مجله دیابت و متابولیسم ایران. مهر و آبان ۱۴۰۰؛ دوره ۲۱ (شماره ۴) ۲۰۹-۱۹۸

مقاله پژوهشی

تأثیر هم‌افزایی چهار هفته تمرین استقامتی به همراه مکمل‌یاری پروبیوتیک بر بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله‌ی نعلی رت‌های نر دیابتی

مریم دلفان*[۱]، تینا بوریائی[۱]

چکیده

مقدمه: یکی از مشکلات متداول در بیماران دیابتی، آتروفی عضلانی است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هم‌افزایی تمرین استقامتی به همراه مکمل‌یاری پروبیوتیک بر بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله نعلی رت‌های دیابتی است.

روش‌ها: در این مطالعه ۳۲ سر رت نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به گروه کنترل سالم (NC) و چهار گروه دیابتی: کنترل دیابتی (DC)، مکمل دیابتی (SDC)، تمرین دیابتی (TD) و مکمل تمرین دیابتی (STD) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی با شدت ۶۰ تا ۶۵ درصد حداکثر سرعت دویدن، پنج روز در هفته در طی چهار هفته اجرا شد. هم‌زمان رت‌ها روزانه دو گرم پروبیوتیک محلول در ۳۰ میلی‌لیتر آب مصرف نمودند. بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 به روش qReal-TimePCR اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس دوطرفه در سطح معناداری P≤۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: بیان ژن Atrogin-1 در گروه‌های TD (P=۰/۰۰۱) و STD (P=۰/۰۰۰) نسبت به گروه DC کاهش معناداری داشت. بین دو گروه TD و STD در بیان ژن Atrogin-1 (P=۰/۰۲۸) تفاوت معناداری مشاهده شد. بیان ژن MuRF-1 در گروه‌های TD (P=۰/۰۴) و STD (P=۰/۰۱) نسبت به DC کاهش معناداری داشت. اما بین دو گروه TD و STD در بیان ژن MuRF-1 تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/۳۶).

نتیجه گیری: به‌نظر می‌رسد که اجرای تمرین هوازی به همراه مکمل‌یاری پروبیوتیک در کاهش بیان ژن Atrogin-1 از هر یک از این مداخلات به تنهایی، مؤثرتر باشد. با این حال تمرین هوازی به همراه مکمل‌یاری پروبیوتیک، نسبت به تمرین هوازی به تنهایی، تأثیر هم‌افزایی در کاهش بیان ژن MuRF-1 در عضله‌ی نعلی رت‌های دیابتی ندارد.

واژگان کلیدی: دیابت، آتروفی عضلانی، پروبیوتیک، آنتی اکسیدان، تمرین هوازی

۱-گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

نشانی: تهران، خیابان ده ونک، میدان شیخ بهایی، دانشگاه الزهرا، دانشکده‌ی علوم ورزشی، کدپستی: ۱۹۹۳۸۹۳۹۷۳، تلفن: ۰۲۱۸۵۶۹۲۶۶۸، نمابر: ۰۲۱۸۸۰۳۵۱۸۷، پست الکترونیک: m.delfan@alzahra.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۳ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۰/۰۶/۲۹** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۱**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

مقدمه

دیابت شیرین طیف وسیعی از اختلالات متابولیکی را شامل می شود و مشخصه‌ی اصلی آن هایپرگلیسمی ناشی از نقص در ترشح انسولین و/یا کاهش حساسیت نسبت به انسولین است. در سال ۲۰۱۹ تعداد افراد مبتلا به دیابت ٤٦٣ میلیون نفر برآورد شده است و پیش‌بینی می‌شود که این تعداد در سال ۲۰۳۰ به ۵۷۸ میلیون و در سال ۲۰٤۵ به ۷۰۰ میلیون افزایش یابد [۱]. کمبود مطلق یا نسبی انسولین و همچنین کاهش گیرنده‌های انسولین در غشای سلول‌های هدف، منجر به کاهش جذب گلوکز پلاسما توسط بافت‌های محیطی از جمله بافت چربی و عضله‌ی اسکلتی می‌گردد [۲]. اختلال در جذب گلوکز در نهایت، موجب هایپرگلایسمی مزمن و افزایش خطر ابتلا به بیماری قلبی، سکته‌ی مغزی، نوروپاتی، نفروپاتی و سایر عوارض مرتبط با دیابت می‌گردد. براساس نتایج حاصل از مطالعات، دیابت به‌طور قابل توجهی با آتروفی و کاهش توده‌ی عضله‌ی اسکلتی در ارتباط است [۳]. عضله‌ی اسکلتی محل اصلی جذب ۷۰ تا۸۰ درصد گلوکز پلاسما در پاسخ به مصرف وعده‌ی غذایی، از طریق هر دو مسیر وابسته به انسولین (PI3K-PKB/AKT) و مستقل از انسولین (Baf60c-Deptor-AKT) است [٤]. در نتیجه، آتروفی و تحلیل عضلانی با اختلال در این روند موجب نقص متابولیکی گسترده و پیشرفت دیابت می‌گردد [۵].

در میان فرآیندهای پاتولوژیک، گلوکوتوکسیک و لیپوتوکسیسیتی با افزایش سطوح ROS، ایجاد استرس اکسیداتیو و التهاب نقش اساسی در روند آتروفی عضلانی دارند [٦، ۷]. از این‌رو، تحت شرایط چاقی و دیابت، عضله‌ی اسکلتی نیز دچار تغییرات ساختاری، متابولیکی و عملکردی قابل توجهی می‌شود [۸]. آتروفی عضلانی پیشرونده در بیماران دیابتی، با ضعف و ناتوانی همراه است که کیفیت زندگی بیماران را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۹].

توده‌ی عضله‌ی اسکلتی تحت تأثیر تعادل دینامیکی بین سنتز پروتئین‌ها (MPS) و تخریب پروتئین‌ها (MPB) قرار دارد [۱۰]. گردش پروتئین‌ها در پاسخ به محرک‌های مختلف آنابولیکی و کاتابولیکی در نوسان بوده و به‌نظر می‌رسد در شرایط پاتولوژیک دیابت، اختلال در پاسخ به این محرک‌ها موجب مقاومت آنابولیک و تخریب بیش از حد پروتئین در این بیماران می گردد [۱۱، ۱۲]. مطالعات پیشین عوامل متعددی را در عدم تعادل هورمونی آنابولیک-کاتابولیک پیشنهاد کرده‌اند. از جمله مهم ترین عوامل، کاهش بیان فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-1)، افزایش غلظت اینترلوکین-٦ و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α)، مقاومت در برابر هورمون رشد و بیان بیش از حد دو E3 لیگاز MuRF-1 و Atrogin-1 در عضله‌ی اسکلتی است [۱۳]. تحقیقات گسترده‌ای در خصوص شناسایی سازوکارهای مولکولی کنترل کننده‌ی آتروفی عضلانی صورت گرفته است. با این حال مسیرهای سیگنالینگ درگیر و درمان‌های مؤثری که موجب مهار آتروفی در بیماران دیابتی گردد به‌طور کامل شناسایی نشده است. در طی سال‌های اخیر، چشم اندازهای ویژه ای در خصوص ارتباط متقابل بین میکروبیوتا روده و عضله‌ی اسکلتی در حال تبیین است. براساس مطالعات، سبک زندگی کم تحرک و تغذیه ناسالم می‌تواند موجب عدم تعادل میکروبیوتای روده شود و از طرفی برخی از پژوهش‌ها نشان دهنده‌ی ارتباط بین عدم تعادل میکروبیوتای روده و بروز یا پیشرفت دیابت هستند [١٤]. علاوه بر این، مطالعات در خصوص بررسی عضله‌ی اسکلتی موش‌های بدون میکروارگانیسم (همه انواع میکروارگانیسم) در مقابل موش‌های فاقد پاتوژن (میکروارگانیسم‌های بیماری زا)، دیدگاه‌های کلیدی را در مورد محور روده-عضله ارائه کرده است [١٦، ١۵]. در مطالعه‌ای که توسط Lahiri و همکاران انجام شد، در مقایسه با موش‌های فاقد پاتوژن، در موش‌های بدون میکروارگانیسم کاهش توده‌ی عضله ی اسکلتی و بیان IGF-1 و از طرفی افزایش بیان ژن‌های مرتبط با آتروفی عضلانی Atrogin-1 و MuRF-1 مشاهده شد [١٦]. این یافته‌ها، حاکی از بهبود فلور میکروبی روده به‌عنوان راهکار درمانی جدید در کنترل آتروفی عضلانی هستند.

طی سال‌های اخیر مطالعه بر روی پروبیوتیک‌ها به‌منظور بهبود در ترکیب و یا فعالیت میکروبیوتای روده رو به افزایش بوده است. در پژوهش انجام شده بر روی نمونه‌های حیوانی، مکمل خوراکی پروبیوتیک به‌طور قابل توجهی بیان مارکرهای آتروفی

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

و سیتوکین‌های التهابی را کاهش داده و باعث افزایش توده‌ی عضلانی و بهبود عملکرد ورزشی شده است [۱۷]. Iwasa و همکاران نشان دادند که شیر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس از آسیب عضلانی ناشی از ورزش حاد جلوگیری می‌کند [۱۸]. این نتایج نشان می‌دهند که پروبیوتیک‌ها ممکن است از عضله در برابر آسیب و آتروفی محافظت کنند و موجب افزایش توده‌ی عضلانی گردند.

به وضوح بیان شده است که سبک زندگی ناسالم، رژیم غذایی نامناسب و عدم فعالیت بدنی از مهم‌ترین عواملی هستند که در بروز و پیشرفت دیابت دخیل هستند [۱۹]. تمرینات منظم ورزشی علاوه بر بهبود کنترل گلایسمیک در بیماران دیابتی، می تواند موجب حفظ توده‌ی عضلانی و تعادل بین MPS و MPB گردد [۲۰]. از طرفی تمرینات ورزشی به نوبه‌ی خود می‌توانند فلور میکروبی روده را تحت تأثیر قرار دهند [۲۱]. بنابراین تجویز تمرینات ورزشی با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ در سطح سلولی–ملکولی، عملکرد عضله‌ی اسکلتی را به‌طور مؤثری بهبود می‌بخشد و به‌دنبال آن با جذب بیشتر گلوکز خون از پیشرفت دیابت و عوارض مرتبط با آن جلوگیری می‌کند [۲۲].

در سلول‌های عضله‌ی اسکلتی و سلول‌های قلبی، سیتوکین‌های پیش التهابی مانند TNF-α، IL-1 و IL-6 قادر به تحریک بیان MuRF-1 و Atrogin-1 هستند [۲۳، ۲٤]. با توجه به فعال شدن مسیرهای التهابی در بیماران دیابتی و اثرات ضد التهابی تمرینات ورزشی و پروبیوتیک‌ها، انتظار می‌رود که تمرینات هوازی و مکمل پروبیوتیک اثر هم‌افزایی در کاهش بیان ژن‌های درگیر در آتروفی عضلانی داشته باشند و از این طریق منجر به افزایش توده‌ی عضله‌ی اسکلتی در بیماران دیابتی گردند [۱۳]. علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها ممکن است آسیب عضلانی حاد ناشی از تمرین ورزشی را کاهش دهند. در نتیجه، مکمل پروبیوتیک ممکن است از عضله‌ی اسکلتی بیماران دیابتی در برابر آسیب محافظت کند و موجب بهبود عملکرد ورزشی در آنها شود [۲۵ ،۱۸]. با در نظر گرفتن این مسئله که پروتئین‌های MuRF1 و Atrogin-1 به‌عنوان دو مارکر کلیدی آتروفی عضلانی، تحت شرایط اختلالات متابولیکی از جمله دیابت تنظیم افزایشی می یابد، پژوهش حاضر برای اولین بار به بررسی اثر متقابل و هم زمان تمرینات هوازی و مکمل پروبیوتیک بر بیان این مارکرها در نمونه‌های دیابتی پرداخته است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هم‌افزایی تمرین استقامتی به همراه مکمل یاری پروبیوتیک بر بیان ژن‌های Atrogin-1 وMuRF-1 در عضله‌ی نعلی رت‌های دیابتی است.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی–آزمایشگاهی بود که بر روی ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) با میانگین وزن ۱۰±۲۷۰ گرم و سن ۸ هفته انجام شد. رت‌ها در شرایط یکسان و استاندارد حیوانات آزمایشگاهی (دمای ۳±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ٤٥–٥٠٪، سیکل روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲) نگه‌داری شدند و بدون محدودیت به آب و غذا دسترسی داشتند. کلیه‌ی اصول اخلاقی پژوهش مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و با اخذ کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.013 مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی اجرا شد.

گروه‌های پژوهش: آزمودنی‌ها پس از آشنایی با محیط به‌صورت تصادفی به ۵ گروه: کنترل سالم NC (n=٦)؛ کنترل دیابتی DC (n=٦)؛ مکمل پروبیوتیک دیابتی SDC (n=٦)؛ تمرین هوازی دیابتی TD (n=٧)؛ مکمل پروبیوتیک تمرین هوازی دیابتی STD (n=٧) تقسیم شدند.

القای دیابت: جهت القای دیابت در ٤ گروه (همه‌ی گروه‌ها به جز گروه کنترل سالم)، تزریق استرپتوزوتوسین (STZ) (Zellbio آلمان) پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه به‌صورت تزریق داخل صفاقی(IP) به‌میزان ٤٥ mg/kg به‌صورت حل شده در بافر ۰/۰۵ مول سیترات PH=٤/٥ انجام شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ، نمونه ی خون از ورید دمی آزمودنی‌ها جهت سنجش سطوح قند خون ناشتا با استفاده از گلوکومتر (Glucocard 01، ژاپن) جمع‌آوری شد. معیار دیابتی شدن، قند خون ناشتا بالاتر از ۳۰۰ mg/dl بوده است [۲٦].

آماده‌سازی مکمل: مکمل‌یاری آزمودنی‌ها به‌مدت چهار هفته روزانه (۸–۱۰ صبح) انجام شد. به این صورت که به ازای هر

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

رت ۲ گرم پودر پروبیوتیک (زیست تخمیر ایران) محلول در ۳۰ میلی‌لیتر آب در بطری آب گروه‌های مکمل ریخته شد. پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس-فرمنتوم، بیفیدوباکتریوم لانگیوم (10^{10} CFU/g) بود [۲۸، ۲۷].

اجرا پروتکل تمرین هوازی: یک هفته پس از القا دیابت، رت‌ها به‌منظور آشناسازی با نحوه‌ی دویدن بر روی تردمیل جوندگان، پنج جلسه و در هر جلسه ۵ تا ۱۵ دقیقه با نهایت دقت روی تردمیل قرار داده شدند و با سرعت بسیار پایین و یکنواخت شروع به تمرین کردند. از هفته‌ی دوم تمرین اصلی به‌مدت چهار هفته اجرا شد. برای ارزیابی توان هوازی رت‌ها از روش غیر مستقیم به شرح زیر استفاده شد:

پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۰/۰۳ m/s (۱/۸ m/min) با شیب صفر، سرعت نوارگردان هر سه دقیقه یک بار به میزان ۱/۸ m/min افزایش می‌یابد، حداکثر سرعت دویدن زمانی است که رت‌ها حداقل ۱/۳۰ دقیقه نتوانند با یک سرعت ثابت بدوند و بلافاصله پس از آن با افزایش سرعت قادر به دویدن نباشند [۳۰، ۲۹]. رسیدن به سرعت بیشینه با غلظت لاکتات بالاتر از ٦ mmol/L و نسبت تبادل تنفسی VCO2/VO2، معادل ۱/۵ است. شدت‌ها با توجه به این سرعت به‌دست آمده، تنظیم گردید.

هر جلسه پروتکل تمرین هوازی برای گروه‌های تمرینی شامل ۵ دقیقه گرم کردن با شدت ۳۰-٤۰ درصد حداکثر سرعت دویدن، سپس ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل با شدت ٦۰-٦۵ درصد حداکثر سرعت دویدن و در انتها ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۳۰ -٤۰ درصد حداکثر سرعت دویدن بود.

پروتکل تمرینی به‌طور خلاصه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- برنامه‌ی تمرین استقامتی

هفته‌های تمرینی	اول	دوم	سوم	چهارم
سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر سرعت دویدن (m/min)	۱۵	۱۸	۲۰	۲۰
سرعت (m/min)	۹	۱۱	۱۲	۱۲
زمان (min)	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰

استخراج نمونه‌ها و سنجش متغیرهای وابسته: آزمودنی‌ها ٢٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین و پس از ناشتا شبانه، به واسطه تزریق درون صفاقی کتامین (۸۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شده و تحت جراحی قرار گرفتند. نمونه‌ی خون از قلب آنها جمع‌آوری و در لوله‌های حاوی هپارین ریخته شد و جهت جداسازی سرم به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت rpm ۳۰۰۰ در دمای ۱۵ درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Eppendorf، آلمان) شد. سرم جداسازی شده را به میکروتیوپ نامگذاری شده منتقل کرده و بلافاصله با استفاده از ازت مایع منجمد کرده و برای تجزیه تحلیل‌های بعدی در فریزر (۸۰- درجه‌ی سانتی گراد) نگه‌داری شد. سپس عضله‌ی نعلی رت‌ها استخراج و بعد از اندازه‌گیری وزن، در ازت مایع قرار گرفتند تا پس از هموژنیزاسیون برای سنجش میزان بیان ژنی Atrogin-1 و MuRF-1 استفاده شود. سنجش گلوکز پلاسما به روش گلوکز اکسیداز و به‌وسیله‌ی کیت تشخیص کمی گلوکز پلاسما (پارس آزمون) با حساسیت ۵ mg/dl انجام شد. جهت بررسی تغییرات بیان ژن Atrogin-1 و MuRF-1 از تکنیک qReal-TimePCR استفاده شد. بدین منظور ابتدا RNA بافت عضله‌ی نعلی با استفاده از ترایزول (Qiagen، آلمان) استخراج شد و سپس در طی مراحل DNase I treatment، با DNaseI تیمار شد. در نهایت cDNA ساخته شد و واکنش‌های qReal-TimePCR انجام شد. برای سنتز cDNA از کیت Transcriptor first strand cDNA synthesis kit (Roche، آلمان) طبق دستور العمل کیت مذکور استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از Master Mix (ampliqon، دانمارک) در دستگاه Real Time PCR (Corbett, Rotor-Gene 6000، آلمان) انجام شد. واکنش های تکثیر در طی ٤۰ سیکل براساس دستورالعمل سازنده‌ی کیت به شکل زیر انجام شد: ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

ثانیه و ٦٠ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ٦٠ ثانیه. لازم به ذکر است که دناتوراسیون اولیه دما ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه بود. در نهایت منحنی استاندارد و تکثیر پرایمرها توسط نرم‌افزار موجود در سیستم تجزیه و تحلیل و رسم شد.

از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای کمی‌سازی مقادیر بیان ژن مورد نظر استفاده شد.

روش‌های آماری: در بخش آمار توصیفی از میانگین، انحراف استاندارد و نمودار استفاده شد. طبیعی بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف–اسمیرنوف (K-S) مورد بررسی قرارگرفت. برای بررسی تفاوت بین گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی از آزمون T مستقل و تفاوت بین گروه‌های دیابتی از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه و برای تعیین جایگاه معناداری از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. برای تعیین همبستگی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری GraphPad Prism-8 در سطح معناداری P<۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

گلوکز پلاسما: جدول ۲ مقادیر مربوط به گلوکز، وزن و وزن عضله‌ی نعلی را در گروه‌های پژوهش نشان می‌دهد. گلوکز پلاسما در گروه‌های TD و STD نسبت به گروه DC کاهش معناداری داشت. همچنین بین گروه TD و STD تفاوت معناداری مشاهده شده است و کاهش گلوکز پلاسما در گروه STD بیشتر بود.

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار مقادیر وزن، وزن عضله‌ی نعلی و مقادیر گلوکز در گروه‌های پژوهش

متغیر	NC	DC	SDC	TD	ST
وزن بدن (g)	۳۲۵/٤۷±۵/۰۲	۲۱٤/۲۹±۲/۹۸	۲۲۱/۹±۲/۳۹	۲۳۹/۱٤±۵/۱۷	۲۸۹/۲۱±۸/۲۵
وزن عضله‌ی نعلی (mg/g)	۱۷٤/۱۸±۱/۹۰	۱۰٦/۱۱±۹/۵۰	۱۱۲/۱۵±۱/٦۲	۱۳۸/۲۱±۰/۳۳	۱۳۵/۱۵±۲/۸۲
گلوکز (mg/dl)	۲۱۹/۲۳±¥۱۰/۰	۵۰۰/۱۸±۸/۳۲*#	٤۱٦/۷٦±۷/#۵۵	۲٦۷/٦۲±۵/٤٦#¥	۲۲۰/٤۰±۳/۹۹¥

اعداد به شکل میانگین± خطای معیار بیان شده‌اند ،*نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل سالم، ¥ نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی،# نشانه معناداری نسبت به گروه تمرین با مکمل

بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1: نتایج آزمون T مستقل وجود تفاوت معناداری را در بیان ژن Atrogin-1 عضله‌ی نعلی بین گروه NC و گروه DC نشان داد (P=۰/۰۰۰)، در واقع القای دیابت منجر به افزایش معنادار بیان ژن Atrogin-1 در گروه DC نسبت به گروه NC شد. نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه، وجود اختلاف معناداری را در بیان ژن Atrogin-1 بین گروه‌ها نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج بررسی بین گروهی حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بیان ژن Atrogin-1 در دو گروه TD (P=۰/۰۰۱) و STD (P=۰/۰۰۰) نسبت به گروه DC کاهش معناداری داشت، علاوه بر این در مقایسه با گروه SDC بیان این ژن در گروه‌های TD (P=۰/۰۰۰) و STD (P=۰/۰۰۰) کاهش معناداری داشت، این درحالی بود که مصرف پروبیوتیک به تنهایی بر بیان ژن Atrogin-1 تأثیر معناداری نداشت و بین دو گروه DC و SDC تفاوتی مشاهده نشد (P=۰/۳۷). علاوه بر این، بین دو گروه TD و STD تفاوت معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۲۸) (نمودار ۱). در نتایج آماره‌ی Atrogin-1 اثر متقابل و هم‌زمان دو عامل تمرین هوازی و مکمل پروبیوتیک بر بیان ژن Atrogin-1 مشاهده شده است (P=۰/۰۰۷).

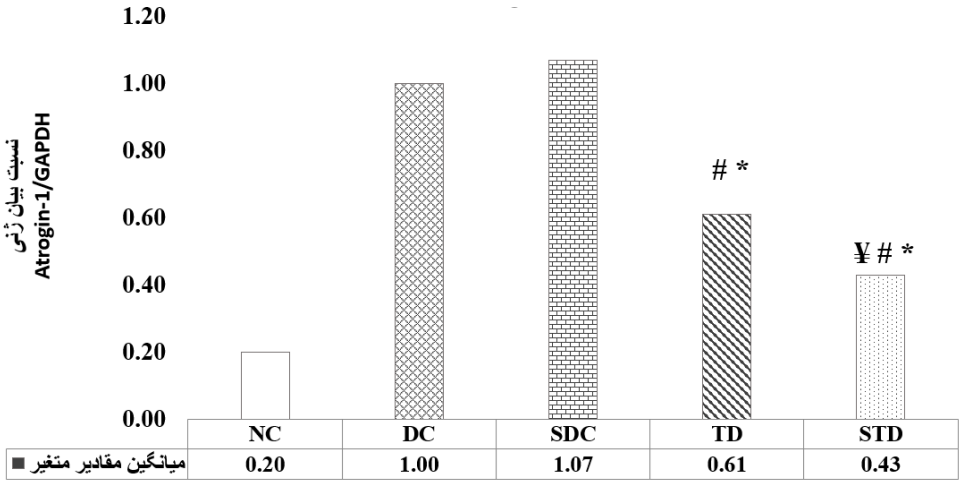
نتایج آزمون T مستقل وجود تفاوت معناداری را در بیان ژن MuRF-1 عضله‌ی نعلی بین گروه NC و گروه DC نشان داد (P=۰/۰۰۰) و القا دیابت موجب افزایش معنادار بیان ژن MuRF-1 در گروه DC نسبت به گروه NC شد. علاوه بر این، میزان بیان ژن MuRF-1 بین گروه‌ها تفاوت معناداری داشت (P<۰/۰۵). در نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی، کاهش معناداری در بیان ژن MuRF-1 در گروه‌های TD (P=۰/۰٤) و STD (P=۰/۰۱) نسبت به گروه DC مشاهده شد. همچنین کاهش بیان این ژن در

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

گروه STD در مقایسه با گروه SDC مشاهده شد (P=۰/۰۲). اما بین گروه DC و SDC در بیان ژن MuRF-1 تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=۰/٦٤). علاوه بر این بین گروه TD با گروه‌های SDC (P=۰/۱۸) و STD (P=۰/۳٦) تفاوت معناداری مشاهده نشد (**Error! Reference source not found.**). در آماره‌ی MuRF-1در بررسی دو عامل تمرین و مکمل پروبیوتیک اثر متقابل و هم‌زمان این دو عامل با هم وجود نداشت (P=۰/٦۸) (نمودار ۲).

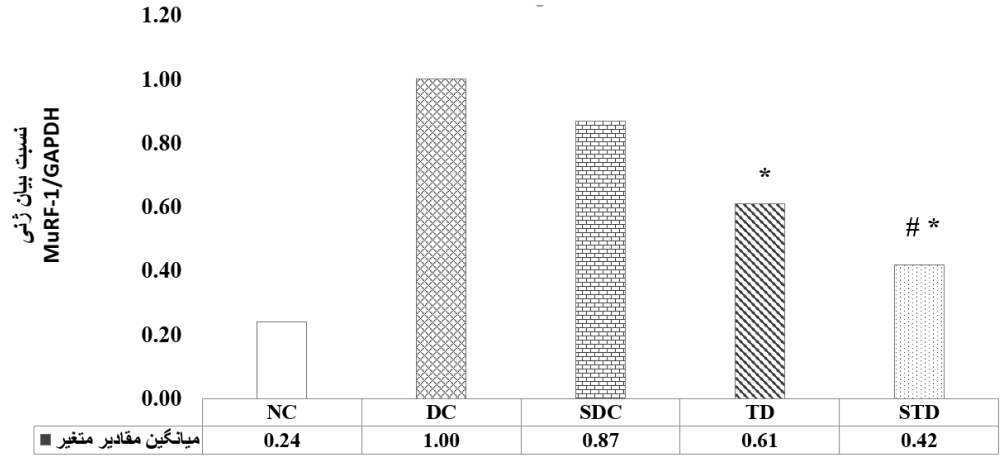
وزن عضله‌ی نعلی: نتایج آزمون تحلیل واریانس دو طرفه اختلاف معناداری را در وزن عضله نعلی بین گروه‌ها نشان نداده است (P>۰/۰۵).

مطابق با نتایج آزمون همبستگی پیرسون بین بیان ژن Atrogin-1 و وزن عضله‌ی نعلی همبستگی معنی‌داری وجود نداشت (P=۰/۹۰،r=۰/۰٦). اما بین بیان ژن MuRF-1 و وزن عضله‌ی نعلی همبستگی معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۳،r=-۰/۸٤).



نمودار ۱- تغییرات بیان ژن Atrogin-1 در گروه‌های پژوهش

*معناداری نسبت به گروه DC، #معناداری نسبت به گروه SDC، ¥ معناداری نسبت به گروه TD (برابر تغییر نسبت به گروه کنترل)



نمودار ۲- تغییرات بیان ژن MuRF-1 در گروه‌های پژوهش

*معناداری نسبت به گروه DC، #معناداری نسبت به گروه SDC (برابر تغییر نسبت به گروه کنترل)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر چهار هفته تمرین هوازی به همراه مکمل‌یاری پروبیوتیک بر بیان ژن‌های Atrogin-1 و MuRF-1 در عضله‌ی نعلی رت‌های دیابتی انجام شد. نتایج پژوهش کنونی نشان داد که اجرا تمرینات هوازی، پنج جلسه در هفته به همراه مکمل پروبیوتیک، تأثیر هم‌افزایی در کاهش بیان ژن Atrogin-1 دارد. در واقع، بهبود معنادار بیان ژن Atrogin-1 در گروه تمرین مکمل دیابتی نسبت به سایر گروه‌های دیابتی مشاهده شد. اگرچه کاهش معناداری در بیان ژن MuRF-1 در عضله‌ی نعلی هر دو گروه تمرینی مشاهده شد، اما تفاوت معناداری بین دو گروه تمرین مکمل دیابتی و تمرین دیابتی مشاهده نشد. در واقع تمرین هوازی و مکمل پروبیوتیک تأثیر هم‌افزایی در کاهش بیان این ژن نداشته است.

براساس نتایج به‌دست آمده، چهار هفته تمرین استقامتی به تنهایی و یا همراه با مصرف پروبیوتیک موجب کاهش سطوح گلوکز پلاسما در رت‌های دیابتی شد. علاوه بر این، کاهش بیشتر سطوح گلوکز پلاسما در گروه تمرین مکمل دیابتی نسبت گروه تمرین دیابتی مشاهده شد. در واقع می‌توان بیان کرد که اجرای تمرین استقامتی همراه با مکمل پروبیوتیک تأثیر هم‌افزایی در کاهش گلوکز پلاسما رت‌های دیابتی داشت. در خصوص تأثیر پروبیوتیک بر سطوح گلوکز پلاسما در پژوهشی توسط Al-Salami و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد که تجویز پروبیوتیک (۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) به موش‌های صحرایی سالم به‌مدت سه روز هیچ تأثیری در سطح گلوکز پلاسما ندارد، اما همان دوز تجویز شده در موش‌های دیابتی باعث کاهش سطح گلوکز خون تا ۲ برابر شد [۳۱]. در پژوهش حاضر تفاوت معناداری در میزان گلوکز پلاسما بین گروه کنترل دیابتی و مکمل دیابتی مشاهده نشد، با این حال اثر تعاملی تمرین و مکمل پروبیوتیک تأثیر قابل توجهی در کاهش میزان گلوکز پلاسما داشت. اختلاف به‌وجود آمده بین نتایج، ممکن است مربوط به تفاوت در نحوه‌ی القا دیابت و مصرف پروبیوتیک (گاواژ) باشد. تصور می‌شود که پروبیوتیک‌ها می توانند نفوذپذیری مخاط روده را نسبت به لیپوپلی‌ساکاریدها کاهش دهند [۳۲]. همراه با کاهش لیپوپلی‌ساکاریدها، متابولیت های تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها، از جمله اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFAs) می‌توانند از مقاومت به انسولین و افزایش قند خون جلوگیری کنند [۳۳]. SCFAs می‌توانند سطوح هورمون روده‌ای پپتید شبه گلوکاگون ۱ (GLP-1) را که در هموستاز گلوکز نقش دارند تنظیم کنند.GLP-1 با تحریک ترشح انسولین، سطح گلوکز خون را در شرایط هایپرگلایسمی کاهش می‌دهد [۳۲]. از طرفی، تمرینات ورزشی با افزایش گیرنده‌های انسولین در عضلات اسکلتی می‌توانند متابولیسم گلوکز را تحت تأثیر قرار دهند. همچنین، جابه‌جایی GLUT-4 و افزایش انتقال گلوکز به غشا سلولی در غیاب انسولین با افزایش کاتکول‌آمین ها اتفاق می‌افتد. بنابراین، در اثر تمرینات ورزشی جابه‌جایی GLUT-4 با افزایش ترشح کاتکول‌آمین‌ها تحریک شده و می تواند ورود مقدار زیادی گلوکز را به فضای سلول عضلانی را منجر شود [۳٤]. براساس سازوکارهای سلولی-ملکولی عنوان شده، اثر هم‌افزایی تمرین هوازی و مکمل پروبیوتیک را در کاهش قابل توجه گلوکز پلاسما می‌توان توجیه کرد.

مطالعات پیشین، کاهش قدرت و توده‌ی عضلانی را در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم نشان دادند [۳۷-۳۵]. همچنین در نمونه‌های حیوانی دیابتی نوع یک، کمبود انسولین ناشی از STZ موجب آتروفی عضلانی و افزایش تخریب پروتئین در سلول های عضلانی شد [۳۸]. بخش بزرگی از تخریب عضلانی از مسیر یوبی‌کویتین-پروتئازوم ناشی می‌شود که شامل آنزیم‌های فعال کننده یوبی‌کویتین، آنزیم‌های متصل کننده و لیگازهای یوبی کویتین است [۳۹]. از جمله مهم‌ترین پروتئین‌های تنظیمی پروتئولیز عضله‌ی اسکلتی در سیستم یوبی‌کویتین-پروتئازوم، پروتئین‌های MuRF-1 و Atrogin-1 هستند [٤۰]. سطوح MuRF-1 mRNA و Atrogin-1 به‌طور قابل توجهی تحت شرایط کاتابولیک افزایش می‌یابد و موش‌های فاقد این دو ژن، تا حدی به آتروفی عضله‌ی اسکلتی مقاوم هستند [٤۱]. همسو با پژوهش حاضر Lu و همکاران افزایش بیان MuRF-1 و Atrogin-1 را در عضله‌ی اسکلتی موش‌های db/db مشاهده کردند [٤۲]. می‌توان بیان کرد که دیابت می‌تواند با فعال شدن ملکول‌های تنظیمی مسیر یوبی‌کویتین-پروتئازوم منجر به آتروفی عضلات اسکلتی شود. یافته‌های پژوهش حاضر کاهش

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

معناداری را در بیان ژن Atrogin-1 در گروه تمرین مکمل دیابتی و تمرین دیابتی نشان داد. این بدان معنا است که تمرین استقامتی مداخله‌ای مؤثر در کاهش ژن کلیدی مسیر آتروفی عضلانی بوده است. از جمله نتایج قابل توجه این بود که اجرا تمرین هوازی همراه با مکمل پروبیوتیک موجب کاهش بیشتر Atrogin-1 شد. بر این اساس، مکمل پروبیوتیک اثر تمرین را تقویت کرده و شاهد تأثیر هم‌افزایی این مداخلات بوده‌ایم. با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی پروبیوتیک‌ها انتظار می‌رود که مصرف پروبیوتیک‌ها توسط افراد مبتلا به دیابت، با کند شدن فرآیند آتروفی عضلانی در این بیماران همراه باشد [۴۳]. سیتوکین‌ها و واسطه‌های التهابی نقش مهمی در ایجاد دیابت دارند، به‌نظر می‌رسید که ترکیب پروبیوتیک می‌تواند باعث کاهش فعال‌سازی مسیر TLR4/NF-KB و کاهش تولید فاکتورهای پیش التهابی IL-1β، TNF-α و IL-6 شود و در نهایت با کاهش اثر آپوپتوز تأثیر مثبتی بر دیابت داشته باشد [۳۳]. به نظر می‌رسد که پروبیوتیک با ایجاد تغییر در سطوح اندوتوکسین و التهاب سیستمیک مشاهده شده در افراد دیابتی، باعث ایجاد تغییرات مفیدی در میکروبیوتای روده و کاهش پاسخ التهاب سیستمیک می‌شود [۴۴]. از طرفی به‌نظر می‌رسد که میزان بیان Atrogin-1 با سطوح گلوکز پلاسما مرتبط باشد [۴۵]. از این‌رو، تمرینات ورزشی و مکمل پروبیوتیک با کاهش سطوح گلوکز پلاسما می‌توانند موجب کاهش بیان این ژن گردند.

در مطالعه‌ی حاضر، القاء دیابت با افزایش بیان ژن MuRF-1 به عنوان یکی از لیگازهای مؤثر در مسیر آتروفی همراه بوده است. این نتایج حاکی از آن است که احتمالاً سیستم یوبی‌کویتین-پروتئازوم در آتروفی عضلانی موش‌های دیابتی ناشی از STZ درگیر است. این نتایج با پژوهش‌های پیشین که به بررسی مسیرهای درگیر در آتروفی ناشی از STZ در موش‌های دیابتی پرداخته‌اند، هم‌خوانی دارد [۴۶، ۴۷]. اگرچه کاهش بیان ژن MuRF-1 در گروه تمرین دیابتی و مکمل تمرینی دیابتی مشاهده شد، اما بین این دو گروه تفاوت معناداری مشاهده نشد. در یک مطالعه مکمل خوراکی لاکتوباسیلوس گاسری و لاکتوباسیلوس روتری بیان مارکرهای آتروفی را در عضله‌ی اسکلتی کاهش داد. اما مکمل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، مارکرهای آتروفی عضلانی و سیتوکین‌های التهابی را تحت تأثیر قرار نداد. از این رو، ممکن است استفاده از سویه‌های مختلف، جهت تعیین تأثیر پروبیوتیک‌ها بر مارکرهای آتروفی عضلانی نتایج متفاوتی را نشان دهد [۴۸]. همسو با پژوهش حاضر، اثرات مفید تمرین ورزشی هوازی بر کاهش بیان MuRF-1 در مدل‌های حیوانی دیابتی نشان داده شده است [۴۷، ۴۹، ۵۰]. مداخلات تمرینی علاوه بر مهار پیشرفت دیابت، به نوبه خود می‌تواند آتروفی عضلانی و به‌دنبال آن کاهش جذب گلوکز توسط عضله‌ی اسکلتی را محدود کنند [۲]. نه تنها تمرینات مقاومتی، بلکه تمرینات استقامتی موجب تحریک عضله نسبت به استفاده بیشتر از اسیدهای آمینه مشتق از رژیم غذایی جهت سنتز پروتئین عضلانی می‌شود. در مقابل، عدم تحرک با کاهش حساسیت عضله نسبت به محرک‌های آنابولیک، نتایج معکوسی را نشان می‌دهد [۵۱]. علاوه بر این، تمرینات ورزشی با کاهش پاسخ های التهابی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌تواند در کاهش بیان ژن‌های کلیدی در مسیر آتروفی عضلانی نقش داشته باشند [۵۲]. به‌نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی استقامتی با سرکوب مسیرهای سیگنالینگ NF-kB و FoxO که در تنظیم بیان MuRF-1 نقش دارند، منجر به مهار سیستم یوبی‌کویتین-پروتئازوم مرتبط با آتروفی عضله شده و در نتیجه تخریب پروتئین را در طی دیابت کاهش دهند [۱۶]. Vechetti و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی نشان دادند که تمرینات هوازی با مهار مسیر FoxO باعث کاهش بیان اجزای سیستم یوبی‌کوئیتین-پروتئازوم درگیر در کاتابولیسم و آتروفی عضلانی رت‌های دیابتی می‌شود [۵۳]. در پژوهشی دیگر De Lange و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزایش بیان PGC-1α می‌تواند با مهار FoxO از عضلات در برابر آتروفی محافظت کند [۵۴].

در پژوهش حاضر اختلاف معنی‌داری در وزن عضله‌ی نعلی بین گروه‌های دیابتی مشاهده نشد. Chen و همکاران در پژوهشی نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی می‌تواند از کاهش وزن عضله‌ی موش‌های دیابتی ناشی از STZ جلوگیری کند. علت تفاوت در نتایج را می‌توان تفاوت در طول دوره‌ی مداخله در نظر گرفت. ممکن است جهت تحریک افزایش وزن عضله، دوره ی مداخله‌ی طولانی‌تری مورد نیاز باشد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تمرینات استقامتی در کاهش سطوح گلوکز پلاسما رت‌های دیابتی مؤثر هستند، اما مصرف پروبیوتیک در کنار تمرینات استقامتی می تواند تأثیر متقابل و هم‌افزایی در کاهش گلوکز پلاسما داشته باشد. افزون بر این، چهار هفته تمرین هوازی به همراه مکمل یاری پروبیوتیک نسبت به تمرین هوازی بدون مکمل‌یاری، تأثیر هم‌افزایی بر کاهش بیان ژن Atrogin-1 داشته است. اما تمرین هوازی به همراه مکمل پروبیوتیک، نسبت به تمرین هوازی به تنهایی، تأثیر هم‌افزایی در کاهش بیان ژن MuRF-1 در عضله‌ی نعلی رت‌های نداشته است. بنابراین، تحقیقات بیشتری جهت بررسی اثر متقابل این مداخلات بر بیان ژن MuRF-1 مورد نیاز است.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل بخشی از پایان‌نامه در مقطع کارشناسی ارشد است که با حمایت دانشگاه الزهرا (س) اجرا شد.

مآخذ

1. Saeedi P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice* 2019. 157: 107843.
2. Marshall RN, et al. Nutritional strategies to offset disuse-induced skeletal muscle atrophy and anabolic resistance in older adults: from whole-foods to isolated ingredients. *Nutrients* 2020. 12(5): 1533.
3. Han T. et al. Associations of BMI, waist circumference, body fat, and skeletal muscle with type 2 diabetes in adults. *Acta diabetologica* 2019. 56(8): 947-954.
4. Teng S and Huang P. The effect of type 2 diabetes mellitus and obesity on muscle progenitor cell function. *Stem cell research & therapy* 2019. 10(1): p. 1-15.
5. Kim KW. et al. Analysis of the molecular signaling signatures of muscle protein wasting between the intercostal muscles and the gastrocnemius muscles in db/db mice. *International journal of molecular sciences* 2019. 20(23): 6062.
6. Wojcik M. et al. Associations of high blood sugar with oxidative stress and inflammation in patients with type 2 diabetes, in Dietary Sugar, Salt and Fat in Human Health *Elsevier* 2020; 305-323.
7. Kalinkovich A. and Livshits G. Sarcopenic obesity or obese sarcopenia: a cross talk between age-associated adipose tissue and skeletal muscle inflammation as a main mechanism of the pathogenesis. *Ageing research reviews* 2017; 35: 200-221.
8. Ciaraldi TP, et al. Altered myokine secretion is an intrinsic property of skeletal muscle in type 2 diabetes. *PloS one* 2016; 11(7): e0158209.
9. Cohen S, Nathan JA, and Goldberg AL. Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nature reviews Drug discovery* 2015; 14(1): 58-74.
10. Zuo L, and Pannell BK. Redox characterization of functioning skeletal muscle. *Frontiers in physiology* 2015. 6: 338.
11. Sartori R, Romanello V, and Sandri M. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: Implications in health and disease. *Nature Communications* 2021. 12(1): 1-12.
12. De Marco Castro E, Murphy CH, and Roche HM. Targeting the Gut Microbiota to Improve Dietary Protein Efficacy to Mitigate Sarcopenia. *Frontiers in Nutrition* 2021. 8.
13. Höllriegel R, et al. Anabolic effects of exercise training in patients with advanced chronic heart failure (NYHA IIIb): Impact on ubiquitin–protein ligases expression and skeletal muscle size. *International journal of cardiology* 2013; 167(3): 975-980.
14. Mailing LJ, et al. Exercise and the gut microbiome: a review of the evidence, potential mechanisms, and implications for human health. *Exercise and sport sciences reviews* 2019; 47(2): 75-85.
15. Bäckhed F, et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007; 104(3): 979-984.
16. Lahiri S, et al. The gut microbiota influences skeletal muscle mass and function in mice. *Science translational medicine* 2019; 11(502).
17. Wang Y, et al. Nutraceuticals in the Prevention and Treatment of the Muscle Atrophy. *Nutrients* 2021; 13(6): 1914.
18. Iwasa M, et al. Fermented milk improves glucose metabolism in exercise-induced muscle damage in young healthy men. *Nutrition journal* 2013; 12(1): 1-7.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

19. Kaushik AS, Strath LJ, and Sorge RE. Dietary Interventions for Treatment of Chronic Pain: Oxidative Stress and Inflammation. *Pain and Therapy* 2020; 1-12.
20. Yeon M, Choi H, and Jun HS. Preventive Effects of Schisandrin A, A Bioactive Component of Schisandra chinensis, on Dexamethasone-Induced Muscle Atrophy. *Nutrients* 2020; 12(5):1255.
21. Lambert JE, et al. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2015; 40(7): 749-752.
22. Yanai H, et al. Exercise therapy for patients with type 2 diabetes: a narrative review. *Journal of clinical medicine research* 2018; 10(5): 365.
23. Li YP, et al. TNF-α acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. *The FASEB Journal* 2005; 19(3): 362-370.
24. Merz KE, and Thurmond DC. Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. *Comprehensive Physiology* 2020; 10(3): 785-809.
25. Jäger R, et al. Probiotic Bacillus coagulans GBI-30, 6086 reduces exercise-induced muscle damage and increases recovery. *PeerJ* 2016; 4: e2276.
26. Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current protocols in pharmacology* 2015; 70(1): 5.47. 1-5.47. 20.
27. Kaur IP, et al. Probiotics: delineation of prophylactic and therapeutic benefits. Journal of medicinal food, 2009; 12(2): 219-235.
28. Fernández MF Boris S, and Barbes C. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of applied microbiology* 2003; 94(3): 449-455.
29. Pithon-curi TNC. Aprogram Of Moderate Physical Training For Wistar Rats Based On Maximal Oxygen Consumption. *Journal of strength and conditioning research* 2007; 21(3): 000-000.
30. Høydal MA, et al. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Preventive Cardiology* 2007. 14(6): 753-760.
31. Al-Salami H, et al. Probiotic treatment reduces blood glucose levels and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics* 2008; 33(2): 101-106.
32. Kobyliak N, et al. Effect of alive probiotic on insulin resistance in type 2 diabetes patients: randomized clinical trial. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2018; 12(5): 617-624.
33. Wang L, et al. Evaluation of the hypoglycemic effect of probiotics via directly consuming glucose in intestines of STZ-induced diabetic mice and glucose water-induced diabetic mice. J*ournal of Functional Foods* 2020; 64: 103614.
34. Abderrahman A, et al. Effects of recovery mode during high intensity interval training on glucoregulatory hormones and glucose metabolism in response to maximal exercise. *Journal of athletic enhancement* 2018; 7(3).
35. Goodpaster BH, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 2006; 61(10): 1059-1064.
36. Kim TN, et al. Prevalence and determinant factors of sarcopenia in patients with type 2 diabetes: the Korean Sarcopenic Obesity Study (KSOS). *Diabetes Care* 2010; 33(7): 1497-1499.
37. Park SW, et al. Excessive loss of skeletal muscle mass in older adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32(11): 1993-1997.
38. Pepato MT, et al. Role of different proteolytic pathways in degradation of muscle protein from streptozotocin-diabetic rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism* 1996; 271(2): E340-E347.
39. Paneru B, et al. Crosstalk among lncRNAs, microRNAs and mRNAs in the muscle 'degradome'of rainbow trout. *Scientific reports* 2018; 8(1): 1-15.
40. Shaalan WM, et al. Expressions and characterization of MuRFs, Atrogin-1, F-box25 genes in tilapia, Oreochromis niloticus, in response to starvation. *Fish physiology and biochemistry* 2019; 45(4): 1321-1330.
41. Sakai H, et al. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2019; 46(1): 19-28.
42. Lu F, et al. Hydrogen sulphide ameliorating skeletal muscle atrophy in db/db mice via Muscle RING finger 1 S-sulfhydration. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2020; 24(16): 9362-9377.
43. Stefanaki C, Bacopoulou F, and Michos A. The impact of probiotics' administration on glycemic control, body composition, gut microbiome, mitochondria, and other hormonal signals in adolescents with prediabetes–a randomized, controlled trial study protocol. *Contemporary clinical trials communications* 2018; 11: 55-62.
44. Alokail MS, et al. Effects of probiotics in patients with diabetes mellitus type 2: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials* 2013; 14(1): 195.
45. Dehoux M, et al. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology* 2004. 145(11): 4806-4812.
46. Lehti TM, et al. Effects of streptozotocin-induced diabetes and physical training on gene expression of extracellular matrix proteins in mouse skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2006; 290(5): E900-E907.
47. Chen GQ, et al. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

MuRF1 upregulation in rats with diabetes. *Life sciences* 2011; 89(1-2): 44-49.
48. Bindels LB, et al. Restoring specific lactobacilli levels decreases inflammation and muscle atrophy markers in an acute leukemia mouse model. *PloS one* 2012; 7(6): e37971.
49. Ostler JE, et al. Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2014; 306(6): E592-E605.
50. Liu HW and Chang SJ. Moderate exercise suppresses NF-κB signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1α axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in physiology* 2018; 9: 636.
51. Pennings B, et al. Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein–derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. *The American journal of clinical nutrition* 2011; 93(2): 322-331.
52. Moylan JS. and Reid MB. Oxidative stress, chronic disease, and muscle wasting. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine* 2007; 35(4): 411-429.
53. Vechetti-Junior IJ, et al. Aerobic exercise recovers disuse-induced atrophy through the stimulus of the LRP130/PGC-1α complex in aged rats. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences* 2016; 71(5): 601-609.
54. De Lange P, et al. Fuel economy in food-deprived skeletal muscle: signaling pathways and regulatory mechanisms. *The FASEB Journal* 2007; 21(13): 3431-3441.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]

Synergistic Effect of 4 Weeks of Endurance Training with Probiotic Supplementation on the Expression of Atrogin-1 and Murf-1 Genes in the Soleus Muscle of Diabetic Rats

Maryam Delfan[1*], Tina Bouriaei[1]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Alzahra University,Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: One of the most common problems in diabetic patients is muscle atrophy. Therefore, the present study aimed to investigate the synergistic effect of endurance training with probiotic supplementation on Atrogin-1 and MuRF-1 genes gene expression in the soleus muscle of diabetic rats.
Methods: In this study, 32 male Wistar rats were randomly divided into one normal control (NC) and four diabetic groups: diabetic control (DC), diabetic supplement (SDC), diabetic training (TD), and diabetic supplement training (STD). The training protocol was performed with 60 to 65% of maximum speed reached five days a week for four weeks. At the same time, rats took two grams of probiotic dissolved in 30 ml of water daily. Expression of Atrogin-1 and MuRF-1 genes was measured by the qReal-Time PCR method. Data were analyzed by two-way analysis of variance at the significant level of $P \leq 0.05$.
Results: Atrogin-1 gene expression was significantly reduced in TD (P=0.001) and STD (P=0.000) groups compared to DC group. There was a significant difference between TD and STD groups in the expression of the Atrogin-1 gene (P=0.028). MuRF-1 gene expression was significantly reduced in TD (P=0.04) and STD (P=0.01) groups compared to DC. But there was no significant difference between TD and STD groups in MuRF-1 gene expression (P=0.36).
Conclusion: It seems that performing the aerobic exercise with probiotic supplementation is more effective in reducing the expression of the Atrogin-1 gene than any of these interventions alone. However, aerobic exercise with probiotic supplementation does not have a synergistic effect on reducing MuRF-1 gene expression in the soleus muscle of diabetic rats compared to aerobic exercise alone.

Keywords: Diabetes, Muscle atrophy, Probiotics, Antioxidants, Aerobic exercise

* North Sheikh Bahaee St., Deh-e Vanak, Alzahra University, Tehran, Iran. Tel: +982185692668, Fax: +982188035187, Email: m.delfan@alzahra.ac.ir

Copyright © 2021 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2024-06-16]