

## اثر ۸ هفته تمرین هوازی کم شدت در هایپوکسی بر محتوای PGC-1 $\alpha$ عضله، گلوکز ناشتا، مقاومت به انسولین و حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲

سید علی اکبر فلاح پور نوش آبادی<sup>۱</sup>، یاسر کاظم زاده<sup>۲\*</sup>، علی گری<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۹

### خلاصه

**مقدمه:** گیرنده فعال شده تکثیری پروکسی زومی هم فعال کننده آلفا (PGC-1 $\alpha$ ) یک هدف درمانی در دیابت نوع ۲ است که به تمرینات هوازی پاسخ می‌دهد. تحقیقات اخیر از هایپوکسی به عنوان مداخله‌گر درمانی جدید در دیابت نوع ۲ نام می‌برند. هدف پژوهش حاضر، تعیین اثر ۸ هفته تمرین هوازی کم شدت در هایپوکسی بر محتوای PGC-1 $\alpha$  عضله، گلوکز ناشتا، مقاومت به انسولین و حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار به پنج گروه ۸ تایی کنترل سالم، کنترل دیابتی، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی تقسیم شدند. القای دیابت با روش رژیم غذایی پرچرب-استرپتوزوتوسین انجام شد. تمرینات ۸ هفته (۵ جلسه ۶۰-۴۰ دقیقه‌ای) با سرعت ۱۵-۱۰ متر در دقیقه انجام شد. از هایپوکسی نورموباریک با اکسیژن ۱۴/۴ درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی انجام شد.

**یافته‌ها:** آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، تفاوت معنی‌داری در متغیرهای تحقیق بین گروه‌ها نشان داد ( $p=0/001$ ). آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد، گروه‌های کنترل سالم، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری در متغیرهای PGC-1 $\alpha$ ، گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین دارند ( $p<0/05$ ). همچنین گروه‌های کنترل سالم، تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی در حداکثر اکسیژن مصرفی با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌دار داشتند ( $p<0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین هوازی کم شدت در هایپوکسی در مقایسه با هایپوکسی و تمرین هوازی کم شدت، تأثیر بیشتری بر شاخص‌های پژوهش گذاشت.

**واژه‌های کلیدی:** دیابت نوع ۲، گلوکز ناشتا، مقاومت به انسولین، هایپوکسی، PGC-1 $\alpha$

۱- دانشجوی دکتری، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران. (نویسنده مسئول)  
پست الکترونیکی: yaser.kazemzadeh@yahoo.com، تلفن: ۰۹۱۲۲۲۰۵۹۷۳

۳- دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

## مقدمه

یکی از مهم‌ترین فرضیه‌های ایجاد دیابت نوع ۲ اختلال در عملکرد میتوکندری است. اختلال میتوکندریایی به شکل کاهش بیوژنز (کاهش حجم میتوکندریایی) و اختلال در تنفس میتوکندریایی بروز می‌کند و در نهایت موجب کاهش حداکثر اکسیژن مصرفی یا Vo2max می‌شود [۲۰].

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 $\alpha$ ) نقش اساسی در بیوژنز میتوکندری، تنفس سلولی، اکسیداسیون اسیدهای چرب، افزایش ظرفیت اکسایشی و تغییر فیبرهای نوع تند انقباض به نوع کند انقباض ایفا می‌کند [۱]. نشان داده شده میزان بافتی و بیان ژن PGC-1 $\alpha$  در بیماری دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم کمتر است و افزایش آن می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی جدید در دیابت نوع ۲ بررسی شود [۳]. علاوه بر این، گزارش شده که PGC-1 $\alpha$  به واسطه افزایش بیان ژن GLUT4 Glucose transporter 4 نقش اساسی در کاهش مقاومت به انسولین و گلوکز ناشتا ایفا می‌کند [۱].

انقباض عضلانی، به ویژه انجام فعالیت‌های ورزشی هوازی موجب شکل‌گیری سازگاری‌های اکسیداتیو و بهبود حداکثر اکسیژن مصرفی در عضلات می‌شود. عنوان شده، تمرینات هوازی و استقامتی موجب تغییر نوع تارهای عضلانی، افزایش بیوژنز میتوکندریایی و برخی سازگاری‌های متابولیکی می‌شوند که بهبود حساسیت به انسولین و متابولیسم عضلات مدل‌های انسانی و حیوانی را در پی خواهد داشت و می‌توانند یک مداخله‌گر درمانی مفید برای بیماران دیابت نوع ۲ باشند [۴].

adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) از عوامل تنظیم‌کننده رونویسی PGC-1 $\alpha$  می‌باشد که تحت تأثیر تمرینات هوازی افزایش می‌یابد. افزایش ترشح یون کلسیم ناشی از انقباض از سوی دیگر منجر به فعال‌سازی calmodulin dependent- protein kinase و AMPK

(CaMK) می‌گردد. فعال شدن CaMK و AMPK، حتی تحت تأثیر فعالیت‌های هوازی کم شدت PGC-1 $\alpha$  را با تنظیم مستقیم فعالیت عوامل رونویسی، افزایش می‌دهند که این امر می‌تواند باعث ایجاد سازگاری‌های متابولیک، از جمله بهبود متابولیسم گلوکز در عضلات شود [۵].

علاوه بر ویژگی‌های ژنتیکی و سبک زندگی، عوامل

محیطی می‌توانند عمیقاً بر زندگی و سلامت افراد تأثیر بگذارند [۶]. یکی از این عوامل، محیط کم اکسیژن یا هایپوکسی است. پژوهش‌ها هنوز در مورد اثرات هایپوکسی اتفاق نظر ندارند. عنوان شده فشارخون و فعالیت سمپاتیک، تحت تأثیر هایپوکسی شبانه افزایش می‌یابد. همچنین Reactive oxygen species (ROS) در اثر قرارگیری در ارتفاع، در بدن زیاد می‌شود که منجر به افزایش مقاومت به انسولین و گلوکز خون خواهد شد [۷]. اما برخی پژوهش‌ها اثرات بسیار مفیدی از هایپوکسی عنوان می‌کنند، به طوری که بیان شده هایپوکسی می‌تواند به عنوان یک مداخله‌گر درمانی نوظهور در بیماری‌های قلبی-عروقی و بیماری سندرم متابولیک ایفای نقش کند [۸ و ۹]. مشاهده شده مسیرهای سیگنالی مؤثر در متابولیسم گلوکز نظیر Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) و Akt Protein-kinase B تحت تأثیر هایپوکسی فعال می‌شوند [۸ و ۱۰].

تحقیقات اندکی به انجام تمرینات هوازی در هایپوکسی در بیماران دیابت نوع ۲ و بررسی اثر آن پرداخته‌اند. در پژوهشی نشان داده شد که ۶ هفته تمرین هوازی با شدت ۶۰ درصد Vo2max برای ۳ روز در هفته در شرایط هایپوکسیک تأثیرات مشابهی بر بهبود وزن، دور کمر، ابعاد قلبی و متابولیسم بافت چربی در مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با گروه تمرین هوازی نورموباریک می‌گذارد. ولی میزان افزایش متابولیسم پایه در گروه تمرین هوازی در هایپوکسیک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه تمرین هوازی نورموباریک بود [۱۱]. در پژوهش دیگری نشان داده شد ۴ هفته تمرین هوازی بر روی تردمیل و قرارگیری مجزا در معرض هایپوکسی در طول روز (اعمال هایپوکسی به طور مجزا از تمرین بوده است) موجب بهبود متابولیسم گلوکز و چربی‌ها در موش‌های چاق می‌شود که به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل و گروه تمرین نورموکسیک بوده است [۱۲].

در بررسی متون، پژوهشی که اثر تمرین هوازی در هایپوکسی را بر PGC-1 $\alpha$  نمونه‌های دیابتی نوع ۲ ارزیابی کرده با شدت، یافت نشد. لذا هدف پژوهش حاضر تعیین اثر ۸ هفته تمرین هوازی کم شدت در هایپوکسی بر محتوای PGC-1 $\alpha$  عضله، گلوکز ناشتا، مقاومت به انسولین و حداکثر

اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع تجربی بود و در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر در سال ۱۳۹۸ انجام گرفت. کد اخلاق با شناسه‌ی IR. IAU. PS. REC. 1398. 212 از دانشکده داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران برای پژوهش اخذ شد. نمونه‌های تحقیق حاضر را ۴۰ موش صحرایی نر ویستار با سن ۱۰ هفته و دامنه وزنی ۲۱۵ الی ۲۲۸ گرم که از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند، تشکیل دادند. موش‌ها در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ در صد و چرخه خواب بیداری ۱۲:۱۲، با در دسترس بودن آب و غذا در تمام طول تحقیق نگهداری و کنترل شدند [۱۳].

نمونه‌ها به طور مساوی (هر گروه ۸ موش) به ۵ گروه: کنترل سالم، کنترل دیابتی، هایپوکسی، تمرین هوازی و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی تقسیم شدند. القای دیابت در گروه‌های کنترل دیابتی، هایپوکسی، تمرین هوازی و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی با روش High Fat Diet-Streptozotocin (HFD-STZ) انجام شد. بدین صورت که تمامی موش‌های صحرایی به مدت ۶ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب شامل ۵۹٪ چربی، ۲۷٪ کربوهیدرات و ۱۴٪ پروتئین از مجموع کل کالری دریافتی روزانه قرار گرفتند. به منظور دستیابی به درصدهای ذکر شده در رژیم غذایی، ۵۳۱ گرم کره حیوانی و ۱۲۵ گرم پروتئین به غذای موش شرکت خوراک دام پارس ایران اضافه شد [۱۴]. در پایان ۶ هفته رژیم پرچرب، ۳۵ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین شرکت Keocyt فرانسه با نام تجاری Zanosar به ازای هر کیلو از وزن بدن در بافر سیترات ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر با اسیدیته ۴/۵، به صورت درون صفاقی بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی شبانه در حدود ساعت ۹ صبح به موش‌ها تزریق شد [۱۴]. هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، نمونه خون از دم حیوان جهت سنجش قند خون به وسیله گلوکومتر AgaMatrix Jazz Wireless2 گرفته شد و نمونه‌های با قند خون بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان نمونه‌های دیابتی انتخاب شدند [۱۳].

مدت اجرای طرح ۸ هفته و برای ۵ جلسه در هفته بود. دویدن بر روی تردمیل (تردمیل ۱۰ لاین شرکت نوید ایران) در گروه تمرین هوازی و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی شامل ۶۰-۴۰ دقیقه با سرعت ۱۵-۱۰ متر در دقیقه بود. مدت تمرین در هفته اول ۴۰، هفته دوم ۴۵، هفته سوم ۵۰، هفته چهارم ۴۵، هفته پنجم ۵۰، هفته ششم ۵۵ و هفته هفتم و هشتم ۶۰ دقیقه بود. تمرینات با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز شد و تا دقیقه ۱۰ با همین سرعت ادامه یافت و از پایان دقیقه ۱۰ تا دقیقه ۲۲، هر سه دقیقه یک متر در دقیقه به سرعت اضافه شد. از دقیقه ۲۲ به بعد تمرینات با سرعت ۱۵ متر در دقیقه تا پایان ادامه یافت [۱۲]. جهت اعمال هایپوکسی در گروه هایپوکسی و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی، از هایپوکسی نورموباریک (هایپوکسی با فشار اکسیژن نرمال و درصد اکسیژن کمتر از نرمال) با میزان اکسیژن ۱۴/۴٪ معادل ارتفاع ۳۰۰۰ متری به طور ثابت در تمام هفته‌های تمرین استفاده شد. موش‌های گروه هایپوکسی همانند زمان تمرین دو گروه دیگر، در طول روز در معرض هایپوکسی قرار گرفتند [۱۲].

وزن موش‌ها به وسیله ترازوی دیجیتال ساخت ایران، شرکت کیمیا با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری Vo2max، موش‌های صحرایی دویدن را روی تردمیل بدون شیب با سرعت ۱۰ متر در دقیقه آغاز کردند و سپس هر سه دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت تردمیل افزوده شد. این روند تا واماندگی موش‌ها ادامه یافت. سرعت دویدن موش‌ها در واماندگی به عنوان Vo2max ثبت گردید [۱۵]. ۴۸ ساعت پس از هشت هفته تمرین، نمونه‌ها طبق موازین اخلاقی به وسیله تزریق ترکیبی از کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلازین (۳-۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بافت عضله نعلی (Soleus) از قسمت خلفی ساق پا جهت سنجش PGC-1 $\alpha$  و ۵ میلی‌لیتر خون از قلب حیوان جهت سنجش گلوکز و انسولین استخراج شد. بافت عضله نعلی در سرم فیزیولوژیک شستشو، و به وسیله ازت مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام پروتکل آزمایشگاهی منجمد شد. جهت استخراج PGC-1 $\alpha$ ، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت عضله نعلی در محلول Phosphate-Buffered Saline

از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه جهت بررسی تفاوت گروه‌ها استفاده شد. جهت مقایسه دو به دوی گروه‌ها از آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمام مراحل تجزیه و تحلیل ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

گروه‌های مورد بررسی در شروع پژوهش از نظر وزن تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. القای دیابت به روش HFD-STZ، پس از ۶ هفته منجر به افزایش وزن گروه‌های دیابتی گردید ( $p < 0.01$ ). پس از ۸ هفته، بین گروه‌ها در متغیر وزن تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به نحوی که بین گروه‌های کنترل سالم، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌دار وجود داشت ( $p < 0.01$ ). وزن گروه‌های تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشت اما تفاوت با گروه کنترل سالم و گروه هایپوکسی معنی‌دار بود ( $p < 0.01$ ). تفاوت معنی‌داری بین وزن گروه کنترل سالم و گروه هایپوکسی مشاهده نشد. میانگین و انحراف معیار وزن موش‌ها در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

(PBS) به عنوان آنتی پروتئاز هموزن شد. بافت هموزن شده با نیروی ۵۰۰۰ برابر نیروی گرانش (g) به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به وسیله سانتریفیوژ مدل 2-16KL شرکت Sigma آلمان سانتریفیوژ شد و سوپرناتانت حاصل طبق دستورالعمل کیت الایزای کمپانی چینی آمریکایی Cusabio با شماره کاتالوگ CSB-EL018425RA و با روش ساندویچ الایزای ارزیابی گردید. جهت سنجش گلوکز از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران و جهت سنجش انسولین از کیت الایزای انسولین کمپانی Demeditec Diagnostic با شماره کاتالوگ DEV8811 ساخت کشور آلمان استفاده شد. مقاومت به انسولین با استفاده از مقادیر انسولین و گلوکز ناشتا و قرار دادن آن در فرمول HOMA-IR، محاسبه شد [۱۳].

$$\text{HOMA-IR} = \text{Fasting Insulin (microunit/ml)} \times \text{Fasting Glucose (mmol/l)} \div 22.5$$

نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. پس از اطمینان از طبیعی بودن توزیع داده‌ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk، از آزمون Levene جهت بررسی همگنی واریانس‌ها استفاده شد. پس از اطمینان از همگنی واریانس‌ها از آمار پارامتریک استفاده شد. بدین منظور

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار وزن موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه در قبل و پس از رژیم غذایی پرچرب و پس از ۸ هفته تمرین

متغیر	تعداد در هر گروه = ۸	دیابتی تمرین هوازی			کنترل سالم	
		انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	کنترل دیابتی انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین
قبل از رژیم غذایی		۲۲۲/۴ $\pm$ ۶۱/۰۰	۲۲۰/۴ $\pm$ ۸۰/۰۷	۲۱۹/۵ $\pm$ ۵۲/۰۱	۲۲۱/۳ $\pm$ ۷۰/۰۵	
وزن (گرم)	بعد از شش هفته رژیم پرچرب (القای دیابت)	۳۳۰/۵ $\pm$ ۸۰/۰۲	۳۲۵/۳ $\pm$ ۷۴/۰۰	۳۲۷/۴ $\pm$ ۴۱/۱۸	-----	
	بعد از هشت هفته تمرین	۳۰۵/۸۷ $\pm$ ۲/۷۹	۲۸۴/۶۲ $\pm$ ۳/۸۵	۳۳۱/۵۰ $\pm$ ۵/۹۲	۳۰۱/۶۲ $\pm$ ۴/۲۶	

Bonferroni در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی

جدول ۲- میانگین، انحراف معیار و نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Bonferroni در گروه‌های مورد مطالعه

P	گروه هایپوکسی		گروه کنترل دیابتی		PGC-1 $\alpha$ (pg/ml)
	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
<0.001*	۴۶۱۷/۱۸ $\pm$ ۸۷/۹۹	۱۸۳۲/۰۳ $\pm$ ۵۲/۶۵ <sup>^</sup>	۲۴۹۶/۰۹ $\pm$ ۳۸/۹۵ <sup>##</sup>	۹۵۷/۰۳ $\pm$ ۵۲/۶۵ <sup>##</sup>	۱۹۳۷/۵۰ $\pm$ ۴۷/۲۴ <sup>##</sup>

* <math>0.001</math>	12.012 $\pm$ 2.264	16.825 $\pm$ 2.71 <sup>^</sup>	16.150 $\pm$ 3.16 <sup>^</sup>	29.762 $\pm$ 5.31 <sup>^#^</sup>	83.87 $\pm$ 2.35 <sup>^+^#^</sup>	گلوکز ناشتا پلاسمائی (mg/dl)
* <math>0.001</math>	1.88 $\pm$ 0.053	2.66 $\pm$ 0.050 <sup>^</sup>	2.48 $\pm$ 0.061 <sup>^</sup>	4.51 $\pm$ 0.076 <sup>^#^</sup>	1.64 $\pm$ 0.029 <sup>^+^#^</sup>	مقاومت به انسولین (IR)
* <math>0.001</math>	81.37 $\pm$ 10.92	58.75 $\pm$ 10.66 <sup>^</sup>	67.25 $\pm$ 10.66 <sup>^#^</sup>	55.00 $\pm$ 10.30 <sup>^#^</sup>	77.78 $\pm$ 20.03 <sup>^+^#^</sup>	Vo2max (ml/kg/min)

\* &lt;math&gt;p &lt; 0.05&lt;/math&gt; اختلاف معنی دار

+ : تفاوت معنی دار با گروه کنترل دیابتی، - : تفاوت معنی دار با گروه تمرین هوازی، # : تفاوت معنی دار با گروه هایپوکسی و ^ : تفاوت معنی دار با گروه تمرین هوازی در هایپوکسی

همچنین بین گروه تمرین هوازی در هایپوکسی و کنترل سالم در متغیر Vo2max مشاهده نشد. بین گروه تمرین هوازی و گروه تمرین هوازی در هایپوکسی ( $p=0.001$ ) تفاوت معنی دار در متغیر Vo2max مشاهده شد.

### بحث

پس از القای دیابت نوع 2 با روش رژیم غذایی پرچرب- استرپتوزوتوسین، پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضله نعلی کاهش یافت که با سایر پژوهش‌های انجام گرفته در این زمینه همسو بود. در این راستا عنوان شده، دیابت نوع 2 می‌تواند بیان ژن و محتوای PGC-1 $\alpha$  در عضلات بیماران دیابتی را کاهش دهد [3 و 16]. در ادامه، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی منجر به افزایش محتوای PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی نوع 2 شد. بررسی یافته‌های مطالعات قبلی در زمینه اثر تمرینات هوازی و استقامتی بر روی نمونه‌های چاق [17]، سالم [18] و دیابتی [16] نشان داد PGC-1 $\alpha$  تحت تأثیر تمرینات هوازی و استقامتی افزایش می‌یابد. در پژوهش دیگری که بر روی موش‌های دیابتی شده با روش حذف ژن لپتین انجام شد نشان داده شد که محتوای PGC-1 $\alpha$  در اثر تمرینات پر شدت و کم شدت استقامتی افزایش نمی‌یابد [19]. احتمالاً تفاوت در نتایج دو پژوهش به نحوه القای دیابت مربوط می‌شود. زیرا گزارش شده در غیاب ژن لپتین سازگاری به تمرینات استقامتی مهار می‌شود [20].

AMPK از عوامل تنظیم کننده رونویسی PGC-1 $\alpha$  است. تمرینات هوازی به واسطه افزایش نسبت Adenosine Triphosphate / Adenosine Monophosphate (AMP) و افزایش ترشح یون کلسیم، منجر به

آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی داری در میزان گلوکز ناشتا، مقاومت به انسولین، Vo2max و محتوای پروتئین PGC-1 $\alpha$  در بافت عضله نعلی نشان داد. آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد بین گروه‌های کنترل سالم، کنترل دیابتی، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی در متغیر PGC-1 $\alpha$  تفاوت معنی دار وجود دارد ( $p < 0.05$ ). هر چهار گروه کنترل سالم، تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی با گروه کنترل دیابتی در متغیر گلوکز ناشتا تفاوت معنی دار داشتند ( $p=0.001$ ). همچنین، گروه‌های تمرین هوازی، هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی تفاوت معنی داری با گروه کنترل سالم در متغیر گلوکز ناشتا داشتند ( $p=0.001$ ). دو گروه تمرین هوازی و هایپوکسی تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، اما با گروه تمرین هوازی در هایپوکسی تفاوت معنی دار در متغیر گلوکز ناشتا داشتند ( $p=0.001$ ). در خصوص متغیر مقاومت به انسولین مشاهده شد، گروه‌های کنترل سالم ( $p=0.001$ )، تمرین هوازی ( $p=0.001$ )، هایپوکسی ( $p=0.001$ ) و تمرین هوازی در هایپوکسی ( $p=0.001$ ) با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی دار داشتند. همچنین گروه‌های تمرین هوازی ( $p=0.001$ )، هایپوکسی ( $p=0.001$ ) و تمرین هوازی در هایپوکسی ( $p=0.014$ ) تفاوت معنی داری با گروه کنترل سالم داشتند. دو گروه تمرین هوازی و هایپوکسی تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند، اما با گروه تمرین هوازی در هایپوکسی تفاوت معنی دار داشتند ( $p=0.001$ ). در متغیر Vo2max مشاهده شد، گروه‌های کنترل سالم، تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی دار دارند ( $p=0.001$ ). اما تفاوت معنی داری بین گروه هایپوکسی و کنترل دیابتی و

احتمالاً این امر به واسطه افزایش Nuclear respiratory factor1 (NRF1) رخ می دهد. پروتئین Akt (AS160) substrate of 160 kDa نیز در اثر افزایش AMPK ناشی از ورزش، فسفریله می شود و می تواند پروتئین Rab در GLUT4 را فعال کند [۵۱].

در تحقیق حاضر مشاهده شد که گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین در گروه هایپوکسی کاهش می یابد که با نتایج برخی پژوهش های صورت گرفته همسو بود. Chen و همکاران نشان دادند که اعمال ۸ ساعت هایپوکسی نورموباریک در روز به مدت دو هفته، گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین را در افراد دیابتی کاهش می دهد [۲۱]. در پژوهش دیگر نیز مقاومت به انسولین و گلوکز ناشتا در موش های دیابتی که برای ۸ هفته در چرخه خواب ۱۲ ساعته در هایپوکسی ۱۴٪ قرار گرفتند، کاهش یافت که با پژوهش حاضر هم را ستا بود [۲۶]. احتمالاً ترشح HIF-1 $\alpha$  و اریترپوئیتین پس از قرارگیری در هایپوکسی، به واسطه فعال کردن مسیرهای سیگنالی AMPk/PI3k/Akt، مقاومت به انسولین را کاهش می دهند و برداشت گلوکز در خون افزایش می یابد [۹، ۵ و ۱۰].

در پژوهشی، Klug و همکاران اثر تمرین در نورموکسی و هایپوکسی را طی ۶ هفته در مردان دیابتی بررسی کردند و مشاهده شد تمرین در هایپوکسی و نورموکسی به میزان یکسان موجب بهبود وزن، دور کمر، ابعاد قلبی و متابولیسم بافت چربی و شاخص های سندرم متابولیک می شود [۱۱]. اما در تحقیق حاضر میزان کاهش گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین در گروه تمرین هوازی در هایپوکسی بی شتر از گروه تمرین هوازی نورموکسی بود. این تفاوت در دو تحقیق می تواند به تفاوت نمونه های حیوانی و انسانی و درصد اکسیژن مورد استفاده در ایجاد هایپوکسی مربوط باشد. در تحقیق Klug از ۱۵/۲ درصد اکسیژن و در تحقیق حاضر از اکسیژن ۱۴/۴ استفاده شد. همچنین مدت تحقیق حاضر ۸ هفته و مدت تحقیق مذکور ۶ هفته بود. Wang و همکاران نیز در طرحی ۴ هفته ای نشان دادند، تمرین هوازی در هایپوکسی با اکسیژن ۱۴/۴ درصد موجب بهبود متابولیسم گلوکز و چربی ها در موش های چاق می شود که به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل و گروه تمرین نورموکسیک بوده است [۱۲] که با

فعال سازی MPK و CaMK می گردند. فعال شدن CaMK و AMPK، PGC-1 $\alpha$  را با تنظیم مستقیم فعالیت عوامل رونویسی، افزایش می دهد [۵].

در مطالعه حاضر، اعمال هایپوکسی نورموباریک به مدت ۴۰-۶۰ دقیقه در روز بدون انجام فعالیت بدنی، میزان PGC-1 $\alpha$  عضله نعلی موش های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ را افزایش داد. همسو با پژوهش حاضر، نشان داده شد که اعمال هایپوکسی با اکسیژن ۱۵-۱۴٪ به مدت دو هفته و ۸ ساعت در شبانه روز، گلوکز خون را کاهش و PGC-1 $\alpha$  را در بافت عضله مبتلایان به دیابت نوع ۲ افزایش می دهد [۲۱]. در پژوهشی دیگر که بر روی بافت عضله قلبی موش های صحرایی سالم انجام شد، PGC-1 $\alpha$  پس از ۱۲-۴ ساعت قرارگیری در هایپوکسی نورموباریک در زمان استراحت شبانه افزایش یافت که با نتیجه تحقیق حاضر هم راستا بود [۲۲].

گزارش شده، اریترپوئیتین، Nitric oxide (NO)، Akt و PI3K، AMPK تحت تأثیر افزایش Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ) ناشی از قرارگیری در هایپوکسی، افزایش می یابند و محتوای PGC-1 $\alpha$  را بهبود می بخشند [۸ و ۲۳]. برخلاف وجود تحقیقات مرتبط با اثر تمرین هوازی و اثر هایپوکسی بر PGC-1 $\alpha$ ، تاکنون تحقیقی که اثر تمرین هوازی در هایپوکسی را بر میزان پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضله اسکلتی نمونه های سالم و دیابتی بررسی کرده باشد، یافت نشد. اما عنوان شده تمرین هوازی در هایپوکسی احتمالاً به واسطه افزایش HIF-1 $\alpha$  و MAPK باعث افزایش پروتئین PGC-1 $\alpha$  در عضلات می شود [۲۴] که این مطلب با نتیجه تحقیق حاضر همسو است.

گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین در پژوهش حاضر در گروه تمرین هوازی کاهش یافت. در تحقیق Lin و همکاران نیز تمرین هوازی موجب بهبود گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین نمونه های دیابتی نوع ۲ شد [۲۵]. در خصوص چگونگی اثر تمرین هوازی بر گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین به نظر می رسد Myocyte-specific enhancer factor 2A (MEF2A) پس از اتصال به پروموتور GLUT4، موجب افزایش بیان GLUT4 می شود. گزارش شده پروتئین PGC-1 $\alpha$  در صورت افزایش می تواند بیان MEF2A را افزایش دهد که

تحقیق حاضر هم راستا بود.

همانند سه شاخص دیگر، القا دیابت موجب کاهش Vo2max موش‌های صحرایی شد که در سایر پژوهش‌ها به کاهش عملکرد جسمانی، قلبی عروقی و هوازی نمونه‌های دیابتی اشاره شده است. از دلایل کاهش Vo2max، به افزایش گلوکز و مقاومت به انسولین و کاهش عملکرد قلب و عروق و کاهش ظرفیت حمل اکسیژن اشاره شده است [27]. بر خلاف سه شاخص قلبی، قرارگیری در هایپوکسی به تنهایی موجب افزایش Vo2max نشد. در بررسی متون، پژوهشی که اثر قرارگیری در هایپوکسی بدون انجام فعالیت بدنی را بر Vo2max بررسی کرده باشد، مشاهده نشد. در خصوص اثر تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی، در پژوهشی بر روی مردان سالم جوان نشان داده شد که تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی Vo2max را افزایش می‌دهند که هم راستا با نتایج پژوهش حاضر بود. اما میزان افزایش Vo2max در این پژوهش در اثر دو شیوه تمرینی یکسان بود که در این بخش با نتیجه پژوهش حاضر مغایر است [28]. احتمالاً مغایرت نتیجه دو پژوهش به تفاوت نمونه‌های حیوانی و انسانی و دیابتی بودن نمونه‌های تحقیق حاضر مربوط می‌شود. تمرین هوازی و تمرین هوازی در هایپوکسی به واسطه افزایش حجم ضربه‌ای قلب، افزایش ظرفیت حمل اکسیژن در خون، افزایش تراکم مویرگی عضلات و افزایش بیوژنز میتوکندریایی موجب بهبود Vo2max می‌شود. گزارش شده که تمرین هوازی در هایپوکسی به دلیل افزایش HIF-1 $\alpha$  و اریتروپوئیتین سازگاری‌های وسیع‌تری در سیستم قلبی عروقی و عضلانی جهت افزایش Vo2max ایجاد می‌کند [24].

از نکات برجسته این طرح پژوهشی می‌توان به اعمال هم‌زمان تمرین هوازی و هایپوکسی اشاره کرد که تا پیش از این فقط در یک طرح پژوهشی مشاهده شده بود. علاوه بر این، اعمال هایپوکسی در پژوهش‌های پیشین در چرخه خواب شبانه نمونه‌ها انجام گرفته است که احتمالاً به دلیل عدم دسترسی همگان به امکانات اعمال هایپوکسی نورموباریک، این شیوه از لحاظ اجرایی با مشکل مواجه باشد. اما استفاده از هایپوکسی و تمرین هوازی در هایپوکسی برای یک ساعت در

طول روز، در صورت راه‌اندازی مراکز مخصوص، امکان‌پذیرتر خواهد بود. به نظر می‌رسد در صورتی که امکان مقایسه اثرات هایپوکسی نورموباریک و هایپوکسی هایپوباریک (ارتفاع طبیعی) به طور هم‌زمان فراهم گردد می‌تواند طرحی جامع باشد که با توجه به عدم دسترسی به آزمایشگاهی مجهز در شهرهای مرتفع این امر محقق نشد و از محدودیت‌های پژوهش حاضر به شمار می‌رود. همچنین استفاده از نمونه‌های انسانی در طرح‌های آتی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد که به دلیل ناشناخته بودن اثر هم‌زمان تمرین و هایپوکسی و خطرات احتمالی بر وضعیت بیماران دیابت نوع ۲ در پژوهش حاضر امکان‌پذیر نبود.

### نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، القای دیابت موجب

کاهش محتوای PGC-1 $\alpha$ ، افزایش گلوکز ناشتا، مقاومت انسولین و کاهش حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌ها شد. تمرین هوازی در هایپوکسی بیشترین بهبود را در هر چهار متغیر تحقیق ایجاد کرد. تمرین‌های هوازی و هایپوکسی موجب بهبود یکسان گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین شدند اما میزان افزایش PGC-1 $\alpha$  در تمرین هوازی بیش از هایپوکسی بود. همچنین هایپوکسی اثری بر Vo2max نداشت. با توجه به نتایج، تمرین هوازی در هایپوکسی می‌تواند به عنوان یک مداخله‌گر درمانی قابل توجه در تحقیقات آتی مورد بررسی بیشتر قرار گیرد تا در صورت ایمن بودن برای نمونه‌های انسانی مبتلا به دیابت نوع ۲ استفاده شود.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

### سهم نویسندگان

پژوهش حاضر با هزینه شخصی نویسندگان انجام شده است. امور مربوط به اجرای پژوهش، گردآوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نگارش مقاله بر عهده سید علی اکبر فلاح‌پور و یاسر کاظم‌زاده بوده است. نظارت و مشاوره امور آزمایشگاهی پژوهش را علی‌گزی بر عهده داشت.

## تشکر و قدردانی

ورزشی دانشگاه آزاد اسلام شهر بابت فراهم نمودن شرایط

آزمایشگاهی لازم، کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

از زحمات مسئولین و اساتید دانشکده تربیت بدنی و علوم

## References

1. Wu H, Deng X, Shi Y, Su Y, Wei J, D H. PGC-1 $\alpha$ , glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus. JOE 2016; 229(3): 99-115.
2. Pinti MV, Fink GK, Hathaway QA, Durr AJ, Kunovac A, Hollander JM. Mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an organbased analysis. AJPENDO 2019; 316(2): 268-85.
3. Santos I, Perez-Belmonte LM, Macias-Gonzalez M, Mataro MJ, Castellano D, Lopez-Garrido M, et al. Type 2 diabetes is associated with decreased PGC1 $\alpha$  expression in epicardial adipose tissue of patients with coronary artery disease. JTM 2016; 14(1): 243.
4. Golbidi S, Mesdaghinia A, Laher I. Exercise in the Metabolic Syndrome. OMCL 2012; 2012(1): 349710.
5. Lira V A, Benton C R, Yan Z, Bonen A. PGC-1 $\alpha$  regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. AJPENDO 2010; 299(2): 145-161.
6. Sampson M, Clark A, Bachmann M, Garner N, Irvine L, Howe A, et al. Lifestyle Intervention With or Without Lay Volunteers to Prevent Type 2 Diabetes in People With Impaired Fasting Glucose and/or Nondiabetic Hyperglycemia. JAMA Intern Med 2021; 181(2): 168-178.
7. Tamisier R, Pepin JL, Remy J, Baguet JP, Taylor JA, Weiss JW, et al. 14 nights of intermittent hypoxia elevate day time blood pressure and sympathetic activity in healthy humans. ERJ 2011; 37(1): 119-28.
8. Verges S, Chacaroun S, Ribuot DG, Baillieul S. Hypoxic conditioning as a new therapeutic modality. Frontier in Pediatric 2015; 3(1): 58.
9. Burtscher M. Effects of Living at Higher Altitudes on Mortality: A Narrative Review. A&D 2014; 5(4): 274-80.
10. Mackenzie R, Elliott B. Akt/PKB activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes. Diabetes Metab Syndr Obes 2014; 7(1): 55-64.
11. Klug L, Mähler A, Rakova N, Mai K, Schulz-Menger J, Rahn G, et al. Normobaric hypoxic conditioning in men with metabolic syndrome. Physiological Reports 2018; 6(24): e13949.
12. Wang R, Guo S, Tian H, Huang Y, Yang Q, Zhao K, et al. Hypoxic Training in Obese Mice Improves Metabolic Disorder. Frontier in Endocrinology 2019; 10(1): 527.
13. Banaeifar A, Ebrahimpor S, Tabatabaie H, Ebadi ghahremani M. The effect of resistance training on muscle GLUT4 gene expression blood glucose and insulin resistance in type 2 diabetic rats. SJIMU 2019; 26(6): 46-57. [Persian]
14. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of type 2 diabetes in rat. IJEM 2016; 18(2): 135-48. [Persian]
15. Ayachi M, Niel R, Momken I, Billat V L, Mille-Hamard L. Validation of a Ramp Running Protocol for Determination of the True VO<sub>2</sub>max in Mice. Frontier in Physiology 2016; 7(1): 372.
16. Tabari E, Mohebbi H, Karimi P, Moghaddami K, Khalafi M. The effect of interval training intensity on PGC-1A skeletal muscle in type 2 diabetic rats. IJDL 2019; 18 (4): 179-88. [Persian]
17. Boyd JC, Simpson CA, Jung ME, Gurd BJ. Reducing the intensity and volume of interval training diminishes cardiovascular adaptation but not mitochondrial biogenesis in overweight/obese men. PLOS One 2013; 8(7): e 68091.
18. Granata C, Oliveira RS, Little JP, Renner K, Bishop DJ. Training intensity modulates changes in PGC1 $\alpha$  and p53 protein content and mitochondrial respiration, but not markers of mitochondrial content in human skeletal muscle. The FASEB Journal 2015; 30(2): 959-70.
19. Li L, Pan R, Li R, Niemann B, Aurich A-C, Chen Y, et al. Mitochondrial biogenesis and peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) deacetylation by physical activity: intact adipocytokine signaling is required. Diabetes 2011; 60(1): 157-67.
20. Su S, Zhang C, Zhang F, Li H, Yang X, Tang X. The association between leptin receptor gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. DRCP 2016; 121(3): 49-58.
21. Chen CY, Tsai YL, Kao CL, Lee SD, Wu MC, Mallikarjuna K, et al. Effect of mild intermittent hypoxia on glucose tolerance, muscle morphology and AMPK-PGC-1 $\alpha$  signaling. CJP 2010; 53(1):62-71.
22. Rahimifardin S, Siahkohian M, karimi P, Bolboli L, Farhadi H. The simulated height promotes PGC1 $\alpha$  related-



- adaptive pathway toward angiogenesis further than aerobic training in the heart tissue of Wistar male rats. *Studies in Medical Sciences* 2018; 29(9): 669-78. [Persian]
23. Woolcott OO, Ader M, Bergman RN. Glucose Homeostasis During Short term and Prolonged Exposure to High Altitudes. *Endocrine Reviews* 2015; 36(2): 149-73.
  24. Li J, Li Y, Atakan M M, Kuang J, Hu Y, Bishop D J, et al. The molecular adaptive responses of skeletal muscle to high intensity exercise/training and hypoxia. *Antioxidants* 2020; 9(8): 656.
  25. Lin CH, Ho CW, Chen LC, Cheng CC, Wang YW, Chiou CP, et al. Effects of a 12-week exercise training on insulin sensitivity, quality of life, and depression status in patients with type 2 diabetes. *JMS* 2017; 37(6): 227-36.
  26. Faramoushi M, Amir Sasan R, Sari Sarraf V, Karimi P. Effect of simulated intermittent altitude on the metabolic and hematologic parameters in streptozotocin induced diabetic rats. *JARUMS* 2016; 16(1): 53-64. [Persian]
  27. Reusch JE, Bridenstine M, Regensteiner JG. Type 2 diabetes mellitus and exercise impairment. *REMD* 2013; 14(1): 77-86.
  28. Pirouz M, Nourshahi M. The effect of eight weeks of training in hypoxia-normobaric conditions and normal conditions on VEGF concentration, serum erythropoietin, VO<sub>2</sub>max and fatigue index. *SSRJB* 2013; 10(3): 19-31. [Persian]

# The Effect of 8 Weeks of Low Intensity Aerobic Exercise in Hypoxia on Muscle PGC-1 $\alpha$ Content, Fasting Glucose, Insulin Resistance, and Maximal Oxygen Consumption in Type 2 Diabetic Rats

Fallahpour Noushabadi S AA<sup>1</sup>, Kazemzadeh Y<sup>2</sup>, Gorzi A<sup>3</sup>

1-Ph.D Student, Dept. of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.

2-Assistant Prof, Dept. of Exercise Physiology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran. (Corresponding Author)

Email: yaser.kazemzadeh@yahoo.com, Tel: 09122205973

3-Associate Prof, Dept. of Physical Education and Sports Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

Received: 18 January 2021

Accepted: 6 October 2021

**Introduction:** PGC-1 $\alpha$  is a therapeutic target in type 2 diabetes that responds to aerobic exercise. Recent research has identified hypoxia as a new therapeutic intervention in type 2 diabetes. The aim of this study was to determine the effect of 8 weeks of low intensity aerobic exercise in hypoxia on muscle PGC-1 $\alpha$  content, fasting glucose, insulin resistance, and maximal oxygen consumption in type 2 diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 40 male Wistar rats were divided into five groups (n= 8 per group): healthy control, diabetic control, aerobic exercise, hypoxia, and aerobic exercise in hypoxia. Induction of diabetes was performed by high-fat diet-streptozotocin method. Exercises were performed for 8 weeks, 5 sessions per week and 40-60 minutes at a speed of 10-15 meters per minute in each session. Normobaric hypoxia with 14.4% oxygen was used. Data were analyzed using one-way analysis of variance and Bonferroni post hoc test.

**Results:** One-way analysis of variance in the study groups showed a significant difference in the research variables (p=0.001). Bonferroni post hoc test showed a significant difference between the groups of healthy control, aerobic exercise, hypoxia, and aerobic exercise in hypoxia with the diabetic control group in PGC-1 $\alpha$ , fasting glucose, and insulin resistance. In addition, the groups of healthy control, aerobic exercise and aerobic exercise in hypoxia were significantly different from the diabetic control group in Vo<sub>2</sub>max (p<0.05).

**Conclusion:** Low intensity aerobic exercise in hypoxia had a greater effect on research indicators compared to hypoxia and low intensity aerobic exercise.

**Keywords:** Type 2 Diabetes, Fasting Glucose, Insulin Resistance, Hypoxia, PGC-1 $\alpha$

---

### Please cite this article as follows:

Fallahpour Noushabadi S AA, Kazemzadeh Y, Gorzi A. The Effect of 8 Weeks of Low Intensity Aerobic Exercise in Hypoxia on Muscle PGC-1 $\alpha$  Content, Fasting Glucose, Insulin Resistance, and Maximal Oxygen Consumption in Type 2 Diabetic Rats. *Community Health journal* 2021; 15 (3): 44-53.

**Funding:** This study was conducted with personal funds.

**Conflict of Interest:** None declared.

**Ethical Approval:** The Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences of Tehran Islamic Azad University of Medical Sciences approved the study on 20/November/2019 with No. IR. IAU. PS. REC. 1398. 212.