

# تأثیر هم‌زمان تمرین‌های مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر بیان فاکتور تحلیل رفتگی عضلانی MURF1 و رابطه‌ی آن با مقاومت به انسولین در رت‌های نر دیابتی القاء شده با STZ

ایرج خالقی<sup>۱</sup>، عیدی علیجانی<sup>۱\*</sup>، علیرضا رحیمی<sup>۱</sup>، مهسا محسن زاده<sup>۱</sup>

## چکیده

**مقدمه:** اختلالات دیابت می‌تواند منجر به تحلیل رفتگی عضلانی شود. این پژوهش با هدف تعیین اثر هم‌زمان تمرین‌های مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر فاکتور تحلیل رفتگی عضلات نعلی موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد. روش‌ها: ۳۰ سر موش صحرایی (با سن ۶ هفته با وزن  $20 \pm 20$  گرم) به صورت تصادفی به پنج گروه سالم پایه، دیابتی کنترل (D)، دیابتی تمرین کرده (DR)، دیابتی تمرین نکرده با تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال (DI)، دیابتی تمرین کرده با تزریق هم‌زمان سلول‌های اجدادی اندوتلیال (DRI) تقسیم شدند. برای بررسی تغییرات بیان MURF1 به روش وسترن بلات و شاخص مقاومت به انسولین به روش الیزا اندازه‌گیری شدند. داده‌ها به روش آزمون تحلیل واریانس دو عاملی توسط نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ در سطح معناداری  $\alpha \geq 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** در این پژوهش ۶ هفته تمرین مقاومتی باعث کاهش معنادار MURF1 و شاخص مقاومت به انسولین شد. همچنین تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال نیز منجر به کاهش معنادار MURF1 و شاخص مقاومت به انسولین شد. اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی نیز منجر به کاهش معنادار در سطوح murf1 شد، اما شاخص مقاومت به انسولین در هم‌زمانی تمرین و تزریق نسبت به تنها تمرین یا تزریق برتری معنادار نداشت.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان اظهار داشت که تمرین مقاومتی و یا تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال می‌تواند سبب بهبود تحلیل رفتگی عضلانی شود اما استفاده‌ی هم‌زمان این دو راهکار برتری در کاهش عوارض آتروفی در رت‌های دیابتی نداشت.

**واژگان کلیدی:** تمرین مقاومتی، سلول اجدادی اندوتلیال، تحلیل رفتگی عضلانی، دیابت

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

\***نشانی:** کرج، رجایی شهر، بلوار مودن، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، نمابر: ۰۲۶۱۴۴۱۸۱۵۶، تلفن:

۰۹۱۲۱۲۶۷۱۱۶، پست الکترونیک: eidyaliyani@yahoo.com

## مقدمه

دیابت شیرین یک بیماری شایع در دنیا است که شیوع گسترده‌ی آن این بیماری را به یک نگرانی عمده‌ی بهداشت عمومی تبدیل کرده است. این بیماری عوارض جدی از قبیل نفروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی و مشکلات قلبی عروقی را به دنبال دارد، به علاوه، آتروفی عضلانی یکی از عواقب معمول دیابت است [۱]. از آنجا که انواع آتروفی از نظر سازگاری‌های رونویسی شباهت‌های زیادی دارند، به نظر می‌رسد محرک‌های شروع کننده‌ی آتروفی با سازوکارهای سیگنالینگ‌های معمولی عمل کرده و بر عوامل رونویسی مشترکی اثر دارند. میزان پایین انسولین و احتمالاً IGF-1<sup>۱</sup>، همراه با افزایش میزان گلوکوکورتیکوئیدها، از دست دادن پروتئین عضلانی در دیابت را تحریک می‌کنند [۲].

Murf1<sup>۲</sup> یک لیگاز یوبی کوئیتین B3 است که به‌طور تخصصی در عضلات اسکلتی و قلبی بیان می‌شود و به‌عنوان یک واسطه‌ی تحلیل عضلانی در بسیاری از مدل‌های تحلیل عضلانی از جمله دیابت شناخته شده است و در نتیجه‌ی آتروفی بیان آن افزایش می‌یابد [۳]، این پروتئین به‌عنوان یک مارکر آتروفی است [۴].

ورزش منظم برای بیماران دیابتی فواید بسیاری دارد. با وجود اثرات سودمند فعالیت هوازی بر فاکتورهای قلبی عروقی و متابولیکی برخی از بیماران مبتلا به دیابت به‌ویژه افراد مسن و چاق در انجام این تمرین‌ها با مشکل مواجه هستند. در دهه‌ی اخیر نقش تمرین مقاومتی به‌عنوان ابزاری جهت بهبود مقاومت انسولینی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است [۵]. به‌دلیل افزایش حساسیت انسولینی و توده‌ی عضلانی ناشی از انقباض عضلانی، انجام تمرین‌های مقاومتی را در درمان بیماری دیابت مؤثر می‌دانند و همچنین نشان داده شده که برای افراد چاق و سالمند این نوع تمرین مؤثر و ایمن است [۶]. تمرین ورزشی مقاومتی موجب افزایش عملکرد انسولین در عضله‌ی اسکلتی می‌شود، تحمل گلوکز را بهبود می‌دهد و باعث کاهش غلظت‌های هموگلوبین گلیکولیز می‌شود. تمرین‌های ورزشی مقاومتی باعث افزایش توده‌ی عضلانی، قدرت و عملکرد عضلانی در

دیابتی‌ها می‌شود. با وجود آنکه شواهدی وجود ندارد که ثابت کند تمرین مقاومتی از دیابت جلوگیری می‌کند، به‌نظر می‌رسد تمرین مقاومتی باعث بهبود حساسیت انسولینی می‌شود و تحمل گلوکز را بهبود می‌بخشد، به علاوه، تمرین‌های مقاومتی با افزایش توده‌ی عضلانی برای نمونه‌های دیابتی مؤثرترند. سازوکارهای افزایش دهنده‌ی توده‌ی عضلانی در اثر تمرین مقاومتی در بیماران دیابتی نوع یک می‌تواند در ایجاد روش‌های درمانی مناسب این گروه از بیماران مؤثر باشد [۷]. فعالیت ورزشی برای افراد مبتلا به دیابت نوع یک توصیه می‌شود. در پژوهشی تأثیر مدهای مختلف تمرین بر کنترل قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع یک مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه‌ی این پژوهش نشان داد که در حین تمرین هوازی کاهش گلوکز خون بیشتر از کاهش قند خون در حین تمرین مقاومتی است. اما در ۲۴ ساعت پس از تمرین مقاومتی کاهش قند خون به میزان قابل توجهی بیشتر بود بنابراین تمرین‌های مقاومتی می‌تواند اثرات سودمندتری جهت کنترل قند خون داشته باشد [۸].

از جدیدترین راهکارهای درمانی که در مطالعات زیادی بر روی نمونه‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته و نتیجه‌ی مثبتی نیز نشان داده است، سلول‌درمانی و استفاده از سلول‌های بنیادی است که قدم بعدی برای این مطالعات، طراحی مطالعات انسانی با پیدا کردن بهترین نوع سلول بنیادی برای تزریق است [۹]. در سال‌های اخیر توجه بسیاری از محققین به‌عنوان یک روش نوین برای درمان بیماری‌ها به سلول‌های بنیادی جلب شده است [۱۰]. درمان توسط سلول‌های بنیادی یک روش امیدوار کننده برای درمان دیابت نوع یک است. مطالعات قبلی کنترل دیابت نوع یک را به‌وسیله‌ی ورزش منظم توصیه می‌کردند و مطالعات تجربی نشان می‌دهد که ترکیبی از سلول‌های بنیادی و ورزش نتیجه بهتری را به همراه دارد، با این وجود، تأثیر برنامه‌های ورزش به‌دنبال القا سلول‌های بنیادی در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک بررسی نشده است [۱۱]. مطالعات جدید نشان داده است که سلول‌های بنیادی باعث کاهش سطوح گلوکز بیشتر از طریق تأثیر در پاراکرین تا تأثیر مستقیم بر سلول‌های مواد انسولین

<sup>2</sup> Muscle ring-finger protein-1

<sup>1</sup>Insulin-like growth factor 1

کنترل ۳- گروه دیابتی+تمرین مقاومتی ۴- گروه دیابتی+تزریق سلول اجدادی اندوتلیال ۵- گروه دیابتی+ تمرین مقاومتی-تزریق سلول اجدادی اندوتلیال به صورت تصادفی تقسیم شدند. اصول کدهای اخلاق و موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج مورد تأیید قرار گرفته است. آزمودنی‌ها تحت شرایط کنترل شده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با رطوبت ۵۰ درصد و درجه حرارت ۲۲ درجه با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

### القای دیابت

برای القای دیابت در رت‌ها از استرپتوزوتوسین در همه‌ی مراحل به صورت درون صفاقی (IP) با دوز ۴۰ mg/kg استفاده شد. قبل از انجام آزمایش، تمامی موش‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر Accu-check مدل Active ساخت کارخانه‌ی Roche آلمان و با اخذ یک قطره خون از طریق قاعده‌ی دم، گلوکز خون آنها تا ۳ روز پس از دیابتی کردن آنها اندازه‌گیری شد.

### تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال

برای جداسازی و کشت سلول‌های اجدادی اندوتلیال، رت‌ها پس از بیهوشی با استفاده از کتامین و زایلازین، با روش جابجای گردن یوتانایز شدند. و به صورت استریل استخوان فمور آنها جدا شد و پس از برداشت بافت‌های عضلانی و پیوندی اضافی، دو سر استخوان (اپی فیز) به وسیله پنس استخوان بر<sup>۱</sup> قطع شد. بعد از سانتریفوژ سلول‌های تک هسته‌ای مغز استخوان (BMMNCs)<sup>۲</sup> که در محل تلاقی دو فاز به صورت لایه‌ی شیری رنگ متمایز بودند، به آرامی توسط سمپلر برداشته شد و دو بار با PBS شستشو داده شد و سلول‌ها در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای پوشیده شده با فیبرونکتین (Cat No: 3043050, promocell; Germany) و در محیط کشت سلول‌های اندوتلیال (M199) همراه با فاکتور رشد EGM-2<sup>۳</sup> (Cat No: C-39211, Promocell, Germany) شامل EGF, VEGF, bFGF, IGF, هیدوکورتیزول و اسید آسکوربیک به همراه ۱۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و ۳٪

می‌شود [۱۲]. سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال در افراد دیابتی عملکردی ندارند و باید ترمیم شوند. بنابراین استفاده از سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال می‌تواند امکان ایجاد یک رویکرد درمانی بدون دارو را فراهم کند و در درمان عوارض دیابت مؤثر باشد. تا به امروز برای درمان با سلول‌های کلونی‌ساز اندوتلیال به آزمایشات بالینی بیشتری ادامه نداده‌اند بنابراین برای درمان عوارض دیابت با این سلول‌های به تحقیقات بیشتری نیاز است [۱۳].

در مطالعه‌ی Molanouri Shamsi (۲۰۱۳) به بررسی ۵ هفته تمرین مقاومتی بر بیان سایتوکاین‌های عضلانی در رت‌های سالم و دیابتی حجم عضله کاهش یافت، درحالی‌که تمرین مقاومتی سبب حفظ عضله در رت‌های دیابتی گردید [۷]. در مطالعه‌ی دیگری Panahi و همکاران (۱۳۹۲) بررسی چهار هفته تمرین مقاومتی بر بیان فاکتورهای آتروفی عضلانی در موش‌های صحرائی نژاد ویستار دیابتی پرداختند و نتایج این مطالعه نشان داد که با انجام تمرین کوتاه مدت مقاومتی نیز می‌توان به مقابله با آتروفی عضلانی ناشی از دیابت در موش‌های دیابتی پرداخت و این تمرین‌ها می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان آتروفی در دیابت باشد [۱۴]. بنابراین پژوهش حاضر در نظر دارد با توجه به تأثیر تمرین‌های مقاومتی و همچنین سلول‌های اجدادی اندوتلیال در درمان غیر دارویی دیابت، به بررسی تأثیر هم‌زمان شش هفته تمرین‌های مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال در رت‌های دیابتی پردازد و اثر این دو عامل را بر بیان فاکتور آتروفی murf1 در عضله‌ی نعلی رت‌های صحرائی دیابتی و شاخص مقاومت به انسولین بررسی کند.

### روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی بر روی ۳۰ سر رت نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۰±۲۰ گرم و سن تقریبی ۶ هفته به روش آزمایشگاهی انجام شد. رت‌ها از دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه سورن و آشنایی با محیط جدید در ۵ گروه شامل: ۱- گروه سالم ۲- گروه دیابتی

<sup>3</sup> Endothelial growth medium

<sup>1</sup> bone cutter

<sup>2</sup> Bone marrow mononuclear cells

جلسات ۷-۹ وزنه ۸۰٪ وزن بدن، در جلسات ۱۰-۱۴ وزنه ۱۰۰٪ وزن بدن است. در جلسات ۱۵-۱۷ رت‌ها وزنه ۱۲۰٪ وزن بدن را بالای نردبان حمل می‌کردند [۷].

### روش‌های آماری

ابتدا متغیرهای تحقیق با استفاده از آمار توصیفی از طریق میانگین و انحراف استاندارد توصیف گردید. برای تعیین توزیع نرمال داده‌های از آزمون کلموگروف اسمیرنوف استفاده شد با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها برای مقایسه فاکتورها در دو گروه سالم و دیابتی از آزمون پارامتریک t-مستقل استفاده شد. با در نظر گرفتن مداخلات که دارای دو سطح (تمرین مقاومتی-تزریق سلول اجدادی اندوتلیال) است از آزمون آماری تحلیل واریانس دو عاملی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری spss نسخه ۱۹ انجام گردید و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شده است.

### یافته‌ها

تغییرات مقادیر بیان فاکتور آتروفی murf1 و شاخص مقاومت به انسولین در بافت عضله‌ی اسکلتی موش‌های گروه‌های سالم، دیابتی کنترل، دیابتی با تزریق سلول‌های بنیادی، دیابتی با تزریق و تمرین مقاومتی در جدول ۱ به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.

سرم جنین گاوی در انکوباتور با دمای  $37^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی ۹۵٪ و دی اکسید کربن ۵٪ کشت داده شد. محیط کشت در ۲۴ ساعت اول به‌منظور حذف سلول‌های مرده، و هماتوپویتیکی تعویض شد. در نهایت محیط کشت در روز ۳ و ۷ تعویض شده و سلول‌ها توسط میکروسکوپ معکوس (Nikon Eclips TS100, Japan) متصل به دستگاه تصویربرداری دیجیتالی (Sight DS-L2, Nikon, Japan) تصویر برداری و برای مطالعه مورد استفاده قرار گرفته شد. و بعد از ۷ روز بعد از تریپسینه کردن سلول‌ها، سلول‌ها جهت تزریق آماده شد. بعد از شمارش ۵۰۰ هزار سلول توسط دستگاه سل کانتر (Model: MEK-6450k, Nihon Kohden) از طریق ورید دمی تزریق شد.

### پروتکل تمرینی

موش‌ها به مدت یک هفته با نحوه‌ی فعالیت بر روی نردبان آشنایی پیدا کردند. تمرین به‌وسیله یک نردبان با ارتفاع ۱ متر و با ۲۶ پله انجام شد. گروه DR و DRI در مجموع ۱۷ جلسه تمرین مقاومتی را اجرا کردند. استراحت بین جلسات تمرینی ۴۸ ساعت در نظر گرفته شد.

هر جلسه تمرین شامل ۵ ست با ۴ تکرار در هر ست با یک دقیقه استراحت بین تکرارها و ۳ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود. شدت تمرین به گونه‌ای بود که در ۳ جلسه‌ی اول میزان وزنه ۵۰٪ وزن بدن موش‌ها، در جلسات ۴-۶ وزنه ۵۰٪ وزن بدن، در

جدول ۱- توصیف متغیرهای تحقیق

گروه	HOMA-IR		MURF1	
	SD	M	SD	M
پایه سالم	۰/۳۴۵	۰/۶۲۵۲	۰/۰۲۸	۰/۰۶۶۰
دیابتی - کنترل	۱/۷	۱۰/۵۵	۰/۱۰۸	۰/۷۷۱۷۶
دیابتی - تزریق	۰/۷۹	۷/۸۶	۰/۰۵۳	۰/۶۳۵۱
دیابتی - تمرین	۱/۱	۵/۷۸	۰/۰۳۳	۰/۳۹۵۶
دیابتی - تزریق-تمرین	۰/۵۸	۲/۸۰	۰/۰۱۸۶	۰/۱۴۰۴

نتایج تحلیل t مستقل نشان می‌دهد که بین بیان فاکتور آتروفی murf1 رت‌های سالم ( $M=0.7717$ ) و دیابتی کنترل تفاوت معناداری وجود دارد ( $P=0.000$ ).

نتایج تحلیل t مستقل نشان می‌دهد که بین بیان فاکتور آتروفی murf1 رت‌های سالم ( $M=0.7717$ ) و دیابتی کنترل تفاوت معناداری وجود دارد ( $P=0.000$ ).

تفاوت معنی داری وجود دارد ( $\eta^2=0/93$ ،  $P=0/000$ ،  $F_{(1, 20)}=284/5$ ). به عبارت دیگر، تمرین‌های مقاومتی منجر به کاهش معنی دار بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در بافت عضلانی رت های دیابتی القا شده با STZ شد.

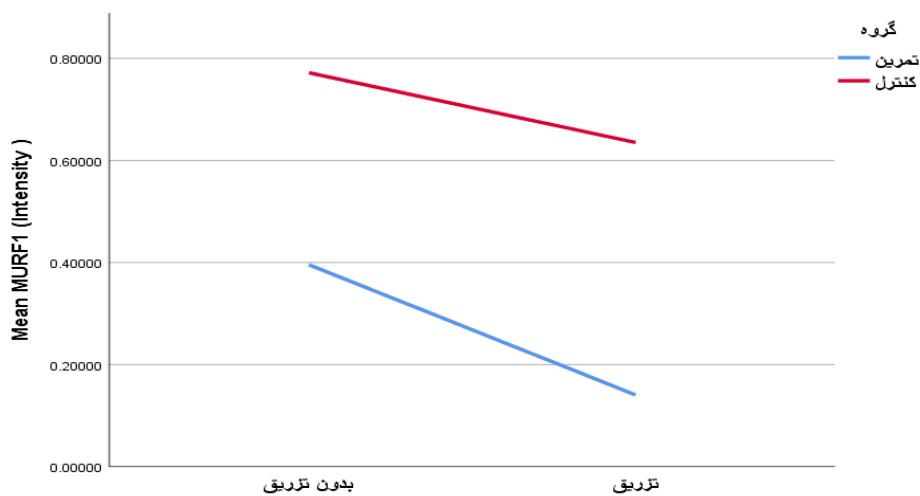
نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) در جدول ۲ نشان داد که اثر اصلی تمرین بر بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی دار است؛ یعنی، بین میانگین بیان MURF1 رت‌های گروه تمرین ( $M=0/2680$ ،  $SD=0/135$ ) و کنترل ( $M=0/7034$ ،  $SD=0/108$ )

جدول ۲- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) برای MURF1

منبع	SS	df	MS	F	Sig	$\eta^2$
تمرین	۱/۱۳	۱	۱/۱۳	۲۸۴/۵	۰/۰۰۰	۰/۹۳
تزریق	۰/۲۳۰	۱	۰/۲۳۰	۵۷/۶	۰/۰۰۰	۰/۷۴
تزریق×تمرین	۰/۰۲۱	۱	۰/۰۲۱	۵/۲۷	۰/۰۳۳	۰/۲۰
خطا	۰/۰۸۰	۲۰	۰/۰۰۴			

اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر میزان بیان MURF1 در بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی معنی دار است ( $\eta^2=0/20$ ،  $P=0/033$ ،  $F_{(1, 20)}=5/27$ ). به زبان ساده‌تر، تمرین مقاومتی و تزریق هم‌زمان سلول‌های اجدادی اندوتلیال، نسبت به تنها تمرین مقاومتی (یا تزریق) منجر به کاهش معنی دار میزان بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی شد. (شکل ۱).

همچنین اثر اصلی تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی دار است؛ یعنی، بین میانگین میزان MURF1 رت‌های گروه تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال ( $M=0/5837$ ،  $SD=0/210$ ) و کنترل ( $M=0/3877$ ،  $SD=0/261$ ) تفاوت معنی داری وجود دارد ( $\eta^2=0/74$ ،  $P=0/000$ ،  $F_{(1, 20)}=57/6$ ). به عبارت دیگر، تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال منجر به کاهش معنی دار بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ شد.



شکل ۱- نمودار میانگین بیان فاکتور تحلیل رفتگی MURF1 در رت‌های دیابتی

شد. همچنین اثر اصلی تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی‌دار است؛ یعنی، بین میانگین میزان HOMA-IR رت‌های گروه تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال ( $SD=2/7$ )،  $M=5/33$  و کنترل ( $M=8/16$ ،  $SD=2/8$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(1, 16)}=30/6$ ،  $P=0/000$ ،  $\eta^2=0/65$ ). به عبارت دیگر، تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال منجر به کاهش معنی‌دار بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ شد. در نهایت اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر میزان بیان HOMA-IR در بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی معنی‌دار نیست ( $F_{(1, 16)}=0/081$ ،  $P=0/780$ ،  $\eta^2=0/005$ ). به زبان ساده‌تر، تمرین مقاومتی با تزریق همزمان سلول‌های اجدادی اندوتلیال، نسبت به تنها تمرین مقاومتی (یا تزریق)، بر میزان بیان فاکتور HOMA-IR بافت عضله اسکلتی موش‌های دیابتی، تأثیر معنی‌داری ندارد (شکل ۲).

همانگونه که مشاهده می‌کنید، میانگین MURF1 گروه تمرین (خط آبی) پایین‌تر از گروه کنترل (خط قرمز) است که اثر تمرین را نشان می‌دهد. میانگین‌ها در شرایط تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال (سمت راست نمودار) پایین‌تر از شرایط بدون تزریق هستند که اثر تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال را نشان می‌دهد. در نهایت، میانگین MURF1 در گروه تمرین مقاومتی با تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال پایین‌تر از شرایط بدون تزریق است.

نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) در جدول ۳ نشان داد که اثر اصلی تمرین بر بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ معنی‌دار است؛ یعنی، بین میانگین بیان HOMA-IR رت‌های گروه تمرین ( $SD=1/77$ )،  $M=4/29$  و کنترل ( $M=9/21$ ،  $SD=1/9$ ) تفاوت معنی‌داری وجود دارد ( $F_{(1, 16)}=92/6$ ،  $P=0/000$ ،  $\eta^2=0/85$ ). به عبارت دیگر، تمرین‌های مقاومتی منجر به کاهش معنی‌دار بیان فاکتور HOMA-IR در بافت عضلانی رت‌های دیابتی القا شده با STZ

جدول ۳- نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) برای HOMA-IR

منبع	SS	df	MS	F	Sig.	$\eta^2$
تمرین	۱۲۰/۹	۱	۱۲۰/۹	۹۲/۶	۰/۰۰۰	۰/۸۵
تزریق	۴۰/۰۷	۱	۴۰/۰۷	۳۰/۶	۰/۰۰۰	۰/۶۵
تزریق×تمرین	۰/۱۰۵	۱	۰/۱۰۵	۰/۰۸۱	۰/۷۸۰	۰/۰۰۵
خطا	۲۰/۸۹	۱۶	۱/۳۰			



شکل ۲- نمودار میانگین بیان فاکتور HOMA-IR در رت‌های دیابتی

همانگونه که مشاهده می‌کنید، میانگین HOMA-IR گروه تمرین (خط آبی) پایین‌تر از گروه کنترل (خط قرمز) است که اثر تمرین را نشان می‌دهد. میانگین‌ها در شرایط تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال (سمت راست نمودار) پایین‌تر از شرایط بدون تزریق (سمت چپ) هستند که اثر تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال را نشان می‌دهد. در نهایت، روند تغییرات میانگین HOMA-IR در گروه تمرین مقاومتی از عدم تزریق تا تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال مشابه گروه کنترل است.

## بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابتی کردن به روش STZ با تحلیل رفتگی عضلانی همراه بوده است. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ۶ هفته تمرین مقاومتی منجر به کاهش معنادار فاکتور MURF1 در بافت عضلانی رت‌های دیابتی شد. به‌علاوه شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در اثر تمرین مقاومتی و همین‌طور تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال به‌طور معناداری کاهش یافت. اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی در مقادیر MURF1 نیز کاهش معنا دار داشت، اما کاهش مقادیر شاخص مقاومت به انسولین در هم‌زمانی تمرین مقاومتی و تزریق سلول اجدادی اندوتلیال نسبت به تنها تمرین یا تزریق برتری معنادار نداشت.

تأثیر فعالیت بدنی در عملکرد بهتر انسولین مشخص شده است و مطالعات متفاوت در زمینه‌ی تمرین‌های مقاومتی در بهبود تحمل گلوکز و تعدیل مقاومت انسولین در آزمودنی‌های دیابتی [۱۵، ۱۶] مشخص کرده است که فعالیت بدنی با استفاده از افزایش گیرنده‌ی انسولین و ناقل گلوکز GLUT4، بهبود پیام رسانی داخل سلولی انسولین، افزایش تحویل گلوکز به عضله و کاهش تجمع تری‌گلیسرید در سلول‌های عضلانی، مقاومت به انسولین را بهبود می‌بخشد [۱۷].

Koopman و همکاران (۲۰۰۵) اظهار داشتند که یک جلسه تمرین مقاومتی همانند یک جلسه تمرین استقامتی، حساسیت انسولینی را تحریک می‌کند که با افزایش بیان Glut-4 عضله مرتبط است [۱۶]. در راستای این مفهوم رضائیان و همکاران

بر اساس پژوهش‌های پیشین اثر فعالیت‌های ورزشی بر بیان MURF1 هنوز کاملاً مشخص نیست به گونه‌ای که نتایج مطالعه‌ی ای اظهار داشت تمرین‌های برون‌گرا می‌تواند سبب تنظیم منفی طولانی مدت در بیان MURF1 شود، درحالی‌که تمرین‌های درون‌گرا منجر به تنظیم مثبت کوتاه مدت می‌شود [۲۰]. Chen GQ و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی ۸ هفته تمرین استقامتی بر بیان MURF1 پرداختن و به این نتیجه رسیدند که بیان MURF1 در اثر تمرین ورزشی کاهش می‌یابد که همسو با نتایج حاضر است [۳]. در تناقض با یافته‌های مطالعه‌ی پیش‌رو Louis و همکاران (۲۰۰۷) چنین گزارش کردند که فسفوریلاسیون FOX3 بعد از تمرین افزایش یافت اما سطوح mRNA اهداف FOX3a مانند Murf1 بلافاصله و ۳ ساعت بعد از تمرین تغییری نداشت [۲۱]. نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو با یافته‌های کار تحقیقاتی Panahi و همکاران (۱۳۹۲) است که اشاره به کاهش بیان murf1 در اثر تمرین‌های مقاومتی در رت‌های دیابتی دارد [۱۴]. موسوی مظفر و همکاران (۱۳۹۹) در تناقض با یافته‌های مطالعه‌ی پیش‌رو چنین گزارش کردند که یک جلسه تمرین مقاومتی نتوانست کاهش معناداری در بیان فاکتورهای آتروفی murf1 ایجاد کند که شاید این نتیجه به‌علت محدود بودن تعداد جلسات تمرین مقاومتی باشد [۲۲]. Su و همکاران در سال ۲۰۱۴ در بررسی پاسخ الگوهای متفاوت تمرین به فاکتورهای آتروفی بیان کردند که مقادیر MuRF1 و FOXO به شدت به نوع تمرین وابسته است. در پژوهش آنها، گروه تمرین استقامتی و گروه تعلیق اندام، کاهش معناداری را در وزن عضله‌ی دوقلو و افزایش در بیان ژن های FOXO و MuRF1 نشان دادند؛ درحالی‌که در گروه تمرین اکستریک کاهشی در وزن عضله و تغییر در بیان ژن‌های MuRF1 و FOXO مشاهده نشد. بنابراین احتمالاً شدت تمرین در پژوهش حاضر با توجه به اینکه آزمودنی‌ها غیرفعال بودند، برای تحریک فاکتور MuRF1 کافی نبوده است. [۲۳] تمرین مقاومتی سنتز پروتئین با اثر تحریکی قوی را افزایش می‌دهد و

باشد اما برای بررسی سازوکارهای مولکولی درگیر در فرآیند کاهش تحلیل رفتگی عضلانی و حساسیت انسولینی نیاز به مطالعات دقیق تری است. بنابراین پیشنهاد می‌شود تأثیر تمرین مقاومتی بر سایر فاکتورهای مرتبط با آتروفی از قبیل atrogen1 در نمونه‌های دیابتی نیز بررسی شود، همچنین پیشنهاد می‌شود از مدل‌های دیگر سلول‌های پیش‌ساز و بنیادی جهت سلول درمانی در مطالعات بر روی رت‌های دیابتی استفاده شود تا بهترین نوع سلول‌ها برای کمک به درمان دیابت شناسایی شود و نیز می‌توان بر روی تأثیر تمرین مقاومتی و تزریق سلول اجدادی بر فاکتورهای رشد عضلانی از قبیل myogenin و myoD در نمونه‌های دیابتی مطالعه شود.

### نتیجه‌گیری

در مجموعه یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد شش هفته تمرین‌های مقاومتی و تزریق هم‌زمان سلول‌های اجدادی اندوتلیال موجب کاهش معنادار murf1 در اثر تمرین یا تزریق شد و این کاهش در اثر تعاملی تمرین و تزریق نیز کاهش معنادار داشت. همچنین موجب کاهش معنادار شاخص مقاومت به انسولین در اثر تمرین شد اما این کاهش در اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال بر میزان شاخص مقاومت به انسولین معنادار نبود. این یافته‌ها ادعا می‌کند که تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال می‌تواند به‌عنوان یک روش درمانی در شرایط تحلیل رفتگی عضلانی ناشی از بیماری دیابت به‌کار رود. سازوکارهای مؤثر در این مسیر نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مدیریت دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و همچنین مدیریت آزمایشگاه تحقیقاتی سورن بابت همکاری و کمک به اجرای این پژوهش قدردانی می‌شود.

منجر به تعادل مثبت ساخت پروتئین در عضله می‌شود [۲۴]. همچنین باقرصاد رنانی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که برنامه‌ی تمرین مقاومتی می‌تواند تا حدی از عوارض دیابت ناشی از stz پیشگیری کند. در این پژوهش وزن عضله‌ی FHL در گروه DT نسبت به گروه D به‌طور معناداری بالاتر بود [۲۵]. در حمایت از این مفهوم رضائی پور و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که تمرین مقاومتی بالا تنه موجب کاهش ۳۰ درصدی murf1 شده و مانع آتروفی عضلانی می‌شود [۲۶].

یکی از هدف‌های مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تزریق سلول‌های بنیادی در بهبود عوارض دیابت بود و نشان داد این سلول‌ها می‌توانند در بهبود دیابت مؤثر واقع شوند. در راستای این مفهوم sun و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای به بررسی اثر استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در مدل دیابتی رت‌هایی که از طریق رژیم غذایی پُرچرب و STZ به دیابت نوع دو دچار بودند، پرداختند و مشاهده کردند که تزریق وریدی این سلول‌ها سطح گلوکز خون را کاهش داده و مقاومت به انسولین را در دیابت نوع دو معکوس می‌نماید و بدین‌وسیله می‌تواند یک روش درمانی جایگزین برای درمان دیابت باشد [۲۷]. همچنین vrtovec و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی ارتباط دیابت و مقاومت به انسولین در پاسخ به سلول درمانی پرداختند و در گروه مقاومت به انسولین خود، بهبود بسیج سلول‌های بنیادی و پاسخ بالینی حفظ شده به سلول درمانی را نشان دادند [۲۸]. Abrijo و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی به بررسی اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر آتروفی عضله‌ی اسکلتی در افراد چاق پرداختند و این نتایج برای اولین بار نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی تجویز شده سیستماتیک می‌توانند از تحلیل رفتن عضلات مرتبط با چاقی ناشی از رژیم غذایی پُرچرب و دیابت جلوگیری کنند [۲۹]. در خصوص سازوکارهای اثر تعاملی متغیرهای وابسته پژوهش مشخص شده است کاهش فاکتور تحلیل رفتگی عضلانی murf1 و کاهش در میزان حساسیت انسولین می‌تواند در نهایت باعث بهبود عوارض دیابت و از تحلیل رفتگی عضلانی تا حدودی جلوگیری کند. بنابراین ترکیب تزریق سلول‌های اجدادی اندوتلیال همرا با انجام تمرین‌های مقاومتی می‌تواند یک راهکار درمانی برای کاهش آسیب‌های ناشی از دیابت باشد. نتایج ما ممکن است چشم‌اندازی برای درمان تحلیل رفتگی عضلانی در افراد دارای بیماری دیابت



## مآخذ

- 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): 315-323
- Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 2004; 117(3): 399-412.
- 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(12): 44-49.
- Clavel S, Coldefy AS, Kurkdjian E, Salles J, Margaritis I, Derijard B. Atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin- and MuRF1 are up-regulated in aged rat Tibialis Anterior muscle. *Mech Ageing Dev* 2006; 127(10):794-801.
- صفرزاده ع، قراخانلو ر، هدایتی م، گرکانی اط. تأثیر سه برنامه‌ی تمرین مقاومتی بر غلظت سرمی واسپین بر موش های صحرایی دیابتی با استرپتوتوس پژوهشنامه فیزیولوژی ورزشی کاربردی ۱۳۹۰؛ ۱(۶):۲۸-۱۵.
- Flack KD, Davy KP, Hulver MW, Winett RA, Frisard MI, Davy BM. Aging, resistance training and diabetes prevention. *Journal of Aging Research* 2010; 2011:1-12.
- Molanouri Shamsi M, Hassan ZH, Gharakhanlou R, Quinn LS, Azadmanesh K, Baghersad L, et al. Expression of interleukin-15 and inflammatory cytokines in skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats: effect of resistance exercise training. *Endocrine* 2013; 6: 58-64
- Reddy R, Witteberg A, Castle JR, Youssef J, Winters-Stone K, Gillingham M and et al. Effect of aerobic and resistance exercise on glycemic control in adults with type 1 diabetes. *Can J Diabetes* 2019; 43(6):406-414.e1.
- ناصری، ف، احمدزاده ا، محمود س، نگاه س. نقش بالقوه نرون‌زایی در درمان آلزایمر. *مجله‌ی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد*. ۱۳۹۶؛ ۶۰(۳):۵۶۶-۵۴۹
- Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2000; 97(7):3213-8.
- Mohamed MT, Embaby EA, Labib A, El-Husseiny M, et al. Effects of exercise in combination with autologous bone marrow stem cell transplantation for patients with type 1 diabetes. *Physiother Theory* 2019; 35(12):1233-1242.
- Katuchova J, Harvanova D, Spakova T, Kalanin R, Farkas D. Mesenchymal stem cell in the treatment of type 1 diabetes mellitus. *Springerlink* 2015; 26(2):95-103.
- Lyons CJ, Brien TO. The functionality of endothelial-colony-forming cells from patients whit diabetes mellitus. *Cells* 2020; 9(7):1731.
- Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Murf1 Gene Expression and Muscle Atrophy in Diabetic Wistar Rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2016; 38(2):6-13.
- Eriksson J, Tuominen J, Valle T, Sundberg S, Sovijari A, Lindholm H, et al. Aerobic endurance exercise or circuit-type resistance training for individuals with impaired glucose tolerance? *Horm Metab Res* 1998 30(1):37-41.
- Fenkci S; Sarsan A, Rota S, Ardic F. Effects of Resistance or Aerobic Exercises on Metabolic Parameters in Obese Women Who Are Not on a Diet. *Adv Ther* 2006 23(3):404-13.
- Henriksen EJ. 2002. Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physiol (1985)* 2002;93(2):788-96.
- Koopman R, Manders RJ, Zorenc AH, Hul GB, Kuipers H, Keizer HA, van Loon LJ. A single session of resistance exercise enhances insulin sensitivity for at least 24 h in healthy men. *Eur J Appl Physiol* 2005; 94(1-2): 180-7.
- رضائیان ن، رواسی ع، سوری ر. تأثیر تمرین‌های مقاومتی بر سطوح ادیپولین سرم و شاخص مقاومت به انسولین در زنان چاق. *مجله‌ی علوم زیستی و ورزشی*. ۱۳۹۹؛ ۱۲(۱):۱۶-۱.
- Nedergaard A, Vissing K, Overgaard K, Kjaer M, Schjerling P. Expression patterns of atrogenic and ubiquitin proteasome component genes with exercise: effect of different loading patterns and repeated exercise bouts. *J Appl Physiol* 2007; 103(5): 1513-1522.
- Louis E, Raue U, Yang Y, Jemiolo B, Trappe S. Time course of proteolytic, cytokine, and myostatin gene expression after acute exercise in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2007; 103(5):1744- 1751
- موسوی مظفر م، نورشاهی م، اکبرنژاد ع. تأثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر پاسخ به میزان MuRF1 و P70S6K عضلانی قبل و بعد از شش هفته تمرین مقاومتی و مصرف مکمل HMB در مردان غیرفعال. ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۱):۹۴-۷.
- Su YH, Su Z, Zhang K, Yuan QK, Liu Q, Lv S. The changes of p- Akt/MuRF1/FoxO1 proteins expressions in the conditions of training and immobilization in rats' gastrocnemius muscle. *Sheng*

- li xue bao: [Acta physiologica Sinica] 2014; 66(5):589-96.
24. Phillips SM, Tipton KD, Ferrando AA, Wolfe RR. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am J Physiol* 1999; 276:E118- 24.
۲۵. باقرصاد رنانی لیلا، ملانوری ش، مهدوی م، قراخانلو ر، زهیر م. اثر یک وهله تمرین مقاومتی بر بیان IL-15 mRNA در عضلات اسکلتی تند و کندتنش موش‌های صحرایی سالم و دیابتی تمرین‌کرده. پژوهش نامه‌ی فیزیولوژی ورزشی کاربردی دانشگاه مازندران ۱۳۹۲؛ ۹(۱۸): ۱۵-۲۶.
۲۶. رضایی پور ص، کردی م، گائینی ع، قراخانلو ر. بررسی اثر تمرین مقاومتی اندام فوقانی در پی یک دوره بی‌حرکی اندام تحتانی بر بیان ژن‌های FoxO3a، MuRF1، و MAFbx عضله‌ی نعلی رت‌های تمرین‌کرده. پژوهش‌های فیزیولوژی و مدیریت در ورزش ۱۳۹۸؛ ۱۱ (۴): ۹۰-۸.
27. Sun Y, Shi H, Yin S, Ji C, Zhang X, Zhang B, et al. Human mesenchymal stem cell derived exosomes alleviate type 2 diabetes mellitus by reversing peripheral insulin resistance and relieving  $\beta$ -cell destruction. *ACS Nano* 2018, 12(8): 7613-7628.
28. Vrtovec B, Sever M, Jensterle M, Poglajen G, Janez A, Kravos N, et al. Efficacy of CD34+ Stem Cell Therapy in Nonischemic Dilated Cardiomyopathy Is Absent in Patients with Diabetes but Preserved in Patients With Insulin Resistance. *Stem cell translational medicine* 2016; 5(5):632-638.
29. Abrigo J, Rivera J, Aravena J, Cabrera D, Simon F, Ezquer F, et al. High Fat Diet-Induced Skeletal Muscle Wasting Is Decreased by Mesenchymal Stem Cells Administration: Implications on Oxidative Stress, Ubiquitin Proteasome Pathway Activation, and Myonuclear Apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016; 2016:9047821.

## Simultaneous Effect of Resistance Training and Endothelial Ancestral Cell Injection on Expression of MURF1 Muscle Degeneration Factor and Its Relationship with Insulin Resistance In STZ-Induced Diabetic Male Rats

Iraj Khaleghi<sup>1</sup>, Eidi Alijani<sup>1\*</sup>, Alireza Rahimi<sup>1</sup>, Mahsa Mohsenzade<sup>1</sup>

1. Department of Sport Physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

### ABSTRACT

**Background:** Diabetes disorders can lead to muscular burnout. The aim of this study was to determine the simultaneous effect of resistance training and endothelial stem cell injection on the factor of degeneration in the muscles of diabetic rats.

**Methods:** 36 male wistar rats (age 6 weeks with weight of 20±200g) were randomly divided into five groups of basic healthy, diabetic control (D), diabetic and resistance training (DR), untrained diabetic by injection of endothelial stem cells (DI), diabetic training by simultaneous injection of endothelial stem questions (DRI). Western blotting and insulin resistance index were measured by ELISA method to evaluate the changes in MURF1 expression. The data were analyzed by two-factor analysis of variance by SPSS software version 19 at a significant level of  $\alpha \geq 5\%$ .

**Results:** In this study, 6 weeks of resistance training significantly reduced MURF1 and insulin resistance index. The interactive effect of resistance training and stem cell injection also resulted in a significant decrease in murf1 levels, but insulin resistance index was not significantly superior to only training or injection.

**Conclusion:** Based on the findings of this study, it can be stated that resistance training or injection of endothelial ancestral cells can improve muscular degeneration, but simultaneous use of these two strategies was not superior in reducing atrophy complications in diabetic rats.

**Keywords:** Resistance training, Endothelial ancestral cell, Muscle atrophy, Diabetes

\* Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Moazen Blvd, Rajai Shahr, Karaj, Iran. Fax: +982614418156, Phone: +989121267116, E-mail eidyaliyani@yahoo.com

