

## 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<sup>۱</sup>، یاسر کاظم‌زاده<sup>۱\*</sup>، عبدالعلی بنایی‌فر<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** میوپاتی دیابتیک یکی از مشکلات عمده در افراد دیابتی نوع دو است. دو پروتئین‌های PAX7 و PGC-1 $\alpha$  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 بر محتوای پروتئین‌های PAX 7 و PGC-1 $\alpha$  در عضله نعلی رت‌های دیابتی نوع دو بود. **روش‌ها:** در این تحقیق ۴۰ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته‌ای 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 به مدت 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-1 $\alpha$  مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد، بین گروه‌های تحقیق در هر دو پروتئین‌های PAX7 و PGC-1 $\alpha$  تفاوت معنی‌داری ( $P=0/0001$ ) وجود دارد. القای دیابت منجر به کاهش معنی‌دار PAX7 شد اما گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم نداشت ( $P=0/451$ ). مقادیر پروتئین PGC1- $\alpha$  نیز در گروه القای دیابت کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل داشت ( $P=0/01$ )، اما تمرین در هایپوکسی مقادیر آن را به بیشتر از گروه کنترل سالم افزایش داد ( $P=0/0001$ ). **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-1 $\alpha$

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

## مقدمه

عضلات اسکلتی به عنوان محل اصلی جذب گلوکز تحریک شده توسط انسولین، محرک اصلی مقاومت به انسولین در کل بدن محسوب می شوند. اختلال در نوسازی بافت عضلانی به عنوان بزرگترین بافت بدن که نقش اساسی در تنظیم متابولیسم انرژی ایفا می کند، 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 برگشت پذیر است، اما تخریب سلول  $\beta$  اینطور نیست [۱]. سلول های ماهواره ای به عنوان سلول های بنیادی عضله اسکلتی، مسئول نوسازی بافت عضلانی به شمار می روند. مشاهده شده است که با افزایش سن سرعت نوسازی بافت عضلانی کاهش می یابد که با اختلال در متابولیسم انرژی همراه است؛ این موضوع از لحاظ فیزیولوژیکی به اختلال در سلول های ماهواره ای و اختلال میتوکندریایی مرتبط می شود [۱]. Pax7<sup>۱</sup> یکی از مارکرهای شناخته شده و تأثیرگذار در فعال سازی و عملکرد سلول های ماهواره ای است [۲]. پس از فعال سازی سلول های ماهواره ای، عواملی از حلقه ی رونویسی مانند *PAX7 myf-5* و *MyoD1* منجر به شرکت این عوامل در مراحل تکامل سلول عضلانی می شوند. ابتدا *PAX7* و *MyoD1* در سلول های پیش ساز عضله فعال می شوند که بیان هم زمان این دو عامل به عنوان شاخص فعال شدن سلول های ماهواره ای شناخته می شود. سپس مایوژنین<sup>۲</sup> در سلول های تمایز یافته تولید می شود [۳، ۴].

*PAX7* به عنوان پروتئینی در بالادست *MyoD*<sup>۳</sup> و دیگر شاخص های مایوژنیک قرار می گیرد و کاهش در بیان *PAX7* موجب قطع بیان *MyoD* می شود. پروتئین دیگری به نام فاکتور مایوژنیک ۵ (*Myf5*)<sup>۴</sup> بدون حضور *PAX7* نیز بیان می شود اما نتیجه ی نهایی، آپوپتوز میوتوب های به وجود آمده می شود [۵]. لذا به نظر می رسد *PAX7* یک تنظیم کننده ی کلیدی سلول های ماهواره ای و فرایند مایوژن است. بدون حضور *PAX7* سلول

های ماهواره ای به چربی و یا بافت فیبروزی تمایز پیدا می کنند [۱]. این موضوع از آنجا بسیار حائز اهمیت است که *PAX7* موجب حفظ و یا افزایش استنخر سلول های ماهواره ای (تعداد سلول های ماهواره ای) نیز می شود [۶]. همچنین مشاهده شده است که سه هفته رژیم غذایی با محدود کردن کالری دریافتی منجر به افزایش *PAX7* می شود؛ این موضوع می تواند نشان از ارتباط متابولیسم انرژی سلولی و نوسازی سلول های ماهواره ای و بافت عضلانی باشد [۷].

از طرفی مطالعات نشان داده اند اختلال در متابولیسم چربی ها که ناشی از کاهش عملکرد میتوکندریایی است به عنوان یکی از عوامل احتمالی مهم در بروز بیماری دیابت نوع دو به شمار می رود [۸]. پروتئین *PGC-1 $\alpha$*  یکی از مهم ترین تنظیم کننده های بیورژن میتوکندریایی است که در بیماران دیابت نوع دو هم کاهش معنی داری پیدا می کند [۹]. مشاهده شده است که افزایش *PGC-1 $\alpha$*  به طرز قابل توجهی متابولیسم چربی و قندها را بهبود می بخشد و موجب افزایش عملکرد میتوکندریایی می شود. به نظر می رسد مسیر سیگنالی مشترک بین افزایش فسفوریلاسیون *PGC-1 $\alpha$*  و کاهش مقاومت به انسولین، *AMPK*<sup>۶</sup>، *MAPK*<sup>۷</sup> و *SIRT1*<sup>۸</sup> باشد [۱]. از طرفی *PGC-1 $\alpha$*  بسیار تحت تأثیر فعالیت بدنی افزایش می یابد که می تواند منجر به بهبود مقاومت به انسولین و عملکرد میتوکندریایی شود (۱۰). توجه به شاخص های مرتبط با نوسازی و متابولیسم بافت عضلانی در دیابت نوع دو امری مهم است که در گذشته کمتر در حوزه ی فیزیولوژی ورزش به آن پرداخته شده است. در سال های اخیر از فعالیت ها و تمرینات ورزشی به عنوان عاملی برای کنترل دیابت نام برده شده است. برای مثال برخی شواهد نشان می دهند فعالیت بدنی نقش مؤثری در پیشگیری و درمان دیابت نوع دو ایفا می کند [۱۱، ۱۲]. در همین ارتباط نشان داده شده که ۱۰ هفته فعالیت مقاومتی موجب کاهش گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین در مبتلایان به دیابت می شود و از همین رو از تمرین ورزشی می

<sup>5</sup> peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

<sup>6</sup> AMP-activated protein kinase

<sup>7</sup> Mitogen-activated protein kinase

<sup>8</sup> Sirtuin 1

<sup>1</sup> Paired Box 7

<sup>2</sup> Myogenin

<sup>3</sup> myoblast determination protein 1

<sup>4</sup> Myogenic Factor 5

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  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ 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

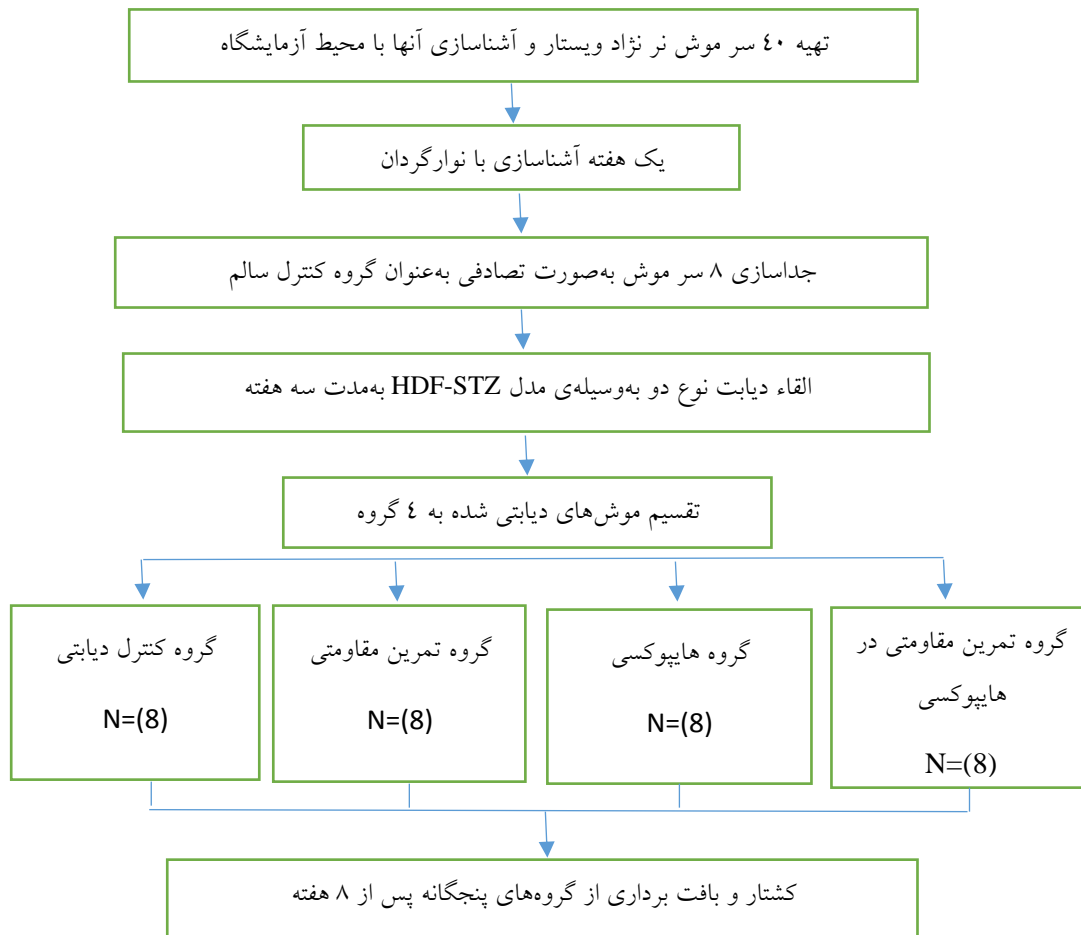
القای دیابت در ۴ گروه DC، HPX، RT و RT-HPX با استفاده از روش ترکیبی از رژیم غذایی پرچرب و تزریق استرپتوزوسین (High Fat Diet-Streptozotocine HFD-STZ) انجام شد. این روش القای دیابت شبیه‌ترین روش القای دیابت به دیابت نوع ۲ در انسان است (۱۴). به این منظور تمامی رت‌ها به مدت ۳ هفته تحت رژیم غذایی با ۵۹٪ چربی، ۱۴٪ پروتئین و ۲۷٪ کربوهیدرات برای تغذیه موش‌ها قرار گرفتند. غذای معمولی رت حاوی ۵۷۰ گرم کربوهیدرات، ۲۰ گرم چربی و ۱۷۵ گرم پروتئین است که به منظور رسیدن به درصد‌های ذکر شده برای القا دیابت، صفر گرم کربوهیدرات، ۵۳۱ گرم چربی و ۱۲۵ گرم پروتئین به آن اضافه شد (۱۴). سپس در پایان، ۳۵ میلی‌گرم استرپتوزوسین (STZ)، به ازای هر کیلو از وزن بدن در بافر سیترات ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر با اسیدیته ۴/۵، بصورت صفاقی بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه در حدود ساعت ۹ صبح به رت‌ها تزریق شد. هفت روز پس از تزریق استرپتوزوسین، نمونه خون از دم حیوان جهت سنجش قند خون توسط گلوکومتر انجام شد و نمونه‌های با قند خون بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر مشخص شدند و از دیابتی شدن آنان اطمینان حاصل شد.

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 [۱۴]. 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 بیوزن میتوکندریایی می‌شوند [۱۶]. در خصوص ترکیب هم‌زمان انجام فعالیت‌های ورزشی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی نیز مطالعات اندک است. به‌عنوان نمونه نشان داده شده ۴ هفته تمرین هوازی بر روی تردمیل به همراه قرارگیری در معرض هایپوکسی در طول روز (مجزا از تمرین) موجب بهبود متابولیسم گلوکز و چربی‌ها در افراد مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود که به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل و گروه تمرین نورموکسیک بوده است [۱۶]. با این وجود سازکارهای چنین اثری هنوز به درستی مشخص نیستند. از آنجا که به‌نظر می‌رسد فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای و بیوزن میتوکندریایی در این سازکارها 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 بیوزن میتوکندریایی در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.

## مواد و روش‌ها

### آزمودنی‌ها

نمونه‌ی آماری مطالعه‌ی حاضر را تعداد ۴۰ سر موش نر نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۳۰ گرم و سن ۱۰ هفته تشکیل می‌داد 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 ۵ گروه: کنترل سالم (HC)، کنترل دیابتی (DC) هایپوکسی (HPX)، تمرین مقاومتی (RT) و گروه



شکل ۱- طرح شماتیک پژوهش

### پروتکل تمرین مقاومتی و هایپوکسی

در پژوهش حاضر تمرین مقاومتی با استفاده از یک نردبان یک متری به همراه آویزان کردن وزنه از دم موش ها به صورت ۵ جلسه در هفته انجام شد. موش ها سه تکرار را بدون وزنه و بدون استراحت بین تکرارها به منظور گرم کردن از نردبان بالا می رفتند و اصل برنامه 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 ست ها ۳ دقیقه استراحت در نظر گرفته شده بود. اعمال مقاومت به صورت بستن وزنه به دم موش ها معادل ۳۰ تا ۱۰۰ درصد وزن بدن موش ها در طی هشت هفته دوره تمرین انجام شد. همچنین شدت تمرین در گروه های تمرینی به وسیله افزایش میزان وزنه به طور تدریجی هر هفته به گونه ای افزایش یافت که در هفته اول ۳۰، هفته دوم ۴۵، هفته سوم ۶۰، هفته چهارم ۷۵، هفته پنجم ۹۰ و هفته هشتم ۱۰۰ درصد 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 بهره گیری شد. مدت اجرای پروتکل تحقیق ۸ هفته بود و طی آن آزمودنی های 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 می کردند در شرایط هایپوکسی قرار می گرفتند. به منظور کنترل نتایج از دو گروه کنترل دیابتی که تنها دیابتی شده بودند و کنترل سالم که هیچ گونه تغییری بر روی آنها اعمال نشده بود، استفاده شد. هایپوکسی اعمال شده در گروه های هایپوکسی و گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی با استفاده از شرایط هایپوکسی نورموباریک به میزان اکسیژن ۱۴/۴ درصد معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متری به طور ثابت در تمام هفته های تمرین استفاده شد.

## نمونه برداری و اندازه گیری متغیرها

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه‌ها طبق موازین اخلاقی به وسیله ترکیبی از تزریق کتامین (۳۰-۵۰ میلی گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و کشتار شدند و بافت عضله‌ی نعلی جهت سنجش غلظت PAX 7 و PGC-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$ ، مقادیر مشخصی از بافت عضله‌ی نعلی در محلول Phosphate-buffered saline (PBS) به‌عنوان آنتی پروتئاز هموزن شده. بافت هموزن شده با نیروی 5000 g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌فرود شد و سوپرناتانت حاصل توسط کیت الیزای کمپانی چینی آمریکایی Cusabio با شماره کاتالوگ CSB-EL018425RA مورد ارزیابی قرار گرفت.

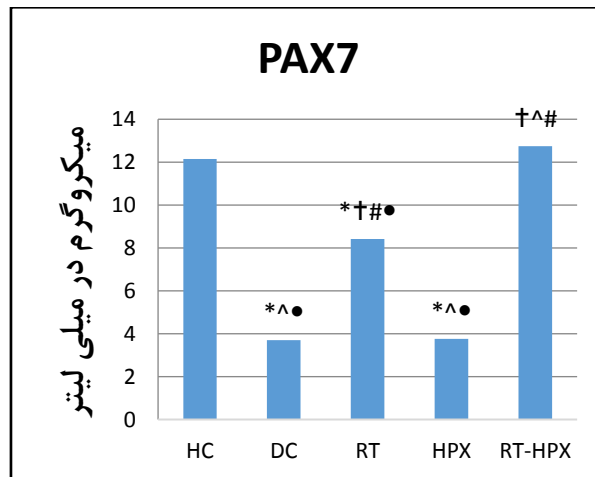
## روش‌های آماری

در بخش تجزیه و تحلیل آمار، برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک 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 ۰/۰۵ و نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ برای تحلیل داده‌ها و از نرم‌افزار ۲۰۱۰ برای تهیه نمودارها استفاده شد.

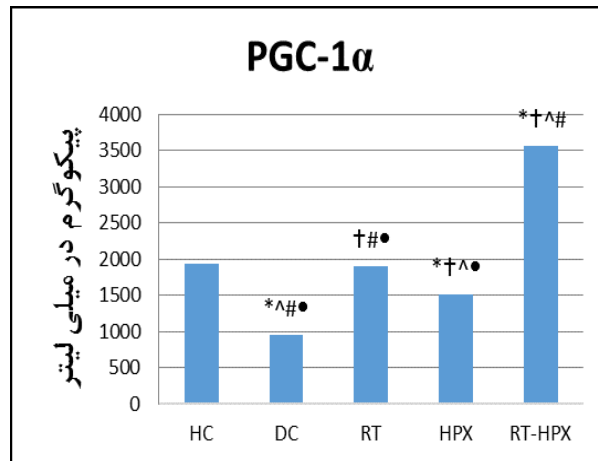
## یافته‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های تحقیق نشان داد که غلظت پروتئین PAX7 در گروه‌های تحقیق تفاوت معنی‌داری با هم دارند ( $P=0/0001$ ). 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- $\alpha$  در گروه تحقیق تفاوت معنی‌داری با هم دارند ( $P=0/0001$ ). جهت مقایسه منشاء تفاوت بین گروه‌ها نیز از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد که نتایج آن در نمودار ۲، مشخص شده است. مقادیر پروتئین PGC1- $\alpha$  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



نمودار ۲- مقایسه‌ی مقادیر غلظت پروتئین PGC1- $\alpha$  در عضله‌ی نعلی نمونه‌ها در گروه‌های مختلف پژوهش

(\*): اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم در سطح  $P \leq 0/05$

(†): اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح  $P \leq 0/05$

(^): اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در سطح  $P \leq 0/05$

(#): اختلاف معنی‌دار با گروه هایپوکسی در سطح  $P \leq 0/05$

(●): اختلاف معنی‌دار با گروه تمرین مقاومتی در هایپوکسی در سطح  $P \leq 0/05$

## بحث و نتیجه گیری

نتیجه پس از آسیب عضلانی ناشی از کاردیوتوکسین، بازسازی ضعیفی در عضلات اسکلتی را نشان می‌دهند. موش‌های دیابتی آکیتا نیز به دنبال 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 میوژین 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 (۱۴٪ FiO<sub>2</sub>) 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 هایپوکسی افزایش نمی‌یابد، روند افزایش بیان چندین نشانگر میوژینیک نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی هایپوکسیک ممکن است منجر به فعال‌سازی و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای نظیر PAX 7 شود [۲۰]. پیشنهاد شده است که میوژن ممکن است با ترشح نشانگرهای التهابی ایترلوکین ۶ و ایترلوکین ۸ و نیز TNF- $\alpha$  در عضلات اسکلتی و سلول‌های ایمنی میانجی‌گری شود. عواملی چون IL-6 و TNF- $\alpha$

یافته‌های این تحقیق نشان داد، دیابت نوع دو با روش HFD-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 می‌شود [۱۷]. مطالعات قبلی نشان داده است که دیابت عملکرد سلول‌های ماهواره‌ای را مختل می‌کند. سلول‌های ماهواره‌ای مشتق شده از موش‌های دیابتی ناشی از STZ قادر به تشکیل میوتوب‌ها نیستند و در

اسکلتی افراد مقاوم به انسولین به طور قابل توجهی کمتر از افراد سالم است و این تغییر منجر به افزایش تجمع چربی در عضلات اسکلتی می شود [۲۶]. اختلال در عملکرد میتوکندری نیز در میوسیت های کشت داده شده از ماهیچه های اسکلتی بیماران مبتلا به T2DM مشاهده شده است [۱۰]. این یافته ها نشان می دهد که محتوای پروتئین PGC1- $\alpha$  در عضله اسکلتی تحت شرایط دیابتی کاهش می یابد [۱۶]. این یافته ها با نتایج مطالعه حاضر هم راستا است، با این وجود، یافته های مطالعه حاضر نشان داد فعالیت مقاومتی و هایپوکسی به تنهایی و نیز در ترکیب با هم، توانسته اند محتوای پروتئین PGC1- $\alpha$  در عضلات موش های دیابتی را افزایش دهند. این در حالی است که برخی مطالعات بیانگر اثر هایپوکسی در کاهش غلظت پروتئین PGC1- $\alpha$  درون سلولی و بیورژن میتوکندریایی است [۲۷]. مرور این مطالعات نشان می دهد بافت های مورد بررسی و وضعیت پاتولوژیک نمونه ها در این مطالعات، متفاوت از مطالعه حاضر بوده است و این مهم ترین دلیل تناقضات موجود در این زمینه است. به نظر می رسد فاکتور القا کننده هایپوکسی<sup>۱</sup> (HIF-1 $\alpha$ ) و فعال شدن آن در نتیجه کمبود اکسیژن در بافت، مهم ترین دلیل پاسخ های درون سلولی به قرار گرفتن در معرض هایپوکسی باشد. اثر HIF-1 $\alpha$  در بافت های مختلف متفاوت است و موجب می شود تا با افزایش فرایندهای گلیکولیتیک، بیورژن میتوکندریایی در اکثر بافت ها کاهش یابد. با این حال به نظر می رسد در بافت های عضلانی این اثر متفاوت است. بافت عضلانی، بافتی مقاوم در برابر هایپوکسی است و بیان HIF-1 $\alpha$  در عضلات اسکلتی در شرایط هایپوکسی ایجاد می شود و در هایپوکسی های کوتاه مدت با درجات پایین منجر به کاهش بیان پروتئین های PGC1- $\alpha$  و عوامل سیگنالی پایین دست نمی شود [۲۷]. از آنجا که HIF-1 $\alpha$  منجر به افزایش NO عروقی و گشادی عروق در بافت ها و نیز افزایش ارتروپویتین کلیوی می شود [۲۸]، به نظر می رسد افزایش پروتئین PGC1- $\alpha$  به عنوان یک واکنش سازشی عضلات به شرایط هایپوکسی مستقل از HIF-1 $\alpha$  باشد [۲۷].

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

همچنین سطوح mRNA دو شاخص CD 68 و CD 197 که هر دو نشانگر ماکروفاژ/نوتروفیل هستند، به دنبال تمرین مقاومتی هایپوکسیک بیشتر از تمرین مشابه انجام شده در نرموکسی افزایش می یابد. دو عامل CD68 و CD197 همچنین برای تنظیم بازسازی عضلات اسکلتی شناخته شده اند که ممکن است شامل فعال سازی سلول های ماهواره ای باشد [۲۱]. بنابراین تمرین مقاومتی در هایپوکسی می تواند با سازکارهای دیگری نیز به افزایش پروتئین PAX7 و سایر شاخص های نوسازی عضلات در افراد دیابتی منجر شود. التهاب ناشی از فعال سازی مسیر IL-6/STAT3 ممکن است منجر به فعال سازی، تکثیر و تمایز سلول های ماهواره ای شود، همان طور که با افزایش هم زمان در سطوح MyoD و Mrf4 mRNA اندازه گیری شده است [۲۱]. علاوه بر این، مسیر IL-6/STAT3 همچنین ممکن است به بازسازی آسیب بافت عضلانی ناشی از فعالیت ورزش از طریق به کارگیری لئوسیت ها، مونوسیت ها و نوتروفیل ها کمک کند و در نتیجه به تقویت میورژن کمک کند [۲۲]. در نهایت، تثبیت HIF-1 $\alpha$  و جایجایی هسته ای در شرایط هایپوکسی حاد در شرایط آزمایشگاهی با افزایش بیان پروتئین STAT3 در سلول های عضلانی اولیه انسان همراه بود، که زمینه ساز اهمیت این مسیر در سازگاری با شرایط هایپوکسیک در عضله اسکلتی است [۲۱]. در عمل، این نتایج بر اهمیت یک پاسخ التهابی متوسط و خوب کنترل شده برای القای سازگاری های میورژنیک پس از تمرین مقاومتی هایپوکسیک تأکید می کند. این نتایج راهبرد کاهش یا حتی کم کردن پاسخ التهابی حاد پس از فعالیت ورزشی و در هایپوکسی با مصرف داروهای ضد التهابی یا مواد مغذی ضد التهابی را زیر سؤال می برند [۲۳]. در مطالعه حاضر مسیرها و نشانگرهای التهابی نظیر ایترلوکین 6 و TNF- $\alpha$  بررسی نشده اند، از این رو نمی توان در این مورد اظهار نظر قطعی کرد. از دیگر نتایج مطالعه حاضر کاهش پروتئین PGC1- $\alpha$  در گروه موش های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم بود. این موضوع در بسیاری از مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است. مطالعات زیادی گزارش کرده اند که دیابت عملکرد و پویایی میتوکندری را مختل می کند، در حالی که عملکرد درست میتوکندری ها نقش اساسی در تنظیم مسیرهای متابولیک ایفا می کند و برای حفظ تعادل انرژی مناسب حیاتی است [۲۵، ۲۴، ۱۶، ۸]. ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری در عضله

<sup>1</sup> Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$

غلظت پروتئین PGC-1 $\alpha$  و PAX7 می شود که افزایش توامان این دو عامل در فعال شدن سلول ماهواره ای و نوسازی بافت عضلانی و نیز افزایش مصرف انرژی در بافت عضلانی موش های دیابتی شده با روش HFD-STZ کمک می کند. نتیجه گیری 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 می توان به تمرینات مقاومتی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی موقت و غیرفعال نیز به عنوان یک راهکار پیشنهادی در بهبود شاخص های 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 هزینه شخصی محقق انجام شده است. بدین وسیله از حمایت های معنوی مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر جهت انجام تحقیق تقدیر و تشکر می نماید. همچنین مطالعه ای حاضر در کمیته اخلاق دانشکده 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.

استقامتی)، در این زمینه اثر بیشتری دارند [۱۱، ۱۲]. هرچند مطالعاتی وجود دارند که تغییر چندانی را در غلظت پروتئین PGC-1 $\alpha$  در اثر تمرینات مقاومتی با شدت های مختلف گزارش نکرده اند [۲۹] اما برخی مطالعات نشان داده اند که تمرینات مقاومتی نیز با اثرگذاری بر محور تنظیم کننده  $p38\gamma$  MAPK/PGC-1 $\alpha$  به بیوترنز میتوکندری ها در عضلات اسکلتی منجر می شود. در همین راستا، مطالعه ای حاضر نیز نشان داد که انجام فعالیت های مقاومتی با افزایش غلظت پروتئینی PGC-1 $\alpha$  احتمالاً به شکل گیری میتوکندری های بیشتر در عضله ی نعلی موش های دیابتی منجر می شود. با این وجود، این افزایش در گروهی که تمرینات مقاومتی را به تهنایی انجام داده بودند در مقایسه با گروه کنترل سالم، معنی دار نبود. این موضوع می تواند ناشی از نوع آزمودنی های تحقیق باشد. برخی مطالعات نشان می دهند که تمرینات مقاومتی نوع خاصی از PGC-1 $\alpha$  را در عضلات اسکلتی بیان می کند به نام PGC-1 $\alpha4$  معروف است و کمتر به شاخص های انرژی مرتبط هستند [۳۰]. این نوع از PGC-1 $\alpha$  به بیان بیشتر IGF-1 در عضلات کمک می کند و مایواستاتین را سرکوب می کند و از این رو بیشتر با هایپرتروفی عضلانی و جلوگیری از تحلیل بافت عضلانی ارتباط دارد. از این جهت می توان افزایش PGC-1 $\alpha$  در عضلات موش های دیابتی را به این نوع از پروتئین نسبت داد که منجر به پیشگیری از آتروفی عضلانی در این بیماران می شود.

در مجموع می توان چنین نتیجه گیری کرد که تمرینات مقاومتی و قرار گرفتن در معرض هایپوکسی غیرفعال با سازکارهای متفاوتی به افزایش

### ماخذ

- 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.
- Bazgir B, asgari A. The Interactive role of exercise and satellite cells in skeletal muscle regeneration and hypertrophy. *EBNESINA* 2015; 16 (4):47-63
- 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.
- Bentzinger CF, Wang YX, Rudnicki MA. Building muscle: molecular regulation of myogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology* 2012; 4(2):a008342.
- 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.
- 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.
- 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.



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, Stanaric 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 PGC1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell* 2012; 151(6), 1319–1331.

## 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<sup>1</sup>, Yaser Kazemzadeh<sup>1\*</sup>, Abdolali Banaiifar<sup>1</sup>

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-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$  proteins.

**Results:** The results showed that there is a significant difference ( $P=0.0001$ ) between the research groups in both PAX7 and PGC-1 $\alpha$  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- $\alpha$  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-1 $\alpha$  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-1 $\alpha$

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

