

تعدیل میزان آتروفی عضلانی موش‌های سالمند پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند از طریق تمرین تناوبی هوازی و عصاره کروستین: یک مطالعه تجربی

پرویز احسانی کلهر^۱، خسرو جلالی دهکردی^۲، فرزانه تقیان^۳، مهدی کارگرفرد^۴، سید علی حسینی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ژن‌های MuRF1 و Foxo3 نشانگرهای مولکولی مهم برای آتروفی عضلانی هستند که در شرایط مختلف همچون دیابت، در عضلات اسکلتی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تعدیل میزان آتروفی عضلانی موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند از طریق تمرین تناوبی هوازی و عصاره کروستین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۵ سر موش نر و ماده c57bl6 سالمند دیابتی [تحت تزریق صفاقی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استروپتوزوتوسین (STZ یا Streptozotocin)] با سن ۱۴ تا ۱۶ هفته و وزن ۳۰ تا ۳۵ گرم به طور تصادفی در ۹ گروه شاهد سالم، پیش‌دیابتی، پیش‌دیابتی + تمرین هوازی، پیش‌دیابتی + کروستین، پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروستین، دیابتی، دیابتی + تمرین هوازی، دیابتی + کروستین، دیابتی + تمرین هوازی + کروستین تقسیم شدند. تمرین هوازی تناوبی به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته اجرا گردید. موش‌ها ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز کروستین به صورت تزریق صفاقی دریافت کردند. میزان بیان ژن‌های MuRF1 و Foxo3 به روش Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تعقیبی Tukey و One-way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت ($P \leq 0/05$).

یافته‌ها: بیان ژن‌های MuRF1 و Foxo3 عضله اسکلتی گروه دیابتی نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P \leq 0/01$). مقادیر بیان ژنی MuRF1 و Foxo3 در گروه پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروستین و گروه دیابتی + تمرین هوازی + کروستین به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر گروه‌ها گزارش گردید ($P \leq 0/01$). مقادیر انسولین و گلوکز در گروه پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروستین و گروه دیابتی + تمرین هوازی + کروستین به طور معنی‌داری پایین‌تر از سایر گروه‌ها به دست آمد ($P \leq 0/01$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین هوازی تناوبی و کروستین هم به تنهایی و هم به طور هم‌زمان، می‌تواند از طریق کاهش بیان ژن‌های MuRF1 و Foxo3 در عضله اسکلتی، به کاهش آتروفی در افراد سالمند مبتلا به پیش‌دیابت و دیابت کمک نماید.

کلید واژه‌ها: تمرین هوازی؛ کروستین؛ آتروفی؛ سالمند؛ پیش‌دیابت؛ دیابت

ارجاع: احسانی کلهر پرویز، جلالی دهکردی خسرو، تقیان فرزانه، کارگرفرد مهدی، حسینی سید علی. **تعدیل میزان آتروفی عضلانی موش‌های سالمند پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند از طریق تمرین تناوبی هوازی و عصاره کروستین: یک مطالعه تجربی.** پژوهش در علوم توانبخشی ۱۴۰۱؛ ۱۸: ۱۰۵۹-۱۰۷۸.

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۱۱

آتروفی عضلات اسکلتی همراه است (۴-۲). آتروفی عضلانی در بیماری‌های مزمن مانند دیابت نوع دو به دلیل اثرات مستقیم گلوکز بالا و انسولین پایین ایجاد می‌شود (۵). در نهایت، عضله در حال آتروفی طی دیابت منجر به آسیب مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی می‌شود که در حفظ تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین نقش دارند (۶). مسیرهای پروتئین مانند یوبی کوئیتین (Ubiquitin)-

مقدمه

دیابت نوعی بیماری متابولیک است که با اختلال در متابولیسم گلوکز و به دنبال آن با تأثیرات منفی قابل توجهی بر متابولیسم لیپیدها و پروتئین‌ها همراه می‌باشد. این بیماری ناشی از کمبود انسولین یا ناشی از مقاومت بافتی نسبت به انسولین است (۱). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده است که دیابت با خطر

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

نویسنده مسؤول: خسرو جلالی دهکردی، دانشیار، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

Email: khosrojalali@khuisf.ac.ir

چشمگیری افزایش می‌دهد. با این حال، هنوز اثرات فیزیولوژیک تمرینات HIIT که به واسطه آن‌ها سلامت عضلات اسکلتی بهبود می‌یابد، به خوبی درک نشده است. آتروفی عضلانی نتیجه توازن منفی بین میزان سنتز و تخریب پروتئین انقباضی است. در شرایط کاتابولیک، آتروفی عضلانی همراه با عدم فعالیت می‌تواند ظرفیت انجام فعالیت زندگی روزمره و کیفیت زندگی را کاهش و پس از آن مرگ میر را افزایش دهد (۱۶). از سوی دیگر، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کنار تمرینات ورزشی، می‌تواند اثر مطلوب‌تری بر سلامت این افراد داشته باشد. در این میان، زعفران (Saffron) و ترکیبات آن فعالیت‌های پزشکی- بیولوژیکی قابل توجهی را نشان داده‌اند؛ به طوری که گزارش شده است که ترکیبات مشتق شده از زعفران مانند کروستین (Crocetin) اثرات ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی با مهار اکسیداسیون لیپوپروتئین اثرات قابل توجهی بر بیماری عروق کرونر قلب، کاهش فشار خون و بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی- عضلانی و سرطان دارد (۱۷). بنابراین، با توجه به شیوع روزافزون بیماری دیابت و اثرات مضر آن بر سلامتی و بروز عوارض ناشی از آن و تأثیر مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی و نوع خاص فعالیت بدنی بر کنترل آن و با توجه به این که احتمالاً مطالعات کافی در رابطه با اثر نوع تمرین و مصرف مکمل کروستین بر وضعیت آتروفی عضلانی موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی انجام نشده است، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی هوازی همراه با مصرف عصاره کروستین بر عوامل آتروفی عضلانی موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند انجام شد.

مواد و روش‌ها

نگهداری حیوانات آزمایشگاهی: کارآزمایی تجربی، ۴۸ سر موش نر و ماده c57b16 با محدوده سنی ۱۴ تا ۱۶ هفته و محدوده وزنی ۳۵-۳۰ گرم از مرکز پرورش و تکثیر حیوانات پژوهشگاه رویان اصفهان تهیه گردید و پس از انتقال به آزمایشگاه تخصصی فیزیولوژی ورزشی این واحد دانشگاهی، به مدت یک هفته جهت سازگاری در این محیط نگهداری شدند. نکته قابل توجه این که در تمام دوره تحقیق حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته، دمای محیط ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همچنین، تمام اصول اخلاقی کار با حیوانات تحت نظر کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان با کد IR.IAU.KHUISF.REC.1401.386 و بر اساس معاهده Helsinki انجام گرفت.

روش القای دیابت: موش‌های c57b16 سالمند پیش‌دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دز ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استرپتوزوتوسین (Streptozotocin یا STZ) حل شده در بافر سیترات قرار گرفتند. همچنین، موش‌های c57b16 سالمند دیابتی در حالت ۱۲ ساعت ناشتا تحت تزریق صفاقی تک دز ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم STZ حل شده در بافر سیترات قرار گرفتند و چهار روز پس از تزریق، گلوکز خون موش‌های صحرایی با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری گردید. در تحقیق حاضر، موش‌های صحرایی با گلوکز خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان موش‌های دیابتی شناخته خواهند شد (۱۸). لازم به ذکر است که ۳ سر موش صحرایی پس از القای دیابت به دلیل واکنش فردی به STZ تلف شدند و در نهایت، ۴۵ سر موش صحرایی وارد گروه‌های مورد بررسی شدند. در ادامه، ۴۵ سر موش

پروتئوزوم (Proteasome)، لیروزوم (Lysosome)، اتوفازی (Autophagy) و کاسپاز ۳ (Caspase3) مسؤول تخریب پروتئین در عضلات هستند و به این ترتیب به آتروفی عضلانی کمک می‌کنند (۷). در عضله سالم، تخریب پروتئین‌های آسیب‌دیده برای حفظ هموستاز سلولی حیاتی است. با این حال، افزایش فعالیت این مسیرها در شرایط آتروفی مانند عدم تحرک یا دیابت، باعث افزایش میزان تخریب پروتئین‌های انقباضی و در نهایت، آتروفی عضلانی می‌شود (۸). عوامل مختلفی که به طور کلی آتروژن‌ها نامیده می‌شود، در آتروفی عضلانی دخیل هستند.

Muscle RING-finger protein-1 (MuRF1) یکی از این آتروژن‌ها و جزء کلیدی سیستم یوبی‌کوئیتین- پروتئوزوم است که توسط عوامل رونویسی مربوط به آتروفی Foxo (Forkhead box transcription factors) فعال می‌شود (۹). فعال شدن MuRF1 ممکن است یک اختلال اولیه در بعضی از شرایط آتروفیک باشد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که دیابت باعث افزایش بیان ژن mRNAMuRF1 در موش‌های دیابتی می‌شود (۱۰). از طرف دیگر، مشخص شده که عضله اسکلتی بافتی متشکل از سلول‌های چند هسته‌ای است و استقرار نادرست هسته‌های عضلانی به عنوان اصلی‌ترین عامل تشخیص بیماری‌های عضلانی معرفی شده است (۱۱). از سوی دیگر، اتصال انسولین به گیرنده سطح سلولی، سبب افزایش به کارگیری سوبسترای گیرنده انسولین-1 (Insulin receptor substrate 1 یا IRS-1)، تولید فسفاتیدیل اینوزیتول تری فسفات سه (ptdInsP³) از طریق فعال‌سازی Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) و به کارگیری و فعال‌سازی AKT (Protein kinase B) یا PKB در غشای پلاسمایی می‌شود. زمانی که مسیر AKT غیر فعال می‌شود، منجر به آتروفی عضلانی از طریق فعال شدن فاکتوری به نام Foxo می‌شود (۱۲). غیر فعال شدن مسیر IGF-1-PI3K-AKT با افزایش سطوح یوبی‌کوئیتین- پروتئوزوم لیگاز E3، MAFbx و MuRF1 در ارتباط است (۱۳). به نظر می‌رسد که AKT به طور مستقیم بر Foxo عمل می‌کند. هنگامی که محرک رشدی وجود دارد، AKT فاکتور آتروفی یعنی Foxo را فسفریله می‌کند، Foxo فسفریله شده در سیتوزول باقی می‌ماند، اما زمانی که محرک رشدی برداشته شود، AKT غیر فعال و منجر به دفسفریله شدن Foxo می‌شود و اجازه می‌دهد که Foxo از سیتوزول به هسته جابه‌جا شود و ژن‌های درگیر در مهار سیکل سلولی متابولیسم و مرگ سلولی را فعال کند. در مدل‌های حیوانی بیش‌فعالی، Foxo سبب کاهش حجم عضلانی می‌گردد و به نظر می‌رسد با افزایش MAFbx و MuRF1 در ارتباط باشد (۱۴).

در تحقیق آزمودنی‌های مسن ۱۲ هفته تمرین هوازی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که بعد از تمرین، میزان سلولی Foxo3 تغییر کرد و میزان mRNAFoxo3 بعد از تمرین کاهش یافت (۱۵). در سال‌های اخیر، تمرینات ورزشی به عنوان یک مداخله ورزشی مؤثر شناخته شده است که می‌تواند منافع مشابه و بیشتری با شدت‌های متفاوت به همراه داشته باشد. همچنین، به عنوان محرکی قوی برای سازگاری‌های عصبی- عضلانی محسوب می‌شود. از سوی دیگر، شواهد حاصل از پژوهش‌های اخیر، استفاده از تمرینات تناوبی شدید (High intensity interval training یا HIIT) را برای بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مورد حمایت قرار داده است (۱۶). HIIT شامل تناوب‌های فعالیت ورزشی با شدت بسیار زیاد و وهله‌های استراحتی فعال با شدت خیلی کم می‌باشد. این نوع تمرینات، نیازهای متابولیکی عضلات و بدن را به طور

chain reaction (Real-time PCR) استفاده شد (۱). بدین منظور، ابتدا ۵۰ میلی‌گرم بافت از عضله جدا شد. استخراج RNA از بافت‌ها در همه گروه‌های مورد بررسی، طبق پروتکل شرکت سازنده (Qiagen، آلمان) انجام گرفت. برای اطمینان از کیفیت RNA، با استفاده از ژل آگارز الکتروفورز و با استفاده از خاصیت جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر با دستگاه پیکو دراپ (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) استفاده شد. علاوه بر این، به منظور بررسی کیفیت RNA، از فرمول ($A_{260} \times \epsilon \times d / 1000 = C (\mu g/\mu l)$) استفاده گردید. در ادامه، پس از سنتز cDNA با استفاده از پروتکل شرکت سازنده در کیت فرمنتاز (K1621) و با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۲) بر اساس راهنمای ژن‌های MuRF1 و FOXO3 در سایت PubMed (به نشانی <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) واکنش رونویسی معکوس انجام شد. جهت تعیین کارایی و اختصاصی بودن پرایمرها، از پیش‌پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار موجود در سایت PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ارزیابی گردید. همچنین، به منظور اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی متغیرهای تحقیق، از ژن کنترل داخلی TBP استفاده شد و پس از اطمینان از اتمام کار دستگاه Real-time PCR و پس از رسیدن نمونه‌ها به آستانه بیان (Cycle Threshold)، جهت کمی‌سازی نسبت ژن مورد نظر به ژن مرجع، از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده گردید.

جدول ۱. برنامه تمرینات تناوبی هوازی

هفته	سرعت (متر در دقیقه)	مدت زمان (دقیقه)	تعداد روز
سازگاری	۷-۱۰	۱۰	۵
اول	۷، ۱۰، ۱۳، ۱۵، ۱۷	۱۰، ۳، ۱۹، ۳، ۱۰	۵
دوم	۷، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۳، ۱۰، ۷	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
سوم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۱۶، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
چهارم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۸، ۱۶، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
پنجم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۱۶، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
ششم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۲۰، ۱۶، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۳، ۳، ۳، ۵	۵
هفتم	۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۰، ۳، ۳، ۵	۵
هشتم	۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۵، ۱۶، ۱۳، ۱۰	۵، ۳، ۳، ۲۰، ۳، ۳، ۵	۵

روش اندازه‌گیری انسولین و گلوکز سرمی: میزان غلظت گلوکز با استفاده از دستگاه گلوکومتر (Alpha TRAK، Zoetis، آمریکا) و میزان غلظت انسولین (ab277390) به روش Enzyme-linked immune-sorbent assay (ELISA) (Abcam) به وسیله کیت اندازه‌گیری شد.

صحرائی مبتلا به دیابت به طور تصادفی به گروه‌های پیش‌دیابتی، پیش‌دیابتی + تمرین هوازی، پیش‌دیابتی + کروسستین، پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین، دیابتی، دیابتی + تمرین هوازی، دیابتی + کروسستین، دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین تقسیم شدند. جهت بررسی اثر القای پیش‌دیابت و دیابت، ۵ سر موش صحرائی سالم در گروه شاهد سالم قرار گرفتند (۱۵).

پروتکل تمرین تناوبی هوازی: گروه‌های تمرین پس از یک هفته آشناسازی با نوار گردان با سرعت ۷ تا ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، برای اندازه‌گیری حداکثر سرعت دویدن برای طراحی تمرین یک آزمون وامانده‌ساز انجام دادند. برای به دست آوردن حداکثر سرعت دویدن موش‌های صحرائی، ابتدا به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر بر دقیقه گرم کردند و در ادامه، به ازای هر سه دقیقه، یک متر بر دقیقه به سرعت آن‌ها افزوده شد تا به واماندگی برسند. واماندگی به حالتی اطلاق می‌گردد که موش صحرائی دیگر قادر به دویدن بر نوار گردان نباشد و یا در یک دقیقه سه بار متوالی به انتهای نوار گردان برخورد نماید. هفته اول سازگاری تمرینی با سرعت ۷ تا ۱۰ متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه اجرا شد. سپس جهت انجام تمرینات تناوبی هوازی شامل دویدن با تناوب سرعت متفاوت ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۰، ۷ و سرعت اول و سرعت در هفته هشتم ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۱۳، ۱۰، ۷ روی تردمیل بود. سرعت در طول تناوبی هوازی به تدریج از ۷ به ۲۵ متر در دقیقه طی ۸ هفته افزایش یافت. تمرینات تناوبی هوازی برای هشت هفته به مدت پنج جلسه در هفته انجام شد و ۵ دقیقه در ابتدای تمرین برای گرم کردن و ۵ دقیقه در انتهای تمرین برای سرد کردن در نظر گرفته شد. شدت تمرین برای گرم کردن و سرد کردن معادل ۵۰ درصد حداکثر سرعت دویدن در نظر گرفته شد (جدول ۱) (۱۹).

مصرف کروسستین: مکمل کروسستین (شماره محصول: ۲۵۵-۸۸۱-۶ (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) خریداری شد و روزانه ۳۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم به ازای وزن هر موش به صورت گاوژ خورنده شد (۲۰).

تشریح و نمونه‌برداری: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌های مورد بررسی در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. پس از بیهوشی کامل (به طوری که موش به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، حدود ۵ میلی‌گرم از بافت عضله سولئوس در شرایط استریل خارج و پس از شستشو، در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater™ با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردید و با برچسب متناسب با بافت موش و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شد.

روش اندازه‌گیری مقادیر بیان ژنی MuRF1 و FOXO3: جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژنی MuRF1 و FOXO3، از روش Real-time polymerase

جدول ۲. توالی پرایمر متغیرهای تحقیق

نام ژن	توالی پرایمر	دما (درجه سانتی‌گراد)
B2m	F: ACAGTTCCACCCGCCTCACATT R: TAGAAAGACCACTCCTTGCTGAAG	۶۰
MURF1	F: TACCAAGCCTGTGGTCATCCTG R: ACGGAAACGACCTCCAGACATG	۵۳
FOXO3	F: CCTACTTCAAGGATAAGGGCGAC R: GCCTTCATTCTGAACGCGCATG	۵۸

گروه‌های پیش‌دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، پیش‌دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه پیش‌دیابتی کاهش معنی‌داری مشاهده گردید. همچنین، مقادیر MuRF1 در گروه‌های دیابتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه سالم نشان داد ($P = 0.01$)، اما در گروه‌های دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴).

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که القای دیابت از طریق استرپتوزوتوریز، با آتروفی عضلانی و افزایش بیان MuRF1 همراه است. همچنین، هشت هفته تمرین تناوبی با و بدون مصرف کروسستین، می‌تواند موجب کاهش بیان MuRF1 و کاهش آتروفی در موش‌های دیابتی شود که این یافته‌ها با نتایج مطالعات پناهی و همکاران (۲۱)، Chang و Liu (۲۲)، Ribeiro و همکاران (۲۳) و مرادی و همکاران (۲۴) همخوانی داشت.

در رابطه با اثر تمرین بر بیان MuRF1، تحقیقات کمی صورت گرفته است و نتایج ساز و کارهای متفاوتی بیان کرده‌اند. در همین راستا، پناهی و همکاران دریافتند که چهار هفته تمرین مقاومتی، بیان ژن MuRF1 در موش‌های صحرایی ویستار دیابتی را کاهش می‌دهد (۲۱). Liu و Chang نیز در پژوهش خود نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، موجب کاهش MuRF1 در موش‌های دیابتی نوع دو شد (۲۲). تخریب پانکراس ایجاد شده ناشی از تزریق STZ در جوندگان و افزایش بیان MuRF1 در آتروفی عضله اسکلتی، یک نقش احتمالی برای MuRF1 در آتروفی عضله اسکلتی ناشی از دیابت ایجاد می‌کند (۲۱).

مطالعات متعددی تلاش کرده‌اند که مکانیسم‌های مؤثر در افزایش بیان MuRF1 در عضله دیابتی شده را کشف کنند. بیان این ژن توسط دو عامل رونویسی Foxo و Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) تنظیم می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که افزایش در فعالیت NF- κ B برای افزایش ناشی از IkappaB kinase (IKKB) در رونویسی MuRF1 ضروری است و حداقل ۵۰ درصد تغییرات توده عضلانی ناشی از فعال شدن MuRF1 به فعال شدن NF- κ B نسبت داده شده است (۲۵).

به منظور اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون Shapiro-Wilk جهت همگن بودن واریانس، از آزمون‌های تعقیبی Tukey، Levene و One-way ANOVA استفاده شد. در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون One-way ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر گلوکز ($P = 0.01$) و انسولین ($P = 0.01$) و بیان ژن‌های MuRF1 ($P = 0.01$) و Foxo3 ($P = 0.01$) در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت در گروه‌های مورد بررسی وجود داشت. همچنین، نتایج آزمون تعقیبی Tukey حاکی از آن بود که مقادیر گلوکز و انسولین در گروه‌های پیش‌دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت ($P = 0.01$)، اما در گروه‌های پیش‌دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، پیش‌دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه پیش‌دیابتی کاهش معنی‌داری در این مقادیر مشاهده شد. همچنین، مقادیر گلوکز و انسولین در گروه‌های دیابتی ($P = 0.01$) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت، اما در گروه‌های دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳).

نتایج آزمون تعقیبی Tukey نشان داد که مقادیر MuRF1 در گروه‌های پیش‌دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت ($P = 0.01$)، اما در گروه‌های پیش‌دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، پیش‌دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه پیش‌دیابتی کاهش معنی‌داری در این مقادیر مشاهده شد. همچنین، مقادیر MuRF1 در گروه‌های دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت ($P = 0.01$)، اما در گروه‌های دیابتی + تمرین هوازی ($P = 0.01$)، دیابتی + کروسستین ($P = 0.01$) و دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین ($P = 0.01$) نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴).

بر اساس نتایج آزمون تعقیبی Tukey، مقادیر Foxo3 در گروه‌های پیش‌دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه سالم داشت ($P = 0.01$)، اما در

جدول ۳. میانگین گلوکز و انسولین در گروه‌های مورد بررسی

گروه	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	انسولین (واحد بین‌الملل در میلی لیتر)	مقدار P
سالم	95.4 ± 4.1	0.59 ± 0.09	< 0.01
پیش‌دیابتی	142.2 ± 2.5	1.70 ± 0.02	< 0.01
پیش‌دیابتی + تمرین هوازی	117.2 ± 3.5	1.20 ± 0.04	< 0.01
پیش‌دیابتی + کروسستین	111.0 ± 1.4	1.14 ± 0.04	< 0.01
پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین	98.5 ± 0.7	0.84 ± 0.25	< 0.01
دیابتی	310.2 ± 10.0	5.20 ± 0.12	< 0.01
دیابتی + تمرین هوازی	290.0 ± 0.2	4.10 ± 0.05	< 0.01
دیابتی + کروسستین	281.5 ± 2.1	3.80 ± 0.04	< 0.01
دیابتی + تمرین هوازی + کروسستین	246.6 ± 1.6	2.80 ± 0.11	< 0.01

*معنی‌داری گروه‌ها با گروه شاهد در سطح 0.05 داده‌ها بر اساس میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

جدول ۴. میانگین Foxo3 و Murf1 در گروه‌های مورد بررسی

گروه	بیان ژن Foxo3 (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مقدار P	بیان ژن Murf1 (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	مقدار P
سالم	0.099 ± 0.02	< 0.01	0.098 ± 0.02	< 0.01
پیش‌دیابتی	0.074 ± 0.03	< 0.01	0.054 ± 0.03	< 0.01
پیش‌دیابتی + تمرین هوازی	0.062 ± 0.021	< 0.01	0.042 ± 0.09	< 0.01
پیش‌دیابتی + کרוستین	0.056 ± 0.012	< 0.01	0.036 ± 0.01	< 0.01
پیش‌دیابتی + تمرین هوازی + کروستین	0.047 ± 0.052	< 0.01	0.029 ± 0.04	< 0.01
دیابتی	0.114 ± 0.05	< 0.01	0.124 ± 0.011	< 0.01
دیابتی + تمرین هوازی	0.054 ± 0.015	< 0.01	0.044 ± 0.07	< 0.01
دیابتی + کروستین	0.047 ± 0.07	< 0.01	0.070 ± 0.021	< 0.01
دیابتی + تمرین هوازی + کروستین	0.027 ± 0.034	< 0.01	0.070 ± 0.034	< 0.01

* معنی‌داری گروه‌ها با گروه شاهد در سطح ۰/۰۵

در گروه دیابت نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری داشت و تغییرات بیان Foxo3 عضله در گروه‌های تمرین با و بدون کروستین به طور معنی‌داری کمتر بود. در تحقیق حاضر، Foxo3 به عنوان شاخص آتروفی و تجزیه پروتئینی بررسی شد و نتایج نشان داد که ۷ روز بی‌تحرکی، موجب افزایش ۸۲ درصدی بیان Foxo3، افزایش ۷۸ درصدی MAFbx و ۹۱ درصدی بیان Murf1 شد (۳۱) که با یافته‌های پژوهش‌های He و همکاران (۳۲) و سایر مطالعات در زمینه بی‌تحرکی بر توده عضلانی (۳۳) همسو بود. Baptista و همکاران به این نتیجه رسیدند که بعد از عصب‌برداری، سطوح بیان Foxo3 و Murf1 در تارهای عضلانی افزایش می‌یابد که با آتروفی تار همراه است. در مدل‌های حیوانی، بیش‌فعالی Foxo3 با افزایش MAFbx و Murf1، سبب کاهش حجم عضلانی می‌شود (۳۴) و به نظر می‌رسد در این‌جا نیز بیان این ژن‌ها شاخص قابل‌کفایتی از کاهش توده عضلانی باشد (۳۱). مکانیسم‌های متعددی در شرایط عدم استفاده عضلانی درگیر آتروفی عضلانی می‌باشند، اما از آن‌جا که Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) از طریق مسیر AKT-mTOR نقش مهمی در سنتز پروتئین‌های عضلات اسکلتی ایفا می‌کند، می‌توان کاهش آن را یکی از دلایل اصلی کاهش سنتز پروتئین و در ادامه، از دست دادن توده عضلانی برشمرد؛ چرا که غیر فعال شدن مسیر AKT، موجب فعال شدن Foxo می‌شود (۳۵). در جوندگان با افزایش Foxo3، میزان سوبسترای انسولین کاهش می‌یابد. غیر فعال شدن مسیر IGF-PI3K-AKT با افزایش سطوح یوبی‌کوئیتین-پروتئوزوم لیگاز E3، MAFbx و Murf1 در ارتباط است (۳۶). در تحقیق حاضر، تمرین تناوبی، باعث کاهش Foxo3 در موش‌های دیابتی سالمند شد. به نظر می‌رسد که AKT به طور مستقیم بر Foxo عمل می‌کند. زمانی که محرک رشدی وجود دارد، AKT فاکتور آتروفی یعنی Foxo را فسفریله می‌کند. Foxo فسفریله شده در سیتوزول باقی می‌ماند، اما زمانی که محرک رشدی برداشته می‌شود، AKT غیر فعال و منجر به دفسفریله شدن Foxo می‌شود و اجازه می‌دهد که Foxo از سیتوزول به هسته جابه‌جا شود و ژن‌های درگیر در مهار سیکل سلولی، متابولیسم و مرگ سلولی را فعال می‌کند (۳۳-۳۴). کروستین با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی بالای خود، شرایط استرس اکسیداتیو و التهاب را کاهش می‌دهد و با مهار آتروفی، سبب بهبود این بیماری می‌گردد. به نظر می‌رسد که مصرف هم‌زمان کروستین و تمرینات ورزشی منظم و تناوبی از طریق کاهش پراکسیداسیون چربی و فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی، از عضله در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند و باعث تعدیل آتروفی در عضله اسکلتی

از آن‌جا که فعال شدن مزمن IKK در بیماران دیابتی رخ می‌دهد و NF-kB در شرایط دیابتی به شدت فعال می‌شود، به نظر می‌رسد مسیر NF-kB یکی از مسیرهای اصلی درگیر در افزایش Murf1 ناشی از دیابت باشد. فاکتور رونویسی Foxo نیز در تحلیل عضلانی درگیر است و احتمالاً لیگازهای یونیکون لاین Murf1 را منعکس می‌کند (۲۶). التهاب سبب افزایش فعالیت MAPKp38 از طریق NF-kB می‌شود که این عوامل می‌توانند مسؤول بیان آتروژن و تجزیه پروتئین (آتروفی) باشد (۲۷). همچنین، تحقیقاتی که بر روی سلول‌های جوندگان با استفاده از تکنیک‌های دارویی و یا مهار ژن بر روی آتروفی یا هایپرآتروفی صورت گرفته است، نشان می‌دهد که تنظیم رونویسی Murf1 توسط مسیر سیگنالینگ وابسته به AKT-Foxo انجام می‌شود (۲۸، ۹). پاسخ Murf1 به فعالیت ورزشی، می‌تواند تحت تأثیر عوامل گوناگونی از جمله شدت و مدت فعالیت و یا تأثیر فعالیت‌های تکراری تغییر کند. از طرف دیگر، به نظر می‌رسد Heat shock protein-25 (Hsp25) از واسطه‌های تنظیم‌کننده مسیر آتروفی می‌باشد که نقش مهمی در مقابله با آتروفی در شرایط دیابتی دارد؛ به گونه‌ای که افزایش مقدار در اثر تمرین، سبب کاهش آتروفی و کاهش بیان Murf1 می‌گردد. بنابراین، تمرین می‌تواند راهکار مناسبی برای درمان آتروفی طی دیابت باشد. دیابت منجر به تغییر در پروتئین‌های سلولی، استرس اکسیداتیو و اختلال در سیستم دفاعی سلولی می‌شود (۲۹). به نظر می‌رسد کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین در موش‌های دیابتی در تحقیق حاضر، اثر مثبتی در تنظیم منفی بیان Murf1 در پایان دوره تمرینی داشته است. Chen و همکاران افزایش بیان Murf1 در شرایط آتروفی ناشی از دیابت را مرتبط با استرس اکسیداتیو دانستند و در سلول‌های تحت کشت تحقیق آن‌ها مشاهده شد که H2O2 بیان Murf1 و تجزیه Major histocompatibility complex (MHC) را تحریک می‌کند (۳۰). نتایج پژوهش Ribeiro و همکاران نیز نشان داد که ۱۲ هفته تمرینات مقاومتی با کاهش Murf1 در عضلات تمرین کرده موش‌های جوان و مسن همراه می‌باشد (۲۳). در شرایط دیابتی، هیپرگلیسمی مداوم به شکل معنی‌داری بالانس پرواکسیدان-آنتی‌اکسیدان را به هم می‌زند و گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species یا ROS) افزایش و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد. کاهش انسولین و افزایش استرس اکسایشی برای تجزیه پروتئین‌ها و آتروفی عضلانی ضروری به نظر می‌رسد (۲۹، ۲۳). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغییرات بیان ژن Foxo3 عضله اسکلتی

موش‌های دیابتی سالمند می‌شود (۳۷).

محدودیت‌ها

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری سایر شاخص‌های مرتبط با آتروفی عضله اسکلتی و استفاده از روش‌های اندازه‌گیری Western blot اشاره کرد.

پیشنهادها

به منظور تکمیل پژوهش، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده آثار این دو مداخله بر بافت‌های دیگر موش همچون بافت‌های قلب، مغز و کبد بررسی گردد. با توجه به این که نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین تناوبی هوازی و کروسستین، موجب تعدیل آتروفی عضلانی در موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی سالمند می‌شود، پیشنهاد می‌گردد جهت بهبود آتروفی عضلانی، از تمرین هوازی و مصرف کروسستین هم به تنهایی و هم به طور هم‌زمان استفاده شود.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تجویز مکمل کروسستین و تمرین تناوبی هوازی به مدت هشت هفته، میزان آتروفی عضلانی در موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی را کاهش داد. علاوه بر این، تجویز هم‌زمان تمرین تناوبی هوازی و کروسستین، بیشترین تأثیر را در کاهش آتروفی عضلانی داشت. از این‌رو، به نظر می‌رسد تمرین تناوبی هوازی و مکمل کروسستین به طور جداگانه و از مسیرهای متفاوت، منجر به تعدیل آتروفی عضلانی می‌شود. در مجموع، مکمل کروسستین با خواص آنتی‌اکسیدانی همراه با تمرین تناوبی هوازی، آتروفی عضلانی در موش‌های پیش‌دیابتی و دیابتی را کاهش داد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از رساله مقطع دکتری تخصصی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1401.386 مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) می‌باشد. بدین وسیله از همه عزیزانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نقش نویسندگان

طراحی و ایده‌پردازی مطالعه: خسرو جلالی دهکردی، پرویز احسانی کلهر، فرزانه تقیان

جذب منابع مالی برای انجام مطالعه: پرویز احسانی کلهر
خدمات پشتیبانی و اجرایی و علمی مطالعه: خسرو جلالی دهکردی، پرویز احسانی کلهر، فرزانه تقیان، مهدی کارگرفرد، سید علی حسینی
فراهم کردن تجهیزات و نمونه‌های مطالعه: خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، محسن اکبرپور، پرویز احسانی کلهر

جمع‌آوری داده‌ها: پرویز احسانی کلهر
تحلیل و تفسیر نتایج: خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، سید علی حسینی، پرویز احسانی کلهر

خدمات تخصصی آمار: خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، پرویز احسانی کلهر
تنظیم دست‌نویست: پرویز احسانی کلهر، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، مهدی کارگرفرد، سید علی حسینی

ارزیابی تخصصی دست‌نویست از نظر مفاهیم علمی: پرویز احسانی کلهر، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، مهدی کارگرفرد، سید علی حسینی
تأیید دست‌نویست نهایی جهت ارسال به دفتر مجله: پرویز احسانی کلهر، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، مهدی کارگرفرد، سید علی حسینی
مسئولیت حفظ یکپارچگی فرایند انجام مطالعه از آغاز تا انتشار و پاسخگویی به نظرات داوران: پرویز احسانی کلهر، خسرو جلالی دهکردی، فرزانه تقیان، مهدی کارگرفرد، سید علی حسینی

منابع مالی

پژوهش حاضر برگرفته از رساله مقطع دکتری تخصصی با کد اخلاق IR.IAU.KHUISF.REC.1401.386 مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) می‌باشد و بدون حمایت مالی انجام گردید.

تعارض منافع

نویسندگان دارای تعارض منافع نمی‌باشند.

References

- Rahmati M, Taherabadi SJ. The effects of exercise training on Kinesin and GAP-43 expression in skeletal muscle fibers of STZ-induced diabetic rats. Scientific reports. 2021; 11(1): 9535.
- Zolfaghari M, Faramarzi M, Hedayati M, Ghaffari M. The effect of resistance and endurance training with ursolic acid on atrophy-related biomarkers in muscle tissue of diabetic male rats induced by streptozotocin and a high-fat diet. Journal of Food Biochemistry. 2022; 46(8): e14202.
- Catinelli BB, Rossignoli PS, Floriano JF, Carr AM, de Oliveira RG, Dos Santos NJ et al. Reversal of diabetic-induced myopathy by swimming exercise in pregnant rats: a translational intervention study. Scientific Reports. 2022; 12(1): 7375.
- Akagawa M, Miyakoshi N, Kasukawa Y, Ono Y, Yuasa Y, Nagahata I, Sato C, Tsuchie H, Nagasawa H, Hongo M, Shimada Y. Effects of activated vitamin D, alfacalcidol, and low-intensity aerobic exercise on osteopenia and muscle atrophy in type 2 diabetes mellitus model rats. PLoS One. 2018; 13(10): e020485
- Ebert SM, Al-Zougbi A, Bodine SC, Adams CM. Skeletal muscle atrophy: discovery of mechanisms and potential therapies. Physiology. 2019; 34(4): 232-9.
- Lee JH, Jeon JH, Lee MJ. Docosahexaenoic acid, a potential treatment for sarcopenia, modulates the ubiquitin-proteasome and the autophagy-lysosome systems. Nutrients. 2020; 12(9): 2597.
- Powers SK, Goldstein E, Schrager M, Ji LL. Exercise training and skeletal muscle antioxidant enzymes: An update.

- Antioxidants. 2022; 12(1): 39.
8. Singh A, Yadav A, Phogat J, Dabur R. Dynamics and Interplay between Autophagy and Ubiquitin-proteasome system Coordination in Skeletal Muscle Atrophy. *Current Molecular Pharmacology*. 2022; 15(3): 475-86.
9. Madahi M, Gharakhanlou R, Kazemi A, Azarbayjani MA. Effect of reduced physical activity on Murf-1 and Atrogin-1 gene expression in soleus muscle of wistar rats following endurance, resistance and combined training. *The Scientific Journal of Rehabilitation Medicine*. 2022; 11(2): 250-63.
10. Perry BD, Caldwell MK, Brennan-Speranza TC, Sbaraglia M, Jerums G, Garnham, A, et al. Muscle atrophy in patients with Type 2 diabetes mellitus: roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. *Exercise Immunology Review*. 2016; 22, 94-109.
11. Schulman VK, Folker ES, Rosen JN, Baylies MK. Syd/JIP3 and JNK signaling are required for myonuclear positioning and muscle function. *PLoS genetics*. 2014 Dec 18; 10(12): e1004880.
12. Ebert SM, Al-Zougbi A, Bodine SC, Adams CM. Skeletal muscle atrophy: discovery of mechanisms and potential therapies. *Physiology*. 2019; 34(4): 232-9.
13. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014; 307(6): E469-E84
14. Zeng Z, Liang J, Wu L, Zhang H, Lv J, Chen N. Exercise-induced autophagy suppresses sarcopenia through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a signal pathways and AMPK-mediated mitochondrial quality control. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11: 583478
15. Catinelli BB, Rossignoli PS, Floriano JF, Carr AM, de Oliveira RG, Dos Santos NJ, Úbeda LC, Spadella MA, Hallur RL, Sobrevia L, Felisbino SL. Reversal of diabetic-induced myopathy by swimming exercise in pregnant rats: a translational intervention study. *Scientific Reports*. 2022; 12(1): 7375.
16. Way KL, Sabag A, Sultana RN, Baker MK, Keating SE, Lanting S, Gerofi J, Chuter VH, Caterson ID, Twigg SM, Johnson NA. The effect of low-volume high-intensity interval training on cardiovascular health outcomes in type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *International journal of cardiology*. 2020; 320: 148-54.
17. Su X, Yuan C, Wang L, Chen R, Li X, Zhang Y, et al. The beneficial effects of saffron extract on potential oxidative stress in cardiovascular diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2021; 19: 1-14.
18. Hasanazadeh Dolatabadi F, Jalali Dehkordi KH, Taghian F, Hoseini SA. The effect of eight weeks of aerobic training with Propolis on some mitochondrial biogenesis markers in cardiac tissue of ovariectomized diabetic rats. *Armaghane Danesh*. 2022; 27(2): 155-69
19. Haghparast Azad M, Niktab I, Dastjerdi S, Abedpoor N, Rahimi G, Safaeinejad Z, et al. The combination of endurance exercise and SGTC (Salvia-Ginseng-Trigonella-Cinnamon) ameliorate mitochondrial markers' overexpression with sufficient ATP production in the skeletal muscle of mice fed AGEs-rich high-fat diet. *Nutrition & metabolism*. 2022; 19(1): 17.
20. Zhang J, Wang Y, Dong X, Liu J. Crocetin attenuates inflammation and amyloid- β accumulation in APPsw transgenic mice. *Immunity & Ageing*. 2018; 15(1): 1-8.
21. Panahi S, Agha-Alinejad H, Gharakhanloo R, Fayazmilani R, Hedayati M, Safarzadeh A, Zarkesh M. 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*. 2016 Jun 12; 38(2): 6-13. [In Persian]
22. Liu HW, Chang SJ. Moderate exercise suppresses NF- κ B signaling and activates the SIRT1-AMPK-PGC1 α Axis to attenuate muscle loss in diabetic db/db mice. *Frontiers in physiology*. 2018; 9: 636.
23. 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. *Scientific Report*. 2017; 7(1): 8593
24. Moradi Y, Zehsaz F, Nourazar MA. Concurrent exercise training and Murf-1 and Atrogin-1 gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats. *Apunts Sports Medicine*. 2020 Jan 1; 55(205): 21-7.
25. Zhang J, Zheng J, Chen H, Li X, Ye C, Zhang F, Zhang Z, Yao Q, Guo Y. Curcumin targeting NF- κ B/ubiquitin-proteasome-system axis ameliorates muscle atrophy in triple-negative breast cancer cachexia mice. *Mediators of Inflammation*. 2022; 2022(1): 2567150.
26. Li Y, Zhang F, Modrak S, Little A, Zhang H. Chronic alcohol consumption enhances skeletal muscle wasting in mice bearing cachectic cancers: the role of TNF α /myostatin axis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2020; 44(1): 66-77.
27. Odeh M, Tamir-Livne Y, Haas T, Bengal E. P38 α MAPK coordinates the activities of several metabolic pathways that together induce atrophy of denervated muscles. *The FEBS Journal*. 2020; 287(1): 73-93.
28. Musi CA, Agrò G, Santarella F, Iervasi E, Borsello T. JNK3 as therapeutic target and biomarker in neurodegenerative and neurodevelopmental brain diseases. *Cells*. 2020; 28; 9(10): 2190.
29. Shabani M, Valipour-Dehno V, Tabandeh MR, Molanouri-Shamsi M. The effect of aerobic endurance exercise on changes in heat shock protein 60 and insulin resistance in mice with type 2 diabetes. *Feyz Medical Sciences Journal*. 2022; 26(3): 273-81.
30. 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 Sciences*. 2011; 89(1-2): 44-9.
31. Wong S, Bhasin S, Serra C, Yu Y, Deng L, Guo W. Lopinavir/Ritonavir impairs physical strength in association with reduced Igf1 expression in skeletal muscle of older mice. *Journal of AIDS & clinical research*. 2013; 4: 216
32. He W, Wang P, Chen Q, Li C. Exercise enhances mitochondrial fission and mitophagy to improve myopathy following

- critical limb ischemia in elderly mice via the PGC1a/FNDC5/irisin pathway. *Skeletal muscle*. 2020; 10(1): 25.
33. Sandri M. Protein breakdown in cancer cachexia. In *Seminars in cell & developmental biology*; 2016 (54, pp. 11-19). Academic Press.
 34. Baptista IL, Leal ML, Artioli GG, Aoki MS, Fiamoncini J, Turri AO, et al. Leucine attenuates skeletal muscle wasting via inhibition of ubiquitin ligases. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*. 2010; 41(6): 800-8
 35. Reddy SS, Shruthi K, Joy D, Reddy GB. 4-PBA prevents diabetic muscle atrophy in rats by modulating ER stress response and ubiquitin-proteasome system. *Chemico-biological interactions*. 2019; 306: 70-7.
 36. Islam H, Hood DA, Gurd BJ. Looking beyond PGC-1 α : emerging regulators of exercise-induced skeletal muscle mitochondrial biogenesis and their activation by dietary compounds. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2020; 45(1): 11-23.
 37. Cerdá-Bernad D, Valero-Cases E, Pastor JJ, Frutos MJ. Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: Effect on oxidative stress and mechanisms of action. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022; 62(12): 3232-49.

Modulation of Muscle Atrophy in Elderly Prediabetic and Diabetic Rats through Interval Aerobic Exercise and Crocetin Extract: An Experimental Study

Parviz Ehsani-Kalhor¹, Khosro Jalali-Dehkordi², Farzaneh Taghian², Mehdi Kargarfad³,
Seyed Ali Hoseyni⁴

Original Article

Abstract

Introduction: MuRF1 and Foxo3 genes are important molecular markers of muscle atrophy and are significantly increased in skeletal muscle under various conditions, such as diabetes. The aim of the present study was to evaluate the modulation of muscle atrophy in elderly prediabetic and diabetic rats through interval aerobic training and crocetin extract.

Materials and Methods: In this experimental study, 45 elderly male and female c57bl6 mice with diabetes [40 mg/kg peritoneal injection of streptozotocin (STZ)] aged 14-16 weeks and weighing 30-35 grams were randomly divided into 9 healthy control, pre-diabetic, pre-diabetic + aerobic exercise, pre-diabetic + crocetin, pre-diabetic + aerobic exercise + crocetin, diabetic, diabetic + aerobic exercise, diabetic + crocetin, and diabetic + aerobic exercise + crocetin groups. Interval aerobic training was performed for eight weeks, five sessions per week. Mice received crocetin 30 mg/kg/day by peritoneal injection. MuRF1 and Foxo3 expression levels were measured by the real-time polymerase chain reaction (PCR). To analyze the data, one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test were used ($P \leq 0.05$).

Results: MuRF1 and Foxo3 gene expression in the skeletal muscle of the diabetes group was significantly higher than that of the control group ($P = 0.01$). The gene expression levels of MuRF1 and Foxo3 in the pre-diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement and the diabetes group + aerobic exercise + crocetin supplement were significantly lower than those of other groups ($P = 0.01$). Insulin and glucose levels were significantly lower in the pre-diabetic and diabetic groups receiving aerobic exercise and a crocetin supplement than in other groups ($P = 0.01$).

Conclusion: It seems that interval aerobic training and crocetin, alone or synergistically, can help reduce atrophy in elderly people with prediabetes and diabetes by downregulating MuRF1 and Foxo3 in skeletal muscles.

Keywords: Aerobic exercise; Crocetin; Atrophy; Heart; Elderly; Pre-diabetes; Diabetes

Citation: Ehsani-Kalhor P, Jalali-Dehkordi K, Taghian F, Kargarfad M, Hoseyni SA. **Modulation of Muscle Atrophy in Elderly Prediabetic and Diabetic Rats through Interval Aerobic Exercise and Crocetin Extract: An Experimental Study.** J Res Rehabil Sci 2022; 18.

Received date: 02.03.2022

Accept date: 02.06.2022

Published: 06.03.2023

1- PhD Student, School of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, School of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

3- Professor, Department of Physiology, School of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Exercise Physiology, Marodasht Branch, Islamic Azad University, Marodasht, Iran

Corresponding Author: Khosro Jalali-Dehkordi; Associate Professor, School of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran; Email: khosrojilali@khuif.ac.ir