



تأثیر تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک بر نشانگرهای آتروفی عضلانی و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت در عضله تند انقباض باز کننده طویل انگشتان پای موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲

معراج مزده: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران
مقصود پیری: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) m.peeri@iauctb.ac.ir
محمد علی آذربایجانی: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

دیابت،
تمرین هوازی،
عصاره خارخاسک،
آتروفی عضلانی،
تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت

زمینه و هدف: دیابت با توسعه عوارض ثانویه در اندام‌های مختلف به ویژه آتروفی عضلات اسکلتی همراه است. هدف از انجام این تحقیق، تعیین تاثیر تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک بر نشانگرهای آتروفی عضلانی و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت در عضله تند انقباض باز کننده طویل انگشتان پای موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۴۲ سر موش صحرایی نر ویستار دو ماهه از نژاد ویستار (میانگین وزن 180 ± 20 گرم) به طور تصادفی در ۷ گروه قرار گرفتند. به منظور القاء آتروفی عضلانی، دگزامتازون (۷۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم در روز) به صورت داخل صفاقی به موش‌های صحرایی تزریق شد. موش‌های صحرایی با استفاده از تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید-استرپتوزوتوسین، دیابتی شدند. موش‌های صحرایی در گروه‌های مکمل، عصاره هیدروالکلی گیاه خارخاسک با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به روش گاواژ دریافت کردند. تمرین هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته اجرا گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تمرین هوازی، عصاره خارخاسک و مداخله ترکیبی عصاره خارخاسک با تمرین هوازی منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های Atrogin-1، MURF-1 و MiR-29b ($p=0/001$) و افزایش معنی‌دار سطوح متیل‌گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت (PAB) در موش‌های صحرایی دیابتی شد ($p=0/001$).

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی، عصاره گیاه خارخاسک و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک احتمالاً می‌تواند در درمان آتروفی عضلانی ناشی از دیابت نوع ۲ اثرگذار باشد و مداخله دوز کمتر این عصاره گیاهی می‌تواند نتایج بهتری به همراه داشته باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Mojdeh M, Peeri M, Azarbayjani MA. The Effect of Aerobic Training and Tribulus Terrestris Extract on Muscle Atrophy Indices and Oxidant-Pro-Oxidant Balance in Extensor Digitorum Longus Muscles of Type 2 Diabetic Desert Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(9):100-113.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.

Original Article

The Effect of Aerobic Training and Tribulus Terrestris Extract on Muscle Atrophy Indices and Oxidant-Pro-Oxidant Balance in Extensor Digitorum Longus Muscles of Type 2 Diabetic Desert Rats

Meraj Mojdeh: Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Maghsoud Peeri: Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran
(*Corresponding author) m.peeri@iauctb.ac.ir

Mohammad Ali Azarbayjani: Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Performing normal daily activities requires sufficient muscle size and strength, and atrophy has a negative effect on the overall quality of life; So that the decrease in skeletal muscle mass leads to a decrease in human performance, long-term health and low quality of life. Diabetes is associated with the development of secondary complications in various organs, especially skeletal muscle atrophy. The aim of this study was to evaluate the effect of aerobic training and Tribulus terrestris extract on muscle atrophy indices and oxidant-pro-oxidant balance in extensor digitorum longus muscles of type 2 diabetic desert rats. Skeletal muscle is an important organ for glucose storage and metabolism, apart from being a power-producing machine. Considering the important role of exercise and physical activity along with herbal supplements in health and prevention and treatment of complications caused by diabetes, especially in the vital organs of the body such as skeletal muscles, it seems that investigating the effects of sports activities and herbal supplements on The markers of muscle atrophy are of great importance, but according to the investigations, the data in this regard are very limited.

Methods: For implementation of this experimental research, 42 male wistar desert rats 2 months old (average weight 180 ± 20 g) were randomly divided into 7 groups. In order to induce muscle atrophy, Dexamethasone ($750 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) was injected intraperitoneally into desert rats. desert Rats were diabetic using peritoneal injection nicotinamide-STZ. desert Rats in supplemented groups received Tribulus terrestris hydroalcoholic extract with doses of 5 and 10 mg per day by gavage method. Aerobic training was performed on a treadmill at a speed of 23 m/min, 30 min/day, 5 days/week for eight weeks. Using Real Time PCR and PAB methods, plantar muscle tissue was measured using immunoassay method. Shapiro-Wilk test was used to ensure the normal distribution of variables. Two-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc test were used to compare the average changes of the investigated factors in the groups. The significance level was considered as $p \leq 0.05$ in all cases. All statistical operations were performed with SPSS software version 23.

Results: Thistle plant extract ($F=136.305$, $P=0.001$, $\mu=0.901$) and the interaction between training and thistle plant extract ($F=419.949$, $P=0.001$, $\mu=0.966$) had a significant effect on the level of MURF-1 in extensor digitorum longus muscle. . Also, the amount of MURF-1 in the long extensor muscle of the toes with the 5-gram dose was significantly lower than the 10-gram dose group ($P=0.0001$). The results showed that aerobic training, Tribulus extract and combined intervention of Tribulus extract with aerobic training resulted in a significant decrease in the expression genes of Atrogin-1, MURF-1, MiR-29b ($p=0.001$) and significant increase in methyl guanine ($p=0.001$) and oxidant-pro-oxidant balance (PAB) levels in male wistar desert rats exposed to dexamethasone ($p=0.001$).

Conclusion: The findings of this research show that aerobic training led to a significant decrease in Atrogin-1, MURF-1 and MiR-29b gene expression and a significant increase in methylguanin levels and oxidant-prooxidant balance in type 2 diabetic rats. Aerobic exercise has been shown to reduce DNA damage caused by oxidants. Decreased insulin and increased oxidative stress seem necessary for protein breakdown and muscle atrophy. Therefore, negative regulation of anabolic processes as well as oxidative stress occurred in STZ-treated animals can activate muscle proteolysis and increase MuRF1 expression. Regarding the effect of exercise on the expression of MuRF1 in type 2 diabetic samples, there have been few studies that have expressed different mechanisms in the interpretation of the results; The response of MuRF1 to sports activity can change under the influence of various factors, including the subjects' training history, the intensity and duration of the

Keywords

Diabetes,
Aerobic training,
Tribulus terrestris,
Muscle Atrophy,
Oxidant-pro-oxidant
balance

Received: 10/09/2022

Published: 10/12/2022

activity, or the effect of repeated activities. On the other hand, it seems that Hsp25 is one of the mediators that regulate the atrophy pathway, which plays an important role in dealing with atrophy in diabetic conditions, so that increasing its amount due to exercise reduces atrophy and decreases the expression of MuRF1. The mechanism of MiR-29b changes due to exercise training is not well defined. However, miR-29 targets have been found to include IGF-1, p85a, and myoblastosis-related protein B (B-myb) in mouse muscle tissue. IGF-1 and p85a are important regulatory proteins for protein translation via miR-29 to inhibit myogenin and protein synthesis, thereby reducing protein components during muscle atrophy. The effect of exercise on redox status depends on many factors, such as type of exercise, exercise load, as well as age, gender, risk factors, and physical condition. Short-term exercises may increase oxidative stress and imbalance between ROS production and antioxidant agents and ultimately lead to mitochondrial dysfunction. However, long-term exercise may enable ROS detoxification by increasing cellular antioxidant activity or stimulating the expression of genes such as Mn-SOD. Other findings of the research show that milk thistle extract and the interaction of exercise and milk thistle extract reduce Atrogin-1, MURF-1 and MiR-29b gene expression and increase methylguanine levels and oxidant-prooxidant balance in the extensor toes long muscle tissue in rats. He had type 2 diabetes. Other findings of the research show that milk thistle plant extract and the interaction of milk thistle plant extract with the reduction of Atrogin-1, MURF-1 and MiR-29b gene expression and the increase of methylguanine levels and the oxidant-prooxidant balance of the extensor digitorum longus muscle tissue in diabetic rats. Type 2 was included. It has been determined that the extract of this plant has hypoglycemic and hypolipidemic properties in the experimental model of diabetes mellitus induced by streptozotocin. In the present study, the hydroalcoholic extract of thistle plant with doses of 5 and 10 mg per kilogram of body weight per day was able to help reduce muscle atrophy in type 2 diabetic rats, and the lower dose brought more benefits. Due to the presence of large amounts of alkaloids, polyphenols, flavonoids, as well as the antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic properties of milk thistle, and based on the findings of this research, it can be said that the presence of antioxidants in milk thistle can reduce muscle atrophy. The inhibitory effect of regular exercise is also at least partly due to adaptation to oxidative stress. The process of adaptation related to exercise is not only related to the production of ROS levels, but also causes an increase in antioxidants and the activity of enzymes that restore the damage caused by oxidative damage (43). Therefore, the interaction of exercise and milk thistle extract with antioxidant effects and reduction of lipid peroxidation helps to improve muscle atrophy indicators in diabetic subjects. In general, according to the few studies conducted in this regard, research on the effect of sports activity and milk thistle plant extract on muscle atrophy indicators in type 2 diabetic subjects needs more research. There were also limitations in the current research, among which we can mention the lack of measurement of other indicators of oxidative damage. In summary, the results of this research showed that aerobic exercise, milk thistle plant extract and the combined intervention of aerobic exercise and milk thistle plant extract can probably be effective in the treatment of muscle atrophy caused by type 2 diabetes and the intervention of a lower dose of this plant extract can give better results. to be accompanied. Aerobic training, Tribulus extract and combined intervention aerobic training and Tribulus extract can probably be effective in treating muscle atrophy due to type 2 diabetes and lower dose intervention of this herbal extract can have better results. Diabetes leads to changes in cellular proteins, oxidative stress and disruption of the cellular defense system. It seems that the reduction of oxidative stress caused by exercise in diabetic subjects in the present study has a positive effect on the negative regulation of MuRF1 expression at the end of the exercise period. The mechanism of Atrogin-1 changes following exercise is not well defined. Therefore, the interaction of exercise and milk thistle extract with antioxidant effects and reduction of lipid peroxidation helps to improve muscle atrophy indicators in diabetic subjects. In general, according to the few studies conducted in this regard, the research on the effect of sports activity and milk thistle plant extract on muscle atrophy indicators in type 2 diabetic subjects needs more research. There were also some limitations in the current research, including the lack of measurement of other indicators of oxidative damage.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Mojdeh M, Peeri M, Azarbayjani MA. The Effect of Aerobic Training and Tribulus Terrestris Extract on Muscle Atrophy Indices and Oxidant-Pro-Oxidant Balance in Extensor Digitorum Longus Muscles of Type 2 Diabetic Desert Rats. *Razi J Med Sci.* 2022;29(9):100-112.

***This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

مقدمه

شده است که برخی از microRNAs به عنوان مولکول‌های تنظیم‌کننده فرآیند رونویسی در آتروفی عضلات اسکلتی نقش دارند. گزارش شده است که miR-29 با افزایش آتروفی عضلات اسکلتی در پاسخ به محرک‌های مختلف آتروفیک همراه است (۱۳).

انجام فعالیت‌های طبیعی روزانه نیاز به اندازه و قدرت کافی عضله دارد و آتروفی اثر منفی بر کیفیت کلی زندگی دارد؛ به طوری که کاهش توده عضله اسکلتی منجر به کاهش اجرای عملکرد انسان، سلامت بلندمدت و کیفیت پایین زندگی می‌شود. بنابراین روش‌های درمانی مختلفی اعم از دارو درمانی، مکمل‌های گیاهی و اصلاح شیوه زندگی از جمله فعالیت ورزشی منظم برای کاهش آسیب‌های اکسایشی و بهبود آتروفی عضلات اسکلتی توصیه شده است (۱۴ و ۱۵). در همین زمینه اثرات مثبت تمرین بدنی بر بهبود نسبت پرواکسیدان‌ها-آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش نشانگرهای آتروفی عضلانی مانند Atrogin-1، MURF-1 و MiR-29b گزارش شده است (۱۶-۱۸). با این حال، گانکالویس و همکاران نشان دادند که ۸ هفته تمرین هوازی تأثیر معنی‌داری بر Murf-1 و MAFBx/Atrogin-1 در عضله اسکلتی موش‌های صحرایی نداشت (۱۹).

نشان داده شده است که فعالیت بدنی به همراه راهکارهای تغذیه‌ای احتمالاً از طریق کاهش نشانگرهای آسیب بافتی می‌تواند باعث کاهش عوامل خطرزا و در نتیجه بهبود عملکرد اندام‌های مختلف بدن گردد (۲۰). خارخاسک با نام علمی Tribulus terrestris از گیاهان دارویی به حساب می‌آید که با داشتن ترکیبات شیمیایی نظیر آلکالوئید، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و مواد معدنی دارای خاصیت هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک می‌باشد و در درمان دیابت کاربرد دارد (۲۱). همچنین این گیاه دارای فواید مختلفی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. ترکیبات موجود در این گیاه موجب پاکسازی گونه‌های مختلف واکنش‌دهنده اکسیژنی فعال از جمله آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل می‌شوند (۲۲).

عضله اسکلتی جدا از اینکه ماشین تولید نیرو است، یک اندام مهم برای ذخیره سازی گلوکز و سوخت و ساز بدن است. با توجه به نقش مهم ورزش و فعالیت بدنی به همراه مکمل‌های گیاهی در سلامت و پیشگیری و

عضله اسکلتی یکی از بزرگ‌ترین اندام‌های بدن انسان است و به صورت کمی مهم‌ترین بافت درگیر در حفظ هموستاز گلوکز تحت شرایط تحریک انسولین محسوب می‌شود (۱). بنابراین، حفظ یا بهبود توده عضلانی-اسکلتی یک روش کارآمد برای کنترل قند خون است (۲). اعتقاد بر این است که توده عضلانی-اسکلتی با تعادل بین سنتز و تجزیه پروتئین مشخص می‌شود. در واقع، تعادل مثبت پروتئین عضلات (به عنوان مثال استرس مکانیکی) منجر به افزایش توده عضلانی می‌شود. در مقابل، تعادل منفی پروتئین عضلات (به عنوان مثال عدم تحرک عضله) باعث از بین رفتن توده عضلانی می‌شود (۳-۵). آتروفی عضلانی به عنوان کاهش توده عضلانی شناخته می‌شود و طی بیماری‌های مزمن مانند دیابت نوع ۲ می‌تواند باعث آسیب عضلات اسکلتی از طریق اثرات مستقیم بر گلوکز بالا و انسولین پایین شود (۶).

دیابت نوع ۲ یک اختلال متابولیک مزمن است که با افزایش قند خون و مقاومت به انسولین مشخص می‌شود (۷). اگرچه مکانیسم‌های دقیق مشخص نیستند، اما دیابت نوع ۲ باعث آتروفی عضلات اسکلتی و از بین رفتن هسته سلول‌های عضلانی می‌شود (۸). افزایش تخریب پروتئین عضلات اسکلتی یکی از عوامل از دست دادن توده عضلانی ناشی از دیابت نوع ۲ است. نشان داده شده است که سیستم یوبیوئیتین پروتئازوم طی آتروفی در عضله اسکلتی فعال می‌شود. بنابراین، تخریب پروتئین به واسطه سیستم یوبی کوئیتین-پروتئوزوم ممکن است با آتروفی عضلات اسکلتی ناشی از دیابت نوع ۲ مرتبط باشد (۹). ژن‌های مختلفی از جمله MuRF1 و Atrogin-1 جزء کلیدی سیستم یوبی کوئیتین-پروتئوزوم هستند که توسط عوامل رونویسی مربوط به آتروفی فعال می‌شوند (۱۰). MuRF1 و Atrogin-1 به عنوان دو لیگاز E3 ubiquitin ویژه عضلانی شناخته می‌شوند که در عضله اسکلتی تحت شرایط آتروفی عضلانی افزایش می‌یابند (۱۱). مطالعات نشان داده‌اند که در جوانان دیابتی Atrogin-1 و MuRF1 mRNA در عضله اسکلتی افزایش می‌یابد که حاکی از نقش احتمالی لیگاز E3 در آتروفی عضلانی-اسکلتی ناشی از دیابت می‌باشد (۱۲). از طرفی، مشخص

اصول اخلاقی مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی (برابر پروتکل هلیسنکی ۲۰۰۶) و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. در این مطالعه برای القای دیابت نوع ۲، از روش تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید- استرپتوزوتوسین (Streptozotocin-STZ) با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. ۷۲ ساعت پس از القای دیابت، غلظت گلوکز خون با استفاده از نمونه های خونی جمع آوری شده از دم حیوانات و با استفاده از گلوکومتر (مدل mini-۰۱، ساخت کشور ژاپن) اندازه گیری شد. قند خون بالای ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۳). جهت القای آتروفی عضلانی دگزامتازون (۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) به صورت داخل صفاقی بین ساعت ۱۰ تا ۱۱ صبح (گروه های ۱ تا ۶) به موش ها تزریق شد. دوز و دوره درمان دگزامتازون بر اساس روش فاپی و همکاران اجرا شد (۲۴). موش ها در گروه های مکمل، عصاره هیدروالکلی گیاه خارخاسک با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز به روش گاوژ در یافت کردند (۲۵). گروه های تمرین پس از شناسازی ۵ روزه، تمرینات هوازی روی تردمیل با سرعت ۲۳ متر در دقیقه، ۳۰ دقیقه در روز، ۵ روز در هفته و به مدت هشت هفته انجام دادند. پروتکل تمرین ورزشی حاضر بین ساعت ۶،۰۰ و ۸،۰۰ صبح اجرا شد (۲۶) (جدول ۱).

۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، موش ها به وسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شده، سپس نمونه بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا موش ها جمع آوری شد. بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا موش ها جدا شده و بعد از شستن با محلول Phosphate-buffered saline (PBS) بلافاصله در نیتروژن مایع (۱۹۶- درجه سانتی گراد) منجمد شده و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد ذخیره شد. میزان غلظت 6-methylguanine با استفاده از کیت الایزا شرکت DLdevelop کشور کانادا با دامنه تشخیص

درمان عوارض ناشی از دیابت به ویژه در اندام های حیاتی بدن همچون عضلات اسکلتی به نظر می رسد بررسی اثرات فعالیت های ورزشی و مکمل های گیاهی بر نشانگرهای آتروفی عضلانی از اهمیت بالایی برخوردار باشد، اما با توجه به بررسی های انجام شده، داده ها در این خصوص بسیار محدود است. بنابراین تحقیق حاضر قصد دارد به بررسی این سوال بپردازد که آیا ۸ هفته تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک بر نشانگرهای آتروفی عضلانی و تعادل اکسیدان-پرواکسیدان در عضله تند انقباض باز کننده طویل انگشتان پای موش های صحرایی دیابتی نوع ۲ تاثیر دارد؟

روش کار

در یک مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی نر دو ماهه از نژاد ویستار (میانگین وزن 180 ± 20 گرم) از موسسه انستیتو پاستور تهران خریداری شدند. پس از انتقال موش ها به حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، به مدت یک هفته جهت تطابق با محیط جدید، بدون دریافت هیچ نوع مداخله ای در قفس های ویژه نگهداری شدند. پس از یک هفته آشنایی با محیط جدید، موش ها به صورت تصادفی به ۷ گروه شامل (۱) کنترل (مسموم شده با دگزامتازون بدون دریافت عصاره گیاه خارخاسک)، (۲) تمرین هوازی، (۳) تمرین هوازی - عصاره گیاه خارخاسک ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، (۴) تمرین هوازی - عصاره گیاه خارخاسک ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، (۵) عصاره گیاه خارخاسک ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، (۶) عصاره گیاه خارخاسک ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز، (۷) کنترل سالم (هر گروه ۶ سر موش) تقسیم شدند. گروه های مورد مطالعه در قفسه های مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی که کف آن ها با تراشه های تمیز چوب پوشانده شده بود، تقسیم شدند. دمای اتاق ۲۳-۲۵ درجه سانتی گراد؛ رطوبت معادل ۴۰-۵۰ درصد، سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ بود و همگی به شکل آزادانه به غذای استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی و آب دسترسی داشتند. کلیه

جدول ۱- پروتکل تمرینی هشت هفته‌ای آزمودنی‌ها

هفته	سرعت (متر در دقیقه)	VO ₂ max	مدت (دقیقه)	وهله‌های	تمرینی (در هفته)
اول	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
دوم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
سوم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
چهارم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
پنجم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
ششم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
هفتم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵
هشتم	۲۳	۰/۵۰٪ تا ۰/۶۰٪	۳۰	۵	۵

میزان MURF-1 عضله طویل بازکننده انگشتان پا داشت. همچنین میزان MURF-1 عضله طویل بازکننده انگشتان پا با دوز ۵ گرم به طور معناداری کمتر از گروه دوز ۱۰ گرم بود ($P=0/0001$) (شکل ۲).

تمرین ($F=114/845$; $P=0/001$; $\mu=0/793$)، عصاره گیاه خارخاسک ($F=146/970$; $P=0/001$; $\mu=0/907$) و تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک ($\mu=0/969$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=476/047$) اثر معنی‌داری بر میزان بیان ژن Atrogin-1 عضله طویل بازکننده انگشتان پا داشت. همچنین میزان Atrogin-1 عضله طویل بازکننده انگشتان پا با دوز ۵ گرم به طور معناداری کمتر از گروه دوز ۱۰ گرم بود ($P=0/0001$) (شکل ۳).

تمرین ($F=29/578$; $P=0/001$; $\mu=0/496$)، عصاره خارخاسک ($F=320/205$; $P=0/001$; $\mu=0/955$) و تعامل تمرین و عصاره خارخاسک ($\mu=0/993$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=2004/428$) اثر معنی‌داری بر میزان MiR-29b عضله طویل بازکننده انگشتان پا داشت. همچنین میزان MiR-29b عضله طویل بازکننده انگشتان پا با دوز ۵ گرم به طور معناداری کمتر از گروه دوز ۱۰ گرم بود ($P=0/0001$) (شکل ۴).

تمرین ($F=1027/283$; $P=0/001$; $\mu=0/972$)، عصاره خارخاسک ($\mu=0/982$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=811/651$) و تعامل تمرین و عصاره خارخاسک ($\mu=0/995$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=2860/940$) اثر معنی‌داری بر میزان PAB عضله طویل بازکننده انگشتان پا داشت. همچنین میزان PAB عضله طویل بازکننده انگشتان پا با دوز ۵ گرم به طور معناداری

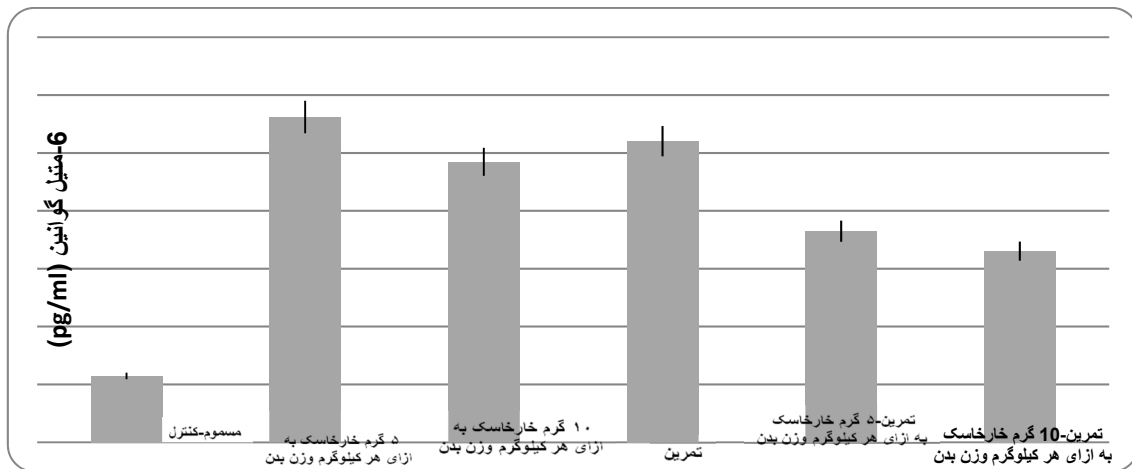
۱۲۵-۵۰۰۰ پیکوگرم بر میلی لیتر، حساسیت ۲۷ پیکوگرم بر میلی لیتر و ضریب تغییرات ۰/۱۰٪- ۰/۱۲٪، میزان بیان ژن MURF-1، Atrogin-1 و MiR-29b با استفاده از روش Real Time PCR و PAB بافت عضله نعلی با استفاده از روش ایمونوسنجی اندازه‌گیری شد. برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات عوا مل مورد بررسی در گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم افزارهای SPSS با نسخه ۲۳ به اجرا درآمد.

یافته‌ها

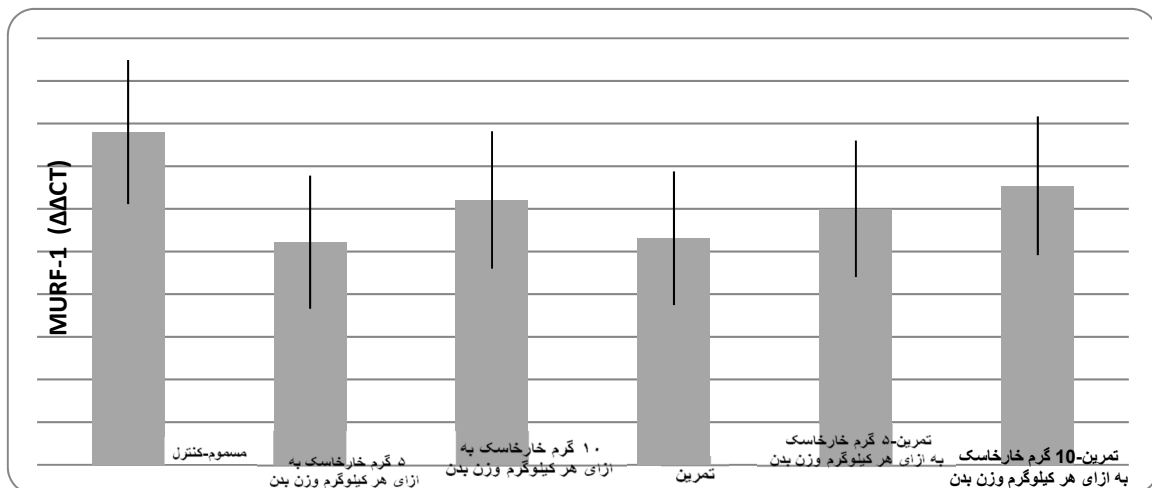
نتایج نشان داد تمرین ($\mu=0/159$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=5/663$)، عصاره گیاه خارخاسک ($\mu=0/893$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=125/446$) و تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک ($\mu=0/978$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=654/079$) اثر معنی‌داری بر میزان متیل گوانین عضله طویل بازکننده انگشتان پا داشت. همچنین میزان متیل گوانین عضله طویل بازکننده انگشتان پا با دوز ۵ گرم به طور معناداری بیشتر از گروه دوز ۱۰ گرم بود ($P=0/0001$) (شکل ۱).

همچنین تمرین ($\mu=0/735$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=83/141$)، عصاره گیاه خارخاسک ($\mu=0/901$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=136/305$) و تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک ($\mu=0/966$ ؛ $P=0/001$ ؛ $F=419/949$) اثر معنی‌داری بر

بیشتر از گروه دوز ۱۰ گرم بود ($P=0/0001$) (شکل ۵). هوایی با کاهش آسیب DNA ناشی از اکسیدانت‌ها



شکل ۱- غلظت متیل گوانین بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا در گروه‌های مورد مطالعه. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

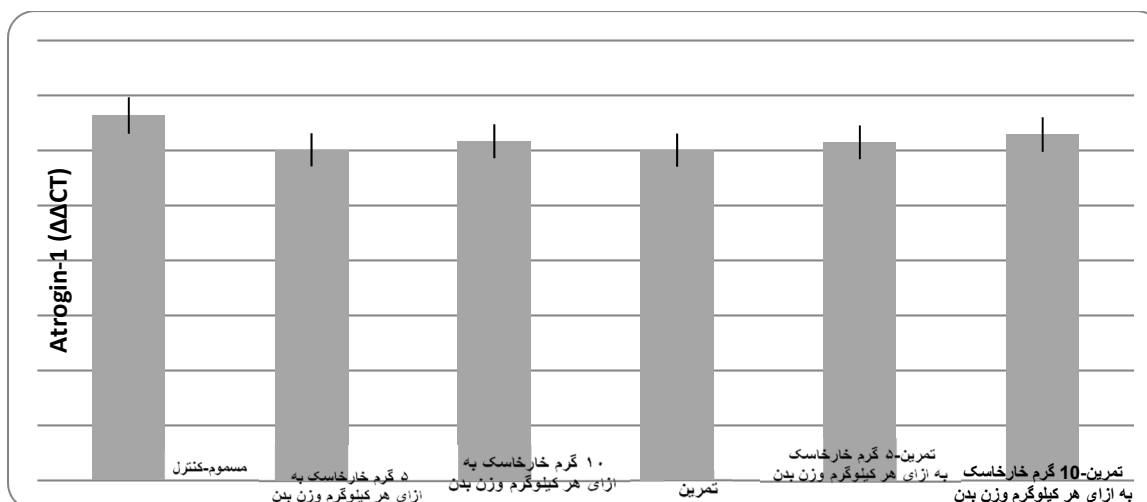


شکل ۲- میزان بیان ژن MURF-1 عضله طویل بازکننده انگشتان پا در گروه‌های مورد مطالعه. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

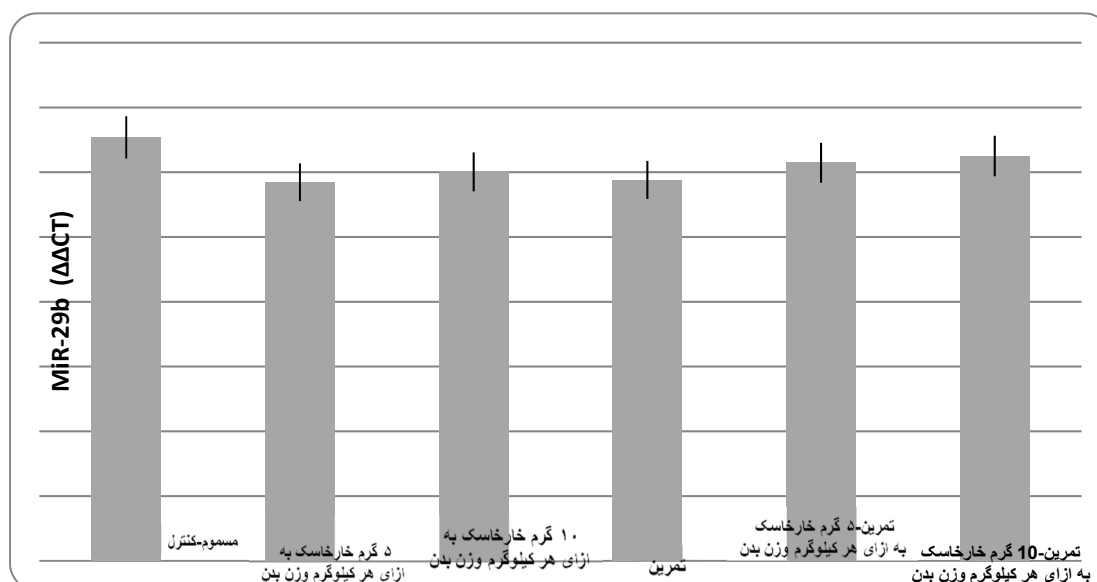
بحث

همراه است (۱۶). آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداتیو به DNA، پروتئین‌ها و سایر مولکول‌ها می‌تواند باعث پیشرفت و تشدید بیماری شود (۲۷). پراکسیداسیون لیپیدی با اختلال در عمل و ساختمان غشاهای بیولوژیکی، آسیب‌های سلولی و بافتی مختلفی را ایجاد و دارای نقش بسیار مؤثری در پاتوژنز بسیاری

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که تمرین هوایی منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن Atrogin-1، MURF-1 و MiR-29b و افزایش معنی‌دار سطوح متیل گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت در موش‌های صحرائی دیابتی نوع ۲ شد. نشان داده شده است که تمرین



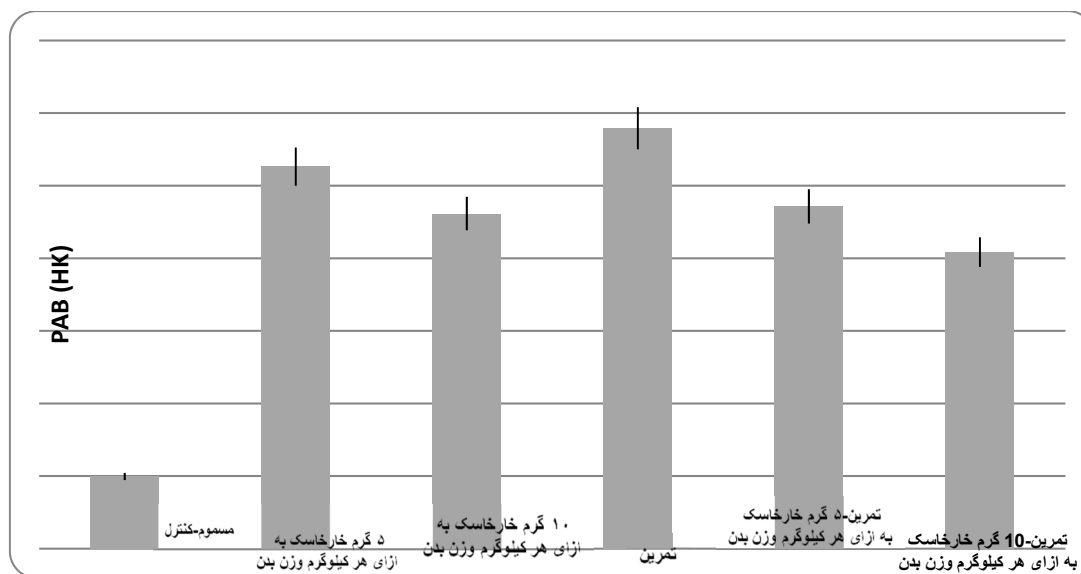
شکل ۳- بیان ژن Atrogin-1 بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا در گروه‌های مورد مطالعه. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.



شکل ۴- بیان MiR-29b بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا در گروه‌های مورد مطالعه. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

از بیماری‌ها می‌باشد (۲۸). کاهش معنی‌دار بیان ژن Atrogin-1 (۲۹)، MURF-1 (۳۰)، MiR-29b (۱۷) و بهبود تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت (۱۶) در موش‌های صحرائی دیابتی نوع ۲ در تحقیق حاضر با نتایج مطالعات قبلی همخوان می‌باشد. در شرایط دیابت هیپرگلیسمی مداوم به شکل معنی‌داری تعادل پرواکسیدان-آنتی‌اکسیدان را به هم می‌ریزد و

از بیماری‌ها می‌باشد (۲۸). کاهش معنی‌دار بیان ژن Atrogin-1 (۲۹)، MURF-1 (۳۰)، MiR-29b (۱۷) و بهبود تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت (۱۶) در موش‌های صحرائی دیابتی نوع ۲ در تحقیق حاضر با نتایج مطالعات قبلی همخوان می‌باشد. در شرایط دیابت هیپرگلیسمی مداوم به شکل معنی‌داری تعادل پرواکسیدان-آنتی‌اکسیدان را به هم می‌ریزد و



شکل ۵- میزان PAB بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا در گروه‌های مورد مطالعه. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شده است.

حال، نشان داده شده است که مهار شدن Atrogin-1 به سطح گلوکز خون بستگی دارد (۳۲). بنابراین احتمالاً در تحقیق حاضر نیز تمرین هوازی با کاهش سطوح گلوکز خون به مهار Atrogin-1 در بافت عضلانی موش‌های صحرایی دیابتی کمک کرده است. Atrogin-1 و پروتئین foxo در شرایط آتروفی افزایش می‌یابند و برخی میکرو RNAها خاص ضد آتروفی دارد. میکرو RNAها از طریق چسپیدن UTR ۳ از ترجمه رونوشت آتروژن در شرایط آتروفی جلوگیری می‌کنند. همچنین تنظیم رونویسی Atrogin-1 توسط مسیر سیگنالینگ وابسته به AKT Foxo انجام می‌شود (۳۳). کاهش بیان ژن Atrogin-1 در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ در تحقیق حاضر متعاقب تمرینات هوازی می‌تواند ناشی از شدت و مدت مناسب فعالیت و در نتیجه فعال سازی مسیرهای فوق باشد. کاهش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی ذاتی به دنبال تمرین هوازی می‌تواند کاهش بیان ژن Atrogin-1 در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ را در گروه‌های تمرین کرده توجیه کند. از آنجا که شواهد اخیر دلالت بر استرس اکسیداتیو به عنوان تنظیم کننده اصلی مسیرهای سیگنالینگ سلول آتروفی

در رابطه با اثر تمرین بر بیان MuRF1 در نمونه‌های دیابتی نوع ۲ پژوهش‌های کمی صورت گرفته است که در تفسیر نتایج سازوکارهای متفاوتی را بیان کرده‌اند؛ پاسخ MuRF1 به فعالیت ورزشی می‌تواند تحت تاثیر عوامل گوناگونی از جمله سابقه تمرینی آزمودنی‌ها، شدت و مدت فعالیت و یا تاثیر فعالیت‌های تکراری تغییر کند. از طرفی، به نظر می‌رسد Hsp25 از واسطه‌های تنظیم کننده مسیر آتروفی است که نقش مهمی در مقابله با آتروفی در شرایط دیابتی دارد به گونه‌ای که افزایش مقدار آن در اثر تمرین سبب کاهش آتروفی و کاهش بیان MuRF1 می‌گردد (۲۹). بنابراین تمرین هوازی می‌تواند راهکار مناسبی برای در مان آتروفی طی دیابت باشد.

دیابت منجر به تغییر در پروتئین‌های سلولی، استرس اکسیداتیو و اختلال در سیستم دفاعی سلولی می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین در آزمودنی‌های دیابتی در تحقیق حاضر، اثر مثبتی در تنظیم منفی بیان MuRF1 در پایان دوره تمرینی داشته باشد. مکانیسم تغییرات Atrogin-1 متعاقب تمرین به خوبی مشخص نشده است. با این

دارد (۳۴).

مکانیسم تغییرات MiR-29b در اثر تمرینات ورزشی به درستی مشخص نشده است. با این حال مشخص شده است که اهداف miR-29 شامل IGF-1، p85a و پروتئین B مرتبط با مایلوبلاستوز (B-myb) در بافت عضلانی موش‌ها می‌باشد. IGF-1 و p85a پروتئین‌های نظارتی مهمی برای ترجمه پروتئین از طریق miR-29 برای مهار سنتز میوژنین و پروتئین هستند و در نتیجه باعث کاهش اجزای پروتئین طی آتروفی عضله می‌شوند (۳۵). بنابراین احتمالاً تمرین هوازی در تحقیق حاضر از طریق تاثیر بر اهداف miR-29 یعنی IGF-1، p85a و پروتئین B مرتبط با مایلوبلاستوز (B-myb) در بافت عضله اسکلتی طویل بازکننده انگشتان پا در موش‌های صحرایی دیابتی منجر به کاهش miR-29 شده است (۳۶).

تأثیر تمرین روی شرایط ردوکس بستگی به بسیاری از عوامل، مانند نوع تمرین، بار تمرین، و همچنین سن، جنس و عوامل همسو با خطر و شرایط بدنی دارد. تمرینات کوتاه‌مدت ممکن است باعث افزایش استرس اکسایشی و عدم تعادل بین تولید ROS و عوامل آنتی اکسیدان شده و نهایتاً منجر به اختلال در میتوکندری می‌شوند. با این حال ورزش طولانی مدت ممکن است سم‌زدایی ROS را با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی سلولی یا تحریک بیان ژن‌هایی مانند Mn-SOD امکان پذیر سازد (۳۷). احتمالاً شدت و مدت تمرینات هوازی تجویز شده در برنامه حاضر مطلوب بوده و منجر به بهبود PAB بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا شده است. ظرفیت ضد اکسایشی پس از تمرینات هوازی افزایش می‌یابد کاهش این ظرفیت احتمالاً مربوط به افزایش استفاده از آن و تخریب در سیستم دفاع درون سلولی است (۱۶). لذا، به نظر می‌رسد تمرینات هوازی در تحقیق حاضر می‌تواند در بهبود فرایند متابولیسم اکسایشی در درون سلول اثرگذار باشد که پیامد آن افزایش دفاع ضد اکسایشی و سازوکارهای مرتبط با آن بوده است. نشان داده شده است که تمرینات استقامتی، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در عضلات اسکلتی می‌شود و احتمالاً تمرینات ورزشی با

شدت پایین تا متوسط در تنظیم فعالیت این آنزیم‌ها نقش دارند (۳۸).

مخالف با یافته‌های تحقیق حاضر، در تحقیق شیبانی و همکاران پس از تمرین با شدت بالا در عضله نعلی موش‌های نر افزایش بیان ژن MuRF1 (۱۴)، مرادی و همکاران پس از ۸ هفته تمرین استقامتی، افزایش بیان ژن Arogin-1 (۳۹) و سوسی و همکاران عدم تغییر miR-29 در موش‌های ماده در پاسخ به تمرینات شنای هوازی کم شدت (۴۰) گزارش شده است. تناقض یافته‌های فوق با یافته تحقیق حاضر احتمالاً به نوع آزمودنی‌ها، شرایط بیماری و مدت زمان تمرین مربوط می‌باشد. کاهش بیان ژن MuRF1، Arogin-1 و miR-29 با تمرینات ورزشی ممکن است در برابر تخریب میوپروتئین و کاهش عملکرد انقباضی ذاتی عضله محافظت ایجاد کند. همچنین فعالیت ورزشی می‌تواند با اثر بر مسیرهای درون سلولی هایپرتروفی فیزیولوژیک AKT منجر به تغییر بیان ژن میکرو RNA ها شود. از نظر بالینی، این یافته‌ها در توانبخشی جسمی دارای اهمیت می‌باشند (۳۰).

دیگر یافته‌های تحقیق نشان می‌دهد عصاره گیاه خارخاسک و تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک با کاهش بیان ژن MURF-1، Atrogin-1 و MiR-29b و افزایش سطوح متیل گوانین و تعادل اکسیدانت-پرواکسیدانت بافت عضله طویل بازکننده انگشتان پا در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ همراه بود. مشخص شده عصاره گیاه خارخاسک دارای خاصیت هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک در مدل تجربی دیابت قندی القاء شده توسط استرپتوزوتوسین می‌باشد (۲۱). گیاه خارخاسک دارای فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها است. نشان داده شده است که تجویز خوراکی ساپونین گیاه خارخاسک منجر به کاهش خواص مخرب رادیکال‌های آزاد در سلول‌های زنده می‌شوند (۴۱). تجویز خوراکی خارخاسک می‌تواند برخی از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو را در موش‌های صحرایی دیابتی کاهش دهد و در جلوگیری از برخی بیماری‌های ناشی از تشدید استرس اکسیداتیو مؤثر می‌باشد (۴۲).

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری گرایش فیزیولوژی ورزشی است که با تایید کمیته اخلاق با شماره IR.SSRC.REC ۱۳۹۹،۰۲۷ در پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز اجرا گردید. بدین وسیله از کلیه افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Perry BD, Calow 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. *Exerc Immunol Rev.* 2016;22:94–109.
2. Srikanthan, P, Karlamangla AS. Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes. Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(9):2898–2903.
3. Baehr LM, West DW, Marshall AG, Marcotte GR, Baar K, Bodine SC. Musclespecific and age-related changes in protein synthesis and protein degradation in response to hindlimb unloading in rats. *J Appl Physiol.* 2017;122(5):1336–1350.
4. Damas F, Phillips S, Vechin FC, Ugrinowitsch C. A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Med.* 2015;45(6):801–807.
5. Ogasawara R, Fujita S, Hornberger TA, Kitaoka Y, Makanae Y, Nakazato K, Naokata I. The role of mTOR signalling in the regulation of skeletal muscle mass in a rodent model of resistance exercise. *Sci Rep.* 2016;6:31142.
6. Lambertucci AC, Lambertucci RH, Hirabara SM, Curi R, Moriscot AS, Alba-Loureiro TC, et al. Glutamine supplementation stimulates protein-synthetic and inhibits protein-degradative signaling pathways in skeletal muscle of diabetic rats. *PLoS One.* 2012;7:e50390.
7. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(Suppl 2):S157–S163.
8. Katta A, Kundla S, Kakarla SK, Wu M, Fannin J, Paturi S, Blough ER. Impaired overload-induced hypertrophy is associated with diminished mTOR signaling in insulin-resistant skeletal muscle of the

در تحقیق حاضر نیز عصاره هیدروالکلی گیاه خارخاسک با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز توانست به کاهش آتروفی عضلانی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ کمک کند و دوز کمتر مزایای بیشتری به همراه داشت. با توجه به وجود مقادیر فراوان آلکالوئید، پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی، هیپوگلیسمیک و هیپولیپیدمیک خارخاسک که ذکر شد و بر اساس یافته‌های حاصل از این پژوهش می‌توان گفت که وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه خارخاسک می‌تواند بر کاهش آتروفی عضلانی موثر باشد. اثر بازدارندگی تمرین منظم نیز حداقل در بخشی ناشی از سازگاری به فشار اکسیداتیو می‌باشد. فرایند سازگاری مرتبط با تمرین فقط مربوط به تولید سطوح ROS نمی‌باشد، بلکه ابتدا سبب افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و فعالیت آنزیم‌ها می‌شود که تخریب ناشی از اکسیداتیو را بازسازی می‌نماید (۴۳). بنابراین تعامل تمرین و عصاره گیاه خارخاسک با اثرات آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی به بهبود شاخص‌های آتروفی عضلانی در آزمودنی‌های دیابتی کمک می‌کند. در مجموع، با توجه مطالعات اندک انجام شده در این رابطه، تحقیق روی تأثیر فعالیت ورزشی و عصاره گیاه خارخاسک بر شاخص‌های آتروفی عضلانی در آزمودنی‌های دیابتی نوع ۲ نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر شاخص‌های آسیب‌اکسایشی اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی، عصاره گیاه خارخاسک و مداخله ترکیبی تمرین هوازی و عصاره گیاه خارخاسک احتمالاً می‌تواند در درمان آتروفی عضلانی ناشی از دیابت نوع ۲ اثرگذار باشد و مداخله دوز کمتر این عصاره گیاهی می‌تواند نتایج بهتری به همراه داشته باشد.

- obese Zucker rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;299(6):R1666–R1675.
9. Wang X, Hu Z, Hu J, Du J, Mitch WE. Insulin resistance accelerates muscle protein degradation: Activation of the ubiquitin-proteasome pathway by defects in muscle cell signaling. *Endocrinology.* 2006;147(9):4160–4168.
10. Zhao J, Brault JJ, Schild A, Cao P, Sandri M, Schiaffino S, et al. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab.* 2007;6:472–483.
11. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(6):469-84.
12. Dehoux M, Van Beneden R, Pasko N, Lause P, Verniers J, Underwood L, et al. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology.* 2004;145:4806–4812
13. Li J, Chan MC, Yu Y, Bei Y, Chen P, Zhou Q, et al. miR-29b contributes to multiple types of muscle atrophy. *Nat Commun.* 2017;8:15201.
14. 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- J Med.* 2018;20(1):31-39.
15. Tanaka S, Obatake Taishi, Koichi Hoshino, Takao Nakagawa, Influence of exercise intensity on atrophied quadriceps muscle in the rat. *J Phys Ther Sci.* 2015 Nov;27(11):3445–3450.
16. Carraro E, Schilirò T, Biorci F, Romanazzi V, Degan R5, Buonocore D, et al. Physical Activity, Lifestyle Factors and Oxidative Stress in Middle Age Healthy Subjects. *Int J Environ Res Public Health.* 2018 Jun 1;15(6).
17. Massart J, Katayama M, Krook A. microManaging glucose and lipid metabolism in skeletal muscle: role of microRNAs. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1861(12):2130–2138
18. Zolfeghari MR, Nemati GR, Fattahi A. The Effect of Eight Weeks of High Intensity Interval Training on Ubiquitin-Proteasome System in Fast Twitch Muscle of Post Myocardial Infarction Rats. *Sport Physiol.* 2020;11(44):89-106
19. Gonçalves NG, Cavaletti SH, Pasqualucci CA, Arruda Martins M, Lin CJ. Fructose ingestion impairs expression of genes involved in skeletal muscle's adaptive response to aerobic exercise. *Genes Nutr.* 2017 12:33-44.
20. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003;189(1-2):41-54.
21. El-Tantawy WH, Hassanin LA. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of alcoholic extract of *Tribulus alatus* in streptozotocin-induced diabetic rats: a comparative study with *T. terrestris*. *Indian J Exp Biol.* 2007;45(9):785-90.
22. Shalaby MA, Hammouda AA. Assessment of protective and anti-oxidant properties of *Tribulus terrestris* fruits against testicular toxicity in rats. *J Intercult Ethnopharmacol.* 2014 Jul-Sep;3(3):113-8.
23. Shirwaikar A, Rajendran K, Barik R. Effect of aqueous bark extract of *Garuga pinnata* Roxb. in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol.* 2006;107(2):285-90
24. Fappi A, Neves JC, Sanches LN, Massaroto e Silva PV, Sikusawa GY, et al. Skeletal Muscle Response to Deflazacort, Dexamethasone and Methylprednisolone. *Cells.* 2019;8:406.
25. Gauthaman K, Ganesan AP. The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction--an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine.* 2008;15(1):44-54.
26. Mallikarjuna K, Shanmugam KR, Nishanth K, Wu MC, Hou CW, Kuo CH, et al. Alcohol-induced deterioration in primary antioxidant and glutathione family enzymes reversed by exercise training in the liver of old rats. *Alcohol.* 2010;44(6):523-9.
27. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
28. Kondo T, Hirose M, Kageyama K. Roles of oxidative stress and redox regulation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2009;16(5):532-8.
29. Khoramshahi S, Kordi MR, Delfan M, Gaeini A, Safa M. Effect of Five Weeks of High-Intensity Interval Training on the Expression of miR-23a and Atrogin-1 in Gastrocnemius Muscles of Diabetic Male Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2017;18(5):361-367
30. Liu HW, Sue-Joan Chang. Moderate Exercise Suppresses NF-κB Signaling and Activates the SIRT1-AMPK-PGC1α Axis to Attenuate Muscle Loss in Diabetic db/db Mice. *Front Physiol.* 2018;9:636-48.
31. 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):584-93
32. Dehoux M, Van Beneden R, Pasko N, Lause P, Verniers J, Underwood L, et al. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology.* 2004;145:4806-12.
33. Antoniou X, Falconi M, Di Marino D, Borsello T. JNK3 as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. *J Alzheimer Dis.* 2011;24:633–642.
34. Powers SK, Kavazis AN, McClung JM. Oxidative stress and disuse muscle atrophy. *J Appl Physiol.* 2007;102:2389-2397.
35. Smith SS, Kessler CB, Shenoy V, Rosen CJ,

Delany AM. IGF-I 30 untranslated region: Strain-specific polymorphisms and motifs regulating IGF-I in osteoblasts. *Endocrinology*. 2013;154:253–262.

36. Russell AP, Foletta VC, Snow RJ, et al. Skeletal muscle mitochondria: A major player in exercise, health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840:1276-84.

37. Park JW, Kim MH, Eo SJ, Lee EH, Kang JS, Chang HK, et al. Maternal exercise during pregnancy affects mitochondrial enzymatic activity and biogenesis in offspring brain. *Int J Neurosci*. 2013;123(4):253-64.

38. Hakkakdokht E, Salami F, Rajabi H, Hedayati M. The effect of aerobic exercise and vitamin E and C supplementation on GSH and antioxidative enzymes (GPX and SOD) in pregnant rats. *Olympic J*. 2011;19(3):47-56.

39. Moradi Y, Zehsaz F, Nourazar MA Concurrent exercise training and Murf-I and Atrogin-I gene expression in the vastus lateralis muscle of male Wistar rats *Apunts Sports Med*. 2020;55(205):21-27

40. Soci UPR, Fernandes T, Hashimoto NY. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. *Physiol Genom*. 2011;43:665-73.

41. Zhang SJ, Qu WJ and Zhong SY. Inhibitory effects of saponins from *T. terrestris* on alphasglucosidase in small intestines of rats. *Zhongguo China J. Chin Mater Med*. 2006;31:910-3.

42. Roghani M, Arbab-Soleymani S. The Effect of Oral Feeding of Tribulus Terrestris Fruit on Some Markers of Oxidative Stress in the Brain of Diabetic Rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2013;21(2):127-135.

43. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Rad Biol Med*. 2008;44:153–159.