیک محافظت کند (13). با این حال، تاکنون هیچ داده‌ای در مورد نقش A20 در پاتوژنز MI/RI منتشر نشده است (14).

در این راستا، گزارش شده است CYLD به‌عنوان یک آنزیم دی‌یوبی کوئیتیناسیون (DUB) زنجیره‌های پلی یوئیکوئیتین K63 را می‌شکند و موجب مهار IL-1، TNF و NF- κ B می‌شود (15). تغییر بیان ژن CYLD در پاتوژنز بیماری‌های مختلف مانند استئاتوهایپاتیت غیرالکلی (16)، التهاب روده (17) و بیماری‌های قلبی گزارش شده است (4، 14). علاوه بر این، نشان داده شده است CYLD بازسازی اختلال عملکرد قلب ناسازگار در پاسخ به اضافه بار فشار قلبی نقش دارد. یک مطالعه نشان داد CYLD از آریتمی قلبی ناشی از ISO پیشگیری کرد. این یافته‌ها نشان می‌دهد CYLD در پاسخ به محرک‌های پاتولوژیک مختلف، برای حفظ عملکرد قلب از طریق مکانیسم‌های مختلف نقش دارد (18). گزارش شده است بیان CYLD در وضعیت هیپرتروفی پاتولوژیک قلب انسان و موش در کاردیومیوسیت‌ها افزایش می‌یابد. همچنین، CYLD بقای موش‌ها را بهبود و هیپرتروفی میوکار، فیبروز، آپوپتوز، استرس اکسیداتیو و اختلال عملکرد قلبی را کاهش داد (19). گزارش شده است CYLD

با مهار فعالیت NF- κ B، تنظیم‌کننده مرکزی و اصلی التهاب، در سلول‌های اندوتلیال (ECs) و سلول‌های عضله صاف عروق، فعالیت ضدالتهابی دارد. بیان CYLD به‌طور قابل‌توجهی در پاسخ به یک محیط التهابی حاد، به‌عنوان ترمز درون‌زا در برابر تغییرات التهابی حاد عمل می‌کند (20). در یک مطالعه، عملکردهای پاتوفیزیولوژیکی CYLD در شروع آترواسکلروز مرتبط با سن، با تمرکز بر ECs و ماکروفاژها، دو عامل اصلی در محیط بالینی آسیب‌شناسی از نظر التهاب و متابولیسم لیپید گزارش شده است (20). با این حال، کلاسیکی و همکاران (2021) نشان دادند 10 هفته بستن شریان کرونری نزولی قدامی چپ و ایجاد MI هرچند موجب کاهش پروتئین یوئیکوئیتیناز USP19 شد؛ با این حال، تأثیری بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی نداشت (21). در مجموع، هرچند تحقیقات نشان داده‌اند دی‌یوبی کوئیتینازها با شناسایی پروتئین‌های سوبسترای مختلف و تنظیم انواع مسیرها و مکانیسم‌های سیگنالینگ در بیماری‌های قلبی یک تنظیم‌کننده اصلی می‌باشند (6، 22، 23)، با این حال، بررسی‌های بسیار محدودی در مورد نقش تنظیمی و اهمیت بالینی پروتئین‌های A20 و CYLD در آسیب ایسکمیک/خون‌رسانی مجدد میوکار و بیماری‌های قلبی وجود دارد که نیازمند بررسی‌های بیشتری در این زمینه می‌باشد.

در این راستا، ورزش اغلب به‌عنوان یک مداخله غیر دارویی برای توان‌بخشی و پیشگیری از سکتة قلبی استفاده می‌شود (24). علاوه بر این، تمرین ورزشی طیف وسیعی از اثرات مفید، از جمله محافظت از قلب در برابر انفارکتوس میوکار (25)، کاردیومیوپاتی لیپوتوکسیک و آسیب

مقدمه

آسیب ایسکمیک/خون‌رسانی مجدد میوکار¹ (MI/RI) یکی از عوامل تعیین‌کننده اختلالات بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد که با مرگ‌ومیر بالایی همراه است (1، 2). مکانیسم‌های MI/RI به مجموعه‌ای از فرآیندهای پاتولوژیک پیچیده، از جمله پاسخ التهابی، اضافه‌بار کلسیم، فعال‌سازی کمپلمان، اتوفاژی سلولی و آپوپتوز اشاره دارد (3). گزارش شده است اولین مراحل ایسکمیک/خون‌رسانی مجدد (I/R) ناشی از یک پاسخ التهابی حاد است. در حال حاضر، مکانیسم‌های این پاسخ التهابی حاد روشن نیست. با این حال، در دهه‌های گذشته، به‌طور فزاینده‌ای مشخص شده است که پروتئین‌های A20 (پروتئین 3 القا‌ی TNF- α)² و CYLD دو عضو از خانواده آنزیم‌های دی‌یوبی کوئیتین‌کننده (DUB) به‌عنوان یک پیوند محوری برای التهاب در کل فرآیند پاتولوژیک آسیب بافتی ناشی از ایسکمیک/خون‌رسانی مجدد میوکار در نظر گرفته می‌شوند (4، 5). دی‌یوبی کوئیتینازها با معکوس کردن فرآیند یوئیکوئیتیناسیون (اضافه شدن یوئیکوئیتین به پروتئین را یوئیکوئیتیناسیون گویند) در حفظ عملکرد پروتئین‌ها نقش دارند. دی‌یوبی کوئیتینازها می‌توانند با تنظیم رشد و تکامل سلولی و با تأثیر بر مسیرهای سیگنال دهی فیزیولوژیکی، هموستاز سلولی را حفظ کنند. علاوه بر این، دی‌یوبی کوئیتینازها تأثیر تنظیمی قابل‌توجهی بر فرآیندهای پاتوفیزیولوژیکی بیماری‌های متعدد، از جمله تومورها، بیماری التهابی روده و بیماری‌های عروقی دارند (6).

پروتئین A20 (TNFAIP3)، یک آنزیم دی‌یوبی کوئیتین‌کننده و یک پروتئین سیگنال دهنده سیتوپلاسمی است که معمولاً به‌عنوان یک عامل ضدالتهابی، مهارکننده فاکتور هسته‌ای کاپا بی (NF- κ B) و ضد مرگ سلولی می‌باشد و آپوپتوز ناشی از TNF را محدود می‌کند (7-9). A20 یکی از بخش‌های کلیدی مکانیسم‌های دخیل در بیماری‌های خود ایمنی و التهابی متعدد، مانند بیماری عروق کرونر، پسوریازیس، اسکلروز سیستمیک، بیماری سلپاک، دیابت نوع یک، بیماری التهابی روده و آرتریت روماتوئید می‌باشد. همچنین در تغییر سیگنالینگ مسیرهای التهابی نقش دارد و شدت و مدت سیگنال دهی چندین فاکتور حیاتی عمده و وابسته به مسیر NF- κ B را تنظیم می‌کند (10).

همچنین، گزارش شده است A20 با دی‌یوبی کوئیتین‌کننده کردن کاسپاز-8 و RIPK3 از سلول‌ها در برابر آپوپتوز و نکروز محافظت می‌کند (11). نشان داده شد افزایش بیان A20 در قلب موش با کاهش اندازه انفارکتوس و بهبود عملکرد قلب پس از انفارکتوس میوکار همراه بود. همچنین، کاهش قابل‌توجهی در سیگنال دهی NF- κ B، آپوپتوز، پاسخ پیش التهابی، رمودلینگ قلبی، و فیبروز بینابینی مشاهده شد (12). گزارش شده است

². TNF Alpha Induced Protein 3

¹. Myocardial ischemia/reperfusion injury

فضای بین دنده‌ای سه تا چهار برای نمایان شدن قلب انجام شد. در ادامه از سمت چپ قفسه سینه رت‌ها به میزان 4 الی 5 سانتی‌متر توسط تیغ بیستوری و سایر ابزار جراحی برشی افقی انجام گرفت تا پس از کنار زدن قفسه سینه عضله قلب به‌صورت کامل قابل‌رویت باشد. در این مرحله LAD کاملاً آشکار می‌شد و سپس توسط نخ بخیه پلی‌پروپیلن در ناحیه 2 میلی‌متر پایین‌تر از منشأ LAD به‌طور کامل مسدود گردید. ایسکمی میوکارد با بستن LAD به مدت 30 دقیقه و به دنبال آن 180 دقیقه خون‌رسانی مجدد انجام شد (33). پس از انسداد LAD به ترتیب قفسه سینه، عضلات و پوست بخیه شدند. رت جراحی‌شده زیر دستگاه تنفس مصنوعی باقی ماند تا به‌صورت طبیعی به هوش آمده و شروع به تنفس کند (34). درنهایت رت‌ها در قفسه مجزا قرار گرفتند.

از گوشه چشم گروه‌های کنترل، MI و تمرین MI+ نمونه خونی اخذ شد (35) و تأیید بروز سکتة از طریق مقایسه بین گروهی سطوح تروپونین و همچنین فعالیت آنزیم‌های کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز قلبی گردش خون به روش الایزا انجام گرفت (33، 36). لازم به ذکر است تمام جراحی‌ها توسط متخصص دامپزشکی در مرکز تحقیقات تجربی بیمارستان قلب شهید رجایی تهران انجام شد. در ادامه، 48 ساعت پس از جراحی برنامه تمرینی شروع شد.

پروتکل تمرین تناوبی با شدت متوسط پروتکل تمرین شامل: 60 دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل، هر تناوب شامل 4 دقیقه دویدن با شدت 65-70 درصد $\dot{V}O_{2\max}$ و 2 دقیقه بازیافت فعال با شدت 50-60 درصد $\dot{V}O_{2\max}$ ، سه روز در هفته و به مدت 8 هفته بود (37). رت‌ها قبل شروع مرحله اصلی تمرین، به مدت 5 دقیقه با سرعت 5 متر در دقیقه گرم کردند. سرعت دویدن به‌تدریج به میزان 0/02 متر در ثانیه در هر هفته افزایش یافت و شیب تردمیل در کل دوره‌ی تمرینی صفر درجه بود (37). ابتدا آزمون ظرفیت ورزشی برای برآورد $\dot{V}O_{2\max}$ انجام شد. بدین منظور، هر موش صحرایی ابتدا به مدت 10 دقیقه و با سرعت 10 متر بر دقیقه و شیب 10 درجه مرحله گرم کردن را سپری کرد. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد که در آن شیب نوار گردان ثابت و 25 درجه بود و هر دو دقیقه، سرعت نوار گردان 0/3 متر بر ثانیه (حدود 2-1/8 متر بر دقیقه) افزایش یافت تا زمانی که موش صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشد (ملاک 3 بار افتادن روی شوک یا خروج از نوار گردان بود). سرعت رسیدن به واماندگی به‌عنوان سرعت $\dot{V}O_{2\max}$ ثبت شد (38).

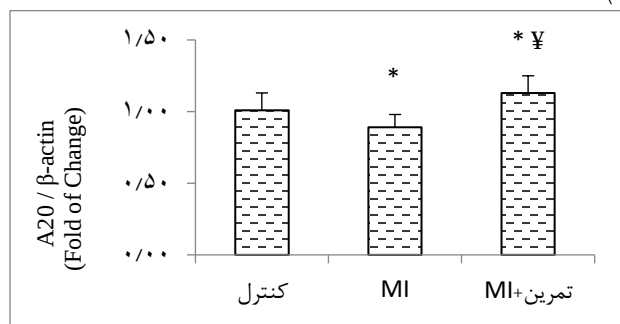
سنجش بیان پروتئین‌ها با استفاده از روش وسترن بلات پس از پایان مداخله، رت‌ها تشریح شدند. برای تشریح ابتدا رت‌ها با کتامین (150 mg/kg) و زایلازین (15 mg/kg) بی‌هوش شدند و سپس به پشت روی تخته تشریح خوابانده و دست‌وپاها کشیده و به حالت صلیبی بسته شد و درنهایت پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، عضله قلب

ایسکمی-پرفیوژن مجدد در قلب را به همراه دارد (26). ورزش و افزایش فعالیت بدنی ازجمله راهکارهای ضدالتهابی مؤثر در برابر التهاب‌های شدید هستند (27). روش‌های مختلف تمرین، مانند ورزش‌های هوازی یا مقاومتی و ورزش‌های حاد یا مزمن، ممکن است نتایج متفاوتی را برای قلب به همراه داشته باشند (28). تمرین ورزشی مزمن منظم با ایجاد هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلب در کاهش رمودلینگ پاتولوژیک قلب بسیار مؤثر است (29، 30). بااین‌حال، مکانیسم‌های مولکولی زیربنای محافظت قلبی ناشی از ورزش هنوز مشخص نشده است. ازاین‌رو، اینکه آیا ورزش می‌تواند از اختلالات مرگ سلولی ناشی از التهاب و دست‌کاری پروتئین‌های A20 و CYLD جلوگیری کند، هنوز مشخص نیست و در هیچ مطالعه‌ای بررسی نشده است. در این راستا، سلطانی و همکاران (2020) نشان دادند 10 هفته تمرین تناوبی با شدت بالا با کاهش TNF- α و بیان ژن A20 در زنان چاق همراه بود (31). از سویی برخلاف یافته‌های سلطانی و همکاران (2020)، در یک مطالعه گزارش شد یک مداخله ورزشی شدید (نیمه ماراتون)، سطح بیان A20 را افزایش داد. بااین‌حال، نقش پروتئین‌های A20 و CYLD در اختلال پاتولوژیک قلب ناشی از ایسکمی به‌طور کامل ثابت نشده است؛ همچنین، هیچ مطالعه مستقیمی از تأثیر ورزش بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی یافت نشد؛ بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی تناوبی بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD موش‌های نر مدل سکتة قلبی بود.

روش پژوهش

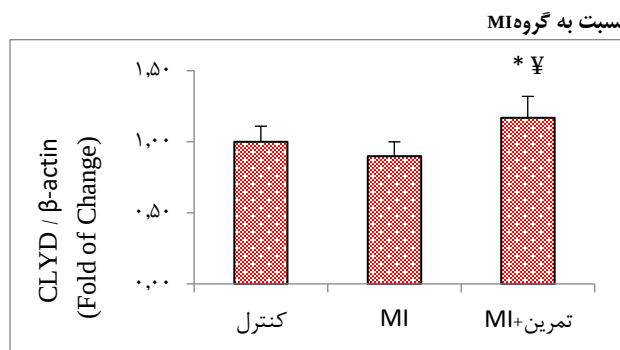
پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون با یک گروه کنترل و دو گروه آزمایش بود که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق 30 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار 16 هفته‌ای با وزن 220 تا 280 گرم که به تعداد سه سر موش در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا و طبق چرخه 12 ساعت خواب‌بیداری در حیوان‌خانه نگهداری می‌شدند؛ پس از یک هفته آشنایی و سازگاری با محیط جدید، به‌طور تصادفی به سه گروه: کنترل سالم، سکتة قلبی و تمرین+سکتة قلبی با تعداد برابر در هر گروه (10 سر) تقسیم شدند. در ادامه، برای ایجاد سکتة قلبی در 20 سر رت (شامل گروه‌های سکتة قلبی و تمرین+سکتة قلبی) از روش مداخله مستقیم استفاده شد. در این روش شریان کرونری نزولی سمت چپ (LAD) (left-anterior descending-coronary-artery) رت‌ها توسط نخ بخیه سیلک 0/6 مسدود شد (32). بدین منظور، رت‌ها ابتدا به مدت یک هفته در مرکز تحقیقات تجربی بیمارستان قلب شهید رجایی تهران در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس رت‌ها توسط داروی کتامین (150 mg/kg) و زایلازین (15 mg/kg) بی‌هوش شده و موهای قفسه سینه آن‌ها به‌طور کامل اصلاح و در زیر دستگاه تهویه مصنوعی اینتوبه گردیدند (32). توراکوتومی و پریکاردیوتومی در سمت چپ در

و کنترل سالم افزایش معنی‌داری یافته است (به ترتیب: $p=0/001$ ، $p=0/03$). این نتایج در شکل 1 قابل مشاهده است. همان‌طور که در شکل 2 نشان داده شده است هرچند میزان بیان پروتئین CYLD در گروه MI نسبت به گروه کنترل کاهش یافت؛ اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/06$). همچنین، میزان بیان پروتئین CYLD در گروه تمرین MI+ نسبت به گروه کنترل سالم و MI افزایش معنی‌داری یافت (به ترتیب: $p=0/001$ ، $p=0/01$). در ادامه، نتیجه آزمون تعقیبی توکی برای متغیر TNF نشان داد که میزان بیان این پروتئین در گروه MI به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل سالم است ($p=0/001$). همچنین، میزان بیان پروتئین TNF در گروه تمرین MI+ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه MI و کنترل سالم کاهش داشت (به ترتیب: $p=0/001$ ، $p=0/002$) (شکل 3).



شکل 1. مقایسه بیان پروتئین A20 قلبی موش‌های صحرایی پس از مداخله

*: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ Δ: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه MI



شکل 2. مقایسه بیان پروتئین CLYD قلبی موش‌های صحرایی پس از مداخله

*: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ Δ: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه MI

خارج شد. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت 100 میلی گرم بافت در یک میلی لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به مدت 40 دقیقه با دور 12000 درروی یخ سانتریفوژ شد. سپس بخش سطحی سانتریفوژ جمع‌آوری شده و تا زمان تحلیل در دمای 80- درجه نگهداری شد. پروتئین نمونه‌های استخراجی (40 میکروگرم در هر ستون ژل) با ژل الکتروفورز پلی‌آکریلامید 10% SDS، جداسازی شد (SDS-PAGE) که از طریق دستگاه انتقال به غشای PVDF³ (Millipore, Bedford, MA, 0.45 μm pore size) منتقل شده و سپس در بافر TBS با شیر خشک 5% آنکوبه شد. در این پژوهش مقدار بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی اندازه‌گیری شد. بدین منظور آنتی‌بادی اولیه A20 (sc-59A426): A20 TNFAIP3 Antibody (A20/CYLD (cyldromatosis 1 Antibody (E-10): sc-52910) در بافر متصل شونده به آنتی‌بادی در طول شب در دمای 4 درجه با غلظت 1 به 500 رقیق‌سازی شد. سپس نمونه‌های ایمونوبات سه بار در بافر TBS به مدت 10 دقیقه شستشو شده و سپس در محلول آنتی‌بادی ثانوی به‌طور رقیق شده با نسبت یک به 500 به مدت یک ساعت آنکوبه شدند. در ادامه پروتئین‌های ایمونوبات شده پس از سه بار شستشو در بافر TBS، با استفاده از معرف لومینال ECL (Santa Cruz Biotechnology)، آشکارسازی شدند. سپس بعد از پوشاندن شدن با ورقه نایلونی، فیلم رادیوگرافی در معرض نور لومینسانس قرار داده شد و چگالی باندها بعد از نرمال کردن با بتا اکتین با استفاده از نرم‌افزار (Image J, Maryland, USA) تعیین شد (39).

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد. برای مقایسه گروه‌های تحقیق از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم‌افزار spss ورژن 27 و در سطح معنی‌داری 0/05 انجام شد.

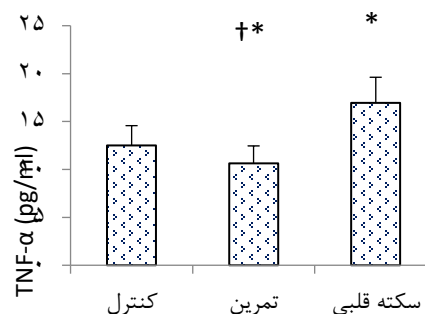
یافته‌ها

پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس یک‌راهه، نتایج این تحلیل نشان داد تفاوت معناداری بین گروهی در بیان پروتئین‌های A20 ($p=0/001$)، CYLD ($F=10/79$) و TNF ($F=77/52$) ($p=0/001$) و TNF ($F=5/6$) قلبی وجود دارد. در ادامه برای مقایسه دوبه‌دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. نتیجه آزمون تعقیبی توکی برای متغیر A20 نشان داد که میزان بیان این پروتئین در گروه MI به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل سالم است ($p=0/01$). همچنین، میزان بیان پروتئین A20 در گروه تمرین MI+ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه MI

³. polyvinylidene difluoride

شکل 3. مقایسه بیان پروتئین TNF قلبی موش‌های صحرایی پس از مداخله

*: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ †: نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه MI



جدول ۱- شاخص‌های آسیب قلبی، وزن بدن و وزن قلب

Table 1- Heart damage indices, body weight, and heart weight

وزن قلب (گرم) Heart weight (gr)	وزن بدن (گرم) Body weight (gr)	تروپونین (نانوگرم بر میلی لیتر) Troponin (ng/ml)	فعالیت لاکتات دهیدروژناز (واحد بین المللی بر لیتر) Lactate dehydrogenase activity (IU/L)	فعالیت کراتین کیناز (واحد بین المللی بر لیتر) Creatine kinase activity (IU/L)	گروه
۱/۹۳ ± ۰/۲۱	۲۳۸/۰۶ ± ۱۴/۵۴	۰/۷۷ ± ۰/۱۰	۲۳۵/۸۲ ± ۱۲/۰۴	۲۸۶/۳۷ ± ۱۶/۲۰	کنترل سالم
۱/۸۸ ± ۰/۱۸	۲۳۷/۸۲ ± ۱۵/۴۲	۰/۹۰ ± ۰/۱۲	۲۸۸/۵۶ ± ۱۵/۰۹	۳۲۴/۵ ± ۱۶/۵۱	سکته قلبی
۱/۹۱ ± ۰/۲۲	۲۳۹/۲۴ ± ۱۶/۴۰	۰/۷۵ ± ۰/۱۱	۲۳۱/۱۲ ± ۱۲/۳۹	۳۷۱/۲ ± ۱۳/۳۲	تمرین
		* ۰/۰۲	* ۰/۰۰۱	* ۰/۰۰۱	بین گروهی P

قدامی چپ تأثیری بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی نداشت. احتمالاً تناقض در این یافته‌ها با تفاوت در مدل‌های تجربی (ایسکمی / خون‌رسانی مجدد در مقابل شریان نزولی قدامی چپ یا درون بدنی^۱ در مقابل برون بدنی^۲)، تفاوت در سویه موش‌ها و تفاوت در زمان پس از ایسکمی در ارتباط باشد (12). تصور می‌شود کاهش بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی به‌عنوان یک پاسخ تنظیمی برای مهار التهاب بیش‌ازحد و محافظت از بافت قلبی در برابر آسیب بیشتر رخ داده است. مطالعات نشان می‌دهد ایسکمی میوکارد موجب افزایش سایتوکاین‌های التهابی و تشدید مرگ سلولی کاردیومیوسیت‌ها می‌شود که با آسیب ساختاری و عملکردی میوکارد همراه است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که دئوبیکوئیتینازها به‌عنوان سوئیچ مولکولی مهم با تنظیم مسیرهای سیگنالینگ از جمله: التهاب سلولی، آپوپتوز، اتوفازی، هموستاز میتوکندریایی، تخریب، محلی سازی و عملکرد پروتئین با معکوس کردن یوبی کوئیتیناسیون سوپرسترا در پیشرفت بیماری‌های مختلف از جمله اختلالات قلبی عروقی و تغییرات متابولیک نقش دارند (6). به‌عنوان مثال، بیان پروتئین A20 ویژه میوکارد، یک DUB، عملکرد

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد MI با کاهش بیان پروتئین‌های A20 و CYLD همراه بود؛ با این حال مداخله تمرین هوازی تناوبی موجب افزایش بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی موش‌های نر مدل سکته قلبی شد. در ابتدا بایستی اشاره شود که با بررسی ادبیات تحقیق هیچ مطالعه‌ای تأثیر ایسکمی خون‌رسانی مجدد بر بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی را بررسی نکرده است؛ بنابراین مطالعات نزدیک با نتایج مطالعه حاضر بررسی شد. نتیجه مطالعه ما در مورد متغیر A20 در گروه MI با نتیجه مطالعه زانگ و همکاران (2018) همسو (14) و با مطالعه کلاسیکی و همکاران (2021) ناهم‌سو بود. همچنین، در مورد متغیر CYLD با نتیجه وانگ و همکاران (2015) ناهم‌سو بود (5). زانگ و همکاران نشان دادند بستن شریان کرونری نزولی سمت چپ موش‌ها (40 دقیقه ایسکمی و 120 دقیقه خون‌رسانی مجدد) با کاهش بیان A20 و CYLD همراه بود. از سوی دیگر، کلاسیکی و همکاران (2021) نشان دادند 10 هفته بستن شریان کرونری نزولی

². in vitro¹. in vivo

تناوبی بر بیان پروتئین‌های دئوبیکوتیناسیون A20 و CYLD، را بررسی کرده‌اند؛ اما می‌توان برخی از مکانیسم‌های احتمالی را بر اساس روندهای فیزیولوژیکی و مولکولی موجود مطرح کرد. آنزیم‌های دئوبیکوتیناسیون (DUBs) به‌طور مؤثری در تنظیم مرگ سلولی ناشی از التهاب نقش دارند. این آنزیم‌ها با حذف گروه‌های یوبیکوئیتین از پروتئین‌ها، سیگنال‌دهی‌های التهابی و تنظیم مسیرهای مرگ سلولی مانند آپوپتوز و نکروز را کنترل می‌کنند (46، 47). احتمالاً تمرین هوازی تناوبی با دست‌کاری و افزایش بیان ژن‌های A20 و CYLD با کاهش یوبیکوتیناسیون مولکول‌هایی مانند ¹RIPK1 و ²RIPK3 همراه شده و مانع از فعال شدن مسیر مرگ سلولی ناشی از التهاب و نکروتوز می‌شوند. این فرایند باعث می‌شود که سلول‌ها از مرگ سلولی ناشی از $\text{TNF-}\alpha$ و التهاب در امان بمانند (47). همچنین، تمرین هوازی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و استرس اکسیداتیو همراه است (48)؛ کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند فعالیت DUBها مانند A20 و CYLD را بهبود ببخشد، زیرا این آنزیم‌ها در شرایط استرس اکسیداتیو بالا دچار کاهش عملکرد می‌شوند (19). از سوی دیگر، تمرین هوازی به دلیل اثرات ضدالتهابی خود احتمالاً منجر به کاهش سطوح $\text{TNF-}\alpha$ و کاهش بیان TNFR1 شده، در نتیجه حساسیت سلول‌ها به $\text{TNF-}\alpha$ را کم کند. این تغییرات در سیگنالینگ التهابی به‌طور مستقیم بر بیان پروتئین‌های دئوبیکوتیناسیون (DUBs) مانند A20 و CYLD تأثیر می‌گذارد (49). در مجموع احتمالاً این مکانیسم‌ها با همکاری A20 و CYLD از آسیب به DNA، پروتئین‌ها و غشای سلولی جلوگیری کرده در نتیجه مانع از مرگ سلولی ناشی از التهاب می‌شوند. با این حال، به دلیل محدودیت‌های تحقیق و عدم اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو و TNFR1 نیازمند بررسی بیشتر در این زمینه می‌باشد (50).

نتیجه‌گیری

تمرین هوازی تناوبی احتمالاً با افزایش پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی و کاهش التهاب، از مرگ سلولی ناشی از آن جلوگیری می‌کند. بنابراین، این نوع تمرین می‌تواند به‌عنوان یک روش غیر دارویی مؤثر برای مدیریت و درمان التهاب مرتبط با سکت قلبی در نظر گرفته شود. با این حال، برای تأیید این یافته‌ها و درک بهتر مکانیسم‌های آن، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

بطن چپ را بهبود بخشید و هیپرتروفی جبرانی میوکارد ناشی از انفارکتوس میوکارد را کاهش داد (40). در این راستا، شواهد نشان می‌دهند که سکت قلبی باعث کاهش پروتئین‌های دئوبیکوتیناسیون (DUBs) مانند A20 و CYLD می‌شود. این پروتئین‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی برای سرکوب التهاب از طریق مهار مسیرهای سیگنالینگ مانند $\text{NF-}\kappa\text{B}$ شناخته می‌شوند. کاهش آن‌ها می‌تواند اثرات نامطلوبی بر روند التهاب و آسیب قلبی داشته باشد (6، 41). گزارش شده است مکانیسم‌های احتمالی کاهش DUBها پس از سکت قلبی با افزایش التهاب سیستمیک و موضعی در ارتباط است. در طول و بعد از MI، مسیرهای التهابی فعال می‌شوند. این فعال‌سازی مداوم باعث تخریب یا مهار بیان پروتئین‌های مهارکننده التهاب مانند A20 و CYLD می‌شود (6). از سوی دیگر، گزارش شده است سکت قلبی با افزایش استرس اکسیداتیو همراه است و استرس اکسیداتیو ناشی از ایسکمی و خون‌رسانی مجدد باعث آسیب به ساختارهای پروتئینی، تخریب و کاهش بیان DUBها از جمله بیان پروتئین‌های محافظتی مانند A20 و CYLD می‌شود (42، 43). همچنین، در فرآیند سکت قلبی، آپوپتوز و نکروز رخ می‌دهد. این فرآیندها می‌توانند باعث کاهش بیان ژن‌های A20 و CYLD شوند که در حفظ سلول و سرکوب التهاب نقش دارند. سکت قلبی می‌تواند باعث تغییرات اپی‌ژنتیک مانند متیلاسیون DNA یا تغییرات هیستونی شود که با سرکوب و کاهش رونویسی بیان ژن‌های ضدالتهابی مثل A20 و CYLD در ارتباط هستند (44، 45). در کل کاهش بیان A20 و CYLD پس از سکت قلبی باعث تشدید التهاب و آسیب به بافت قلب می‌شود. این تغییرات ممکن است به دلیل استرس اکسیداتیو، مرگ سلولی (آپوپتوز و نکروتوز)، تغییرات اپی‌ژنتیک و افزایش فعالیت مسیرهای التهابی باشد. با این حال، مطالعات بیشتری برای شفاف‌سازی شرایط پاتوفیزیولوژیکی خاص از جمله سکت قلبی که تحت آن شرایط مهار یا فعال‌سازی بیان پروتئین‌های A20 و CYLD قلبی ممکن است مفید یا مضر باشد؛ مورد نیاز است (12).

سایر نتایج مطالعه نشان داد تمرین هوازی تناوبی موجب افزایش بیان پروتئین‌های A20 و CYLD شد. این یافته با نتایج سلطانی و همکاران (2020) که نشان دادند تمرین ترکیبی با شدت بالا موجب کاهش بیان A20 در مقایسه با گروه کنترل شد؛ ناهم‌سو بود. همچنین، در این مطالعه ارتباط آماری مثبتی بین سطوح بیان ژن A20 و درصد چربی بدن و نسبت دور کمر به لگن (WHR) یافت شد. با این حال، یک مطالعه نشان داد یک جلسه فعالیت ورزشی شدید نیمه ماراتون موجب افزایش بیان پروتئین A20 شد (31). در مورد اثر ورزش بر پروتئین CYLD هیچ مطالعه‌ای یافت نشد. مطالعات بسیار محدودی تأثیر تمرین ورزشی

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

Reference

- Onizawa M, Oshima S, Schulze-Topphoff U, Osés-Prieto JA, Lu T, Tavares R, et al. The ubiquitin-modifying enzyme A20 restricts ubiquitination of the kinase RIPK3 and protects cells from necroptosis. *Nature immunology*. 2015;16(6):27-618.
- Osório J. A20–NEMO interaction prevents autoinflammation. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016;12(3):134-.
- Priem D, Devos M, Druwé S, Martens A, Slowicka K, Ting AT, et al. A20 protects cells from TNF-induced apoptosis through linear ubiquitin-dependent and-independent mechanisms. *Cell death & disease*. 2019;10(10):692.
- Li H-L, Zhuo M-L, Wang D, Wang A-B, Cai H, Sun L-H, et al. Targeted cardiac overexpression of A20 improves left ventricular performance and reduces compensatory hypertrophy after myocardial infarction. *Circulation*. 2007;115(14):1885-94.
- Han D, Fang W, Zhang R, Wei J, Kodithuwakku ND, Ma W, et al. Clematichinenoside protects blood brain barrier against ischemic stroke superimposed on systemic inflammatory challenges through up-regulating A20. *Brain, behavior, and immunity*. 2016;51:56-69.
- Zhang R, Xu L, Zhang D, Hu B, Luo Q, Han D, et al. Cardioprotection of ginkgolide B on myocardial ischemia/reperfusion-induced inflammatory injury via regulation of A20-NF- κ B pathway. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:2844.
- Yan K, Ponnusamy M, Xin Y, Wang Q, Li P, Wang K. The role of K63-linked polyubiquitination in cardiac hypertrophy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2018;22(10):4558-67.
- Ji Y-X, Huang Z, Yang X, Wang X, Zhao L-P, Wang P-X, et al. The deubiquitinating enzyme
- Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, Van de Werf F. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015;65(14):1454-71.
- Costa MA, Paiva AE, Andreotti JP, Cardoso MV, Cardoso CD, Mintz A, et al. Pericytes constrict blood vessels after myocardial ischemia. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2018;116:1-4.
- Thind GS, Agrawal PR, Hirsh B, Saravolatz L, Chen-Scarabelli C, Narula J, et al. Mechanisms of myocardial ischemia–reperfusion injury and the cytoprotective role of minocycline: scope and limitations. *Future cardiology*. 2015;11(1):61-76.
- Li B, Xie X. A20 (TNFAIP3) alleviates viral myocarditis through ADAR1/miR-1a-3p-dependent regulation. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2022;22(1):10.
- Wang H, Lai Y, Mathis BJ, Wang W, Li S, Qu C, et al. Deubiquitinating enzyme CYLD mediates pressure overload-induced cardiac maladaptive remodeling and dysfunction via downregulating Nrf2. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2015;84:143-53.
- Zhan X, Yang Y, Li Q, He F. The role of deubiquitinases in cardiac disease. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2024;26:e3.
- Wertz IE, Newton K, Seshasayee D, Kusam S, Lam C, Zhang J, et al. Phosphorylation and linear ubiquitin direct A20 inhibition of inflammation. *Nature*. 2015;528(7582):370-5.
- Lawless D, Pathak S, Scambler TE, Ouboussad L, Anwar R, Savic S. A case of adult-onset Still's disease caused by a novel splicing mutation in TNFAIP3 successfully treated with tocilizumab. *Frontiers in Immunology*. 2018;9:1527.



Improving Cardiac Remodeling. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2024;17(4):923-34.

25. Moraes-Silva IC, Rodrigues B, Coelho-Junior HJ, Feriani DJ, Irigoyen M-C. Myocardial infarction and exercise training: evidence from basic science. *Exercise for Cardiovascular Disease Prevention and Treatment: From Molecular to Clinical, Part 1*. 2017:139-53.

26. Li S, Qian X, Gong J, Chen J, Tu W, Chen X, et al. Exercise training reverses lipotoxicity-induced cardiomyopathy by inhibiting HMGCS2. *Medicine and science in sports and exercise*. 2021;53(1):47-57.

27. Lin Y-Y, Hong Y, Zhou M-C, Huang H-L, Shyu W-C, Chen J-S, et al. Exercise training attenuates cardiac inflammation and fibrosis in hypertensive ovariectomized rats. *Journal of Applied Physiology*. 2020;128(4):1033-43.

28. Zhang J, Huang C, Meng X, Xu K, Shi Y, Jiang L, et al. Effects of different exercise interventions on cardiac function in rats with myocardial infarction. *Heart, Lung and Circulation*. 2021;30(5):773-80.

29. Maillet M, Van Berlo JH, Molkentin JD. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2013;14(1):38-48.

30. Gao R, Wang L, Bei Y, Wu X, Wang J, Zhou Q, et al. Long Noncoding RNA Cardiac Physiological Hypertrophy-Associated Regulator induces cardiac physiological hypertrophy and promotes functional recovery after myocardial ischemia-reperfusion injury. *Circulation*. 2021;144(4):303-17.

31. Soltani N, Marandi SM, Kazemi M, Esmail N. Combined all-extremity high-intensity interval training regulates immunometabolic responses through toll-like receptor 4 adaptors and A20 downregulation in obese young females. *Obesity Facts*. 2020;13(3):415-31.

cylindromatosis mitigates nonalcoholic steatohepatitis. *Nature medicine*. 2018;24(2):213-23.

17. Mukherjee S, Kumar R, Tsakem Lenou E, Basur V, Kontoyiannis DL, Ioakeimidis F, et al. Deubiquitination of NLRP6 inflammasome by Cyld critically regulates intestinal inflammation. *Nature immunology*. 2020;21(6):626-35.

18. Xie W, Gao S, Yang Y, Li H, Zhou J, Chen M, et al. CYLD deubiquitinates plakoglobin to promote Cx43 membrane targeting and gap junction assembly in the heart. *Cell Reports*. 2022;41(13).

19. Huang Z, Tan Y. The potential of cylindromatosis (CYLD) as a therapeutic target in oxidative stress-associated pathologies: a comprehensive evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(9):8368.

20. Imaizumi Y, Takami Y, Yamamoto K, Nagasawa M, Nozato Y, Nozato S, et al. Pathophysiological significance of cylindromatosis in the vascular endothelium and macrophages for the initiation of age-related atherogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019;508(4):1168-74.

21. Klaeske K, Dix M, Adams V, Jawad K, Eifert S, Etz C, et al. Differential regulation of myocardial E3 ligases and deubiquitinases in ischemic heart failure. *Life*. 2021;11(12):1430.

22. Bi H-L, Zhang X-L, Zhang Y-L, Xie X, Xia Y-L, Du J, et al. The deubiquitinase UCHL1 regulates cardiac hypertrophy by stabilizing epidermal growth factor receptor. *Science advances*. 2020;6(16):eaax4826.

23. Zhang DH, Zhang JL, Huang Z, Wu LM, Wang ZM, Li YP, et al. Deubiquitinase ubiquitin-specific protease 10 deficiency regulates Sirt6 signaling and exacerbates cardiac hypertrophy. *Journal of the American Heart Association*. 2020;9(22):e017751.

24. Gao H, Li Z, Gan L, Chen X. The Role and Potential Mechanisms of Rehabilitation Exercise

International journal of molecular sciences. 2014;15(4):5988-6001.

40. Ye B, Chen Y, Chen X, Xu D, Jiang Y, Lin W, et al. Deubiquitinase USP25 alleviates obesity-induced cardiac remodeling and dysfunction by downregulating TAK1 and reducing TAK1-mediated inflammation. *JACC: Basic to Translational Science*. 2024.

41. Gong Y, Yu T, Shuai W, Chen T, Zhang J, Huang H. USP38 exacerbates atrial inflammation, fibrosis, and susceptibility to atrial fibrillation after myocardial infarction in mice. *Molecular Medicine*. 2023;29(1):157.

42. Han J, Lin L, Fang Z, Ye B, Han X, Xu J, et al. Cardiomyocyte-derived USP28 negatively regulates antioxidant response and promotes cardiac hypertrophy via deubiquitinating TRIM21. *Theranostics*. 2024;14(16):6236.

43. Liu Y, Wang M, Liang Y, Wang C, Naruse K, Takahashi K. Treatment of oxidative stress with exosomes in myocardial ischemia. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(4):1729.

44. Han W, Wang W, Wang Q, Maduray K, Hao L, Zhong J. A review on regulation of DNA methylation during post-myocardial infarction. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1267585.

45. Nakatochi M, Ichihara S, Yamamoto K, Naruse K, Yokota S, Asano H, et al. Epigenome-wide association of myocardial infarction with DNA methylation sites at loci related to cardiovascular disease. *Clinical epigenetics*. 2017;9:1-9.

46. Newton K, Gitlin AD. Deubiquitinases in cell death and inflammation. *Biochemical Journal*. 2022;479(10):1103-19.

47. Chen J, Kos R, Garssen J, Redegeld F. Molecular insights into the mechanism of necroptosis: the necrosome as a potential therapeutic target. *Cells*. 2019;8(12):1486.

48. He F, Li J, Liu Z, Chuang C-C, Yang W, Zuo L. Redox mechanism of reactive oxygen species in exercise. *Frontiers in physiology*. 2016;7:486.

32. Fukuda S, Kaga S, Sasaki H, Zhan L, Zhu L, Otani H, et al. Angiogenic signal triggered by ischemic stress induces myocardial repair in rat during chronic infarction. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2004;36(4):547-59.

33. Li F, Zhan Z, Qian J, Cao C, Yao W, Wang N. Naringin attenuates rat myocardial ischemia/reperfusion injury via PI3K/Akt pathway-mediated inhibition of apoptosis, oxidative stress and autophagy. *Experimental and therapeutic medicine*. 2021;22(2):811.

34. Ebadi B, Naderi N, Darbandi Azar A, Damirchi A. Interval intensity Exercise improves the levels of Mitophagy-related proteins and ROS in rats with myocardial infarction. *Journal of Exercise and Health Science*. 2021;1(2):19-34.

35. Pouzesh Jadidi, G., Seifi-Skishahr, F., Bolboli, L., Azali Alamdari, K., Pourrahim Ghouroghch, A. Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventricular of miR-133 and miR-1 gene expression in isoproterenol-induced myocardial infarction rat model. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 2023; 11(25): 8-20. [In Persian]

36. Wu Y, Pan N, An Y, Xu M, Tan L, Zhang L. Diagnostic and prognostic biomarkers for myocardial infarction. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2021;7:617277.

37. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovascular research*. 2013;99(1):55-64.

38. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen M-C, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovascular diabetology*. 2007;6:1-7.

39. Liou C-M, Tsai S-C, Kuo C-H, Ting H, Lee S-D. Cardiac Fas-dependent and mitochondria-dependent apoptosis after chronic cocaine abuse.



49. Zheng G, Qiu P, Xia R, Lin H, Ye B, Tao J, et al. Effect of aerobic exercise on inflammatory markers in healthy middle-aged and older adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in aging neuroscience*. 2019;11:98.

50. Snyder NA, Silva GM. Deubiquitinating enzymes (DUBs): Regulation, homeostasis, and oxidative stress response. *Journal of Biological Chemistry*. 2021;297(3).