Arch

مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن syd و murf1 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی

احمد جعفری[1]، مژگان احمدی*[2]، سعیده شادمهری[2]

۱-گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲-گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۰

***نویسنده مسئول:** مژگان احمدی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهر ری، تهران، ایران

تلفن: ۰۲۱۵۵۲۲۹۳۵۱

پست الکترونیک:

mahmadi1376@gmail.com

چکیده

مقدمه

syd و murf1 نشانگرهای مولکولی مهم برای آتروفی عضلانی هستند که در شرایط مختلف همچون دیابت در عضلات اسکلتی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند. هدف از این تحقیق، تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن syd و murf1 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، ۶۰ سر موش نر ویستار ۲۰±۲۲۰ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه شامل کنترل پایه، کنترل هشت هفته، دیابت، تمرین و دیابت-تمرین قرار گرفتند. موش‌ها با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به صورت درون صفاقی دیابتی شدند. تمرین تناوبی شدید با شدت ۸۵-۸۰ درصد VO_2max، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته روی تردمیل اجرا گردید. میزان بیان ژن‌های syd و murf1 به روش Real Time PCR اندازه‌گیری شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها

بیان ژن murf1 و syd عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود (P=۰/۰۰۱) و تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن murf1 و syd شد (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری

تمرین تناوبی شدید احتمالا می‌تواند از طریق کاهش بیان ژن syd و murf1 در عضله اسکلتی به کاهش آتروفی در افراد مبتلا به دیابت کمک نماید.

کلیدواژه‌ها

دیابت، تمرین تناوبی شدید، Syd، Murf1

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

مقدمه

دیابت، نوعی بیماری متابولیک است که با اختلال در متابولیسم گلوکز و متعاقباً تأثیرات منفی قابل توجهی بر متابولیسم لیپیدها و پروتئین‌ها همراه می‌باشد این بیماری ناشی از کمبود انسولین یا ناشی از مقاومت بافتی نسبت به انسولین است (۱). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که دیابت با افزایش خطر آتروفی عضله اسکلتی همراه است (۲-۴). آتروفی عضلانی به عنوان کاهش توده عضلانی شناخته می‌شود و طی بیماری‌های مزمن مانند دیابت نوع ۲ می‌تواند باعث آسیب عضلات اسکلتی و آتروفی از طریق اثرات مستقیم بر گلوکز بالا و انسولین پایین شود (۵). در نهایت عضله در حال آتروفی طی دیابت منجر به آسیب مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی می‌شود که در حفظ تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین نقش دارند (۶).

مسیرهای پروبیوتیک مانند یوبی کوئیتین-پروتئوزوم ، لیزوزوم-اتوفاژی و کاسپاز-۳ مسئول تخریب پروتئین در عضلات هستند و به این ترتیب به آتروفی عضلانی کمک می‌کنند (۷). در عضله سالم، تخریب پروتئین‌های آسیب دیده برای حفظ همئوستاز سلولی حیاتی است. با این حال، در شرایط آتروفی مانند عدم تحرک یا دیابت، افزایش فعالیت این مسیرها باعث افزایش میزان تخریب پروتئین‌های انقباضی و در نهایت منجر به آتروفی عضلانی می‌شود (۸). عوامل مختلفی که به طور کلی آتروژن‌ها نامیده می‌شوند، در آتروفی عضلانی دخیل هستند. MuRF1[۱] یکی از این اتروژن‌ها و جزء کلیدی سیستم یوبی کوئیتین-پروتئوزوم است که توسط عوامل رونویسی مربوط به آتروفی (FoxO) فعال می‌شود (۹). فعال شدن MuRF1 ممکن است یک اختلال اولیه در بعضی از شرایط آتروفیک باشد. نشان داده شده است که طی دیابت mRNA muRF-1 در موش‌های دیابتی تنظیم افزایشی می‌شود (۵،۱۰). از طرفی مشخص شده است که عضله اسکلتی، بافتی متشکل از سلول‌های چند هسته‌ای است و استقرار نادرست هسته‌های عضلانی، به عنوان اصلی‌ترین عامل تشخیص بیماری‌های عضلانی معرفی شده است (۱۱). یکی دیگر از ژن‌هایی که در تنظیم عملکرد و ساختار نورون‌های حرکتی درگیر می‌باشد، ساندی درایور[۲] یا Syd است، Syd عضو خانواده پروتئین‌های تعامل کننده با JNK[۳] است که در مکان‌یابی هسته سلول عضلانی در یک فرآیند وابسته به میکروتوبول و وابسته به موتور پروتئین‌های کاینزین[۴] و داینئین[۵] نقش دارد (۱۲). نشان داده شده است که تمرینات ورزشی منظم هوازی و مقاومتی با تنظیم کاهشی Murf-1 و Syd در آزمودنی‌های دیابتی همراه است (۱۳-۱۶).

از طرفی، در مطالعات انجام شده اخیر، حمایت‌هایی برای استفاده از تمرینات تناوبی شدید[۶] برای بیماران دیابتی نوع ۲ فراهم شده است (۱۷،۱۸). HIIT شامل تناوب‌های فعالیت‌های ورزشی با شدت بسیار زیاد و وهله‌های استراحتی فعال با شدت خیلی کم است. این نوع تمرینات نیازهای متابولیکی عضلات و بدن را به طور چشمگیری افزایش می‌دهند (۱۹). با این حال، هنوز اثرات فیزیولوژیکی تمرینات HIIT که به واسطه‌ی آن‌ها سلامت عضلات اسکلتی بهبود می‌یابد، به خوبی درک نشده است.

آتروفی عضلانی نتیجه توازن منفی بین میزان سنتز و تخریب پروتئین انقباضی است، در شرایط کاتابولیک آتروفی عضلانی همراه با عدم فعالیت می‌تواند ظرفیت انجام

[۱] Muscle RING-finger protein-1 (MuRF1)

[۲] Sunday Driver
[۳] JNK-interacting protein (JIP)
[۴] kinesin
[۵] Dynein
[۶] High-intensity interval training (HIIT)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

فعالیت‌های زندگی روزمره و کیفیت زندگی را کاهش دهد و پس از آن مرگ و میر را افزایش دهد. در حال حاضر، انجام تمرین تناوبی شدید، توسعه یافته و در جامعه گرایش زیادی به آن وجود دارد؛ به علاوه، باید گزینه‌های مختلفی برای ارائه به بیماران دیابتی وجود داشته باشد تا این امکان فراهم گردد که همگان بنا بر علاقه و شرایط خود، از ورزش‌های مورد نظرشان بهره مند شوند. با این که تمرینات تناوبی شدید، به طور وسیع در بین افراد سالم گسترش یافته است، اما در خصوص تأثیر مثبت آن‌ها بر بهبود بیماران مختلف از جمله بیماران دیابتی دیدگاه روشنی وجود ندارد؛ همچنین تاکنون مطالعات اندکی به بررسی اساس مولکولی اثرات مفید تمرین تناوبی شدید در مورد سلامت عضلات اسکلتی، به‌ویژه پروتئولیز عضله در مدل‌های دیابت پرداخته اند، لذا هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن syd و murf1 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی است. طرح تحقیق از نوع پیش آزمون - پس‌آزمون با گروه کنترل است. مطالعه حاضر با شماره IR.BMSU.REC.1396.633 در کمیته اخلاق واحد پژوهش دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) مورد تایید و در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی دانشگاه اجرا شد. ۶۰ سر موش نر ۸ هفته‌ای نژاد ویستار از انستیتو پاستور ایران با میانگین وزنی ۲۰±۲۲۰ به عنوان نمونه تحقیق در سال ۱۳۹۶ انتخاب شدند. موش‌ها به طور تصادفی در گروه‌های کنترل سالم بدون تزریق استرپتوزوتوسین و ورزش (کنترل پایه) (۱۲سر)، گروه کنترل سالم بدون تزریق استرپتوزوتوسین و ورزش (کنترل ۸ هفته) (۱۲سر)، گروه دیابتی (۱۲سر)، گروه دیابتی با انجام تمرین (۱۲سر) و گروه تمرین سالم (۱۲سر) قرار گرفتند. موش‌ها با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن و به صورت درون صفاقی دیابتی شدند. جهت اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، قند خون آنها ۷۲ ساعت پس از تزریق با کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek ساخت آلمان) و نمونه خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها، قند خون اندازه‌گیری شد و قند خون بیش از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۰). گروه‌های مورد مطالعه در قفسه‌های مخصوص جوندگان از جنس pvc با درپوش توری فلزی که کف آن‌ها با تراشه‌های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق ۱/۴ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت معادل ۵۰ تا ۵۵ درصد بود. نمونه‌ها طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری، با در دسترس بودن آب و غذا (غذای فشرده و آماده مخصوص موش، ساخت کارخانه خوراک گرگان و آب مصرفی و آب تصفیه شده شهری در ظرف آبخوری) نگهداری شدند. در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی ازجمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگه داری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. همه آزمایشات بر اساس خط مشی‌های قراداد هلسینکی اجرا شد.

پروتکل تمرین

در پژوهش حاضر برای برآورد حداکثر سرعت دویدن، آزمودنی‌ها آزمون عملکرد ورزشی مدرج را با شیب صفر درجه اجرا کردند که با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه آغاز و سرعت تردمیل به ازای هر یک دقیقه ۱ متر افزوده شد تا موش‌ها قادر به دویدن نباشند (واماندگی) پس از برآورد حداکثر سرعت گروه تمرینی ۵ جلسه در هفته و به مدت ۸ هفته به فعالیت بر روی نوار گردان پرداختند پروتکل اجرای وهله‌های تمرینی با شدت ۸۰ تا ۸۵ درصد حداکثر سرعت به HIIT به مدت ۲ دقیقه با دوره‌های استراحتی فعال ۱

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

دقیقه‌ای بود که از ۶ وهله تمرینی در هفته اول به ۱۲ وهله تمرینی در هفته اخر رسید (۲۱) (جدول ۱).

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی شدید

هفته	تکرارهای دو دقیقه‌ای (سرعت متر بر دقیقه)	استراحت‌های فعال یک دقیقه-ای (سرعت متر بر دقیقه)	وهله‌های تمرینی
اول	۱۶	۱۰	۶
دوم	۱۸	۱۰	۶
سوم	۲۴	۱۱	۷
چهارم	۲۶	۱۱	۸
پنجم	۳۰	۱۲	۹
ششم	۳۴	۱۲	۱۰
هفتم	۳۶	۱۴	۱۱
هشتم	۳۸	۱۴	۱۲

مراحل نمونه‌گیری و اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن‌ها در بافت عضله

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، موش‌های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین (۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. بعد از بی هوشی کامل (به طوری‌که موش به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله‌ی نعلی در شرایط استریل خارج شد و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه ور با برچسب متناسب با بافت، موش و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن کردن بافت‌ها، همه آن ها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع، بافت‌ها هموژن شدند و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۸ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت عضله بوسیله تکنیک Real time–PCR سنجش و پس از کمی سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول $۲^{-\Delta\Delta ct}$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequence Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ژن رفرنس در این تحقیق GAPDH است. ژن توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	پرایمرها	توالی	طول محصول
SYD	رفت برگشت	5′- CCA GCT ACC AGT GTC CAA ACG AT -3′ 5′- CTT TGT GAC ACT GCC ATA GTC CC -3′	۹۲bp
MURF1	رفت برگشت	5′- AAA CAG CCA TCC AGT CCC TG -3′ 5′- CCT CCT CCT CAT CTG TCC CA -3′	۹۵bp
GAPDH	رفت برگشت	5′- ATC ACT GCC ACT CAG AAG AC -3′ 5′- ACA TTG GGG GTA GGA ACA C -3′	۹۴bp

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

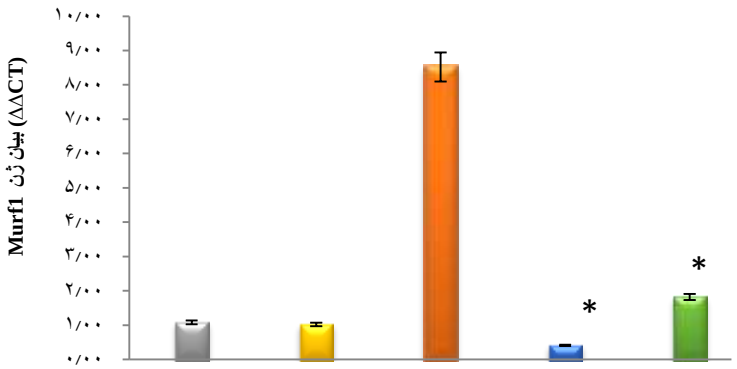
برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک و برای همگن کردن واریانس‌ها از آزمون لوین و همچنین از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد $p\leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

یافته‌ها

در جدول ۳ میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تحقیق تفاوت وجود دارد (P=۰/۰۰۰). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل پایه و کنترل ۸ هفته به طور معنی‌داری بیشتر بود (P=۰/۰۰۰). تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود (P=۰/۰۰۰). همچنین تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه تمرین- دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود (P=۰/۰۰۰) (نمودار ۱).

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

گروه / متغیر	کنترل پایه	کنترل ۸ هفته	دیابت	تمرین	تمرین- دیابت
بیان ژن Murf1 (CTΔΔ)	۱/۰۸±۰/۴۲۹	۱/۰۲±۰/۵۸۹	۸/۵۲۰±۳/۲۴	۰/۴۰۸±۰/۲۸۱	۱/۸۲±۱/۲۲
بیان ژن SyD (CTΔΔ)	۱/۱۱±۰/۵۱۹	۱/۰۵±۰/۷۸۱	۲/۶۱±۲/۶۱	۰/۵۸۲±۰/۴۲۲	۰/۸۳۰±۰/۵۰۲



* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابت ($p\leq ۰/۰۵$).

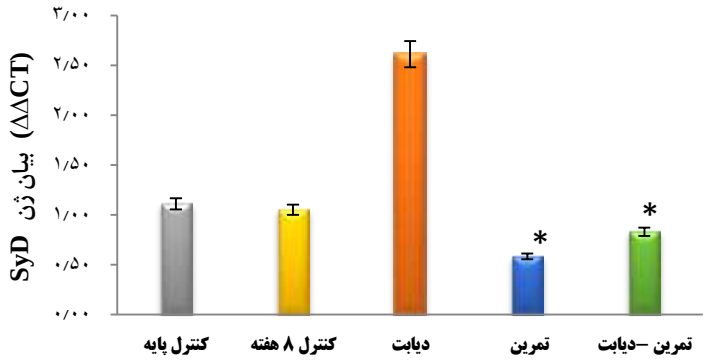
نمودار ۱- تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن SyD عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف تحقیق، تفاوت معناداری وجود دارد (P=۰/۰۰۳). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل پایه (P=۰/۰۴۴) و کنترل ۸ هفته (P=۰/۰۳۲) به طور معنی‌داری بیشتر بود. تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود (P=۰/۰۰۲). همچنین تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه تمرین- دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود (P=۰/۰۱۰) (نمودار ۲).



* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابت (p≤ ۰/۰۵).

نمودار ۲- تغییرات بیان ژن SyD در عضله اسکلتی موش‌های دیابتی در گروه‌های مختلف

بحث

در مطالعه حاضر نشان داده شد دیابتی کردن از طریق استرپتوزوتوسین با آتروفی عضلانی و افزایش بیان MuRF1 همراه است، همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۸ هفته تمرین تناوبی شدید می‌تواند موجب کاهش بیان MuRF1 و کاهش آتروفی در موش‌های دیابتی شود. این یافته تحقیق حاضر با نتایج پناهی و همکاران (۱۳۹۲)، لیو[۱] و همکاران (۲۰۱۸) و ریبرو[۲] و همکاران (۲۰۱۷) همخوان است (۱۶-۱۴). در رابطه با اثر تمرین بر بیان MuRF1 پژوهش‌های کمی صورت گرفته است که در تفسیر نتایج سازوکارهای متفاوتی را بیان کرده‌اند؛ در همین راستا، پناهی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند ۴ هفته تمرین مقاومتی می‌تواند بیان ژن MURF1 در موش‌های صحرایی ویستار دیابتی را کاهش دهد (۱۴). لیو و همکاران (۲۰۱۸) نیز در پژوهشی نشان دادند هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط موجب کاهش MuRF-1 در موش‌های دیابتی نوع ۲ شد. تخریب پانکراس ایجاد شده ناشی از تزریق STZ در جوندگان و افزایش بیان MuRF1 در عضله اسکلتی، یک نقش احتمالی برای MuRF1 در آتروفی عضله اسکلتی ناشی از دیابت ایجاد می‌کند (۱۵). مطالعات متعددی تلاش کرده‌اند که مکانیسم‌های موثر در افزایش بیان MuRF1 در عضله دیابتی شده را دریابند؛ بیان این ژن توسط دو عامل رونویسی تنظیم می‌شود: FoxO و NF-κB. یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش در فعالیت NF-κB برای افزایش ناشی

[۱] Liu
[۲] Ribeiro

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

از IKKB در رونویسی MuRF1 ضروری است و حداقل ۵۰ درصد تغییرات توده عضلانی ناشی از فعال‌شدن MuRF1 به فعال شدن NF-κB نسبت داده شده است (۲۲). از آنجا که فعال شدن مزمن IKK در بیماران دیابتی رخ می‌دهد و در شرایط دیابتی، NF-κB به شدت فعال می شود، در نتیجه به نظر می‌رسد مسیر NF-κB یکی از مسیرهای اصلی درگیر در افزایش MuRF1 ناشی از دیابت باشد. فاکتور رونویسی Foxo نیز در تحلیل عضلانی درگیرند و احتمالا لیگازهای یونیکون لاین MurF1 را منعکس می‌کنند (۲۳). التهاب سبب افزایش فعالیت MAPK p38 از طریق NF-κB می‌شود که این عوامل می‌توانند مسئول بیان آتروژن‌ها و تجزیه پروتئین‌ها (آتروفی) باشد (۲۴). همچنین، مطالعاتی که روی سلول‌های جوندگان با استفاده از تکنیک‌های دارویی و یا مهار ژن بر روی آتروفی یا هایپرتروفی صورت گرفته است، نشان داده‌اند که تنظیم رونویسی MurF1 توسط مسیر سیگنالینگ وابسته به AKT Foxo انجام می‌شود (۲۵، ۹). پاسخ MuRF1 به فعالیت ورزشی می‌تواند تحت تاثیر عوامل گوناگونی از جمله شدت و مدت فعالیت و یا تاثیر فعالیت‌های تکراری تغییر کند. از طرفی، به نظر می‌رسد Hsp25 از واسطه‌های تنظیم کننده مسیر آتروفی است که نقش مهمی در مقابله با آتروفی در شرایط دیابتی دارد به گونه‌ای که افزایش مقدار آن در اثر تمرین سبب کاهش آتروفی و کاهش بیان MuRF1 می‌گردد بنابراین تمرین می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان آتروفی طی دیابت باشد. دیابت منجر به تغییر در پروتئین‌های سلولی، استرس اکسیداتیو و اختلال در سیستم دفاعی سلولی می‌شود (۲۶) به نظر می‌رسد کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین در آزمودنی‌های دیابتی در تحقیق حاضر، اثر مثبتی در تنظیم منفی بیان MuRF1 در پایان دوره تمرینی داشته باشد. در مطالعه چن[۱] و همکارانش (۲۰۱۱) افزایش بیان MuRF1 در شرایط آتروفی ناشی از دیابت را مرتبط با استرس اکسیداتیو دانسته‌اند و در سلول های تحت کشت مطالعه آن‌ها مشاهده شد H_2O_2 بیان MuRF1 و تجزیه MHC را تحریک می‌کند (۲۷). نتایج ریبرو و همکاران (۲۰۱۷) نیز حاکی از آن است که ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی با کاهش MuRF1 در عضلات تمرین کرده موش‌های جوان و مسن همراه می‌باشد (۱۶). در شرایط دیابتی هیپرگلیسمی مداوم به شکل معنی‌داری بالانس پرواکسیدان-آنتی اکسیدان را به هم می‌ریزد و ROS افزایش و میزان آنتی اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد (۲۸). کاهش انسولین و افزایش استرس اکسایشی برای تجزیه پروتئین‌ها و آتروفی عضلانی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین تنظیم منفی فرایندهای آنابولیک و همچنین استرس اکسیداتیو رخ داده در حیوانات تحت STZ نیز می‌توانند پروتئولیز عضلانی را فعال کرده و بیان MuRF1 را افزایش دهند. با این وجود، کاهش بیان MuRF1 متعاقب تمرین در تحقیق حاضر با یافته‌های شیبانی و همکاران (۱۳۹۷)، هالوی[۲] و همکاران (۲۰۱۵) و اتو[۳] و همکاران (۲۰۱۷) همخوان نمی‌باشد (۳۱-۲۹). شیبانی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند بیان ژن MuRF1 بعد از تمرین با شدت بالا در عضله نعلی موش‌های نر افزایش یافت (۲۹). احتمالا عدم همخوانی نتایج این تحقیق با یافته فوق، نوع آزمودنی‌ها و مدت جلسات تمرین و همچنین مدت انجام پروتکل تمرین باشد که در پژوهش آن‌ها بیان ژن MuRF1 در موش‌های سالم و در پژوهش حاضر بیان ژن MuRF1 در نمونه‌های دیابتی اندازه‌گیری شد. همچنین در مطالعه دیگری اتو و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند سطوح MuRF1 بلافاصله و ۳ ساعت بعد از

[۱] Chen
[۲] Holloway
[۳] Ato

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

تمرینات ایزومتریک در رت‌های اسپراگودولی نر سالم تغییری نداشت (۳۰). هالوی و همکاران (۲۰۱۵) نیز تاثیر تمرین تداومی استقامتی و تناوبی با شدت بالا بر روی فاکتورهای آتروفی عضلانی در موش‌ها را بررسی کردند موش‌ها پنج جلسه در هفته به مدت چهار هفته بر روی تردمیل تمرین کردند نتایج آن‌ها نشان داد که هیچ گونه تغییری در وضعیت فاکتورهای آتروفی مانند MuRF1 ایجاد نشده است (۳۱). تناقض یافته‌های فوق با یافته تحقیق حاضر احتمالا به نوع آزمودنی‌ها، شرایط بیماری و مدت زمان تمرین مربوط باشد.

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغییرات بیان ژن SYD عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل پایه و کنترل ۸ هفته به طور معنی‌داری بیشتر بود و تغییرات بیان ژن SYD عضله اسکلتی در گروه تمرین و تمرین دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی‌داری کمتر بود. همراستا با این یافته تحقیق حاضر فولادوند و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهشی به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی استقامتی بر بیان ژن SYD در نورون‌های حرکتی رت‌های مبتلا به نوروپاتی دیابت پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد میانگین بیان ژن SYD در گروه دیابتی تمرین نکرده نسبت به گروه کنترل سالم به‌طور معناداری بالاتر بود. همچنین بیان ژن SYD در گروه دیابتی تمرین‌کرده نسبت به گروه دیابتی تمرین‌نکرده نیز به‌طور معناداری کمتر بود (۱۳). قراخانلو و همکاران (۱۳۹۲) نیز در تحقیقی گزارش کردند که پروتکل تمرین استقامتی با شدت ۵۵-۵۰ درصد Vo2max، به مدت ۶ هفته منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن SYD در رت‌های بالغ نر نژاد ویستار دیابتی تمرین کرده نسبت به گروه دیابت تمرین نکرده شد آن‌ها بیان کردند که در نرون‌های حسی رت‌های دیابتی، تنظیم افزایشی mRNASYD، در پیام رسانی آسیب نرونی درگیر بوده و ورزش به عنوان یک راهبرد غیر دارویی، می‌تواند آن را تعدیل و به سطوح نرمال نزدیک نماید (۳۲). علاوه بر این، کرمی پسکوهانی و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند تنظیم افزایشی mRNASyd در عضله نعلی رت‌های دیابتی متعاقب تمرین استقامتی با شدت متوسط به مدت ۶ هفته، در توسعه آتروفی عضلانی درگیر بوده و ورزش به عنوان یک راهبرد غیر داروئی می‌تواند آن را تعدیل و به سطوح نرمال نزدیک نماید و پیشنهاد شد Syd به عنوان یک هدف درمانی بدیع در بیماری دیابت مورد توجه قرار گیرد (۳۳). از آنجایی که HIIT مدل بسیار کارآمد زمانی برای تمرین ورزشی می باشد و بسیاری از سازگاری های سوخت و سازی را همچون تمرین استقامتی منظم تحریک می‌کند (۳۴)، بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که نتایج حاصل از سازگاری عضله اسکلتی در تحقیق حاضر نیز همچون پیامدهای تمرین استقامتی، بهبود معنی‌داری نشان دهد. نشان داده شده SYD با تبدیل کاینزین-۱ از حالت غیرفعال به فعال، به افزایش جنبش پذیری آن و تنظیم مثبت انتقال آکسونی رو به جلو منجر می‌شود (۳۵). این در حالی است که تغییر و تبدیل‌های پس ترجمه‌ای پس از وقوع آسیب دیدگی در عصب سیاتیک، موجب تضعیف اتصال SYD به کاینزین و تقویت اتصال آن به مجموعهٔ داینئین -داین اکتین می‌شود (۳۶). این موضوع نشان می‌دهد که در شرایط آسیب دیدگی عصبی SYD با تغییر توازن جهت انتقال آکسونی، به اختلال در انتقال آکسونی رو به جلو منجر می‌شود. از این رو با توجه به نتایج پژوهش حاضر، می‌توان گفت که احتمال می‌رود SYD در عوارض ناشی از بیماری دیابت درگیر باشد. همچنین این احتمال وجود دارد که در پژوهش حاضر، تمرین استقامتی از طریق بهبود سطوح انرژی سلولی و کاهش سایتوکاین‌های التهابی، تنظیم کاهشی SYD mRNA را به همراه داشته است؛ اگر چه این موارد به طور

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

مستقیم در پژوهش حاضر ارزیابی نشده‌اند و جهت اثبات این موضوع، نیاز به انجام مطالعات بیشتر است. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به مطالعه بر روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدویت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری سایر فاکتورهای مرتبط با آتروفی در عضله اسکلتی اشاره کرد. اندازه گیری عوامل رونویسی درگیر در تنظیم آتروفی عضلانی مانند FoxO و NF-κB نیز می‌تواند اثرات فعالیت بدنی بر آتروفی در عضله اسکلتی در افراد مبتلا به دیابت را به طور روشن‌تری نشان دهد. به هرحال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی شدید می‌تواند از طریق کاهش بیان ژن syd و murf1 در عضله اسکلتی به کاهش آتروفی در افراد مبتلا به دیابت کمک نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله، از کارشناسان آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) که در اجرای این تحقیق همکاری داشته اند؛ قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

References

1. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24(5):816-23.
2. Le NH, Kim CS, Park T, Park JH, Sung MK Lee DG, *et al.* Quercetin protects against obesity-induced skeletal muscle inflammation and atrophy. Mediators Inflamm 2014; 2014: 834294.
3. Kalyani RR, Corriere M, Ferrucci L. Age-related and disease-related muscle loss: the effect of diabetes, obesity, and other diseases. Lancet Diabetes Endocrinol 2014; 2: 819–29.
4. Cohen S, Nathan JA, Goldberg AL. Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. Nat Rev Drug Discov 2015; 14(1):58–74.
5. Lambertucci AC, Lambertucci RH, Hirabara SM, Curi R, Moriscot AS, Alba-Loureiro TC, *et al.* Glutamine supplementation stimulates protein-synthetic and inhibits protein-degradative signaling pathways in skeletal muscle of diabetic rats. PLoS One 2012; 7(12): e50390.
6. Hulmi JJ, Silvennoinen M, Lehti M, Kivela R, Kainulainen H. Altered REDD1, myostatin, and Akt/mTOR/FoxO/MAPK signaling in streptozotocin- induced diabetic muscle atrophy. Am J Physiol Endocrinol Metab 2012; 302(3): E307–15.
7. Sandri M. Protein breakdown in muscle wasting: role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome. Int J Biochem Cell Biol 2013; 45(10):2121–9.
8. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. J Am Soc Nephrol 2006; 17(7):1807–1819.
9. Zhao J, Brault JJ, Schild A, Cao P, Sandri M, Schiaffino S, *et al.* FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteaso-mal pathways in atrophying muscle cells. Cell Metab 2007; 6(6):472–83.
10. Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham, A, *et al.* Muscle atrophy in patients with Type 2 diabetes mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. Exerc Immunol Rev 2016; 22, 94–109.
11. Schulman VK, Folker ES, Rosen JN, Baylies MK. Syd/JIP3 and JNK signaling are required for myonuclear positioning and muscle function. PLoS Genet 2014;10(12): e1004880.
12. Folker ES, Baylies MK. Nuclear positioning in muscle development and disease. Front Physiol 2013; 4: 363.

www.SID.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

13. Fouladvand M, Gharakhanlou R, Hematfar A, Rahmati M. The Effect of endurance training on SYD gene expression in motor neurons of rats with diabetic neuropathy. Journal of Sport Biosciences 2017; 8(4): 480-65. [Persian]
14. 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. tbzmed 2016; 38(2):6-13. [Persian]
15. Liu HW, Sue-Joan C. Moderate exercise suppresses NF-κB signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1α axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. Front Physio 2018;29(9): 636.
16. Ribeiro MBT, Guzzoni V, Hord JM, Lopes GN, Marqueti RC, Andrade RV, *et al*. Resistance training regulates gene expression of molecules associated with intramyocellular lipids, glucose signaling and fiber size in old rats. Sci Rep 2017; 7: 8593.
17. da Silva DE, Grande AJ, Roever L, Tse G, Liu T, Biondi-Zoccai G, de Farias JM. High-intensity interval training in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. Curr Atheroscler Rep 2019 2;21(2):8.
18. Wormgoor SG, Dalleck LC, Zinn C, Harris NK. Effects of High-Intensity Interval Training on People Living with Type 2 Diabetes: A Narrative Review. Can J Diabetes 2017; 41(5):536-47.
19. Gibala M J, Little J P, Macdonald M J, Hawley J A. Physiological adaptations to lowvolume, high-intensity interval training in health and disease. J Physiol 2012; 590 (5):1077-84.
20. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of Garuga pinnata Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. J Ethnopharmacol 2006; 107 (2): 285-90
21. Aghaei F, Mohsenzadeh M. The effect of high intensity interval training on retinol binding protein 4 and AMP-activated protein kinase gene expression in skeletal muscle of rats with type ii diabetes. Armaghane danesh 2019; 23(6):709-1.
22. Junyent F, Verdaguer E, Folch J, Beas-Zarate C, Pallàs M, Auladell C, *et al.* Role of JNK in neurodegenerative diseases. Recent Advances in Pharmaceutical Sciences II 2012; 37(2): 15-28
23. 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 Metab 2007; 6(5): 376-85.
24. Centeno C, Repici M, Chatton JY, Riederer BM, Bonny C, Nicod P, *et al*. Role of the JNK pathway in NMDA-mediatedxcitotoxicity of cortical neurons. Cell Death Differ 2007; 14(2):240-53.
25. Antoniou X, Falconi M, Di Marino D, Borsello T. JNK3 as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. J Alzheim Dis 2011; 24(4):633–42.
26. Kelleher AR, Fairchild TJ, Keslacy S. STZ-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased p65 content and downregulation of insulin pathway without NF-kappaB canonical cascade activation. Acta Diabetol 2010; 47(4): 315-23.
27. 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 Sci 2011; 89(2): 44-9.
28. Mastrocola R, Reffo P, Penna F, Tomasinelli CE, Boccuzzi G, Baccino FM, *et al.* Muscle wasting in diabetic and in tumor bearing rats: role of oxidative stress. Free Radic Biol Med 2008; 44(4):584- 93.
29. 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- Journal of Medical. 2018; 20 (1) :31-9. [Persian]
30. Ato S, Makanae Y, Kido K, Fujita S. Contraction mode itself does not determine the level of mTORC1 activity in rat skeletal muscle. Physiol Rep 2016; 4(19):1–11.
31. Holloway TM, Bloemberg D, da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. PloS One. 2015; 10(3):1–16.
32. Gharakhanlou R, Fouladvand M, Hematfarorcid A, Rahmati M. Modulation of SYD gene expression in sensory neurons of rats with diabetic neuropathy following endurance training. Ijdld. 2013; 12(4):292-301. [Persian]

www.SID.ir

Archive of SID

33. Karami Paskohani A, Rahmati M, Kazemi A. modulation of sundaydrivergene expression in soleus muscle of rats with diabetic neuropathy following endurance training. ijdld. 2016; 14 (3) :169-78. [Persian]
34. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia 2017; 60(1):7-23.
35. Bowman AB, Kamal BW, Richtings A, Philp M, McGrail JG, Gindhardt LSB. Kinesin-dependent axonal transport is mediated by the Sunday driver(SYD) protein. Cell 2000; 103(4):583-94.
36. Cavalli V, Kujala P, Klumperman J, Goldstein LS. Sunday Driver links axonal transport to damage signaling. J Cell Biol 2005; 168(5):775–87.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

www.SID.ir

Archiv

Journal of Neyshabur University of Medical Sciences

www.journalnums.ac.ir

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 10:45 IRST on Wednesday January 15th 2020

The effect of high-intensity interval training (HIIT) on syd and murf1 gene expression in skeletal muscle of diabetic rats

Ahmad Jafari[1], Mozhgan Ahmadi [*2], Saeedeh Shadmehri[2]

1. Department Sport physiology, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Original Article

Received: 13 May, 2019
Accepted: 01 Jan, 2019

***Corresponding Author:**
Mozhgan Ahmadi, Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University, Yadegar-e-Imam Khomeini, Shahre-rey Branch, Tehran, Iran
TEL: 02155229351
Email:
mahmadi1376@gmail.com

ABSTRACT

Introduction
Syd and Murf1 are important molecular markers for muscle atrophy that increase significantly in skeletal muscle in various conditions, such as diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of high-intensity interval training (HIIT) on syd and murf1 genes expression in skeletal muscle of diabetic rats.

Materials and Methods
To the implementation of this experimental research, 60 male Wistar rats weighing 220 ± 20 gr randomly were divided into 5 groups including baseline control, eight-week control, diabetes, training, and diabetes-training. In this study, the rats were diabetic using given a single dose of 50 mg/ kg per body weight and peritoneal injection streptozotocin. High-intensity interval training performed on the treadmill with intensity of 80-85% VO2max, 5 days a week and for 8 weeks. The expression of syd and murf1 genes were measured by Real-Time PCR. Data were analyzed by one-way ANOVA and Bonferroni's post hoc test at the $p<0.05$.

Results
The changes in the expression of Murf1 and Syd genes of the skeletal muscle in the diabetes group were significantly higher than the control group (P=0.001). The high-intensity interval training significantly reduced the expression of Murf1 and Syd genes (P=0.001).

Conclusion
HIIT may help reduce atrophy in diabetic patients by reducing the expression of syd and murf1 genes in skeletal muscle.

Keywords
diabetesh-intensity interval training, syd, murf1

► ***Please cite this article as:*** Jafari A, Ahmadi M, Shadmehri S. The effect of high-intensity interval training (HIIT) on syd and murf1 gene expression in skeletal muscle of diabetic rats. J Neyshabur Univ Med Sci 2019;7(3):119-130

www.SID.ir