



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

احمد جعفری^۱، مژگان احمدی^{۲*}، سعیده شادمهری^۲

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 220 ± 20 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 میلی گرم 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 $p \leq 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها

بیان ژن syd و murf1 عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه‌های کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0.001$) و تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن murf1 و syd شد ($P=0.001$).

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



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 آترومی عضله اسکلتی همراه است (۲-۴). آترومی عضلانی به عنوان کاهش توده عضلانی شناخته می‌شود و طی بیماری‌های مزمن مانند دیابت نوع ۲ می‌تواند باعث آسیب عضلات اسکلتی و آترومی از طریق اثرات مستقیم بر گلوکز بالا و انسولین پایین شود (۵). در نهایت عضله در حال آترومی 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 آترومی عضلانی کمک می‌کنند (۷). در عضله سالم، تخریب پروتئین‌های آسیب دیده برای حفظ هموستاز سلولی حیاتی است. با این حال، در شرایط آترومی مانند عدم تحرک یا دیابت، افزایش فعالیت این مسیرها باعث افزایش میزان تخریب پروتئین‌های انقباضی و در نهایت منجر به آترومی عضلانی می‌شود (۸). عوامل مختلفی که به طور کلی آتروژن‌ها نامیده می‌شوند، در آترومی عضلانی دخیل هستند. MuRF1 یکی از این آتروژن‌ها و جزء کلیدی سیستم یوبی کوئیتین-پروتئوزوم است که توسط عوامل رونویسی مربوط به آترومی (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 نوروهای 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 داینن^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.

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

^۲ Sunday Driver^۳ JNK-interacting protein (JIP)^۴ kinesin^۵ Dynein^۶ High-intensity interval training (HIIT)^۱ Muscle RING-finger protein-1 (MuRF1)



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 تأثیر 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 پیش‌آزمون - 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 220 ± 20 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 میلی گرم 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 میلی گرم بر دسی لیتر 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 $22 \pm 1/4$ 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 قرارداد 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 ترمیم 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



دقیقه‌ای بود که از ۶ وهله تمرینی در هفته اول به ۱۲ وهله تمرینی در هفته آخر 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

شده پاسخ ندهد)، حدود ۵۰ میلی گرم 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 آن‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع، بافت‌ها هموژن شدند و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۸ میلی لیتر 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 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تجزیه و تحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از (Applied Biosystems) PCR master mix و SYBR Green در دستگاه Applied ABI Step One 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.

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 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. بعد از بی هوشی کامل (به طوری که موش به تحریک اعمال

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



تفاوت وجود دارد ($P=0/000$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه های کنترل پایه و کنترل ۸ هفته به طور معنی داری بیشتر بود ($P=0/000$). تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی داری کمتر بود ($P=0/000$). همچنین تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی در گروه تمرین- دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی داری کمتر بود ($P=0/000$) (نمودار ۱).

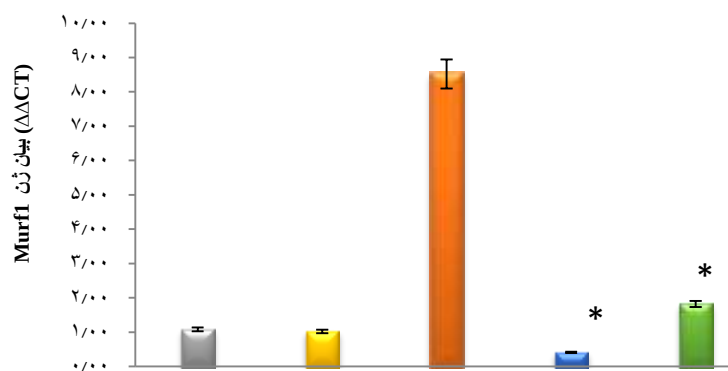
برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک و برای همگن کردن واریانس ها از آزمون لوین و همچنین از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. سطح معنی داری در همه موارد $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

یافته ها

در جدول ۳ میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی موش های دیابتی در گروه های مختلف تحقیق

جدول ۳- میانگین و انحراف استاندارد متغیرهای تحقیق در گروه های مختلف

گروه	کنترل پایه	کنترل ۸ هفته	دیابت	تمرین	تمرین- دیابت
بیان ژن Murf1 (CTΔΔ)	۱/۰۸±۰/۴۲۹	۱/۰۲±۰/۵۸۹	۸/۵۲±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



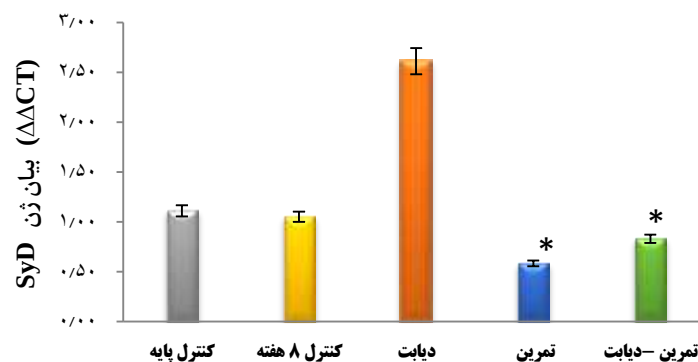
* تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابت ($P \leq 0/05$).

نمودار ۱- تغییرات بیان ژن Murf1 عضله اسکلتی موش های دیابتی در گروه های مختلف



معنی داری بیشتر بود. تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه تمرین نسبت به گروه دیابت به طور معنی داری کمتر بود ($P=0/002$). همچنین تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه تمرین- دیابت نسبت به گروه دیابت به طور معنی داری کمتر بود ($P=0/010$) (نمودار ۲).

تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که بین میانگین بیان ژن SyD عضله اسکلتی موش های دیابتی در گروه های مختلف تحقیق، تفاوت معناداری وجود دارد ($P=0/003$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تغییرات بیان ژن SyD عضله اسکلتی در گروه دیابت نسبت به گروه های کنترل پایه ($P=0/044$) و کنترل ۸ هفته ($P=0/032$) به طور



* تفاوت معنی دار نسبت به گروه دیابت ($P \leq 0/05$).

نمودار ۲- تغییرات بیان ژن SyD در عضله اسکلتی موش های دیابتی در گروه های مختلف

پناهی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند ۴ هفته تمرین مقاومتی می تواند بیان ژن MURF1 در موش های 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 موش های 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 می کند (۱۵). مطالعات متعددی تلاش کرده اند که مکانیسم های موثر در افزایش بیان MuRF1 در عضله دیابتی شده را دریابند؛ بیان این ژن توسط دو عامل رونویسی تنظیم می شود: FoxO و NF-κB. یافته ها نشان می دهند که افزایش در فعالیت NF-κB برای افزایش ناشی

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 می تواند موجب کاهش بیان MuRF1 و کاهش آتروفی در موش های 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 پژوهش های کمی صورت گرفته است که در تفسیر نتایج سازوکارهای متفاوتی را بیان کرده اند؛ در همین راستا،

^۱ Liu

^۲ Ribeiro



از IKKB در رونویسی MuRF1 ضروری است و حداقل ۵۰ درصد تغییرات توده عضلانی ناشی از فعال شدن MuRF1 به فعال شدن NF- κ B نسبت داده شده است (۲۲). از آنجا که فعال شدن مزمن IKK در بیماران دیابتی رخ می‌دهد و در شرایط دیابتی، NF- κ B به شدت فعال می‌شود، در نتیجه به نظر می‌رسد مسیر NF- κ B یکی از مسیرهای اصلی درگیر در افزایش MuRF1 ناشی از دیابت باشد. فاکتور رونویسی Foxo نیز در تحلیل عضلانی درگیرند و احتمالاً لیگازهای یونیکون لاین MuRF1 را منعکس می‌کنند (۲۳). التهاب سبب افزایش فعالیت MAPK p38 از طریق NF- κ B می‌شود که این عوامل می‌تواند مسئول بیان آتروژن‌ها و تجزیه پروتئین‌ها (آتروفی) باشد (۲۴). همچنین، مطالعاتی که روی سلول‌های چوندگان 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 تأثیر عوامل گوناگونی از جمله شدت و مدت فعالیت و یا تأثیر 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 سلول‌های تحت کشت مطالعه آن‌ها مشاهده شد H₂O₂ 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 می‌تواند 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). احتمالاً 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



تمرینات ایزومتریک در رت‌های اسپراگودولی نر سالم تغییری نداشت (۳۰). هالوی و همکاران (۲۰۱۵) نیز تأثیر 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 احتمالاً 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 نرونها 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 تمرین کرده نسبت به گروه دیابتی تمرین نکرده نیز به‌طور معناداری کمتر بود (۱۳). قراخلو 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 نرونها حسی رت‌های دیابتی، تنظیم افزایشی mRNA SYD، در پیام‌رسانی آسیب‌زایی 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 mRNA SYD 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 دارویی 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 می‌باشد و بسیاری از سازگاری‌های 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 مجموعه 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 کاهش SYD mRNA را به همراه داشته است؛ اگر چه این موارد به طور



نتیجه گیری

به طور خلاصه، به نظر می رسد تمرین تناوبی شدید می تواند 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 می نمایند.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافع در اجرای این پژوهش وجود نداشته است.

مستقیم در پژوهش حاضر ارزیابی نشده اند و جهت اثبات این موضوع، نیاز به انجام مطالعات بیشتر است. محدودیت هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می توان به مطالعه بر روی نمونه های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدودیت های تحقیق حاضر می توان به عدم اندازه گیری سایر فاکتورهای مرتبط با آتروفی در عضله اسکلتی اشاره کرد. اندازه گیری عوامل رونویسی درگیر در تنظیم آتروفی عضلانی مانند FoxO و NF- κ B نیز می تواند اثرات فعالیت بدنی بر آتروفی در عضله اسکلتی در افراد مبتلا به دیابت را به طور روشن تری نشان دهد. به هر حال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز 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 proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab* 2007; 6(6):472-83.
10. Perry BD, Caldwor 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.



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- κ B signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1 α 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-mediated excitotoxicity 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. *Ijdd*. 2013; 12(4):292-301. [Persian]



33. Karami Paskohani A, Rahmati M, Kazemi A. modulation of sundaydriver gene expression in soleus muscle of rats with diabetic neuropathy following endurance training. *ijdl*. 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.



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

Ahmad Jafari¹, Mozghan Ahmadi ^{*2}, Saeedeh Shadmehri²

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:**
Mozghan 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

diabetes-high 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