مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن MuRF1 در سلول‌های عضلهٔ قلب موش‌های صحرایی نژاد ویستار با دیابت القایی

معصومه عزیزی*[1]، فاطمه مختاری دو مکانی[1]، رضا بالدی[1]

چکیده

مقدمه: کاردیومیوپاتی دیابتی یکی از عوامل خطرزای اصلی برای عوارض قلبی- عروقی دیابت محسوب می‌گردد که می‌تواند ناشی از آتروفی سلول‌های عضلهٔ بافت قلب باشد. ژن MuRF1 به‌عنوان یکی از عوامل اصلی در آتروفی بافت قلب معرفی شده است. این مطالعه به منظور تعیین اثر تمرین هوازی بر بیان ژن MuRF1 در سلول‌های عضلهٔ قلب موش‌های صحرایی نژاد ویستار با دیابت القایی انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعهٔ تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هشت هفته و میانگین وزنی ۲۸۸ گرم به‌طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی شامل کنترل سالم، کنترل دیابتی وگروه تمرین هوازی تقسیم شدند. پروتکل تمرینی به‌مدت ۸ هفته تمرین هوازی تداومی شامل دویدن روی نوارگردان مخصوص جوندگان با شدت ۶۰ تا ۷۵ درصد Vo2max و به تعداد ۵ روز در هر هفته اجرا شد. بیان ژن MuRF1 با استفاده از روش Real-Time PCR بررسی گردید.

یافته‌ها: در ابتدا القاء دیابت موجب افزایش آماری معنی‌دار گلوکز سرم و بیان ژن MuRF1 در گروه کنترل دیابتی و گروه تمرین هوازی شد ($P <$ ۰/۰۵)، اما پس از هشت هفته تمرین منظم هوازی منجر به کاهش معنادار بیان ژن MuRF1 گروه تمرین دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد ($P <$ ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین هوازی منظم با شدت متوسط که منجر به کاهش گلوکز خون و نیز کاهش بیان ژنی MuRF1 گردید احتمالاً روندآتروفی بافت قلبی را نیز کند کرده است. هرچند مطالعات بیشتر برای تأیید این نظریه احساس می‌گردد.

واژگان کلیدی: عضلهٔ انگشت حلقه‌ای-۱، تمرین ورزش تداومی، سلول عضلهٔ قلب، دیابت

۱- گروه تربیت بدنی، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران

* ***نشانی:*** آبادان، میدان پرستار، روبروی بیمارستان طالقانی، دانشگاه آزاد آبادان، کُد پستی: ۶۳۱۷۸۳۶۵۳۱ ، تلفن: ۹-۰۶۱-۵۳۳۶۰۱۱۲، پست الکترونیک: scienceinsport@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۷ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۷/۰۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۸/۰۹

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری مزمن متابولیکی است که به‌طور عمده به دو زیر گروه دیابت نوع یک و نوع دو تقسیم می‌شود. بیش از ۹۰ درصد افراد دارای دیابتی مبتلا به دیابت نوع دو هستند. این بیماری به‌طور عمده به‌دلیل اختلال در ترشح انسولین یا مقاومت به انسولین ایجاد می‌گردد که در صورت عدم درمان با عوارض ثانویه همراه می‌شود و به اندام‌های متعددی مانند چشم، کلیه، قلب وعروق، مغز و همچنین عضلات اسکلتی آسیب می‌زند [۱]. تاکنون مطالعات زیادی در ارتباط با مشکلات بیماری قلبی–عروقی در بیماران دیابتی گزارش شده است. ایسکمی خاموش شایع‌ترین بیماری در میان این بیماران بوده است که غالباً به‌دلیل ضعف در عملکرد بطن چپ و دیوارهٔ عروق در امر خون‌رسانی به قلب رخ می‌دهد. هرچه سن بیمار بالاتر و شرایط هایپرگلیسمی طولانی‌تر باشد اثرات جانبی بیماری دیابت حادتر می‌شود که یکی از عواقب آن تغییرات در ساختار بافت عضلانی قلب است [۲]. از جمله تغییرات گزارش شده در سلول‌های عضلهٔ قلب، بروز پدیده‌ای به‌نام آتروفی است که در آن تودهٔ عضلانی به‌دلیل کاهش ترجمهٔ پروتئین‌های عضلانی یا فعال شدن مسیرهای تخریب، توسط پروتئازهای خاص تحلیل می‌رود [۳]. فرایند آتروفی از طریق سه مسیر شامل: سیستم پروتئازوم یوبی‌کویتین[1] (UPS)، سیستم‌های پروتئولیتیک اتوفاژی[2] و کاسپاز۳[3] رخ می‌دهد [٤]. در این بین سیستم پروتئازوم یوبی‌کویتین به‌عنوان مهم‌ترین مسیر پروتئولیتیک برای واسطه‌گری در آتروفی عضلات شناخته می‌شودکه تحت فشار آتروژن‌های خاص به‌عنوان لیگازهای یوبی‌کوینین E3 عمل می‌کنند. تاکنون دو لیگاز یوبی‌کویتین به نام MAFbx و MuRF1 تشخیص داده شده‌اند [۵] که نزدیک به ۸۰ درصد فرایندهای پروتئولیزی در عضلات را برعهده دارند [٦]. علاوه بر آتروژن‌ها، MAFbx و MuRF1 توسط هورمون‌ها و سیتوکین‌های خاص دیگری مانند گلوکوکورتیکوئیدها و TNF-alpha نیز تنظیم می‌شوند که فعال شدن این فاکتورها باعث افزایش کاتابولیسم پروتئین عضلانی و غیرفعالسازی‌شان باعث کاهش کاتابولیسم عضلات پس از ضایعات عصبی در مدل‌های حیوانی شده است [۷].

نکتهٔ قابل تامل این است که براساس مطالعات دقیق سلولی، مولکول MuRF1 نه تنها در عضلات مخطط، بلکه در عضلات قلب نیز جای دارد و نقش مهمی در رشد و تنظیم تودهٔ عضلانی قلب بر عهده دارد [۷]. براساس نتایج به‌دست آمده از مطالعات مدل‌های حیوانی افزایش MuRF1 در کاردیومیوسیت‌ها از ایجاد هیپرتروفی عضلات قلبی جلوگیری می‌کند، درحالی‌که درصورت فقدان کامل MuRF1 در همان حیوانات و در پاسخ به اضافه بار و فشار تمرینی منجر به هیپرتروفی قابل توجهی در عضلات قلبی شده است [۸]. به‌نظر می‌رسد به‌دنبال بیان ژنی بالای این مولکول در قلب در فنوتیپ تارهای عضلانی قلب تغییراتی رخ می‌دهد که در نتیجه منجر به عدم تعادل بین سنتز و تخریب پروتئین، اختلال در متابولیسم و تولید انرژی و نیز آتروفی در عضلات قلبی می‌شود. این محققان در ادامه بیان داشتند که با مهار مولکول کوچک MuRF1، به‌ترتیب سرعت کاهش در تودهٔ عضلانی، کاهش تولید نیروی قلبی و مشکلات سرطانی تا حدودی روند معکوس به خود گرفت تا جایی‌که آنها کنترل بیان ژنی این مولکول را به‌عنوان یک راهبرد درمانی بالقوه برای کاهش میوپاتی ثانویه در افراد دیابتی تلقی نمودند [۹]. اما با این وجود تا به امروز نتیجه تحقیقات در این زمینه قانع کننده نبوده است و نیاز به بررسی تعاملات پیچیده‌تری بین مدت و وضعیت بیماری، سن بیمار، مصرف دارو و سطح فعالیت بدنی احساس می‌گردد. طبق مطالعات انجمن دیابت آمریکا در خصوص اثر فعالیت بدنی بر افراد دیابتی نشان داده شده است که فعالیت ورزشی منظم به هر طریقی باعث پیشگیری از تخریب بیشتر عضلات می‌شود که اگر همراه با رژیم غذایی باشد راهکاری مناسب برای مدیریت دیابت است [٦]. Delfan و همکاران نشان دادند اجرای چهار هفته تمرین هوازی اگرچه باعث کاهش معنادار در بیان ژن MuRF1 در عضلهٔ نعلی گروه تمرینی شد اما به همراه مکمل یاری پروبیوتیک تأثیر هم‌افزایی درکاهش بیان این ژن نداشته است [۱۰] در حالی که نتایج مطالعهٔ Seidi و همکاران نشان از کاهش معنادار بیان ژن MuRF1 در قلب موش‌های دیابتی به همراه مهار روند آتروفی و اتوفاژی گزارش شد [٤]. از این‌رو

[1] Ubiquitin–proteasome system (UPS)
[2] Autophagy
[3] Caspase 3

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

با یک جمع‌بندی از تحقیقات انجام شده می‌توان متصور شد که احتمالاً دو ژن MAFBx و MuRF1 نقش بارزی را در مرتبط نمودن آتروفی به‌دنبال دیابت و بیماری قلبی بازی می‌کنند و از آنجا که فعالیت بدنی و تمرین‌های ورزشی دارای اثرات مثبتی بر مشکلات ناشی از آتروفی، دیابت و بیماری قلبی است که شامل بهبود حساسیت انسولین از طریق سیگنالینگ mTORC1، کاهش عوامل التهابی و سنتز پروتئین است [۱۲، ۱۱] انتظار می‌رود بیان ژن MuRF1 نیز به‌دنبال بهبود شرایط فیزیولوژیکی تغییر یابد. ازاین‌رو، باتوجه به عدم مطالعات کافی در رابطه با اثرات تمرین ورزشی بر بیان ژن MuRF1 ناشی از دیابت، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ورزش هوازی تداومی با شدت متوسط بربیان ژن MuRF1 در سلول‌های ماهیچه بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی شده است.

روش‌ها

پژوهش حاضر با کد اخلاق IR.ABADANUMS.REC.1401.070 از نوع تجربی با طرح پس‌آزمون به همراه گروه کنترل مورد تأیید شورای منتخب دانشگاه آزاد آبادان قرار گرفت و تلاش شد تا پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی کاملاً رعایت شود. نمونه‌های پژوهش حاضر را موش‌های نر نژاد ویستار آزمایشگاهی تشکیل دادندکه به‌دلیل کنترل متغیرهای تحقیق در آزمایشگاه، نوع پژوهش حاضر تجربی است. ۳۰ موش با سن هشت هفته و میانگین وزنی ۲۸۸ گرم انتخاب شدند و در مرکز آزمایشگاهی پرورش و نگه‌داری حیوانات در شرایط تغذیه‌ای، دمایی و نوری یکسان، درجهٔ حرارت بین ۱۸ تا ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و دوره ۱۲ ساعت در تاریکی و ۱۲ ساعت در روشنایی نگه‌داری شدند. موش‌ها در آزمایشگاه پس از القای دیابت و آشنایی با فعالیت ورزشی روی نوارگردان مخصوص جوندگان به‌طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه‌ها براساس وزن همسان‌سازی شدند. براین اساس، ۱۰ سر موش در گروه کنترل سالم، ۱۰ سر موش در گروه کنترل دیابتی و ۱۰سر موش در گروه دیابتی-تمرین هوازی قرار گرفتند. همچنین معیار خروج از پژوهش نیز آسیب دیدن حیوان در نظر گرفته شد. موش‌های گروه‌های کنترل در هیچ برنامهٔ ورزشی شرکت نداشتند در حالی که گروه دیابتی-تمرین هوازی یک برنامهٔ تمرینی ۵ روز در هفته اجرا نمودند.

روش القای دیابت موش‌ها

پس از سازگاری موش‌ها با محیط آزمایشگاه، برای القاء دیابت نوع دو از رژیم غذایی پُرچرب به‌مدت شش هفته و سپس تزریق درون صفاقی تک دوز داروی استرپتوزتوسین[1](STZ) حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با pH= 4.5 استفاده شد. غذای پُرچرب استاندارد از شرکت خوراک پارس دام خریداری شد و یک درصد پودر کلسترول و یک درصد روغن ذرت خالص افزوده شد [۱۳]. بدین ترتیب که محلول استرپتوزوتوسین حل شده در بافر سیترات۰/۱ مولار و به میزان ٤٥ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از تودهٔ بدن به آنان تزریق شد. غلظت گلوکز خون نیز با استفاده از نمونهٔ خون برگرفته از دم حیوانات ٤٨ ساعت پس از تزریق با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی بودن، غلظت گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ mg/dl بود [١٤] که با روش مذکور میانگین قندخون گروه‌های دیابتی ۱۲/۲٤± ۲۸۵/۳٦ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گزارش و تأیید شد.

برنامهٔ تمرین تداومی

برنامهٔ تمرینی هوازی روی نوارگردان مخصوص جوندگان با کنترل سرعت و مدت زمان دویدن اجرا شد. موش‌های گروه تمرین به‌مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ روز تمرین کردند. به‌طورکلی پروتکل تمرینی در سه مرحله اجرا شد که شامل مرحلهٔ آشنایی، اضافه بار، حفظ و تثبیت شدت بار بود. در دورهٔ آشنایی که یک هفته به طول کشید موش‌ها طی ۵ جلسه، به‌مدت ۵ دقیقه، سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه و شیب صفر با راه رفتن رروی نوارگردان با تمرین ورزشی آشنا شدند. در مرحلهٔ دوم تمرین‌های اصلی با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه شروع شد و هر هفته ۱-۲ متر بر دقیقه به سرعت، و ۱-۲ دقیقه به زمان افزوده شد تا اینکه در هفته چهارم سرعت به ۲۰ متر بر دقیقه و زمان به ٦٠ دقیقه رسید و در نهایت در مرحلهٔ تثبیت شدت، به‌مدت ٤ هفتهٔ دیگر پروتکل تمرین ادامه یافت (جدول ۱) [۱۵، ۱۰]. علاوه براین،

[1] Strptozotosin (STZ)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

گروه‌های کنترل جهت تجربهٔ یکسان در محل تمرین‌ها حضور داشتند [۱۵]. جلسهٔ تمرین هر روز ساعت ۱۲-۱۰ انجام شد که گاهی به‌منظور تحریک موش‌ها برای دویدن از ولتاژ الکتریکی کم نیز استفاده گردید.

جدول ۱- پروتکل تمرین تداومی گروه‌های تمرینی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
مدت (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۰	۴۰
سرعت (متر/دقیقه)	۱۰	۱۲	۱۵	۱۷	۱۸	۲۰	۲۰	۲۰

روش نمونه‌گیری از بافت قلب و اندازه‌گیری متغیرها

پس از اعمال متغیر مستقل، تمام موش‌ها در شرایطی کاملاً یکسان و در شرایط پایه (۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی و ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی)، با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (Ketamine) (۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم) بیهوش شدند. تحت شرایط استریل بافت مورد نظر توسط متخصص جداسازی و فورا به‌منظور جلوگیری از تخریب RNA با سالین شست وشو و در تیوپ‌های حاوی RNA later قرار داده شدند تا به نیتروژن مایع منتقل و در یخچال با دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگه‌داری شدند. برای بررسی ژن MuRF1 در هر گروه از روش آزمایشگاهی Real time-PCR استفاده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژنی مورد بررسی قرار گرفت.

طراحی و آماده‌سازی پرایمر

جدول ۲ الگوی پرایمر را نشان می‌دهد که به همراه یک ژن کنترل با رفرنس GAPDH طراحی شد. RNA با استفاده از کیت کیاژن (آلمان) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده با خلوص و غلظت بالا از تمام نمونه‌های مورد مطالعه استخراج شد و cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه با بررسی پرایمرهای طراحی شده مربوط به ژن مورد نظر، بیان ژنی با استفاده از روش کمی RT-qPCR، با استفاده از دستورالعمل کیت کیاژن و متناسب با ژن مرجع GAPDH، بیان سطوح ژن با فرمول $^{-\Delta Ct}2$ درنظر گرفته شد.

جدول۲- الگوی پرایمر MuRF1

نام	(۵' - ۳')	
	Forward	Reverse
MuRF1	GTGTCGAGGTGCCTACTTGC T	ACTCATGCTCCTCCTTCACCT

تجزیه‌وتحلیل آماری

پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس‌ها توسط آزمون لوین، برای تجزیه‌وتحلیل آماری نیز از آزمون آنالیز واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۳ و در سطح معناداری ۰/۰۵ >p انجام شد.

یافته‌ها

در جدول ۳ تمام اندازه‌گیری‌ها به‌ترتیب برای سه گروه مورد مطالعه گزارش شده است (جدول۳). در جدول ٤، پس از بررسی توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلکز، آمار پارامتریک برای تجزیه‌وتحلیل دیگر داده‌های مطالعه حاضر اجرا شد که نتایج نشان دادند تفاوت معنی‌داری بین میزان تغییرات بیان ژن MuRF1م یوکاردیوسیت‌های گروه‌های

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

مختلف وجود داشته است (p= ۰/۰۰۱) (جدول ٤). به‌دنبال آن نتایج آزمون تعقیبی توکی برای بررسی تغییرات بیان ژن MuRF1 نیز نشان داد که بین گروه‌های کنترل سالم با گروه کنترل دیابت (p= ۰/۰۰۰) اختلاف معنی‌دار ولی با گروه تمرین دیابتی (p= ۰/٤۹۸) اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. از سوی دیگر براساس نتایج آماری، سطح بیان ژن MuRF1 گروه کنترل دیابتی با گروه تمرین دیابتی (p= ۰/۰۰٤) نیز دارای اختلاف معنی‌دار بود. (شکل ۲). از دیگر یافته‌های مطالعهٔ حاضر بررسی تغییرات گلوکز نمونه‌ها پیش از شروع پروتکل و آخرین جلسه از اجرای پروتکل بود. در ابتدای تحقیق پس ازالقای دیابت، ابتلا به دیابت تأیید شد (p= ۰/۰۰۱) و در پایان هشت هفته نیز تفاوت معنی‌داری همچنان بین گروه‌های تحقیق وجود داشت به‌طوری‌که نتایج نشان داد میانگین آماری تغییرات سطوح گلوکز بین گروه کنترل دیابتی با گروه کنترل سالم (p= ۰/۰۰۰) و گروه تمرین دیابتی (p= ۰/۰۰۰) و نیز بین دو گروه کنترل سالم و تمرین دیابتی پس از هشت هفته معنی‌دار گزارش شد (p= ۰/۰۰۰). در واقع سطح گلوکز خون به‌دنبال هشت هفته تمرین در گروه تمرین دیابتی کاهش معنی‌دار داشته است اما همچنان نسبت به سطح طبیعی دارای مقادیر بالاتری بوده است.

جدول۳- مقایسهٔ وزن، بیان ژنی Murf1 و گلوکز خون سه گروه پس از هشت هفته مداخلهٔ تمرین

متغیر	گروه	تعداد نمونه	میانگین (گرم)	انحراف معیار	F	sig
وزن (گرم)	کنترل سالم	۱۰	۲۸۸/۷	۹/۷٦	۰/۰۱۱	۰/۸۹۰
	کنترل دیابتی	۱۰	۲۸۸/۸	۱۲/۱۳		
	تمرین دیابتی	۱۰	۲۸۹/۳	۸/۱۲		
بیان ژن MuRf1 (ct)	کنترل سالم	۱۰	۰/۱۳۷	۰/۰۲	۱۳/۲٦۳	٭۰/۰۰۱
	کنترل دیابتی	۱۰	۱/۲٦٦	۰/۸۹۷		
	تمرین دیابتی	۱۰	۰/٤۱۳	۰/۲۵۸		
گلوکز (mg/dl) جلسهٔ اول مطالعه	کنترل سالم	۱۰	۸۷/۱٦	٦/۰۳	۷۱۱/۹۸	٭۰/۰۰۱
	کنترل دیابتی	۱۰	۳۵۲/۳۱	۲۱/۰٤		
	تمرین دیابتی	۱۰	۳۲۸/٦۵	۲۷/۵۹		
گلوکز (mg/dl) جلسهٔ آخر مطالعه	کنترل سالم	۱۰	۸۸/۳۹	۷/۰۷	۵۲۰/۳٦	٭۰/۰۰۱
	کنترل دیابتی	۱۰	۳۵٦/۵۸	۲۱/۱۳		
	تمرین دیابتی	۱۰	۱٦۹/۲٦	۱۸/۹۵		

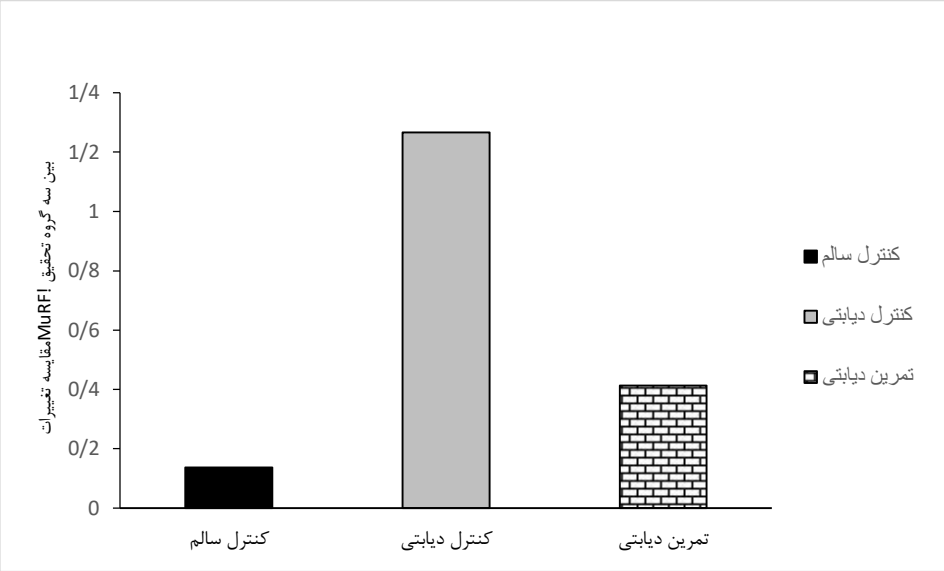
(سطح معناداری p< ۰/۰۵)

جدول ۴- نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به گروه‌های مختلف تحقیق

متغیر		مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	sig
MuRF1	بین‌گروهی	۸/۲۰۱	۲	٤/۱۰۰	۱۳/۲٦۳	٭۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۸/۳٤۷	۲۷	۰/۳۰۹		
	کل	۱٦/۵٤۷	۲۹			

(سطح معناداری p< ۰/۰۵)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]



شکل ۲- مقایسهٔ بیان MuRF1 بین گروه‌های مختلف تمرین با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌سویه

* نشانهٔ تفاوت معنادار بین گروه‌هاست

بحث

نتیجهٔ اصلی برآمده از مطالعه حاضر کاهش معنادار بیان ژن MuRF1 پس از هشت هفته تمرین هوازی درگروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی بود. یافتهٔ دیگر نیز کاهش معنادار سطوح گلوکز خون آزمودنی‌های تحقیق بود که در گروه تجربی محقق شد. با این‌حال ادبیات پژوهشی موجود در ارتباط با اثر تمرین ورزشی بر بیان ژن MuRF1 مایوکاردیوسیت‌های موش‌های دیابتی اندک است و تا حدودی تفسیر نتایج باهم تفاوت دارند. ولی از آنجا که تمرین هوازی نقش محوری در مسیرهای سیگنالینگ آتروفی و هایپرتروفی سلول‌های عضلانی دارد، این مطالعه یکی از معدود مطالعات انجام شده بر بیان ژنی این متغیر محسوب می‌گردد [۱۲]. یکی از روش‌های مرسوم برای دیابتی نمودن حیوانات استفاده از روش STZ است که پس از اجرای مراحل تزریق این ماده به حیوانات، علاوه بر دیابتی نمودن آنها منجر به افزایش معنادار بیان ژنی MuRF1 نیز در مایوکاردیوسیت‌های موش‌ها می‌گردد که در مطالعهٔ حاضر نیز از این روش استفاده شد. دیگر محققانی که از این روش برای دیابتی نمودن حیوانات استفاده کردند نیزگزارش نمودند این روش منجر به افزایش معنادار بیان ژنی MuRF1 در موش‌های دیابتی شده است [۱۲، ۱۶، ۱۷].

همان‌گونه که در ابتدای بحث بیان شد نتیجهٔ اصلی برآمده از مطالعهٔ حاضر این بود که هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنادار بیان ژن MuRF1 در مقایسه با گروه کنترل دیابتی گردید که این یافته با نتایج مطالعات Esmailee و همکاران [۱۲]، Jafari و همکاران [۱۶]، Panahi و همکاران [۱۷]، Liu و همکاران [۱۸] ، Ribeiro و همکاران [۱۹] همسو بود هرچند با یافته‌های Sheibani و همکاران [۲۰]، Ato و همکاران [۲۱] و Holloway و همکاران [۲۲] هم‌خوانی نداشت. در این راستا شاید بتوان از پژوهش‌های بیشتری یاد نمود که کاهش بیان ژن و پروتئین MAFbx و MuRF1 را به‌دنبال تمرین در انسان و حیوان گزارش کرده‌اند. Afshar و همکاران [۲۳] گزارش کردند هشت هفته تمرین هوازی باعث کاهش میزان بیان Foxo1 و MuRF1 در کاردیوسیت‌های موش‌های صحرایی نر شد. Zanchi و همکاران [۲٤] نشان دادند که یک دورهٔ تمرین مقاومتی نیز باعث کاهش معنی‌دار در بیان MAFbx و MuRF1 موش ویستار شد.

مطالعات متعددی شاید تا به حال به‌دنبال درک سازِکارهای مؤثر در بیان ژنی MuRF1 در نمونه‌های دیابتی بوده‌اند که در این میان، آن دسته از مطالعات که به درک سازِکار افزایش بیان ژنی Murf1 متعاقب دیابتی شدن پرداخته‌اند بیان می‌دارند که

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

پروتئولیز ناشی از دیابت، به‌دنبال فعال شدن پروتئین FOXO، منجر به افزایش بیان ژنی Murf1 می‌گردد. پروتئینFOXO زیرمجموعه‌ای از خانوادهٔ بزرگ عوامل رونویسی است که با دومین‌های متصل به DNA مشخص می‌شود. در میوکاردسیت‌های دیابتی ضعیف شدن سیگنالینگ انسولین برجسته‌ترین پدیده‌ایست که رخ می‌دهد. کاهش سیگنالینگ انسولین منجر به کاهش سطح Akt و نهایتاً به افزایش سطح FOXO1 می‌انجامد. متعاقب آن ژن‌های آتروژین-۱ و MuRF1 که جزء پروتیئن‌های تخریب‌کنندهٔ بافت عضلانی و نیز کاهش برداشت گلوکز هستند بیش تنظیمی می‌گردند [۲۵]. از سوی دیگر در شرایط دیابتی، تخریب بافت پانکراس و عدم تولید مناسب انسولین ناشی از تزریق STZ در جوندگان، معمولاً منجر به برهم زدن بالانس در سیستم اکسیدانتی می‌شود و از این‌رو سطوح استرس اکسیداتیو افزایش و آنتی‌اکسیدانت کاهش می‌یابد [۲۶]. اهمیت این موضوع در چنین زمانی دوچندان می‌گردد چراکه هم کاهش انسولین و هم افزایش استرس اکسیداتیو به‌نظر می‌رسد از مؤلفه‌های لازم در فرایند پروتئولیز هستند [۲۷] هرچند در تحقیق حاضر سطوح استرس اکسیداتیو آزمودنی‌ها اندازه‌گیری نشد اما نتایج مرتبط با سطوح گلوکز این پژوهش نشان داد که پس از هشت هفته فعالیت هوازی آزمودنی‌ها، کاهش معنی‌دار ۵۱٪ در سطح گلوکز خون را تجربه کردند. که همسو با یافته حاضر، Esmailee و همکاران در تحقیقی که به بررسی اثر تمرین هوازی بر تغییرات بیان ژن MuRF1 مایوکاردیوسیت‌ها در شرایط دیابتی پرداختند نیز گزارش نمودند که بیان ژن MuRF-1 کاردیومایوسیت‌ها در گروه‌های تمرین-دیابت نسبت به گروه دیابت کاهش معناداری داشته است [۱۲]. به‌نظر می‌رسد آتروفی به شکل بالقوه به‌وسیلهٔ مهار سیگنالینگ PI3K/AKT و فعال شدن محور مقابل آن یعنی FoxO/MAFbx/MuRF1 رخ می‌دهد [۲۴]. در پژوهش دیگری مشاهده شد در موش‌هایی که حتی به‌مدت دو هفته ورزش کرده بودند فعالیت پروتئازومی کاهش یافت. اگرچه در مطالعهٔ حاضر دیابت در ابتدا باعث افزایش بیان MuRF1 شده بود ولی کاهش معنی‌داری در بیان MuRF1 در گروه دیابتی پس از انجام تمرین‌های بدنی در مقایسه با گروه کنترل گزارش شد. نتایجی از این دست نشان می‌دهد که تمرین بدنی و ورزش احتمالاً نقش مهمی در مدیریت بیان MuRF1 در بیماری دیابت دارد [۷]. از طرف دیگر، پروتئین MuRF1 از عوامل کلیدی لیگازی مسیر یوبیکوئیتین در بافت‌های عضلانی قلب است و لذا عواملی مانند بیماری و فعالیت‌های ورزشی می‌توانند بسیار بر این بافت‌ها اثرگذار باشند. به‌عبارت دیگر احتمالاً فعالیت‌های ورزشی به‌عنوان مثال با تحریک مسیر PI3K-AKT که با افزایش سنتز پروتئین و با معکوس کردن فرآیندآتروفی، کاهش یا غیرفعال نمودن پروتئین‌های پروتئولیز کنندهٔ خانوادهٔ FOXO، موجب راه‌اندازی مسیرهای تروپیک در سلول‌های عضلانی و بافت قلب می‌گردند. بنابراین فعالیت بدنی و ورزش در کنار دارودرمانی و کنترل تغذیه‌ای، ممکن است یکی از راهکارهای مهم درمانی در مشکلات مرتبط با سلامتی قلب و عروق و دیابت محسوب گردد. اما به‌دلیل تنوع در انواع پروتکل‌های تمرینی و نتایج احتمالی متفاوت در مطالعات، مناسب‌تر است که بر نوع، شدت و مدت تمرین ورزشی تمرکز داشت. Jafari و همکاران (۱۳۹۸) نشان دادند که هشت هفته تمرین تناوبی شدید باعث کاهش بیان ژن MuRF1 در سلول عضلانی گروه دیابت در مقایسه با گروه‌های کنترل می‌شود [۱۶]. در مطالعهٔ دیگری که مشابه با تحقیق حاضر است Holloway و همکاران (۲۰۱۵) به مقایسه اثر تمرین تناوبی و تداومی با شدت بالا بر برخی فاکتورهای آتروفی عضلانی در موش‌ها پرداختند که در آن تحقیق موش‌ها به‌مدت چهار هفته و پنج جلسه/هفته بر روی تردمیل تمرین کردند که در نهایت نتایج آنها عدم تغییر در فاکتور آتروفی MuRF1 را در پی تمرین‌ها گزارش کرد [۲۲]. دلیل تناقضی که بین یافته‌های Holloway و همکاران با پژوهش حاضر است احتمالاً به‌دلیل مدت زمان کمتر تمرین و شدت بالاتر باشد، دو فاکتوری که احتمالاً باعث تفاوت در نتایج محققان شده است.

به‌نظر می‌رسد ورزش و فعالیت‌های تمرینی با افزایش بیان آدنوزین مونوفسفات کیناز باعث مهار مسیرهای پروتئولیزی در کاردیومایوسیت‌های قلبی گردد و در واقع نه تنها از آتروفی پیشگیری می‌نماید بلکه روند هایپرتروفی را نیز فعال نماید [۲۸]. با این وجود، در یک نتیجه‌گیری کلی برگرفته از این تحقیق و دیگر تحقیقات انجام شده، به‌نظر می‌رسد انجام تمرین‌ها با شدت متوسط روش مناسبی برای کاهش بیان ژنی Murf-1 و پیشگیری از آتروفی عضلانی در افراد دیابتی باشد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

هرچند ضروری است که اینگونه تحقیقات بر آزمودنی‌های انسان اجرا گردد تا با درک سازکارها و مسیرهای سیگنالینگ درگیر، بتوان به نتایج دقیق‌تر و محکم‌تری دست یافت و راهکاری برای مقابله با تحلیل عضلانی به بیماران توصیه نمود. البته انجام هر تحقیقی دارای محدودیت‌هایی هست که در مطالعهٔ حاضر به‌دلیل کمبود تجهیزات و تکنیک‌های آزمایشگاهی برای بررسی تغییرات بافت قلب و نیز هزینه‌های بالا، محقق نتوانست گزارش کامل و واقعی از تمامی ابعاد قلب را گزارش کند. از سوی دیگر چون تغییرات در ساختار قلب معمولاً در یک دورهٔ طولانی رخ می‌دهد شاید پژوهش باید در یک دورهٔ طولانی‌تر انجام می‌شد. لذا پیشنهاد می‌گردد در پژوهش‌های بعدی از دوره‌های طولانی‌تر استفاده شود و همچنین از شاخص‌های دیگری که بتوانند نمایش بهتری از تأثیر تمرین بر تغییر ساختار قلب را ارئه بدهد استفاده نمایند. اما در نهایت براساس یافته‌های این مطالعه در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان ابراز داشت که تمرین هوازی تداومی باعث بهبود در شاخص آتروفی در ساختار سلولی قلب موش‌های ویستار دیابتی شده گردید.

سپاسگزاری

تیم تحقیقی این پایان‌نامه، از این واحد دانشگاهی و تمام عزیزانی که این تحقیق را امکان‌پذیر کردند مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌نماید.

مآخذ

1. Nellaiappan K, Preeti K, Khatri DK, Singh SB. Diabetic Complications: An Update on Pathobiology and Therapeutic Strategies. *Curr Diabetes Rev*. 2022; 18; e030821192146.
2. Tavossoli A, Amini M, Afshinnia F, Bastanhagh M. A study of prevalence and risk factors of ischaemic heart disease in non insulin-dependent diabetes patients. *Tehran Univ Med J*. 1997; 55 (5) :71-78.
3. Ganapathy A, Nieves J.W. Nutrition and Sarcopenia-What Do We Know? *Nutrients*. 2020; 12:1755.
4. Seidi AN, Aghaei Bahmanbeglou N, Asgharpour H, Ahmadi M. The Effect of Long-Term High-Intensity Interval Training on the Intracellular Content of Mafbx and Murf1 Proteins in the Left Ventricular of the Heart of Rats With Type 2 Diabetes. *Ijdld.* 2022; 22 (3):175-184
5. Wood N, Straw S, Scalabrin M, Roberts L, Klaus K.,et al (2021). Skeletal muscle atrophy in heart failure with diabetes: from molecular mechanisms to clinical evidence. *ESC Heart Failure*. 2021; 8:3–15.
6. 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(1-2):44-49.
7. Labeit S, Hirner S, Bogomolovas J, Cruz A, Myrzabekova M, Moriscot A, Bowen TS, Adams V. Regulation of Glucose Metabolism by MuRF1 and Treatment of Myopathy in Diabetic Mice with Small Molecules Targeting MuRF1. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(4):2225.
8. Willis MS, Ike C, Li L, Wang DZ, Glass DJ, Patterson C. Muscle ring finger 1, but not muscle ring finger 2, regulates cardiac hypertrophy in vivo. *Circ Res*. 2017; 100:456–459.
9. Willis MS, Rojas M, Li L, Selzman CH, Tang RH, Stansfield WE, Rodriguez JE, Glass DJ, Patterson C. Muscle ring finger 1 mediates cardiac atrophy in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009; 296(4):H997-H1006.
10. Delfan M, Bouriaei T. 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. *Ijdld*. 2021; 21(4) 198-209.
11. Wood N, Straw S, Scalabrin M, Roberts L, Klaus K, et al. Skeletal muscle atrophy in heart failure with diabetes: from molecular mechanisms to clinical evidence. *ESC Heart Failure*. 2021; 8:3–15.
12. Esmailee BH, Abdi A, Farzanegi P, Abbassi Daloii A, Protective Effect of Aerobic Training along with Resveratrol on the Expression of some Atrophic Biomarkers of Cardiomyocytes in Diabetic rats, *Journal of Neyshabur University of Medical Sciences*. 2019; 7(24):27-37.
13. Sun YP, Lu NC, Parmley WW, Hollenbeck CB. Effects of cholesterol diets on vascular function and atherogenesis in rabbits. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2010; 224(3): 166-71.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

14. Moeini Fard M, Hedayati M. Alloxan and streptozotocin, diabetes research tool. *Applied Sport Physiology Research*. 2014;10(20):13-22.
15. Melissa A, Justin A, Fletcher E, Matthew Morris, Grace M. Meers M. Harold Laughlin Frank W. BoothJames R. Sowers A. Ibdah P, Thyfault and R. Scott Rector. Treating NAFLD in OLETF Rats with Vigorous-Intensity Interval Exercise Training. *Med Sci Sports Exerc*. 2015; 47(3):556–567.
16. 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.
17. 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. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*. 2016; 38(2):6-13.
18. Liu HW, Sue-Joan C. Moderate exercise suppresses NF-κB signaling and activates the SIRT1-AMPKPGC1α axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Front Physio*. 2018; 29(9):636.
19. 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.
20. 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 [In Persian].
21. 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.
22. 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.
23. Afshar H, Abdi A, Barari A, Azarbayjani MA. The Effect of Aerobic Training on expression of indices of myocardial hypertrophy and atrophy in Rats. Armaghanj. 2021; 26(1):45-58.Lecker SH, Jagoe RT, Gilbert A, Gomes M, Baracos V, Bailey J, et.al. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *FASEB J*. 2004; 18(1):39-51.
24. Zanchi NE, De Siqueira Filho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, de Oliveira Carvalho CR, et al. Chronic resistance training decreases MuRF-1 and Atrogin-1 gene expression but does not modify Akt, GSK-3β and p70S6K levels in rats. European Journal of Applied Physiology. 2009; 106(3):415-23.
25. Waddell DS, Baehr LM, van den Brandt J, Johnsen SA, Reichardt HM, Furlow JD et al. The glucocorticoid receptor and FOXO1 synergistically activate the skeletal muscle atrophy-associated MuRF1 gene. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008; 295:E785–E797.
26. Lecker SH, Jagoe RT, Gilbert A, Gomes M, Baracos V, Bailey J, et.al. Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. FASEB J. 2004; 18(1):39-51.
27. 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):584-593.
28. Puigserver P, Rhee J, Donovan J, Walkey CJ, Yoon JC, Kitamura Y, et al. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1–PGC-1α interaction. Nature. 2003; 423(6939):550.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04]

The Effect of Eight Weeks' Aerobic Exercise Protocol on Murf1 Gene Expression in Cardio-Myocyte of Diabetic Wistar Rats

Masoumeh Azizi[1]*, Fatemeh Mokhtari Domakani[1], Reza Baledi[1]

1. Department of Physical Educatin, Abadan Branch, Islamic Azad University, Abadan, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetic cardiomyopathy is one of the main risk factors related to diabetes, which can be caused by atrophy of the cardiomocytes. It is supposed that the MuRF1 gene intermediate as an agent for heart atrophy. Hence, the purpose of current study was to investigate the effect of eight weeks' aerobic exercise protocol on murf1 gene expression in cardio-myocyte of diabetic Wistar rats.
Methods: In this study, 30 male Wistar rats with an age of eight weeks and an average weight of 288 grams were randomly divided into three groups of 10 including healthy control, diabetic control and aerobic exercise group after two weeks of adaptation to the environment. The exercise groups went under aerobic training programs using treadmill (5 days/wks., for 8 wks.) 60%-75% Vo2max. MuRF1 mRNA level was measured in cardio myocyte using Real-Time PCR. The results were compared by statistical methods.
Results: The changes in the expression of Murf1 genes expression in cardio-myocyte of diabetes group were significantly higher than the other groups (P< .05). The expression of Murf1 gene in continuous training group reduced significantly after eight weeks' aerobic exercise training (P< .05).
Conclusion: This study demonstrated that eight weeks' aerobic exercise training can lead to reduction of Murf1 genes expression level and might be a good prescription for diabetic persons. However, further studies are needed to confirm this theory.

Keywords: Murf1, Continues Training, Cardio myocyte, Diabetes

*Abadan, Station No12, Parastar Square, against Taleghani Hospital, Islamic Azad University Abadan Branch, Tel: 061-53360112-9, Fax: 123456789. Postal code: +98-6317836531. Email: scienceinsport@yahoo.com

Copyright © 2024 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 2025-04-04]