

Original Article

Effects of intermittent cycles of ischemia with resistance and endurance training on Murf-1 and Atrogin-1 gene expression and fiber diameter of gastrocnemius muscle in diabetic rats

Majid Zatparvar[✉], Amin Farzaneh Hesari^{*}, Parvin Farzanegi[✉]

Department of Exercise Physiology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran

Abstract

Background and Purpose: Muscular atrophy is one of the most common complications of diabetes. Exercise training has been suggested as one of the treatment strategies for muscular atrophy in diabetes. Intermittent cycles of ischemia (ICI) protects tissues from subsequent ischemic injury. However, whether ICI has beneficial effects on diabetic atrophy remains unknown. The present study aimed to investigate the synergistic effect of ICI with resistance and endurance training on Murf-1 and Atrogin-1 gene expression and fiber diameter of the gastrocnemius muscle in diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental research, 42 wistar rats (age, 8 weeks; weight, 228.31±12.1 gr) were randomly divided into seven groups of normal control (C), diabetic (D), diabetic ischemic (I), diabetic resistance training (R), diabetic endurance training (E), diabetes ischemic+resistance training (IR), diabetes ischemic+endurance training (IE). Diabetes was induced by one-step intraperitoneal injection of STZ (50 mg/kg). ICI was conducted by tightening a tourniquet (with a width of 8 mm) around the upper thighs 20 min before exercise and included three 5-min cycles of ischemia, followed by 5 min reperfusion. The training groups performed exercise training for six weeks, five days a week. Resistance training included climbing a ladder by attaching a weight to rats' tails at 60% of maximum voluntary carrying capacity (14 repetitions with one minute rest between repetitions). Endurance training involved running on a treadmill. The treadmill speed for the first week was set at 9 meters per minute for 15 minutes. By the sixth week, the training speed was increased to 18 meters per minute for 30 min. Murf-1 and atrogin-1 gene expression were measured by RT-PCR and the diameter of fibers of gastrocnemius muscle through the staining with hematoxylin and eosin methods. Data were analyzed by using two-way analysis of variance and Bonferroni's post-hoc tests.

Results: Murf-1 and Atrogin-1 gene expression significantly increased and fiber diameter of gastrocnemius muscle decreased in D group compared to C group ($p=0.0001$). Murf-1 and atrogin-1 gene expression decreased significantly in R ($p=0.0001$, $p=0.0001$), E ($p=0.0001$, $p=0.0003$), IR ($p=0.0001$, $p=0.0001$) and IE ($p=0.0001$, $p=0.0001$) compared to the C group. In addition, muscle fiber diameter increased significantly in R ($p=0.034$), E ($p=0.007$), IR ($p=0.0003$) and IE ($p=0.0003$) compared to the C.

* Corresponding Author's E-mail: a.farzaneh@iau.ir

<https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.235584.1250>

Received: 11/05/2024

Revised: 08/07/2024

Accepted: 09/07/2024



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Conclusion: Based on decreases in Murf-1 and Atrogin-1 gene expression and increases in muscle fiber diameter. It could be concluded that aerobic and resistance exercise with intermittent cycles of ischemia are more effective than any of the exercise interventions alone in preventing muscular atrophy in diabetic rats.

Keywords: Exercise training, Muscular Atrophy, Hyperglycemia, Ischemia

How to cite this article: Zatparvar M, Frzaneh Hesari A, Farzanegi P. Effects of intermittent cycles of ischemia with resistance and endurance training on Murf-1 and Atrogin-1 gene expression and fiber diameter of gastrocnemius muscle in diabetic rats. *J Sport Exerc Physiol.* 2024; 17(2):80-94

اثر چرخه‌های متناوب ایسکمی با تمرین مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ و قطر تار عضله دوقلو در موش‌های صحرایی دیابتی

مجید ذات‌پرور^۱، امین فرزانه حساری^{۲*}، پروین فرزانه‌گی^۳

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده انسانی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

چکیده

زمینه و هدف: آتروفی عضلانی از مشکلات شایع در دیابت است. تمرین ورزشی به‌منزله یکی از روش‌های درمانی آتروفی عضلانی در دیابت پیشنهاد شده است. چرخه‌های متناوب ایسکمی از بافت‌ها در برابر آسیب ایسکمی متعاقب محافظت می‌کند. با این همه، اثر چرخه‌های متناوب ایسکمی بر آتروفی ناشی از دیابت به‌روشنی مشخص نیست. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر هم‌افزایی چرخه‌های متناوب ایسکمی با تمرین مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ و قطر تار عضله دوقلو موش‌های دیابتی انجام گرفت. **مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، ۴۲ موش صحرایی ویستار به‌صورت تصادفی به هفت گروه کنترل سالم، دیابتی، دیابتی ایسکمی، دیابتی تمرین مقاومتی، دیابتی تمرین استقامتی، دیابتی تمرین مقاومتی + ایسکمی، دیابتی تمرین استقامتی + ایسکمی تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق یک‌مرحله‌ای STZ (با دوز ۵۰ mg/kg) به‌صورت درون‌صفاقی صورت گرفت. چرخه‌های متناوب ایسکمی با بستن تورنیکت (با عرض هشت میلی‌متر) به بالای ران‌های موش و ۲۰ دقیقه پیش از فعالیت اعمال شد، و شامل سه دور پنج‌دقیقه‌ای ایسکمی و پنج دقیقه رپرفیوژن متعاقب بود. گروه‌های تمرین به مدت شش هفته و پنج روز در هفته تمرین کردند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان با وزنه متصل به دم موش برابر با ۶۰ درصد حداکثر ظرفیت حمل ارادی (۱۴ تکرار، یک دقیقه استراحت بین تکرارها) بود. تمرین استقامتی شامل دویدن روی نوار گردان حیوانات با سرعت ۹ متر در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول بود که در هفته ششم به ۱۸ متر در دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه رسید. بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ با روش real-time PCR و قطر تار عضله دوقلو با عکس‌برداری هماتوکسین ائوزین اندازه‌گیری شد. از روش آماری واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی استفاده شد. **نتایج:** بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ افزایش و قطر تار عضله دوقلو کاهش معناداری در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم داشت ($P=0/0001$). بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ کاهش معناداری در گروه تمرین مقاومتی ($P=0/0001$), ($P=0/0001$), استقامتی ($P=0/0001$, $P=0/0003$), تمرین مقاومتی + ایسکمی ($P=0/0001$, $P=0/0001$) و تمرین استقامتی + ایسکمی ($P=0/0001$, $P=0/0003$) نسبت به گروه دیابت داشت. افزایش معناداری در گروه تمرین مقاومتی ($P=0/0034$), استقامتی ($P=0/0034$), تمرین مقاومتی + ایسکمی ($P=0/003$) و تمرین استقامتی + ایسکمی ($P=0/003$) برای قطر تار عضله دوقلو نسبت به گروه دیابت دیده شد. **نتیجه‌گیری:** گمان می‌رود که تمرین مقاومتی و استقامتی به‌همراه چرخه‌های ایسکمی اثر بیشتری در جلوگیری از آتروفی عضلانی در دیابت نسبت به تمرین تنها دارد که این موضوع با کاهش بیان Murf-1 و آتروژن-۱ و افزایش قطر تار عضلانی تأیید شد. **واژه‌های کلیدی:** تمرین ورزشی، آتروفی عضلانی، هایپرگلیسمی، ایسکمی

نحوه استناد به این مقاله: ذات‌پرور م، فرزانه حساری ا، فرزانه‌گی پ. اثر چرخه‌های متناوب ایسکمی با تمرین مقاومتی و استقامتی بر بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ و قطر تار عضله دوقلو در موش‌های صحرایی دیابتی. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۳؛ ۱۷(۲): ۸۰-۹۴.

* رایانامه نویسنده مسئول: a.farzaneh@iau.ir

مقدمه

دیابت بیماری سوخت‌وسازی مزمن شایعی است که با مشکلات ثانویه در اندام‌های گوناگون مانند قلب، کلیه، چشم، مغز و عضله اسکلتی همراه است (۱). افزون بر این، دیابت موجب تغییر فنوتیپ تار عضلانی از کندانقباض به تندانقباض می‌شود که می‌تواند منجر به آتروفی عضلانی، اختلالات سوخت و ساز انرژی و ضعف عضلانی شود. اختلال مسیرهای پیام‌رسانی انسولین، افزایش بیان محصولات گلیکاسیون پیشرفته (AGEs)، فشار اکسایشی و التهاب مزمن از جمله سازوکارهای درگیر در آتروفی عضلانی ناشی از دیابت هستند (۲). آتروفی عضله اسکلتی با عدم تعادل بین سنتز پروتئین و تخریب پروتئین همراه است و در نتیجه کاهش سطح مقطع (CSA) تارهای عضلانی و از دست دادن توده عضلانی اتفاق می‌افتد. گردش پروتئین‌ها در پاسخ به محرک‌های گوناگون آنابولیکی و کاتابولیکی در نوسان است و به‌نظر می‌رسد در شرایط پاتولوژیک مانند دیابت، اختلال در پاسخ به این محرک‌ها موجب مقاومت آنابولیک و تخریب بیش‌ازحد پروتئین در این بیماران می‌شود (۳). کاهش بیان عامل رشد شبه‌انسولین ۱ (IGF-1)، افزایش غلظت اینترلوکین-۶ و عامل نکروز تومور آلفا (TNF- α)، مقاومت در برابر هورمون رشد و بیان بیش‌ازحد آتروژن-۱ در عضله اسکلتی از جمله مهم‌ترین عوامل درگیر در عدم تعادل هورمونی آنابولیک-کاتابولیک است (۴). از طرفی، لیگاز یوپیکوئیتین Murf در فعال‌سازی فرایند تخریب پروتئین‌ها و در نتیجه آتروفی عضلانی درگیر است (۵). پژوهش‌های گسترده‌ای درباره شناسایی سازوکارهای مولکولی کنترل‌کننده آتروفی عضلانی صورت گرفته است (۶،۷). با این همه، مسیرهای پیام‌رسانی درگیر و درمان‌های مؤثری که موجب مهار آتروفی در بیماران دیابتی شود، به‌طور کامل شناسایی نشده است. در سال‌های اخیر، چشم‌اندازهای ویژه‌ای درباره اثر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بر بیماری‌های قلبی-عروقی و

دیابت در حال تبیین است. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی (IPC) تکنیکی است که به موجب آن چرخه‌های کوتاه ایسکمی-رپرپیوژن (خون‌رسانی مجدد) در بافت (یا اندام) انجام می‌شود و تأثیرات محافظتی آن فراتر از بستر عروقی که به‌طور مستقیم در معرض محرک IPC قرار گرفته است، نشان داده شده است (۸)، که در این باره می‌توان به محافظت سلول‌های قلبی در برابر آسیب ناشی از سکته یا انفارکتوس قلبی در نتیجه اعمال IPC در پاها اشاره کرد (۹). همچنین چرخه‌های تکراری ایسکمی به یک تا هشت هفته به بهبود عملکرد اندوتلیال عروقی پیش و پس از آسیب‌های ایسکمی-رپرپیوژن (۱۰) و افزایش ذخیره جریان کرونری در بیماران نارسیایی قلبی (۱۱) منجر می‌شود. مکسول و همکاران (۲۰۱۹) بهبود عملکرد اندوتلیال در بیماران دیابتی را پس از هفت روز پیش‌آماده‌سازی ایسکمی گزارش کردند (۱۲). از طرفی، نیرو و فعال‌سازی عضلانی در بازماندگان سکته مغزی در نتیجه اعمال یک جلسه IPC افزایش یافت (۱۳). همچنین با وجود عدم افزایش نیروی عضلانی، دو هفته IPC به بهبود ظرفیت راه رفتن و کاهش خستگی عصبی-عضلانی در بیماران با سکته مزمن منجر شد (۱۴). با در نظر گرفتن اثر IPC در افزایش نیروی عضلانی (۱۵) و بهبود بازیافت در ورزشکاران (۱۶)، هنوز سازوکارهای خاص برای بهبود عملکرد عضلات اسکلتی به‌روشنی مشخص نیست. با وجود این سازوکارهای هومورال، عصبی و سوخت‌وسازی به‌طور کلی پذیرفته شده است (۱۷). سازگاری‌های عضله اسکلتی بسته به ماهیت فعالیت ورزشی انجام‌گرفته متفاوت است که تفاوت در مسیرهای پیام‌رسانی سلولی مولکولی نوع این پاسخ‌ها را ایجاد می‌کند. در این زمینه، تمرین مقاومتی از طریق فعال‌سازی مسیر Akt و mTOR سبب هایپرترافی عضلانی می‌شود. از طرف دیگر، تمرین استقامتی با فعال‌سازی مسیر

هیستوژئوتک تهران انجام گرفت. معیار ورود به تحقیق شامل وزن ۱۹۰ تا ۲۲۰ گرم و سطح گلوکز پلاسمای بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر در گروه دیابت بود و معیارهای خروج از تحقیق شامل مرگ در اواسط تحقیق یا بیمار شدن حیوان و اجرا نکردن دو جلسهٔ پیاپی تمرین هر موش در گروه‌های تمرینی بود. موش‌های صحرایی مورد بررسی به تعداد پنج عدد در هر قفس از جنس پلی‌کربنات (۳۰ × ۱۵ × ۱۵ سانتی‌متر) در شرایط آب‌وهوایی کنترل‌شده (دمای ۲۲±۲ سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰±۵ درصد، یک سیکل شب و روز ۱۲:۱۲) و با رژیم غذایی استاندارد و آب مورد نیاز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. موش‌های صحرایی پس از آشنایی با شیوهٔ تمرینی به صورت تصادفی در هفت گروه کنترل سالم، کنترل دیابت، دیابتی تمرین استقامتی، دیابتی تمرین مقاومتی، دیابتی ایسکمی، دیابتی ایسکمی+تمرین مقاومتی، دیابتی ایسکمی+تمرین استقامتی قرار گرفتند. این پژوهش توسط کمیتهٔ اخلاق کار با حیوانات دانشکدهٔ علوم پزشکی دانشگاه آزاد ساری تأیید و کد اخلاق (IR.IAU.SARI.REC. 1401.254) صادر شد.

روش اجرای پژوهش: برای دیابتی کردن موش‌های صحرایی از روش استرپتوزوتوسین به صورت تک‌دوز استفاده شد. به این صورت که با تزریق تک‌دوز ۵۰ ml/kg استرپتوزوسین به صورت داخل‌صفاقی القای دیابت صورت گرفت و قند بالای ۲۵۰ mg/dl در ۷۲ ساعت پس از تزریق، به عنوان دیابت القاشده در نظر گرفته شد (۲۲). یک هفته پس از دیابتی کردن موش‌ها و پیش از جلسهٔ تمرینی، پیش‌آماده‌سازی ایسکمی با بستن تورنیکت (با عرض هشت میلی‌متر) به بالای ران پاهای موش‌های صحرایی و در سه دور پنج‌دقیقه‌ای ایسکمی با پنج دقیقه رپرفیوژن اعمال شد. حسگر نبض روی شریان دورسالیس پدیس (ادامهٔ شریان تیبیال قدامی در سطح قدامی مچ پا جانب تاندون اکستنسور انگشت

AMPK موجب افزایش چگالی میتوکندریایی و ظرفیت اکسایشی عضلات می‌شود (۱۸). برخی یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین استقامتی مسئول تعدیل کاتابولیسم عضلانی است (۱۹). از آنجا که پاسخ‌های سازگاری به تمرین استقامتی و مقاومتی در دو طرف پیوستار سازگاری قرار دارند، و با توجه به نقش احتمالی پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در بهبود عملکرد عضلانی (از طریق تأثیرات موضعی و سرتاسری مانند رگ‌گشایی ناشی از آدنوزین، باز شدن کانال‌های پتاسیم حساس به آدنوزین تری‌فسفات)، پژوهشگران در تحقیق حاضر در پی بررسی این موضوع هستند که آیا اعمال پیش‌آماده‌سازی ایسکمی پاسخ شاخص‌های هایپرتروفی عضلهٔ اسکلتی به تمرین استقامتی را تغییر می‌دهد؟ همچنین آیا اعمال پیش‌آماده‌سازی ایسکمی اثر هم‌افزایی بر تمرین مقاومتی در تحریک هایپرتروفی دارد؟ از طرفی، گزارش‌های متناقضی در خصوص اثر تمرین ورزشی بر Murf-1 و آتروژین-۱ وجود دارد. گزارش شده است که یک دوره تمرین مقاومتی با شدت بالا مقدار Murf-1 و آتروژین-۱ را در مرحلهٔ هایپرتروفی افزایش و در مرحلهٔ آتروفی کاهش داد (۲۰). افزون بر این، بعضی پژوهش‌ها کاهش Murf-1 و آتروژین-۱ عضلهٔ اسکلتی پس از تمرین مقاومتی را گزارش کردند (۲۱، ۲۲). بعضی تحقیقات افزایش (۲۱) و کاهش (۲۳) Murf-1 و آتروژین-۱ عضلهٔ اسکلتی پس از تمرین استقامتی و عدم تغییر پس از تمرین موازی (۲۱) را نشان دادند. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر دوره‌های متناوب ایسکمی به‌تنهایی و همراه با تمرین مقاومتی و استقامتی در بیان ژن Murf-1 و آتروژین-۱ و قطر تار عضلهٔ دوقلو در رت‌های دیابتی بود.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: این تحقیق تجربی روی ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن هشت هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

است که در گروه‌های ایسکمی+ تمرین مقاومتی و ایسکمی+تمرین استقامتی، در هر جلسه پیش‌آماده‌سازی ایسکمی ۲۰ دقیقه پیش از فعالیت مقاومتی و استقامتی اعمال شد. به این منظور ۴۵ دقیقه پیش از شروع فعالیت، اولین دور ایسکمی به مدت پنج دقیقه اعمال و پس از آن پنج دقیقه رپرفیوژن لحاظ شد. دوره‌های ایسکمی- رپرفیوژن سه بار تکرار شد، به طوری که فعالیت مقاومتی و یا استقامتی ۲۰ دقیقه پس از آخرین دور ایسکمی شروع شد.

روش‌های آزمایشگاهی: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، در شرایط استراحت و ناشتا موش‌های صحرایی با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از کتامین (۷۰ mg/kg) و زایلازین (۳-۵ mg/kg) بی‌هوش شدند. سپس، عضله دوقلوی موش‌ها استخراج شد و پس از اندازه‌گیری وزن، در ازت مایع قرار گرفت تا پس از هموژنیزاسیون برای سنجش بیان ژن‌های Murf-1 و آتروژین-۱ و قطر تار عضلانی استفاده شود. به منظور سنجش بیان ژن‌ها -Murf-1 و آتروژین-۱ از روش Real-TimePCR استفاده شد. ابتدا استخراج RNA صورت گرفت. در مرحله اول، به ازای ۱ میلی‌لیتر تریزول اضافه شده ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به نمونه‌ها اضافه و ۱۵ ثانیه تکان داده شد تا مخلوط شوند (بدون ورتکس). میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در RPM ۱۲۰۰۰ و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. فاز شفاف رویی حاوی RNA جدا شده و به میکروتیوب دیگری منتقل شد و به آن‌ها ایزوپروپانول اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰- انکوبه شدند. به منظور رسوب RNA، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در RPM ۱۲۰۰۰ و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول و رسوب‌ها با اتانول ۷۵ درصد شست‌وشو داده شدند. سانتریفیوژ به مدت پنج دقیقه در RPM ۷۵۰۰ و دمای چهار درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از نیمه‌خشک شدن رسوب، مقدار ۲۰-۳۰ میکرولیتر آب

شست) قرار داده شد. انسداد جریان خون پاها با مشخص نبودن نبض، کاهش دما و سیانوز پوست در پاها تأیید شد. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی در هر جلسه تمرینی ۲۰ دقیقه پیش از فعالیت اعمال شد (۲۴).

تمرین مقاومتی و استقامتی به مدت شش هفته و پنج روز در هفته اجرا شد. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان ویژه (به طول ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله با فضای دو سانتی بین پله‌ها) به اجرا درآمد. به منظور آشناسازی با تمرین، موش‌های صحرایی پنج روز بدون وزنه از نردبان بالا رفتند. سپس آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی اندازه‌گیری شد، بدین‌صورت که وزنه‌ای معادل ۷۵ درصد وزن بدن حیوان به دم آن‌ها متصل شد و حیوان شروع به بالا رفتن از نردبان کرد. سپس به ازای هر تکرار موفق، ۳۰ گرم به بار تکرار شده قبلی اضافه شد. دو دقیقه استراحت بین تکرارها وجود داشت. این روش تا زمانی که موش موفق به صعود کل نردبان طی سه تلاش متوالی نشود، تکرار شد. تمرین مقاومتی با ۶۰ درصد حداکثر ظرفیت حمل ارادی اجرا شد، بدین‌صورت که موش‌های صحرایی ۱۴ تکرار از نردبان صعود کردند و بین هر صعود، یک دقیقه استراحت داشتند (۲۵). تمرین استقامتی شامل دویدن روی نوار گردان ویژه بود و شدت تمرین بر اساس سرعت دویدن روی نوار گردان کنترل شد. پیش از شروع تمرین استقامتی، موش‌های صحرایی به منظور آشنایی با چگونگی فعالیت روی نوار گردان پنج جلسه به مدت پنج دقیقه با سرعت ۸-۱۰ متر بر دقیقه با شیب صفر فعالیت داشتند. پس از آن تمرین با سرعت نه متر در دقیقه و شیب پنج درجه به مدت ۱۵ دقیقه در هفته اول شروع شد و در طول پژوهش به‌طور تدریجی و با رعایت اصل اضافه بار در هفته آخر به ۱۸ متر در دقیقه و مدت ۳۰ دقیقه رسید. در هر جلسه پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت پنج متر در دقیقه انجام گرفت (۲۶). شایان ذکر

نمونه RNA در دستگاه ترموسایکلر یا Dry block heater به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۷ درجه و پنج دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. نمونه‌های cDNA آماده‌شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از پایان آزمایش، اعداد CT مربوط به ژن مرجع هر نمونه با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ بیان نسبی هر ژن محاسبه شد. جدول ۱ توالی پرایمرها (آغازگرها) را نشان می‌دهد.

جدول ۱. توالی آغازگرهای مورد استفاده

ژن‌ها	توالی آغازگرها
GAPDH-f	AGGTCGGTGTGAACGGATTG
GAPDH-r	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
r-ATROGIN-1-F	AGGGCAGGTGGATTGGAAGAAGA
r-ATROGIN-1-R	GTTGGGGTGAAAGTGAGACGGAG
r-MuRF1-F	GAGGGCCATTGACTTTGGGA
r-MuRF1-R	TTTACCCTCTGTGGTCACGC

اٲوزین (Sigma-HT110116) قرار گرفت. در ادامه به‌منظور آب‌گیری بافت، لام‌ها به الکل مطلق رسانده شدند. سپس برای شفاف‌سازی نمونه‌ها داخل زایلول (۱) و زایلول (۲) هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و در انتها یک قطره چسب انتلان (sigma-1.07961) روی نمونه قرار داده شد و لامل روی لام چسبانده شده و با میکروسکوپ نوری (LABOMED) عکس‌برداری شد. **تحلیل آماری:** برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و همگنی واریانس گروه‌ها از آزمون لون و به‌منظور بررسی تفاوت‌ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمامی عملیات آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

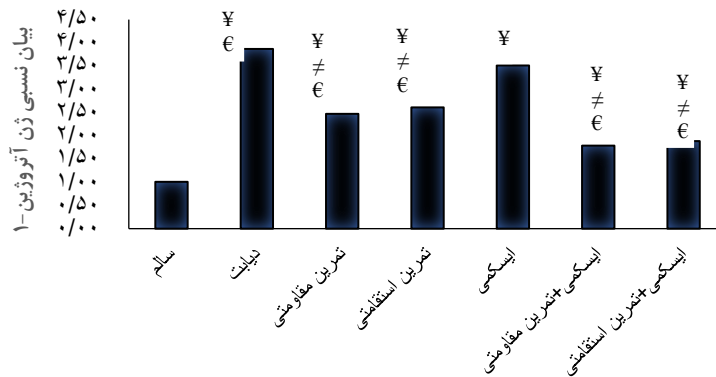
نتایج

یافته‌ها نشان داد که بیان ژن‌های آتروژین-۱ ($F=۶۲/۷۹$, $P=۰/۰۰۰۱$) و Murf-1 ($P=۰/۰۰۰۱$)، عضلهٔ دوقلو بین گروه‌های گوناگون تفاوت معناداری دارد. نتایج افزایش بیان ژن آتروژین-۱ عضلهٔ

DEPC یا عاری از RNase به هر میکروتیوب اضافه شد تا رسوب RNA در آن حل شود. پس از این مرحله cDNA سنتز شد. نمونه‌های RNA از ۷۰- درجه خارج و پس از آب شدن به روی یخ منتقل شدند. به‌منظور تهیهٔ میکس RT، برای ساخت cDNA شامل بافر RT، آنزیم RT، پرایمر Oligo dT و آب DEPC با یکدیگر مخلوط شده و سپس در حجم‌های ۹ μ l در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری توزیع شدند. میکروتیوب‌های آماده‌شده حاوی RT mix و

برای تعیین قطر تار عضلهٔ دوقلو از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اٲوزین استفاده شد. پس از جدا کردن نمونه بلافاصله به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. آب‌گیری با الکل اتانول و با درجات ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد انجام شد. در مرحلهٔ بعد برای خارج کردن الکل از محلول زایلون استفاده شد. پس از زایلول برای قالب‌گیری و برش بافتی از پارافین استفاده شد. نمونه‌ها به‌وسیلهٔ دستگاه میکروتوم به ضخامت پنج میکرومتر برش داده شده و روی لام سیلانه شده قرار داده شدند. برای رنگ‌آمیزی، ابتدا لام‌ها درون فور (Vinteb) در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت تا پارافین‌های موجود در نمونه ذوب شود. در مرحلهٔ دوم پارافین‌زدایی، نمونه‌ها در داخل زایلول ۱ و ۲ (Sigma-1330-20-7) هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس عمل آب‌دهی با استفاده در درجات بالای الکل صورت گرفت. لام‌ها به مدت هفت ثانیه داخل رنگ هماتوکسیلین (Sigma-H9627) گذاشته شده و پس از شست‌وشو، دو ثانیه داخل کربنات لیتیم (Sigma-1.05680) و سپس سه دقیقه داخل رنگ

مقاومتی+ایسکمی ($P=0/0001$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/0001$) به کاهش معنادار بیان ژن آتروژین-۱ در عضلهٔ دوقلو نسبت به گروه ایسکمی انجامید (شکل ۱). در مقایسه با تمرین مقاومتی و استقامتی، تمرین مقاومتی+ایسکمی افزایش بیشتری داشت ($P=0/0057$, $P=0/0023$). تمرین استقامتی+ایسکمی افزایش بیشتری نسبت به تمرین استقامتی ($P=0/0153$) داشت.



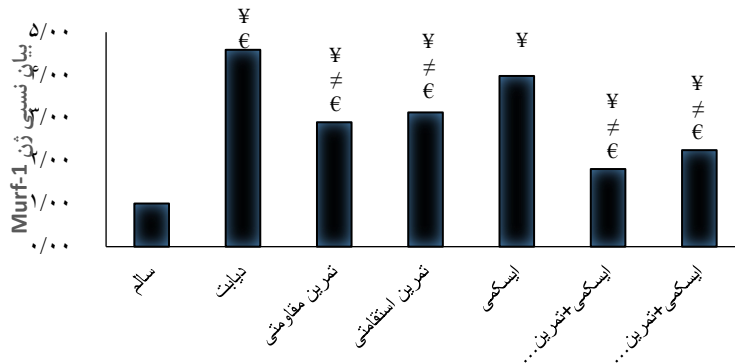
شکل ۱. مقایسهٔ بیان ژن نسبی آتروژین-۱ عضلهٔ دوقلو در گروه‌های مورد بررسی

¥: تغییرات معنادار نسبت به گروه سالم. ≠: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت، €: تغییرات معنادار نسبت به ایسکمی

عضلهٔ دوقلو در مقایسه با گروه دیابت منجر شد. تمرین مقاومتی ($P=0/0013$)، تمرین استقامتی ($P=0/00107$)، تمرین مقاومتی+ایسکمی ($P=0/0001$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/0001$) به کاهش معنادار بیان ژن Murf-1 در عضلهٔ دوقلو نسبت به گروه ایسکمی انجامید (شکل ۳).

دوقلو در گروه دیابتی را نسبت به گروه سالم نشان داد ($P=0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد در مقایسه با گروه دیابت، تمرین مقاومتی ($P=0/0001$)، تمرین استقامتی ($P=0/0001$)، تمرین مقاومتی+ایسکمی ($P=0/0001$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/0001$) به کاهش معنادار بیان آتروژین-۱ عضلهٔ دوقلو منجر شد. تمرین مقاومتی ($P=0/0007$)، تمرین استقامتی ($P=0/0027$)، تمرین

بیان ژن Murf-1 عضلهٔ دوقلو در گروه دیابتی نسبت به گروه سالم افزایش معناداری داشت ($P=0/0001$). مقایسهٔ گروه‌ها نشان داد که تمرین مقاومتی ($P=0/0001$)، تمرین استقامتی ($P=0/0001$)، تمرین مقاومتی+ایسکمی ($P=0/0001$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/0001$) به کاهش معنادار بیان Murf-1

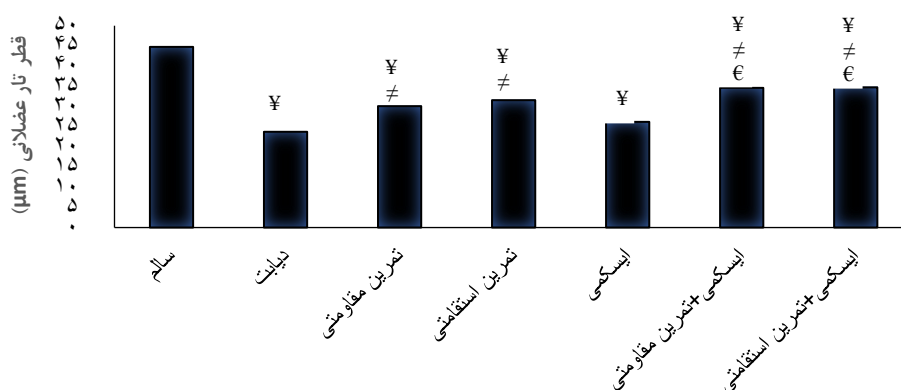


شکل ۲. مقایسهٔ بیان ژن نسبی Murf-1 عضلهٔ دوقلو در گروه‌های مورد بررسی

¥: تغییرات معنادار نسبت به گروه سالم. ≠: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت، €: تغییرات معنادار نسبت به ایسکمی

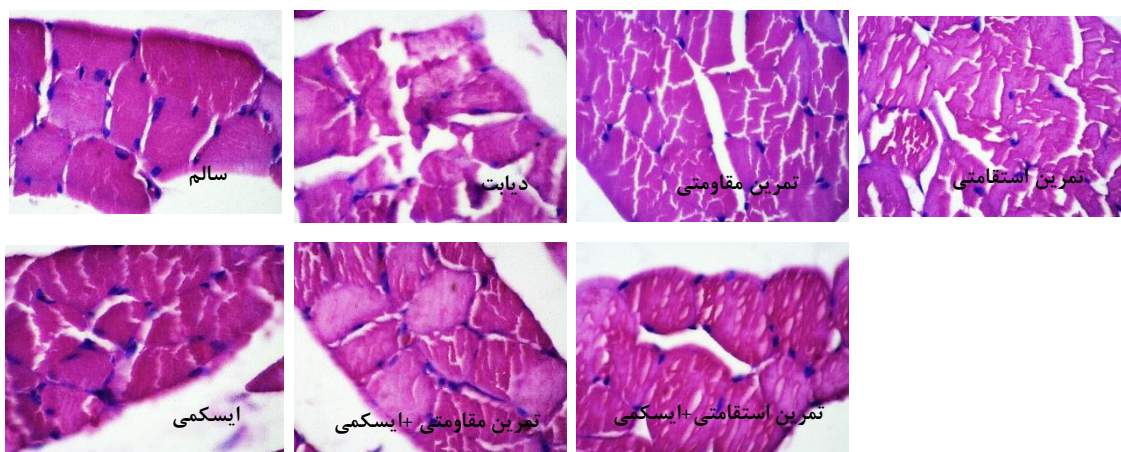
انجامید. اعمال ایسکمی ضخامت تار عضلانی را در مقایسه با تمرین مقاومتی ($P=0/103$) و تمرین استقامتی ($P=0/091$) تغییری نداد، ولی تمرین مقاومتی+ایسکمی ($P=0/041$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/035$) به افزایش قطر تار عضلانی نسبت به گروه ایسکمی منجر شد (شکل ۴ و شکل ۳).

یافته‌ها نشان داد که دیابت به کاهش قطر تار عضله دوقلو نسبت به گروه سالم منجر شد ($P=0/001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که در مقایسه با گروه دیابت، تمرین مقاومتی ($P=0/034$)، تمرین استقامتی ($P=0/007$)، تمرین مقاومتی+ایسکمی ($P=0/003$) و تمرین استقامتی+ایسکمی ($P=0/003$) به افزایش معنادار قطر تار عضله دوقلو



شکل ۳. مقایسه قطر تار عضله دوقلو در گروه‌های مورد بررسی

¥: تغییرات معنادار نسبت به گروه سالم. ≠: تغییرات معنادار نسبت به گروه دیابت، €: تغییرات معنادار نسبت به ایسکمی



شکل ۴. تصاویر قطر تار عضله دوقلو در گروه‌های تحقیق با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین آنوزین

میزان تغییرات در گروه‌های تمرین با ایسکمی بیشتر بود. پیش‌آماده‌سازی ایسکمی به‌تنهایی به تغییر غیرمعنادار Murf-1 و آتروژن-۱ و قطر تار عضلانی منجر شد. مشابه با نتایج پژوهش حاضر، تحقیقات متعددی افزایش شاخص‌های آتروفی را در بیماران

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین مقاومتی و هوازی به‌تنهایی و به‌همراه دوره‌های ایسکمی به کاهش بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ و افزایش قطر تار عضله دوقلو موش‌های صحرایی دیابتی منجر شد، به‌طوری‌که

پاسخ‌های التهابی به کاهش آتروژن-۱ موش‌های صحرایی دیابتی منجر شد. همچنین گمان می‌رود تمرین استقامتی با سرکوب مسیرهای پیام‌رسانی NF-Kb و FoxO موجب مهار دستگاه یوبیکویتین-پروتئاز شود (۲۸). از طرفی، عامل تومور نکروزی آلفا بیان Murf-1 در عضلات را افزایش می‌دهد که تمرین از طریق مسیرهای پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوژن (AMPK) آن را تعدیل می‌کند. تمرین مقاومتی با فعال‌سازی مسیر هدف پستانداری راپاماسین-پروتئین کیناز B یا Akt و شبه‌انسولین-۱ به مهار FoxO و در نتیجه کاهش بیان Murf-1 و آتروژن-۱ منجر می‌شود و از آتروفی عضلانی جلوگیری می‌کند (۲۹).

افزون بر این، بیان گیرنده فعال‌شده با تکثیرکننده پراکسی زوم، کوکتیواتور گاما ۱-آلفا تا حد زیادی از آتروفی عضلات جلوگیری می‌کند که تمرین مقاومتی با افزایش بیان این گیرنده به حفظ توده عضلانی کمک می‌کند (۳۰).

مشابه با یافته‌های حاضر، تاناکا و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که دو هفته پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بر سطح مقطع عضله چهارسر ران و بیشینه انقباض ارادی باز کردن زانو در افراد سالم اثر ندارد (۳۲). در مقابل، دو هفته محدودیت جریان خون کاهش قدرت و آتروفی عضلانی در افراد مبتلا به آتروفی ناشی از بی‌حرکی و جراحی ارتوپدی را کاهش داد (۳۳). افزایش قدرت بازکننده زانو در افراد مسن و بیماران مبتلا به ایسکمی مزمن قلب پس از چهار هفته IPC در تحقیق پرایدز و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شد (۳۴). در توضیح احتمالی این تفاوت‌ها باید گفت که بعضی تحقیقات از مداخله IPC به مدت یک هفته (هفت روز متوالی) استفاده کردند، درحالی‌که در تحقیق تاناکا و همکاران (۲۰۲۱) IPC به مدت دو هفته و شش روز در هفته اعمال شد. اسلیز و بور (۲۰۱۹) گزارش کردند که مداخله هشت‌هفته‌ای IPC در افزایش عملکرد ورزشی در

دیابتی در مقایسه با افراد سالم نشان دادند (۲، ۲۷). منجر شد. مشابه با نتایج تحقیق حاضر، مرادی و همکاران (۲۰۲۰) کاهش Murf-1 و آتروژن-۱ عضله پهن خارجی موش‌های صحرایی دیابتی را پس از هشت هفته تمرین مقاومتی گزارش کردند. دلفان و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که تمرین هوازی به کاهش Murf-1 و آتروژن-۱ عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی منجر شد. کاهش بیان ژن Murf-1 و آتروژن-۱ عضله نعلی پس از هشت هفته تمرین مقاومتی با شدت متوسط و بالا در پژوهش شاه‌نظری و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شد. در مقابل، هشت هفته تمرینات استقامتی با افزایش بیان آتروژن‌ها به افزایش تحلیل عضلانی منجر شد (۲۱). وچتی و همکاران گزارش کردند ۱۰ هفته تمرین استقامتی نسبت به تمرینات مقاومتی بیان آتروژن-۱ را بیشتر کاهش داد (۲۸). گمان می‌رود که با توجه به مسیر پیام‌رسانی درون‌سلولی، اثر تمرین استقامتی بر شاخص‌های آتروفی عضلانی تناقضات بیشتری دارد که از دلایل احتمالی تفاوت در نتایج تحقیقات می‌تواند نمونه پژوهش، شدت و مدت تمرین، نوع بافت عضلانی باشد. در تحقیق مرادی و همکاران آزمودنی‌ها موش‌های سالم بودند و در پژوهش وچتی و همکاران اثر تمرین شنا بر موش‌های سالمند بررسی شد. در دیابت، هایپرگلیسمی به‌وسیله افزایش گونه‌های فعال اکسیژن تعادل اکساینده‌ها-ضداکساینده‌ها را تا حد چشمگیری مختل می‌کند. این افزایش فشار اکسایشی و همچنین التهاب با کاهش حجم عضلانی همراه است. افزون بر این، مسیر یوبیکویتین-پروتئازوم در تخریب عضلانی سهم بسزایی دارد (۲۹). نقش پروتئین‌های سرچنگالی FOXO در ایجاد آتروفی عضلانی تأیید شده است، به‌طوری‌که افزایش بیان این فاکتور به افزایش بیان ژن‌های Murf-1 و آتروژن-۱ منجر می‌شود. با توجه به اینکه همبستگی بین فشار اکسایشی و مسیر یوبیکویتین-پروتئازوم در دیابت به‌روشنی مشخص نیست، شاید تمرین استقامتی با افزایش فعالیت ضداکسایشی و کاهش

دوندگان استقامتی اثری نداشت (۳۵). با توجه به اینکه اعمال یک جلسه حاد IPC موجب افزایش نیتریک اکساید (NO) می‌شود، بنابراین زمان کوتاه مکمل‌دهی NO شاید با مهار توسعه تحمل نیترات مرتبط باشد (۳۶)، بنابراین عدم تأثیر زمان بیشتر از یک هفته بر عملکرد IPC شاید به دلیل کاهش اثربخشی NO باشد. توضیح احتمالی دیگر شاید تعداد چرخه‌های ایسکمی-رپرفیوژن اعمال شده در هر جلسه باشد. جفری و همکاران (۲۰۱۸) (۳۷) و لیندسی و همکاران (۲۰۱۷) (۳۸) از چهار چرخه ایسکمی-رپرفیوژن در هر IPC استفاده کردند، در حالی که IPC در تحقیق حاضر و پژوهش تاناکا و همکاران (۲۰۲۱) شامل سه چرخه ایسکمی-رپرفیوژن بود.

دربارۀ اثر هم‌افزایی پیش‌آماده‌سازی ایسکمی با تمرین، پارادایز و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که IPC به همراه تمرینات تناوبی سرعتی در طول چهار هفته (دو روز در هفته) به افزایش بیشتر زمان دویدن و برون‌ده توان حین آزمون وینگیت ۳۰ ثانیه نسبت به تمرین تنها منجر شد. افزون بر این، کارولیو و همکاران (۲۰۲۰) افزایش بیشتر حداکثر قدرت ارادی بازکننده‌های زانو را پس از شش هفته تمرین مقاومتی به همراه پیش‌آماده‌سازی ایسکمی نسبت به تمرین تنها در افراد سالم نشان دادند (۳۹). سورکار و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که دو هفته پیش‌آماده‌سازی در پا به همراه تمرین مقاومتی به افزایش بیشینه قدرت ارادی عضلات بازکنندهٔ مچ دست نسبت به تمرین به تنهایی در افراد سالم منجر شد (۴۰). در خصوص اینکه پیش‌آماده‌سازی ایسکمی چطور اثر تمرین را تقویت می‌کند، با توجه به ماهیت این تحقیق، تنها می‌توان در خصوص سازوکارهای سلولی و عروقی احتمالی اثر پیش‌آماده‌سازی ایسکمی بر افزایش قدرت و هایپرتروفی اظهار نظر کرد. پژوهش‌های قبلی نشان دادند که پیش‌آماده‌سازی ایسکمی سبب اتساع عروق به دلیل آزاد شدن چندین عامل هومورال و در نتیجه افزایش جریان خون به عضلات اسکلتی می‌شود (۳۵). افزایش اتساع

عروق شاید تحویل اکسیژن و مواد مغذی به افزایش تقاضای سوخت‌وسازی عضلات حین فعالیت را بهتر می‌کند و در نتیجه عملکرد عضلات بهبود می‌یابد (۱۸). همچنین پیش‌آماده‌سازی ایسکمی از طریق صرفه‌جویی ATP و بهبود کارایی جفت تحریک-انقباض، کارایی عضلانی در استفاده از ATP را افزایش می‌دهد (۳۸). از طرفی، می‌توان به سازوکار احتمالی که به تسهیل عصبی منجر می‌شود اشاره کرد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که نورون‌های آوران گروه III و IV در عضلهٔ اسکلتی به وسیلهٔ عوامل هومورال آزاد شدهٔ ناشی از پیش‌آماده‌سازی ایسکمی مسدود می‌شوند، که سبب افزایش پیام‌رسانی حرکتی مرکزی و تسهیل پیام‌رسانی عصبی و ابران برای افزایش فعال شدن نورون حرکتی می‌شود (۴۰). از محدودیت‌های تحقیق حاضر، عدم اندازه‌گیری نیتریک اکساید در حالت پایه و پس از شش هفته مداخلهٔ ایسکمی بود. افزون بر این، انسداد جریان خون پاها با مشخص نبودن نبض، کاهش دما و سیانوز پوست در پاها تأیید شد. به منظور اطمینان از انسداد جریان خون می‌توان از روش‌های دقیق‌تر مانند سونوگرافی یا عکس‌برداری استفاده کرد.

با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر، گمان می‌رود دیابت با آتروفی عضلانی همراه باشد و تمرین مقاومتی و استقامتی به همراه چرخه‌های ایسکمی با کاهش بیان ژن‌های Murf-1 و آتروژن-۱ و افزایش قطر تار عضلهٔ دوقلو آتروفی عضلانی ناشی از دیابت را مهار می‌کند. این یافته‌ها شاید گامی در جهت کنترل آتروفی عضلانی ناشی از دیابت بردارد. با این همه، شناخت سازوکارهای عهده‌دار فرایند آتروفی ناشی از دیابت نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رسالهٔ دکتری رشتهٔ فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری است. نویسندگان از آزمایشگاه بافت و ژن پاسارگاد به سبب

Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: Implications in health and disease. *Nature Communications*. 2021;12(1): 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20123-1>

5- Ebert SM, Al-Zougbi A, Bodine SC, Adams CM. Skeletal muscle atrophy: discovery of mechanisms and potential therapies. *Physiology*. 2019;34(4):232-9.

6. Jun L, Robinson M, Geetha T, Broderick TL, Babu JR. Prevalence and Mechanisms of Skeletal Muscle Atrophy in Metabolic Conditions. *Int J Mol Sci*. 2023;24: 2973. <https://doi.org/10.3390/ijms24032973>

7- Jun L, Robinson M, Geetha T, Broderick TL, Babu JR. Prevalence and Mechanisms of Skeletal Muscle Atrophy in Metabolic Conditions. *Inter J Mol Sci*. 2023;24(3):2973. <https://doi.org/10.3390/ijms24032973>

8. O'Brien L, Jacobs I. Methodological variations contributing to heterogeneous ergogenic responses to ischemic preconditioning. *Front. Physiol*. 2021;12(6), 656980. Doi:10.3389/fphys.2021.656980

9. Lang JA, Kim J, Lang JA, Kim J. Remote ischaemic preconditioning-translating cardiovascular benefits to humans. *J. Physiology*. 2022;600: 3053–3067. Doi:10.1113/jp282568

10. Jones H, Nyakayiru J, Bailey TG, Green DJ, Cable NT, Sprung VS, et al. Impact of eight weeks of repeated ischaemic preconditioning on brachial artery and cutaneous microcirculatory function in healthy males. *Euro Preven Cardio*. 2015;22:1083-87. DOI: 10.1177/2047487314547657

همکاری صمیمانه‌شان سپاسگزارند.

حمایت مالی

مقاله حاضر برگرفته از رساله دانشجویی دانشگاه آزاد اسلامی ساری بوده و بدون هیچ‌گونه حمایت مالی اجرا شده است.

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش نویسنده اول به‌عنوان دانشجوی دکتری، نویسنده دوم به‌عنوان استاد راهنما و نویسنده سوم به‌عنوان استاد مشاور مشارکت و همکاری داشته‌اند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

1. Nellaippan K, Preeti K, Khatri DK, Singh SB. Diabetic Complications: An Update on Pathobiology and Therapeutic Strategies. *Curr Diabetes Rev*. 2022;18:e030821192146. Doi: 10.2174/1573399817666 10309104203
- 2- O'Neill BT, Bhardwaj G, Penniman CM, Krumpoch MT, Suarez Beltran PA, Klaus K, et al. Foxo Transcription Factors are Critical Regulators of Diabetes-Related Muscle Atrophy. *Diabetes*. 2019;68:556–70. Doi: 10.2337/db18-0416
- 3- Ashraf JM, Ahmad S, Rabbani G, Hasan Q, Jan AT, Lee EJ, et al. 3-Deoxyglucosone: a potential glycation agent accountable for structural alteration in H3 histone protein through generation of different AGEs. *PloS one*. 2015;10(2):e0116804. Doi.org/10.1371/journal.pone.0116804
- 4- Sartori R, Romanello V, and Sandri M.

11. Kono Y, Fukuda S, Hanatani A, Nakanishi K, Otsuka K, Taguchi H, et al. Remote ischemic conditioning improves coronary microcirculation in healthy subjects and patients with heart failure. *Drug Des Devel Ther.* 2014;27(8):1175-81. Doi: 10.2147/DDDT.S68715
12. Maxwell JD, Carter HH, Hellsten Y, Miller GD, Sprung VS, Cuthbertson DJ, et al. Seven-day remote ischaemic preconditioning improves endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomised pilot study. *Eur J Endocrinol.* 2019;181(6):659-669. DOI: 10.1530/EJE-19-0378
13. Hyngstrom AS, Murphy SA, Nguyen J, Schmit BD, Negro F, Gutterman DD, et al. Ischemic conditioning increases strength and volitional activation of paretic muscle in chronic stroke: a pilot study. *J Appl Physiol.* 2018;124(5):1140-7. DOI: 10.1152/jappphysiol.01072.2017
14. Durand MJ, Boerger TF, Nguyen JN, Alqahtani SZ, Wright MT, Schmit BD, et al. Two weeks of ischemic conditioning improves walking speed and reduces neuromuscular fatigability in chronic stroke survivors. *J Appl Physiol.* 2019;126(3):755-63. DOI: 10.1152/jappphysiol.00772.2018
15. Leurcharusmee P, Sawaddiruk P, Punjasawadwong Y, Sugandhavesa N, Klunklin K, Tongprasert S, et al. Ischemic preconditioning upregulates Mitofusin2 and preserves muscle strength in tourniquet-induced ischemia/reperfusion. *J Orthop Translat.* 2022;14:35:113-121. Doi: 10.1016/j.jot.2022.09.012.
16. Patterson SD, Swan R, Page W, Marocolo M, Jeffries O, Waldron M. The effect of acute and repeated ischemic preconditioning on recovery following exercise-induced muscle damage. *J. Sci. Med. Sport.* 2021;24:709-714. Doi:10.1016/j.jsams.2021.02.012
17. Incognito AV, Burr JF, Millar PJ. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. *Sports Med.* 2016;46(4):531-44. DOI: 10.1007/s40279-015-0433-5
18. Atherton PJ, Babraj J, Smith K, Singh J, Rennie MJ, Wackerhage H. Selective activation of AMPK-PGC-1alpha or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical musclestimulation. *FASEB J.* 2005;19(7):786-8. Doi: 10.1096/fj.04-2179fje.
19. Macedo AG, Oliveira DM. The Influence of the Aerobic Training on Muscle Hypertrophy: Literature Review. *J health sci.* 2019;21(4):382. <https://Doi.org/10.17921/2447-8938>.
20. Léger B, Cartoni R, Praz M, Lamon S, Dériaz O, Crettenand A, et al. Akt signalling through GSK-3beta, mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Journal of Physiology.* 2016;576(3):923-33. DOI:10.1113/jphysiol.2006.116715
21. 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;55:21-27. DOI: 10.1016/j.apunsm.2020.02.001
22. Shanazari Z, Faramarzi M, Kordi MR. The effect of eight weeks of moderate and high intensity resistance training on miR-23a, Atrogin-1 and MuRF gene expression in fast

- and slow twitch muscles in Wistar older rats. *Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2022;10(24):42-52. [In Persian]
23. 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. *Ijldl*. 2021;21(4):198-209. [In Persian]
24. Cheng Z, Li L, Mo X, Zhang L, Xie Y, Guo Q, et al. Non-invasive remote limb ischemic postconditioning protects rats against focal cerebral ischemia by upregulating STAT3 and reducing apoptosis. *Int J Mol Med*. 2014;34(4):957-66. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1873
25. Krug AL, Macedo AG, Zago AS, Rush JW, Santos CF, Amaral SL. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. *Muscle & Nerve*. 2016;53(5):779-788. DOI: 10.1002/mus.24906
26. Arabzadeh E, Samadian Z, Tofighi A. Alteration of follistatin-like 1, neuron-derived neurotrophic factor, and vascular endothelial growth factor in diabetic cardiac muscle after moderate-intensity aerobic exercise with insulin. *Sport Sci Health*. 2020;16:491-499. DOI: 10.1007/s11332-020-00631-9.
27. Lu F, Lu B, Zhang L, Wen J, Wang M, Zhang S, Li Q, et al. Hydrogen sulphide ameliorating skeletal muscle atrophy in db/db mice via Muscle RING finger 1 S-sulfhydration. *Cel Mole Med*. 2020;24(16):9362-9377. DOI: 10.1111/jcmm.15587.
28. Vechetti-Junior IJ, Bertaglia RS, Fernandez GJ, de Paula TG, de Souza RW, Moraes LN, et al. Aerobic exercise recovers disuse-induced atrophy through the stimulus of the LRP130/PGC-1 α complex in aged rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2016;71(5):601-609. DOI: 10.1093/gerona/glv064
29. Sinclair AJ, Abdelhafiz AH, Rodríguez-Mañas L. Frailty and sarcopenia - newly emerging and high impact complications of diabetes. *J Diabetes Complications*. 2017;31(9):1465-73.
30. 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;6:307:469-84. DOI:10.1152/ajpendo.00204.2014
31. Zhang Z, Wang B, Fei A. BDNF contributes to the skeletal muscle anti-atrophic effect of exercise training through AMPK-PGC1 α signaling in heart failure mice. *Archives of Medical Science: AMS*. 2019;15(1):214-22. DOI:10.5114/aoms.2018.81037
32. Tanaka D, Suga T, Kido K, Honjo T, Hamaoka T, and Isaka T. Acute remote ischemic preconditioning has no effect on quadriceps muscle endurance. *Transl. Sports Med*. 2020;3:314-320. <https://doi.org/10.1002/tsm2.149>
33. Kubota A, Sakuraba K, Sawaki K, Sumide T, and Tamura Y. Prevention of disuse muscular weakness by restriction of blood flow. *Med. Sci. Sports Exerc*. 2008;40:529-534. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31815ddac6
34. Pryds K, Nielsen R, Jorsal A, Hansen MS, Ringgaard S, Refsgaard J, et al. Effect of

- long-term remote ischemic conditioning in patients with chronic ischemic heart failure. *Basic Res. Cardiol.* 2017;112:67. DOI: 10.1007/s00395-017-0658-6
35. Slys JT, Burr JF. Impact of 8 weeks of repeated ischemic preconditioning on running performance. *Eur J Appl Physiol.* 2019;119(6):1431-1437. DOI: 10.1007/s00421-019-04133-6
36. Rassaf T, Totzeck M, Hendgen-Cotta UB, Shiva S, Heusch G, Kelm M. Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning. *Circ Res.* 2014;9:114(10):1601-10. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.114.303822
37. Jeffries O, Waldron M, Pattison JR, Patterson SD. Enhanced local skeletal muscle oxidative capacity and microvascular blood flow following 7-day ischemic preconditioning in healthy humans. *Front. Physiol.* 2018;9:463. DOI: 10.3389/fphys.2018.00463
38. Lindsay A, Petersen C, Blackwell G, Ferguson H, Parker G, Steyn N, et al. The effect of 1 week of repeated ischaemic leg preconditioning on simulated Keirin cycling performance: a randomised trial. *Sport Exerc. Med.* 2017;31(3):e00229. Doi: 10.1136/bmjsem-2017-000229
39. Carvalho L, Concon V, Meloni M, De Souza EO, Barroso R. Effects of resistance training combined with ischemic preconditioning on muscle size and strength in resistance-trained individuals. *J Sports Med Phys Fitness.* 2020;60(11):143-36. DOI: 10.23736/S0022-4707.20.11032-6.
40. Surkar SM, Bland MD, Matlage AE, Chen L, Gidday JM, Lee JM, et al. Effects of remote limb ischemic conditioning on muscle strength in healthy young adults: A randomized controlled trial. *PLoS One.* 2020;4:15(2):e0227263. Doi: 10.1371/journal.pone.0227263