مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد و شهریور ۱۴۰۱؛ دوره ۲۲ (شماره ۳) ۱۶۴-۱۵۵

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرین مقاومتی در شرایط هایپوکسی بر شاخص‌های متابولیکی و نوسازی بافت عضلانی در موش‌های نر ویستار مبتلا به دیابت نوع دو

فرشاد صادقی[۱]، یاسر کاظم‌زاده[۱*]، عبدالعلی بنایی‌فر[۱]

چکیده

مقدمه: میوپاتی دیابتیک یکی از مشکلات عمده در افراد دیابتی نوع دو است. دو پروتئین‌های PAX7 و PGC-1α از جمله پروتئین‌های مؤثر در نوسازی و متابولیسم کربوهیدرات‌ها در عضلات اسکلتی هستند. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین مقاومتی در شرایط هایپوکسی برمحتوای پروتئین‌های PAX 7 و PGC-1α در عضله نعلی رت‌های دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها: در این تحقیق ٤٠ سر رت نر ویستار ۱۰هفته‌ای پس از القا دیابت نوع دو، به پنج گروه کنترل سالم(HC)، کنترل دیابتی(DC)، تمرین مقاومتی (RT)، تمرین مقاومتی در هایپوکسی (RT-HPX) و گروه هایپوکسی (HPX) تقسیم شدند. تمرین‌های مقاومتی به‌مدت ۸ هفته، ۵ جلسه در هفته، در گروه‌های تمرین مقاومتی و تمرین مقاومتی در هایپوکسی انجام شد. پس از اتمام تمرین‌ها، نمونه‌ی بافت از عضله‌ی نعلی انجام و جهت اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های PAX 7 و PGC-1α مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، بین گروه‌های تحقیق در هر دو پروتئین‌های PAX7 و PGC-1α تفاوت معنی‌داری (P=۰/۰۰۰۱) وجود دارد. القای دیابت منجر به کاهش معنی‌دار PAX7 شد اما گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم نداشت (P= ۰/٤٥١). مقادیر پروتئین PGC1-α نیز در گروه القای دیابت کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل داشت (P= ۰/۰۱)، اما تمرین در هایپوکسی مقادیر آن را به بیشتر از گروه کنترل سالم افزایش داد (P= ۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: می‌توان به تمرینات مقاومتی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی موقت و غیرفعال نیز به‌عنوان یک راهکار پیشنهادی در بهبود شاخص‌های مرتبط به بیماری دیابت نوع دو در انسان توجه کرد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، دیابت نوع دو، هایپوکسی، PAX7، PGC-1α

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران

* ***نشانی:*** تهران، اسلام‌شهر، میدان نماز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلام‌شهر، تلفن: ۰۹۱۲۲۲۰۵۹۷۳، پست الکترونیک: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۶ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۱/۰۴/۰۸** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۴**

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

مقدمه

عضلات اسکلتی به‌عنوان محل اصلی جذب گلوکز تحریک شده توسط انسولین، محرک اصلی مقاومت به انسولین در کل بدن محسوب می‌شوند. اختلال در نوسازی بافت عضلانی به‌عنوان بزرگترین بافت بدن که نقش اساسی در تنظیم متابولیسم انرژی ایفا می‌کند، یکی از عوامل محرک بیماری دیابت نوع دو بوده که در گذشته کمتر به آن پرداخته شده است. اگرچه مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی برگشت‌پذیر است، اما تخریب سلول β اینطور نیست [۱]. سلول‌های ماهواره‌ای به‌عنوان سلول های بنیادی عضله‌ی اسکلتی، مسئول نوسازی بافت عضلانی به شمار می‌روند. مشاهده شده است که با افزایش سن سرعت نوسازی بافت عضلانی کاهش می‌یابد که با اختلال در متابولیسم انرژی همراه است؛ این موضوع از لحاظ فیزیولوژیکی به اختلال در سلول‌های ماهواره‌ای و اختلال میتوکندریایی مرتبط می‌شود [۱]. Pax7[1] یکی از مارکرهای شناخته شده و تأثیرگذار در فعال سازی و عملکرد سلول‌های ماهواره‌ای است [۲]. پس از فعال سازی سلول‌های ماهواره‌ای، عواملی از حلقه‌ی رونویسی مانند *myf-5*، *PAX7* و *MyoD1* منجر به شرکت این عوامل در مراحل تکامل سلول عضلانی می‌شوند. ابتدا *PAX7* و *MyoD1* در سلول‌های پیش‌ساز عضله فعال می‌شوند که بیان هم‌زمان این دو عامل به‌عنوان شاخص فعال شدن سلول‌های ماهواره‌ای شناخته می‌شود. سپس مایوژنین[2] در سلول‌های تمایز یافته تولید می‌شود [۳، ٤].

PAX7 به‌عنوان پروتئینی در بالادست MyoD[3] و دیگر شاخص های میوژنیک قرار می‌گیرد و کاهش در بیان PAX7 موجب قطع بیان MyoD می‌شود. پروتئین دیگری به نام فاکتور مایوژنیک ۵ (Myf5)[4] بدون حضور PAX7 نیز بیان می‌شود اما نتیجه‌ی نهایی، آپوپتوز میوتوب‌های به‌وجود آمده می‌شود [۵]. لذا به‌نظر می‌رسد PAX7 یک تنظیم کننده‌ی کلیدی سلول‌های ماهواره‌ای و فرایند میوژنز است. بدون حضور PAX7 سلول های ماهواره‌ای به چربی و یا بافت فیبروزی تمایز پیدا می‌کنند [۱]. این موضوع از آنجا بسیار حائز اهمیت است که PAX7 موجب حفظ و یا افزایش استخر سلول‌های ماهواره‌ای (تعداد سلول‌های ماهواره‌ای) نیز می‌شود [٦]. همچنین مشاهده شده است که سه هفته رژیم غذایی با محدود کردن کالری دریافتی منجر به افزایش PAX7 می‌شود؛ این موضوع می‌تواند نشان از ارتباط متابولیسم انرژی سلولی و نوسازی سلول‌های ماهواره‌ای و بافت عضلانی باشد [۷].

از طرفی مطالعات نشان داده اند اختلال در متابولیسم چربی‌ها که ناشی از کاهش عملکرد میتوکندریایی است به‌عنوان یکی از عوامل احتمالی مهم در بروز بیماری دیابت نوع دو به شمار می رود [۸]. پروتئین PGC-1α[5] یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های بیوژنز میتوکندریایی است که در بیماران دیابت نوع دو هم کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند [۹]. مشاهده شده است که افزایش PGC-1α به طرز قابل توجهی متابولیسم چربی و قندها را بهبود می‌بخشد و موجب افزایش عملکرد میتوکندریایی می‌شود. به نظر می‌رسد مسیر سیگنالی مشترک بین افزایش فسفوریلاسیون PGC-1α و کاهش مقاومت به انسولین، AMPK[6]، MAPK[7] و SIRT1[8] باشد [۱]. از طرفی PGC-1α بسیار تحت تأثیر فعالیت بدنی افزایش می‌یابد که می‌تواند منجر به بهبود مقاومت به انسولین و عملکرد میتوکندریایی شود (۱۰). توجه به شاخص های مرتبط با نوسازی و متابولیکی بافت عضلانی در دیابت نوع دو امری مهم است که در گذشته کمتر در حوزه‌ی فیزیولوژی ورزش به آن پرداخته شده است. در سال‌های اخیر از فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی به‌عنوان عاملی برای کنترل دیابت نام برده شده است. برای مثال برخی شواهد نشان می‌دهند فعالیت بدنی نقش مؤثری در پیشگیری و درمان دیابت نوع دو ایفا می‌کند [۱۲، ۱۱]. در همین ارتباط نشان داده شده که ۱۰ هفته فعالیت مقاومتی موجب کاهش گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین در مبتلایان به دیابت می‌شود و از همین‌رو از تمرین ورزشی می

1. Paired Box 7
2. *Myogenin*
3. myoblast determination protein 1
4. Myogenic Factor 5
5. peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
6. AMP-activated protein kinase
7. Mitogen-activated protein kinase
8. Sirtuin 1

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

توان به‌عنوان یک عامل غیردارویی در کنترل دیابت نوع دو استفاده کرد [۱۳]. از طرفی نشان داده شد که قرارگیری در معرض هایپوکسی بدون اعمال فعالیت بدنی منجر به بهبود شاخص‌های مرتبط با دیابت نوع دو از جمله بهبود حساسیت به انسولین شده است [۱٤]. همچنین مشاهده شده است که میزان مرگ‌ومیر ناشی از بیماری قلبی در ارتفاع بالای ۱۵۰۰ متر در میان زنان و مردان دیابتی نسبت به افراد ساکن در نواحی پست‌تر کمتر است [۱۵]. برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند هایپوکسی موجب فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و افزایش بیوژنزمیتوکندریایی می‌شوند [۱٦]. در خصوص ترکیب هم‌زمان انجام فعالیت‌های ورزشی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی نیز مطالعات اندک است. به‌عنوان نمونه نشان داده شده ٤ هفته تمرین هوازی بر روی تردمیل به همراه قرارگیری در معرض هایپوکسی در طول روز (مجزا از تمرین) موجب بهبود متابولیسم گلوکز وچربی‌ها در افراد مبتلا به دیابت نوع دو می شود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل و گروه تمرین نورموکسیک بوده است [٦]. با این وجود سازِکارهای چنین اثری هنوز به درستی مشخص نیستند. از آنجا که به‌نظر می‌رسد فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و بیوژنز میتوکندریایی در این سازِکارها دخالت داشته باشند، بنابراین هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تمرین مقاومتی در شرایط هایپوکسی بر شاخص‌هایی از این دو متغیر یعنی میزان فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و بیوژنز میتوکندریایی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

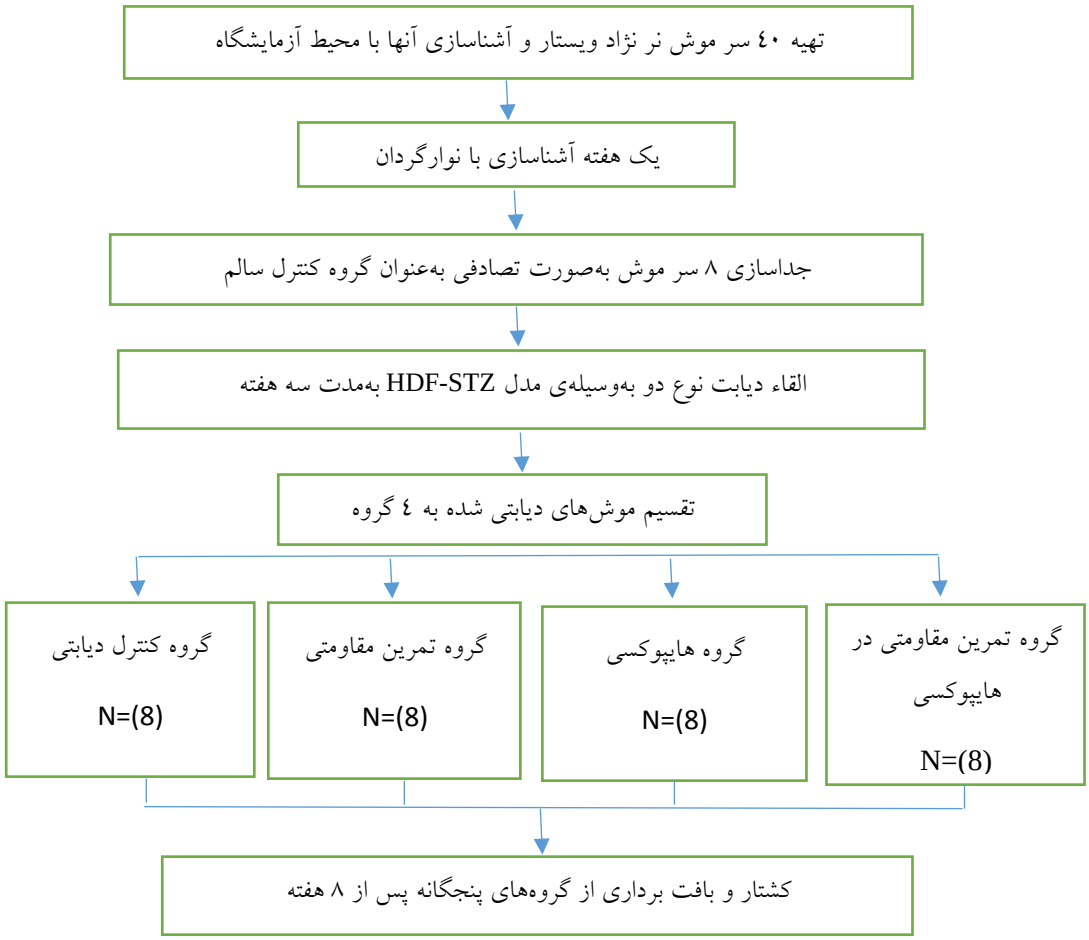
آزمودنی‌ها

نمونه‌ی آماری مطالعه‌ی حاضر را تعداد ٤۰ سر موش نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۳۰ گرم و سن ۱۰ هفته تشکیل می داد که پس از تهیه از انستیتو پاستور ایران به محل آزمایشگاه منتقل و پس از دو هفته آشناسازی و سازگاری با محیط به ۵ گروه (هر گروه شامل ۸ سر) به ۵گروه: کنترل سالم(HC)، کنترل دیابتی (DC) هایپوکسی (HPX)، تمرین مقاومتی (RT) و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی (RT-HPX) تقسیم و سپس به چهار گروه از رت‌ها دیابت نوع دو القا شد و سپس مداخله‌ی در نظر گرفته شده برای هر گروه اعمال شد. در تمام مدت اجرای تحقیق، موش‌ها در دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ٤۵ تا ۵۵٪ و چرخه‌ی خواب بیداری ۱۲:۱۲، با در دسترس بودن آب و غذا نگه‌داری و کنترل شدند. طرح کلی تحقیق و زمان بندی اجرای به‌صورت شماتیک در شکل ۱ نشان داده شده است.

القای دیابت نوع دو در رت‌ها

القای دیابت در ٤ گروه DC، HPX، RT و RT-HPX با استفاه از روش ترکیبی از رژیم غذایی پرچرب و تزریق استرپتوزوسین (High Fat Diet-Streptozotocine HFD-STZ) انجام شد. این روش القای دیابت شبیه ترین روش القای دیابت به دیابت نوع ۲ در انسان است (١٤). به این منظور تمامی رت ها به مدت ۳ هفته تحت رژیم غذایی با ۵۹٪ چربی،١٤٪ پروتئین و ۲۷٪ کربوهیدرات برای تغذیه موش ها قرار گرفتند. غذای معمولی رت حاوی ۵۷۰ گرم کربوهیدرات، ۲۰ گرم چربی و ۱۷۵ گرم پروتئین است که به منظور رسیدن به درصد های ذکر شده برای القا دیابت، صفر گرم کربوهیدرات، ۵۳۱گرم چربی و ۱۲۵گرم پروتئین به آن اضافه شد (١٤). سپس در پایان، ۳۵ میلی گرم استرپتوزوتوسین (STZ)، به ازای هر کیلو از وزن بدن در بافر سیترات ۰/۱ میلی مول بر لیتر با اسیدیته ٤/۵، بصورت صفاقی بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه در حدود ساعت ۹ صبح به رت ها تزریق شد. هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، نمونه خون از دم حیوان جهت سنجش قند خون توسط گلوکومتر انجام شد و نمونه های با قند خون بیش از ۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر مشخص شدند و از دیابتی شدن آنان اطمینان حاصل شد.

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



شکل۱- طرح شماتیک پژوهش

پروتکل تمرین مقاومتی و هیپوکسی

در پژوهش حاضر تمرین مقاومتی با استفاده از یک نردبان یک متری به همراه آویزان کردن وزنه از دم موش‌ها به‌صورت ۵ جلسه در هفته انجام شد. موش‌ها سه تکرار را بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها به‌منظور گرم کردن از نردبان بالا می‌رفتند و اصل برنامه‌ی تمرین مقاومتی شامل ۳ ست با چهار تکرار در هر ست بود که بین هر یک از تکرارها ۳۰ ثانیه و بین هر یک از ست‌ها ۳ دقیقه استراحت در نظر گرفته شده بود. اعمال مقاومت به‌صورت بستن وزنه به دم موش‌ها معادل ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن موش‌ها در طی هشت هفته دوره‌ی تمرین انجام شد. همچنین شدت تمرین در گروه‌های تمرینی به‌وسیله‌ی افزایش میزان وزنه به‌طور تدریجی هر هفته به گونه ای افزایش یافت که در هفته‌ی اول ۳۰، هفته‌ی دوم ٤٥، هفته‌ی سوم ٦٠ هفته‌ی چهارم ٤٥، هفته‌ی پنجم ٦٠، هفته‌ی ششم ٧٥، هفته‌ی هفتم ۹۰ و هفته‌ی هشتم ۱۰۰درصد وزن بدن موش اعمال شد. زاویه نردبان در این تمرینات ۸۵ درجه بود و برای طراحی چنین پروتکلی از پروتکل تمرینی مورد استفاده در مطالعه بهره‌گیری شد.

مدت اجرای پروتکل تحقیق ۸ هفته بود و طی آن آزمودنی‌های گروه تمرین مقاومتی ۸ هفته تمرین مقاومتی انجام دادند [۱۱]. گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی همین پروتکل را در شرایط هایپوکسی اجرا کردند و گروه هایپوکسی در مدت زمانی که گروه RT-HPX تمرین می‌کردند در شرایط هایپوکسی قرار می‌گرفتند. به‌منظور کنترل نتایج از دو گروه کنترل دیابتی که تنها دیابتی شده بودند و کنترل سالم که هیچ‌گونه متغیری بر روی آنها اعمال نشده بود، استفاده شد. هایپوکسی اعمال شده در گروه‌های هایپوکسی و گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی با استفاده ازشرایط هایپوکسی نورموباریک به میزان اکسیژن ١٤/٤ درصد معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متری به‌طور ثابت در تمام هفته‌های تمرین استفاده شد.

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

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری متغیرها

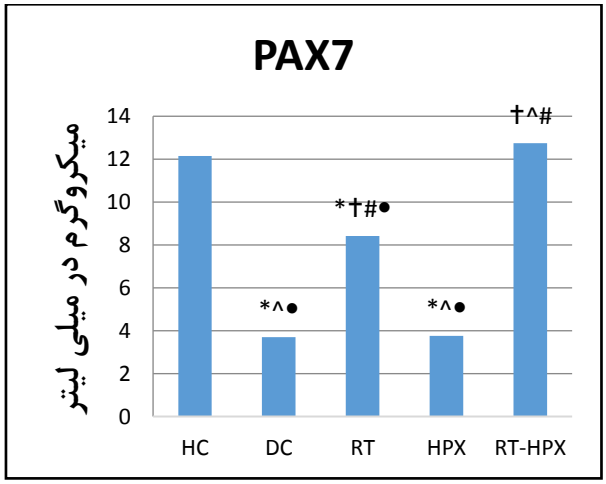
۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، نمونه‌ها طبق موازین اخلاقی به‌وسیله‌ی ترکیبی از تزریق کتامین (۳۰–۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و زایلازین(۳–۵میلی‌گرم/ کیلوگرم) بی‌هوش و کشتار شدند و بافت عضله‌ی نعلی جهت سنجش غلظت PAX 7 و PGC-1α برداشته شد. بافت عضله‌ی نعلی در سرم فیزیولوژیک شستشو، و توسط ازت مایع منجمد و در دمای ۸۰– درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام پروتکل آزمایشگاهی فریز شد. جهت استخراج پروتئین‌های PAX 7 و PGC-1α، مقادیر مشخصی از بافت عضله‌ی نعلی در محلول Phosphate-buffered saline (PBS) به‌عنوان آنتی پروتئاز هموژن شد. بافت هموژن شده با نیروی 5000 g به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سانتریفوژ شد و سوپرناتانت حاصل توسط کیت الایزای کمپانی چینی آمریکایی Cusabio با شماره کاتالوگ CSB-EL018425RA مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌های آماری

در بخش تجزیه و تحلیل آمار، برای تعین نرمالیتی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرووِیلک استفاده شد و از تحلیل واریانس یک راهه برای سنجش تفاوت بین گروه‌ها بهره‌گیری شد. در صورت مشاهده تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری ۵٪ و نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ برای تحلیل داده‌ها و از نرم‌افزار ۲۰۱۰ برای تهیه نمودارها استفاده شد.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق نشان داد که غلظت پروتئین PAX7 در گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری با هم دارند (P= ۰/۰۰۰۱). جهت مقایسه منشاء تفاوت بین گروه‌ها نیز از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد که نتایج آن در نمودار ۱، مشخص شده است. غلظت پروتئین PAX7 در گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی دارای بیشترین مقدار و در گروه کنترل دیابتی دارای کمترین مقدار بود (نمودار ۱). همچنین تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق نشان داد که غلظت پروتئین PGC1-α در گروه تحقیق تفاوت معنی‌داری با هم دارند (P= ۰/۰۰۰۱). جهت مقایسه‌ی منشاء تفاوت بین گروه‌ها نیز از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد که نتایج آن در نمودار ۲، مشخص شده است. مقادیر پروتئین PGC1-α نیز در گروه تمرین در هایپوکسی دارای بیشترین مقدار و در گروه کنترل دیابتی دارای کمترین مقدار ممکن بود (نمودار ۲).



نمودار ۱- مقایسه‌ی مقادیر غلظت پروتئین PAX7 در عضله‌ی نعلی نمونه‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش

(*) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم در سطح ۰/۰۵

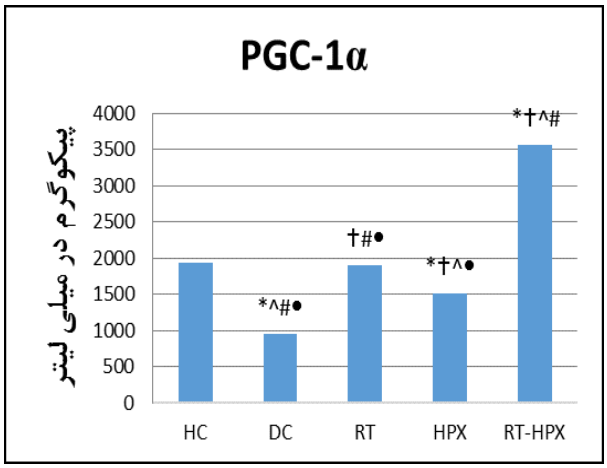
(†) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح ۰/۰۵

(^) اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در سطح ۰/۰۵

(#) اختلاف معنی‌دار با گروه هایپوکسی در سطح ۰/۰۵

(●) اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی در سطح ۰/۰۵

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



نمودار۲- مقایسه‌ی مقادیر غلظت پروتئین PGC1-α در عضله‌ی نعلی نمونه‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش

(*) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم در سطح P≤۰/۰۵

(†) اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح P≤۰/۰۵

(^) اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در سطح P≤۰/۰۵

(#) اختلاف معنی‌دار با گروه هایپوکسی در سطح P≤۰/۰۵

(●) اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی در سطح P≤۰/۰۵

بحث و نتیجه گیری

یافته‌های این تحقیق نشان داد، دیابت نوع دو با روشHFD-STZ در رت‌ها به کاهش محتوای پروتئین PAX 7 در عضله‌ی نعلی رت‌های دیابتی منجر می‌شود، درحالی‌که تمرین مقاومتی، هایپوکسی و تمرین مقاومتی در هایپوکسی می‌تواند این کاهش را تا حد زیادی جبران کرده و از کاهش آن در آنها پیشگیری کند. دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک در سرتاسر جهان است که منجر به هیپرگلیسمی ناشی از کاهش ترشح انسولین یا عملکرد انسولین یا هر دو می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که دیابت نوع دو و نوع دو، با سازکارهای متفاوتی میوپاتی عضلانی را ایجاد و سازکارهای آن را فعال می‌کنند [۱۶]. عملکرد و توانایی سلول‌های بنیادی در شرایط دیابت در چندین بافت از جمله در بافت عضله‌ی اسکلتی، ضعیف می‌شود. نشان داده شده است که دیابت شیرین باعث آتروفی [۱۶]. انتقال نوع فیبر از اکسیداتیو به گلیکولیتیک [۱۸]، و اختلال در متابولیسم انرژی در عضلات اسکلتی می‌شود. این تغییرات منجر به اختلال عملکرد عضلات اسکلتی، مانند ضعف عضلانی و عدم تحمل فعالیت ورزشی می شود [۱۷]. مطالعات قبلی نشان داده است که دیابت عملکرد سلول های ماهواره‌ای را مختل می‌کند. سلول‌های ماهواره‌ای مشتق‌شده از موش‌های دیابتی ناشی از STZ قادر به تشکیل میوتوب‌ها نیستند و در نتیجه پس از آسیب عضلانی ناشی از کاردیوتوکسین، بازسازی ضعیفی در عضلات اسکلتی را نشان می‌دهند. موش‌های دیابتی آکیتا نیز به‌دنبال آسیب ناشی از نفوذ ضعیف ماکروفاژها و جذب سلول‌های ماهواره‌ای به فیبرهای عضلانی دژنراتیو، اختلال در بازسازی عضلانی را نشان دادند [۱۹]. علاوه بر این، گزارش شده است که بیان فاکتورهای رونویسی MyoD و مایوژنین در عضله‌ی نعلی از موش‌های دیابتی ناشی از STZ کاهش یافته است [۱۶]. یافته‌های مطالعه حاضر این نتایج را تأیید می‌کند. در مقابل انجام تنها یک جلسه فعالیت ورزشی در هایپوکسی سطوح mRNA چندین نشانگر سلولی ماهواره‌ای در مردان جوان شامل سطوح mRNA MyoD و Mrf4 در پس از یک جلسه تمرین مقاومتی در هایپوکسی (FiO2 ٪۱٤) افزایش یافت. با این حال این پاسخ برای هایپرتروفی عضلانی ناشی از تمرین در هایپوکسی کافی نیست. درحالی‌که پاسخ کوتاه مدت آنابولیک به تمرینات مقاومتی توسط هیپوکسی افزایش نمی‌یابد، روند افزایش بیان چندین نشانگر میوژنیک نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی هیپوکسیک ممکن است منجر به فعال‌سازی و تمایز سلول های ماهواره‌ای نظیر PAX 7 شود [۲۰]. پیشنهاد شده است که میوژنز ممکن است با ترشح نشانگرهای التهابی اینترلوکین ٦ و اینترلوکین ۸ و نیز TNF-α در عضلات اسکلتی و سلول‌های ایمنی میانجی‌گری شود. عواملی چون IL-6 و TNF-α و

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

همچنین سطوح mRNA دو شاخص CD ٦٨ و CD ١٩٧ که هر دو نشانگر ماکروفاژ/نوتروفیل هستند، به‌دنبال تمرین مقاومتی هایپوکسیک بیشتر از تمرین مشابه انجام شده در نرموکسی افزایش می‌یابند. دو عامل CD68و CD197 همچنین برای تنظیم بازسازی عضلات اسکلتی شناخته شده‌اند که ممکن است شامل فعال‌سازی سلول های ماهواره ای باشد [۲۱]. بنابراین تمرین مقاومتی در هایپوکسی می‌تواند با سازکارهای دیگری نیز به افزایش پروتئین PAX 7 و سایر شاخص‌های نوسازی عضلات در افراد دیابتی منجر شود. التهاب ناشی از فعال‌سازی مسیر IL-6/STAT3 ممکن است منجر به فعال‌سازی، تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای شود، همان‌طور که با افزایش هم‌زمان در سطوح mRNA MyoDو Mrf4 اندازه‌گیری شده است [۲۱]. علاوه بر این، مسیر IL-6/STAT3 همچنین ممکن است به بازسازی آسیب بافت عضلانی ناشی از فعالیت ورزش از طریق به‌کارگیری لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها کمک کند و در نتیجه به تقویت میوژنز کمک کند[۲۲]. در نهایت، تثبیت HIF-1α و جابجایی هسته‌ای در شرایط هیپوکسی حاد در شرایط آزمایشگاهی با افزایش بیان پروتئین STAT3 در سلول‌های عضلانی اولیه انسان همراه بود، که زمینه‌ساز اهمیت این مسیر در سازگاری با شرایط هیپوکسیک در عضله‌ی اسکلتی است [۲۱]. در عمل، این نتایج بر اهمیت یک پاسخ التهابی متوسط و خوب کنترل شده برای القای سازگاری‌های میوژنیک پس از تمرین مقاومتی هیپوکسیک تأکید می‌کند. این نتایج راهبرد کاهش یا حتی کم کردن پاسخ التهابی حاد پس از فعالیت ورزشی و در هیپوکسی با مصرف داروهای ضد التهابی یا مواد مغذی ضد التهابی را زیر سؤال می‌برند [۲۳]. در مطالعه‌ی حاضر مسیرها و نشانگرهای التهابی نظیر اینترلوکین ٦ و TNF-α بررسی نشده‌اند، از این رو نمی‌توان در این مورد اظهار نظر قطعی کرد. از دیگر نتایج مطالعه‌ی حاضر کاهش پروتئین PGC1-α در گروه موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم بود. این موضوع در بسیاری از مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است. مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که دیابت عملکرد و پویایی میتوکندری را مختل می‌کند، درحالی‌که عملکرد درست میتوکندری‌ها نقش اساسی در تنظیم مسیرهای متابولیک ایفا می‌کند و برای حفظ تعادل انرژی مناسب حیاتی است [۲۵ ،۲٤، ١٦، ٨]. ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری در عضله‌ی اسکلتی افراد مقاوم به انسولین به‌طور قابل توجهی کمتر از افراد سالم است و این تغییر منجر به افزایش تجمع چربی در عضلات اسکلتی می‌شود [٢٦]. اختلال در عملکرد میتوکندری نیز در میوسیت‌های کشت داده شده از ماهیچه‌های اسکلتی بیماران مبتلا به T2DM مشاهده شده است [۱۰]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که محتوای پروتئین PGC1-α در عضله‌ی اسکلتی تحت شرایط دیابتی کاهش می‌یابد [١٦]. این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌راستا است، با این وجود، یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد فعالیت مقاومتی و هایپوکسی به تنهایی و نیز در ترکیب با هم، توانسته‌اند محتوای پروتئین PGC1-α در عضلات موش‌های دیابتی را افزایش دهند. این درحالی است که برخی مطالعات بیانگر اثر هایپوکسی در کاهش غلظت پروتئین PGC1-α درون سلولی و بیوژنز میتوکندریایی است [۲۷]. مرور این مطالعات نشان می‌دهد بافت‌های مورد بررسی و وضعیت پاتولوژیک نمونه‌ها در این مطالعات، متفاوت از مطالعه‌ی حاضر بوده است و این مهم‌ترین دلیل تناقضات موجود در این زمینه است. به‌نظر می‌رسد فاکتور القا کننده‌ی هایپوکسی[1] (HIF-1α) و فعال شدن آن در نتیجه‌ی کمبود اکسیژن در بافت، مهم ترین دلیل پاسخ‌های درون سلولی به قرار گرفتن در معرض هایپوکسی باشد. اثر HIF-1α در بافت‌های مختلف متفاوت است و موجب می شود تا با افزایش فرایندهای گلیکولیتیک، بیوژنز میتوکندرایی در اکثر بافت‌ها کاهش یابد. با این حال به‌نظر می‌رسد در بافت‌های عضلانی این اثر متفاوت است. بافت عضلانی، بافتی مقاوم در برابر هایپوکسی است و بیان HIF-1α در عضلات اسکلتی در شرایط هایپوکسی ایجاد می‌شود و در هایپوکسی‌های کوتاه‌مدت با درجات پایین منجر به کاهش بیان پروتئین‌های PGC1-α و عوامل سیگنالی پایین دست نمی‌شود [۲۷]. از آنجا که HIF-1α منجر به افزایش NO عروقی و گشادی عروق در بافت‌ها و نیز افزایش ارتروپویتین کلیوی می‌شود [۲۸]، به‌نظر می رسد افزایش پروتئین PGC1-α به‌عنوان یک واکنش سازشی عضلات به شرایط هایپوکسی مستقل از HIF-1α باشد [۲۷].

به‌طور کلی تمرینات ورزشی منجر به افزایش بیوژنز میتوکندریایی می شود و نیاز به انرژی از مهم‌ترین فرایندهای ایجاد چنین تأثیری است [۱۱]. با این حال تمرینات ورزشی که مصرف انرژی بالاتری را در عضلات اسکلتی القا می‌کنند (تمرینات تناوبی پُرشدت و تمرینات

1. Hypoxia-Inducible Factor-1α

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

استقامتی)، در این زمینه اثر بیشتری دارند [۱۲، ۱۱]. هرچند مطالعاتی وجود دارند که تغییر چندانی را در غلظت پروتئین PGC-1α در اثر تمرینات مقاومتی با شدت‌های مختلف گزارش نکرده‌اند [۲۹] اما برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات مقاومتی نیز با اثرگذاری بر محور تنظیم‌کننده‌ی p38γ MAPK/PGC-1α به بیوژنز میتوکندری‌ها در عضلات اسکلتی منجر می‌شود. در همین راستا، مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که انجام فعالیت‌های مقاومتی با افزایش غلظت پروتئینی PGC-1α احتمالاً به شکل‌گیری میتوکندری‌های بیشتر در عضله‌ی نعلی موش‌های دیابتی منجر می‌شود. با این وجود، این افزایش در گروهی که تمرینات مقاومتی را به تنهایی انجام داده بودند در مقایسه با گروه کنترل سالم، معنی‌دار نبود. این موضوع می‌تواند ناشی از نوع آزمودنی های تحقیق باشد. برخی مطالعات نشان می‌دهند که تمرینات مقاومتی نوع خاصی از PGC-1α را در عضلات اسکلتی بیان می‌کند به‌نام PGC-1α4 معروف است و کمتر به شاخص‌های انرژی مرتبط هستند [۳۰]. این نوع از PGC-1α به بیان بیشتر IGF-1 در عضلات کمک می‌کند و مایواستاتین را سرکوب می‌کند و از این‌رو بیشتر با هایپرتروفی عضلانی و جلوگیری از تحلیل بافت عضلانی ارتباط دارد. از این جهت می‌توان افزایش PGC-1α در عضلات موش‌های دیابتی را به این نوع از پروتئین نسبت داد که منجر به پیشگیری از آتروفی عضلانی در این بیماران می شود.

در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تمرینات مقاومتی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی غیرفعال با سازِکارهای متفاوتی به افزایش غلظت پروتئین PGC-1α و PAX7 می‌شود که افزایش توامان این دو عامل در فعال شدن سلول ماهواره‌ای و نوسازی بافت عضلانی و نیز افزایش مصرف انرژی در بافت عضلانی موش‌های دیابتی شده با روش HFD-STZ کمک می‌کند. نتیجه‌گیری کلی در مورد اثر متغیرهای یاد شده بر بافت عضلانی در انسان و تعمیم نتایج این پژوهش به انسان باید با احتیاط صورت گیرد، اما آنچه مسلم است، اینکه می‌توان به تمرینات مقاومتی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی موقت و غیرفعال نیز به‌عنوان یک راهکار پیشنهادی در بهبود شاخص‌های مرتبط به بیماری دیابت نوع دو در انسان توجه کرد. مطالعات آتی حقایق بیشتری را در این خصوص روشن خواهند کرد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر با هزینه‌ی شخصی محقق انجام شده است. بدین‌وسیله از حمایت‌های معنوی مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر جهت انجام تحقیق تقدیر و تشکر می‌نماید. همچنین مطالعه‌ی حاضر در کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران با کُد IR.IAU.PS.REC.1398.212 مورخ ۱۳۹۸/۸/۲۹ به تصویب رسیده است.

ماخذ

1. Sergi D, Naumovski N, Heilbronn LK, Abeywardena M, O'Callaghan N, Lionetti L and Luscombe-Marsh N. Mitochondrial (Dys) function and Insulin Resistance: From Pathophysiological Molecular Mechanisms to the Impact of Diet. *Front. Physiol* 2019; 10:532.
2. Bazgir B, asgari A. The Interactive role of exercise and satellite cells in skeletal muscle regeneration and hypertrophy. *EBNESINA* 2015; 16 (4) :47-63
3. Went Y, Bi P, Liu W, Asakura A, Keller C, Kuang S. Constitutive Notch activation upregulates Pax7 and promotes the self-renewal of skeletal muscle satellite cells. *Molecular And Cellular Biology* 2012; 32(12):2300-11.
4. Bentzinger CF, Wang YX, Rudnicki MA. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology* 2012; 4(2):a008342.
5. Evans PL, McMillin SL, Weyrauch LA, & Witczak CA. Regulation of Skeletal Muscle Glucose Transport and Glucose Metabolism by Exercise Training. *Nutrients* 2019; 11(10), 2432.
6. Nguyen TH, Conotte S, Belayew A, Declèves A. E., Legrand, A., & Tassin, A. Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor Signaling in Muscular Dystrophies: Cause and Consequences. *International journal of molecular sciences* 2021; 22(13), 7220.
7. Nishimura A, Sugita M, Kato K, Fukuda A, Sudo A, Uchida A. Hypoxia increases muscle hypertrophy induced by resistance training. *Int J Sports Physiol Perform* 2010; 5(4):497-508.

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

8. Fan W, Evans R. PPARs and ERRs: Molecular mediators of mitochondrial metabolism. *Curr Opin Cell Biol* 2015; 33: 49–54.
9. Krako Jakovljevic N, Pavlovic K, Jotic A, Lalic, K, Stoiljkovic M, Lukic L, Milicic T, Macesic M, Stanarcic Gajovic J, Lalic NM. Targeting Mitochondria in Diabetes. *Int. J. Mol. Sci* 2021; 22, 6642.
10. Gaster M, Rustan AC, Aas V, Beck-Nielsen H. Reduced lipid oxidation in skeletal muscle from type 2 diabetic subjects may be of genetic origin: Evidence from cultured myotubes. *Diabetes* 2004; 53:542–548.
11. Li J, Li Y, Atakan MM, Kuang J, Hu Y, Bishop DJ, Yan X. The Molecular Adaptive Responses of Skeletal Muscle to High-Intensity Exercise/Training and Hypoxia. *Antioxidants* 2020; 9(8):656.
12. FallahpourNooshabadi S, Kazemzadeh Y, Gorzi A. The effect of eight weeks of daily normobaric hypoxia (60 minutes) on PGC1α content of soleus muscle, insulin resistance, and fasting glucose in type 2 diabetic rats. *EBNESINA* 2021; 22 (4):89-94.
13. Tashakori Zade, M, Mogharnasi M. A Study of the Effect of 10 Weeks of Resistance Training on HSP70 and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Women. *Journal of Sport Biosciences* 2016; 8(3): 341-351.
14. Faramoushi M, Amir Sasan R, Vahid S S, Karimi P. Effect of Simulated Intermittent Altitude on the Metabolic and Hematologic Parameters in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *J Ardabil Univ Med Sci* 2016; 16 (1) :53-64.
15. Woolcott OO, Ader M, & Bergman RN. Glucose homeostasis during short-term and prolonged exposure to high altitudes. *Endocrine reviews* 2015; 36(2), 149–173.
16. Fujimaki, Shin, and Tomoko Kuwabara.. "Diabetes-Induced Dysfunction of Mitochondria and Stem Cells in Skeletal Muscle and the Nervous System" *International Journal of Molecular Sciences* 2017; 18, no. 10: 2147.
17. Kamei D, Yamakawa K, Takegoshi Y, Mikami-Nakanishi M, Nakatani Y, Oh-Ishi S, Yasui H, Azuma Y, Hirasawa N, Ohuchi K, Kawaguchi H, Ishikawa Y, Ishii T, Uematsu S, Akira S, Murakami M, Kudo I. Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin e synthase-1. *J Biol Chem* 2004; 279(32):33684-95.]
18. Oberbach A, Bossenz Y, Lehmann S, Niebauer J, Adams V, Paschke R, Schon MR, Bluher M, Punkt K. Altered fiber distribution and fiber-specific glycolytic and oxidative enzyme activity in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 895–900.
19. Krause MP, Al-Sajee D, D'Souza DM, Rebalka IA, Moradi J, Riddell MC, Hawke TJ. Impaired macrophage and satellite cell infiltration occurs in a muscle-specific fashion following injury in diabetic skeletal muscle. *PLoS ONE* 2013; 8: e70971.
20. Bachman JF, Klose A, Liu W, Paris ND, Blanc RS, Schmalz M, Knapp E, Chakkalakal JV. Prepubertal skeletal muscle growth requires Pax7-expressing satellite cell-derived myonuclear contribution. *Development* 2018; 145(20): dev167197.
21. Britto FA, Gnimassou O, De Groote E, Balan E, Warnier G, Everard A, Cani PD, Deldicque L. Acute environmental hypoxia potentiates satellite cell-dependent myogenesis in response to resistance exercise through the inflammation pathway in human. *FASEB J* 2020; 34(1):1885-1900.
22. Tierney MT, Aydogdu T, Sala D, Malecova B, Gatto S, Puri PL, Latella L, Sacco A. STAT3 signaling controls satellite cell expansion and skeletal muscle repair. *Nat Med* 2014; 20(10):1182-6.
23. Ryen SvDd T, Francaux M, Deldicque L. Regulation of satellite cells by exercise in hypoxic conditions: a narrative review. *European Journal of Applied Physiology* 2021; 121(Suppl 1).
24. Joseph AM, Joanisse DR, Baillot RG, Hood DA. Mitochondrial dysregulation in the pathogenesis of diabetes: Potential for mitochondrial biogenesis-mediated interventions. Exp. *Diabetes Res* 2012; 2012: 642038.
25. Boushel R, Gnaiger E, Schjerling P, Skovbro M, Kraunsoe R, Dela F. Patients with type 2 diabetes have normal mitochondrial function in skeletal muscle. *Diabetologia* 2007; 50: 790–796.
26. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: Possible role in insulin resistance. *Science* 2003; 300:1140–1142.
27. Van Thienen R, Masschelein E, D'Hulst G, Thomis M and Hespel P. Twin Resemblance in Muscle HIF-1α Responses to Hypoxia and Exercise. *Front Physiol* 2017; 7:676.
28. Pircher T, Wackerhage H, Aszodi A, Kammerlander C, Böcker W and Saller MM. Hypoxic Signaling in Skeletal Muscle Maintenance and Regeneration: A Systematic Review. Front. *Physiol* 2021; 12:684899.
29. Schwarz NA, McKinley-Barnard SK, Spillane MB, Andre TL, Gann JJ, Willoughby DS. Effect of resistance exercise intensity on the expression of PGC-1α isoforms and the anabolic and catabolic signaling mediators, IGF-1 and myostatin, in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016; 41(8):856-63.
30. Ruas JL, White JP, Rao RR, Kleiner S, Brannan, KT, Harrison BC, Greene NP, Wu J, Estall JL, Irving BA, Lanza IR, Rasbach KA, Okutsu M, Nair KS, Yan Z, Leinwand LA, & Spiegelman B M. A PGC-1α isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell* 2012; 151(6), 1319–1331.

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

The Effect of Eight Weeks of Resistance Training Under Hypoxia on Metabolic Parameters and Muscle Tissue Regeneration in Male Wistar Rats with Type 2 Diabetes

Farshad sadeghi[1], Yaser Kazemzadeh[1*], Abdolali Banaiifar[1]

1. Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetic myopathy is one of the major problems in people with type2 diabetes that knowing its mechanisms can be helpful in controlling and preventing this disease. PAX7 and PGC-1α are two proteins involved in the renewal and metabolism of carbohydrates in skeletal muscle. The aim of this study was to evaluate the effect of 8weeks of resistance training under hypoxia on the content of PAX7 and PGC-1α proteins in the horseshoe muscle of type 2 diabetic rats.

Methods: In this study, 40 male Wistar rats, 10weeks after induction of type2 diabetes, were divided into five groups: healthy control (HC), diabetic control (DC), resistance training (RT), and resistance training in hypoxia (RT-HPX) and hypoxia group (HPX) were divided. Resistance exercises were performed for 8 weeks, 5 sessions per week, in the groups of resistance training and resistance training in hypoxia. The intensity of the exercises started from 30% of the weight of the rats initial and reached 100% of their weight until the end of the training. Resistance training in hypoxia. Hypoxia tent with14.4%oxygen was used to create hypoxia. 48hours after training, tissue samples were taken from horseshoe muscle and evaluated to measure the concentration of PAX7 and PGC-1α proteins.

Results: The results showed that there is a significant difference (P=0.0001) between the research groups in both PAX7 and PGC-1α proteins. Induction of diabetes led to a significant decrease in PAX7, but the hypoxia resistance training group was not significantly different from the healthy control group (P=0.451). PGC1-α protein levels were also significantly decreased in the diabetes induction group compared to the control group (P=0.01), but training in hypoxia increased its levels to more than the healthy control group (P=0.0001).

Conclusion: Hypoxia, resistance training and combination of resistance training in hypoxia increased the amounts of PAX7 and PGC-1α proteins. Therefore, resistance training and temporary and inactive hypoxia exposure can be considered as a suggested solution to improve the indicators related to type2 diabetes in humans.

Keywords: Resistance training, type 2 diabetes, hypoxia, PAX7, PGC-1α

* Islamic Azad University, Islamshahr branch, Namaz square, Islamshahr, Tehran, phone: 09122205973, Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com

Copyright © 2022 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

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