مجله دیابت و متابولیسم ایران. آذر و دی ۱۴۰۰؛ دوره ۲۱ (شماره ۵) ۳۴۴-۳۳۴

مقاله پژوهشی

اثر تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر وضعیت اکسیدان و آنتی اکسیدان عضله‌ی اسکلتی در رت‌های نر دیابتی القاء شده با STZ

سید رضا میرجوادی[۱]، علیرضا رحیمی*[۱]، فریبا آقایی[۱]، مهسا محسن زاده [۱]

چکیده

هدف: از آنجا که انسولین درمانی نمی‌تواند به درستی پیشرفت دیابت و عوارض آن را کنترل کند، سایر درمان‌های جایگزین ممکن است مطلوب باشند. هدف این پژوهش بررسی اثر تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر وضعیت اکسیدان و آنتی اکسیدان عضله‌ی اسکلتی در رت‌های نر دیابتی القاء شده با STZ بود.

روش‌ها: در این تحقیق تجربی، ۳۶ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار (میانگین سن ٦ هفته) به شش گروه کنترل (سالم)، کنترل دیابتی پایه، کنترل دیابتی، دیابت+تزریق سلول بنیادی، دیابت+تمرین مقاومتی و دیابت+تزریق سلول بنیادی+تمرین مقاومتی تقسیم شدند. در این مطالعه رت‌ها با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک دوز ٤٠ میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم وزن بدن و به‌صورت درون صفاقی دیابتی شدند. تمرینات مقاومتی شامل بالا رفتن از یک نردبان یک متری با وزنه‌ی آویزان به دم به‌مدت ۱۷ جلسه اجرا گردید. تعداد ۵۰۰ هزار سلول بنیادی مشتق از استخوان توسط دستگاه سل کانتر تزریق شد. میزان آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و مالون دی‌آلدهید (MDA) بافت عضله‌ی اسکلتی رت‌ها با استفاده از کیت و به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که سطح SOD رت‌های گروه تمرینات مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال نسبت به گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۰۱). همچنین سطح MDA رت‌های گروه تمرینات مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال می‌تواند به‌عنوان درمان غیردارویی برای کاهش عوارض عضله‌ی اسکلتی در دیابت نوع یک مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی، سلول‌های بنیادی، سوپراکسید دیسموتاز، مالون دی آلدهید، دیابت نوع یک

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

***نشانی**: کرج، رجائی شهر، بلوار موذن، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، نمابر: ۰۲۶۱٤٤۱۸۱۵٦، تلفن: ۰۹۱۲۳۱۰٤۹٦۵، پست الکترونیک: a_r_rahimi@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۳ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷**

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

مقدمه

دیابت نوع یک یک بیماری متابولیکی پیچیده و خودایمن واسطه است که با هیپرگلیسمی و کمبود انسولین مشخص می‌شود. میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به دیابت نوع یک مبتلا هستند و شیوع آن در دهه‌ی گذشته به‌طور مداوم افزایش یافته است [۲، ۱]. انسولین درمانی همچنان گزینه‌ی درمانی اولیه برای افراد مبتلا به دیابت نوع یک است و درحالی‌که پیشرفت در فناوری (به‌عنوان مثال پمپ‌های انسولین و دستگاه‌های مانیتورینگ مداوم گلوکز) مدیریت بالینی این بیماری را تسهیل کرده است، عوارض دیابت هنوز هم در این جمعیت عامل اصلی مرگ و میر زودرس است [۳]. مطالعات نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو در توسعه و پیشرفت دیابت نوع یک و عوارض آن نقش دارد [۵، ٤]. در واقع، اختلال در هموستاز رادیکال‌های آزاد فیزیولوژیکی در اختلال عملکرد سلول‌های بتا نقش دارد [٦]. تولید منظم رادیکال‌های آزاد در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مفید است. در حقیقت، رادیکال‌های آزاد در تعدیل سیگنالینگ انسولین به‌عنوان یک شمشیر دو لبه عمل می‌کنند و برای انسولین لازم است عمل فیزیولوژیکی خود را انجام دهد، اما در پاتوژنز مقاومت به انسولین نیز نقش دارد [٤]. منابع احتمالی اکسیژن واکنش‌پذیر در دیابت شامل اتوکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون پروتئین‌ها، مصرف NADPH از طریق مسیر پلیول و فعال‌سازی پروتئین کیناز C هستند [۷].

گزارش‌ها نشان داده است که سلول‌های بنیادی مغز استخوان کنترل قند خون و دیابت در مدل‌های حیوانی را بهبود می‌بخشند [۱۰-۸]. سلول‌های بنیادی سلول‌های مولد پرتوان و غیر خون ساز هستند و می‌توانند به انواع مختلف سلول‌ها متمایز شوند [۱۱]. مغز استخوان بافت انعطاف‌پذیر موجود در قسمت داخلی استخوان‌ها است و شامل سلول‌های بنیادی خونساز[1] (HSC) ، سلول‌های بنیادی مزانشیمی[2] (MSC) و سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال[3] (EPC) است [۱۲]. سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان می‌توانند به سلولهای β متمایز شوند. سلول‌های بنیادی نامزدهای عالی برای تولید جایگزین‌های سلول β هستند [۱۳]. پیوند سلول‌های تولید کننده انسولین از سلول‌های بنیادی مغز استخوان به رت‌های دیابتی منجر به کنترل وضعیت دیابتی آنها می‌شود. یک گزارش، مزیت احتمالی سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان برای درمان دیابت وابسته به انسولین را توصیف کرده و بینش جدیدی در مورد سازوکار بازیابی سلول β پس از آسیب ناشی به‌واسطه‌ی درمان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان ارائه می‌دهد [١٤]. در تحقیقی نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی استرس اکسیداتیو را سرکوب می‌کند [۱۵]. ورزش درمانی نیز به‌عنوان یک گزینه مهم در بهبود انواع اختلالات متابولیکی دیابت نوع یک در نظر گرفته شده است به‌طوری که موجب کاهش نیاز روزانه به انسولین و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط می‌شود [١٦]. نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی می‌تواند به بهبود وضعیت اکسیداتیو و کنترل قند خون در رت‌های دیابتی کمک کند [۱۸، ۱۷]. در همین زمینه، در تحقیق Pereira و همکاران (۲۰۱٦) پروتکل ورزش شنا به‌مدت ۸ هفته در کنترل قند خون نقش دارد و با افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، استرس اکسیداتیو را در خون رت‌های صحرایی دیابتی بهبود می‌بخشد [۱۸]. با این حال، در مطالعه‌ی Farhangi و همکاران (۱۳۹۵) عدم تغییر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در رت‌های دیابتی پس از هشت هفته تمرین ورزشی استقامتی گزارش شده است [۱۹].

در حال حاضر، انسولین درمانی رایج‌ترین راهبرد درمانی است که برای دیابت نوع یک استفاده می‌شود. از آنجا که انسولین درمانی نمی‌تواند به درستی پیشرفت دیابت و عوارض آن‌را کنترل کند، سایر درمان‌های جایگزین ممکن است مطلوب باشند [۲۰]. رویکردهای درمانی مدرن نه تنها علائم بیماری را کاهش می‌دهد بلکه عملکرد اندام‌ها را نیز بهبود می‌بخشد [۲۱]. به‌نظر می‌رسد که درمان با سلول بنیادی مزانشیمی یک روش درمانی نوآورانه امیدوار کننده برای درمان دیابت و عوارض ناشی از آن باشد. اگر چه، تاکنون تغییرات فاکتورهای آنتی اکسیدانی عضله ی اسکلتی در پاسخ به تزریق سلول‌های بنیادی در دیابت نوع

[1] Hematopoietic stem cells
[2] Mesenchymal stromal cells
[3] Endothelial progenitor cells

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

یک بررسی نشده است. عضله‌ی اسکلتی بزرگترین اندام متابولیکی بدن است و تقریباً ۸۰ درصد گلوکز مصرفی تحریک شده توسط انسولین پس از غذا در عضله رخ می‌دهد [۲۲]. بنابراین تغییرات در سلامت عضله‌ی اسکلتی تأثیرات زیادی بر کنترل قند خون خواهد داشت. با توجه به اهمیت عضله‌ی اسکلتی برای کنترل گلوکز و همچنین نقش حیاتی آن در عملکرد انسولین، اختلالات در ظرفیت اکسیداتیو عضله‌ی اسکلتی در افراد مبتلا به دیابت نوع یک توانایی آنها را در کاهش بارهای قند خون کاهش می‌دهد و باعث پیشرفت عوارض می‌شود. علی رغم نقش عمده‌ی عضلات اسکلتی، دانش ما از تغییر در نیمرخ ظرفیت اکسیداتیو عضلات اسکلتی در دیابت نوع یک در حال حاضر محدود است. درمان‌های ترکیبی سودمند مسلماً مواردی هستند که در آنها اجزای مختلف مسیرهای بیماری زا را هدف قرار می‌دهند، بنابراین تحقیق حاضر قصد دارد به بررسی اثر تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال بر وضعیت اکسیدان و آنتی اکسیدان عضله‌ی اسکلتی در رت‌های دیابتی بپردازد.

روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه‌ی تجربی است. نمونه‌های پژوهش حاضر را ۳۶ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار از انسیتو پاستور با سن ۶ هفته تشکیل می‌دهند. حجم نمونه با در نظر گرفتن $\beta = 0.1$ و $\alpha = 0.05$ با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)(Z\alpha/2 + Z\beta)^2$$

$$^2\Delta$$

آزمودنی‌ها پس از یک هفته آشنایی با محیط به‌طور تصادفی به شش گروه شامل کنترل (سالم)، کنترل دیابتی پایه، کنترل دیابتی، دیابت+تزریق سلول بنیادی، دیابت+تمرین مقاومتی و دیابت+تزریق سلول بنیادی+تمرین مقاومتی (هر گروه ۶ سر رت) تقسیم شدند. آب مورد نیاز نمونه‌ها به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه نمونه‌های آزمایشگاهی در اختیار نمونه‌ها قرار گرفت. در این تحقیق اصول اخلاقی در مورد نحوه ی کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آب و غذا، شرایط نگه‌داری مناسب و عدم اجبار در تمرینات مد نظر قرار گرفت. همه‌ی آزمایشات براساس خط مشی‌های قراداد هلسینکی اجرا شد. جهت دیابتی کردن رت‌ها مقدار استرپتوزوتوسین با دوز ۴۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به‌صورت تزریق درون صفاقی انجام شد. بعد از ۷۲ ساعت با کمک گلوکومتر (مدل Active، شرکت Accu-Chek ساخت آلمان) و نمونه‌ی خونی گرفته شده ازسیاهرگ دمی رت ها، قند خون اندازه‌گیری شد و رت‌هایی که قند خون آنها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود دیابتی نوع یک شدند [۲۳]. در این تحقیق گروه‌های تمرینی به اجرای ۱۷ جلسه‌ی تمرین مقاومتی پرداختند و گروه‌های کنترل نیز در مدت مشابه در قفس نگه‌داری شدند و در هیچ تمرینی شرکت داده نشدند.

جداسازی و کشت سلول‌های اجدادی اندوتلیال مغز استخوان رت

برای این منظور رت‌ها پس از بیهوشی با استفاده از کتامین و زایلازین، با روش جابجای کردن یوتانایز شدند سپس استخوان فمور آنها به‌صورت استریل جدا گردید و پس از برداشت بافت های عضلانی و پیوندی اضافی، دو سر استخوان (اپی فیز) به وسیله پنس استخوان بر قطع شد. در ادامه با استفاده از سوزن شماره‌ی ۱۸ متصل به سرنگ که حاوی محیط کشت M199 از یک سر استخوان وارد شده و سر دیگر آن درون یک عدد پتری دیش ۳۵ میلی‌متری (Greiner Bio-one, USA) قرار داده و محتویات مدولای استخوان را با محیط کشت شستشو داده شد. سپس محیط کشت M199 حاوی مغز استخوان بر روی حجم مساوی از فایکول- هایپک (Sigma-aldrich, USA) درون یک فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه با دورg ۴۰۰ سانتریفوژ (Model # 5702 R, Eppendorf) شدند. بعد از سانتریفوژ سلول‌های تک هسته‌ای مغز استخوان (BMMNCs) که در محل تلاقی دو فاز به‌صورت لایه‌ی شیری رنگ متمایز بودند، به آرامی توسط سمپلر برداشته شد و دو بار با PBS شستشو داده شدند و سلول‌ها در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای پوشیده شده با فیبرونکتین (Cat No: 3043050,promocell;Germany) و در محیط کشت سلول‌های اندوتلیال (M199) همراه با فاکتور رشد EGM-2 (Cat No: C-39211, Promocell, Germany)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

شامل EGF,VEGF,bFGF,IGF، هیدوکورتیزول و اسید آسکوربیک به همراه ۱۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین و ۳٪ سرم جنین گاوی در انکوباتور با دمای ۳۷°c و رطوبت نسبی ۹۵٪ و دی اکسید کربن ۵٪ کشت داده شدند. محیط کشت در ۲٤ ساعت اول به‌منظور حذف سلول های مرده، و هماتوپویتیکی تعویض شدند. در نهایت محیط کشت در روز ۳ و ۷ تعویض شده و سلول‌ها برای مطالعه مورد استفاده قرار گرفت و توسط میکروسکوپ معکوس (Nikon Eclips TS100, Japan) متصل به دستگاه تصویربرداری دیجیتالی (Sight DS-L2, Nikon, Japan) تصویر برداری شدند. بعد از ۷ روز سلول‌ها تریپسینه شده و جهت تزریق آماده شدند. ۵۰۰ هزار سلول توسط دستگاه سل کانتر (Model: MEK-6450k, Nihon Kohden) شمارش شده و از طریق ورید دمی تزریق گردید [۲٤].

پروتکل تمرین مقاومتی

تمرین به‌وسیله‌ی یک نردبان با ارتفاع ۱ متر و با ۲٦ پله انجام شد. یک تکرار در این روش مستلزم ۲٦ بار بالا رفتن از پله توسط رت است. دوره‌ی آشنایی رت صحرایی با این تمرین ۳ روز بود که ٤۸ ساعت قبل از تزریق STZ صورت گرفت. هر جلسه تمرین شامل ۵ ست با ٤ تکرار در هر ست با ٦۰ ثانیه استراحت بین تکرارها و ۳ دقیقه استراحت بین ست‌ها بود. شدت تمرین برای گروه T در ۳ جلسه اول ۵۰٪ وزن بدن رت های صحرایی، در جلسات ٤-٦ وزنه ۸۰٪ وزن بدن، در جلسات ۷-۹ وزنه ۱۰۰٪ وزن بدن، در جلسات ۱۰-۱۲ وزنه ۱۲۰٪وزن بدن بود. رت‌های صحرایی در جلسات ۱۳-۱٤ یک دوره کاهش بار تمرینی با وزنه ۱۲۰٪ وزن بدن با ۳ ست و ۵ تکرار داشتند. در جلسات ۱۵-۱۷ رت‌ها وزنه ۱۵۰٪ وزن بدن را بالای نردبان حمل کردند. رت‌های صحرایی در گروه DT در جلسات تمرینی مشابه وزنه‌های ۳۰٪،۵۰٪، ۸۰٪، ۱۰۰٪، ۱۲۰٪ وزن بدن در ۳ ست و ۵ تکرار اجرا کردند. استراحت بین جلسات تمرینی ٤۸ ساعت در نظر گرفته شد [۲۵] (جدول ۱).

جدول ۱- پروتکل تمرین

جلسه	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱٤	۱۵	۱٦	۱۷
گروه سالم	۵۰	۵۰	۵۰	۸۰	۸۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰
گروه دیابتی و تزریق	۳۰	۳۰	۳۰	۵۰	۵۰	۵۰	۸۰	۸۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰

٤۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، رت‌های مورد مطالعه در هر گروه با تزریق درون صفاقی کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش شدند. سپس بافت عضله‌ی اسکلتی نعلی رت‌ها نمونه‌برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردیده و جهت آنالیز داده‌ها به آزمایشگاه انتقال داده شد. میزان SOD و MDA بافت عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی با استفاده از کیت NAVAND و به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

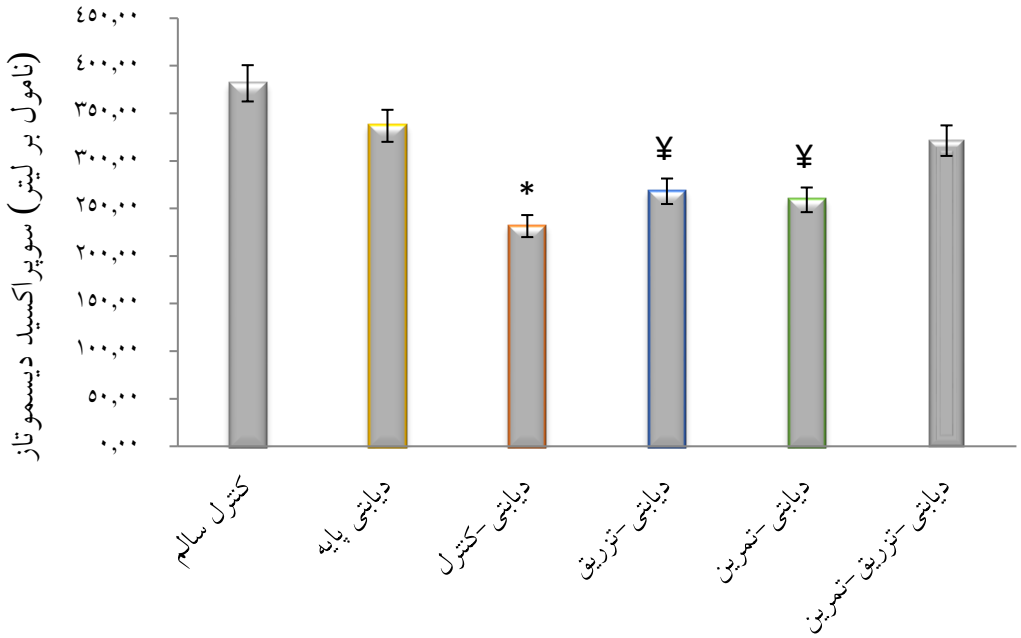
تحلیل آماری

برای اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرها، از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. بعد از این که طبیعی بودن توزیع داده‌ها مشخص گردید، جهت بررسی مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای تحقیق از آزمون تی مستقل و تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری در همه موارد P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه عملیات آماری با نرم‌افزارهای SPSS با نسخه‌ی ۲۵ به اجرا درآمد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

یافته‌ها

نتایج نشان داد میانگین سطح پروتئین SOD رت‌های دیابتی به طور معنی‌داری پایین تر از رت‌های سالم بود (P=۰/۰۰۰، $t_{(۱۰)}$=۸/۱). همچنین نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) نشان داد که سطح SOD رت‌های گروه تمرینات مقاومتی (η^2=۰/۴۷، P=۰/۰۰۰، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۱۸/۰۱) و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال (η^2=۰/۵۷، P=۰/۰۰۰، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۲۶/۹) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود با این حال اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال بر سطح SOD در بافت عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی معنی‌دار نیست (η^2=۰/۰۸، P=۰/۱۹۵، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۱/۷۹) (شکل ۱).

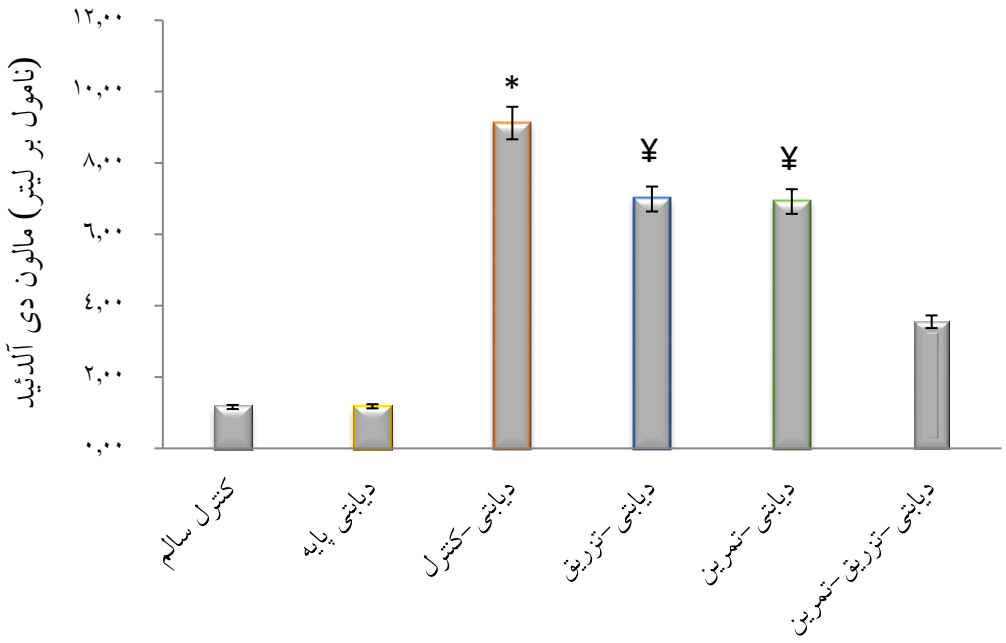


شکل ۱- تغییرات SOD عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی نوع یک در گروه‌های مختلف تحقیق

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ ¥ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابتی کنترل(P≤۰/۰۵).

همچنین نتایج نشان داد میانگین سطح MDA رت‌های دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر از رت‌های سالم بود (P=۰/۰۰۰، $t_{(۱۰)}$=۸/۸۹). همچنین نتایج تحلیل واریانس ۲ عاملی (تمرین×تزریق) نشان داد که سطح MDA رت‌های گروه تمرینات مقاومتی (η^2=۰/۵۶، P=۰/۰۰۰، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۲۵/۵۵) و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال (η^2=۰/۵۴، P=۰/۰۰۰، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۲۴/۳) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود. با این حال اثر تعاملی تمرین مقاومتی و تزریق سول‌های بنیادی اندوتلیال بر سطح MDA در بافت عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی معنی‌دار نیست (η^2=۰/۰۵، P=۰/۲۷۹، $F_{(۱\ ۲۰)}$=۱/۲۳) (شکل ۲).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]



شکل ۲- تغییرات MDA عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی نوع یک در گروه‌های مختلف تحقیق

* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم؛ ¥ تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه دیابتی کنترل (P≤۰/۰۵).

بحث

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تمرینات مقاومتی منجر به افزایش معنی‌دار سطح سوپراکسید دیسموتاز و کاهش سطح مالون دی آلدهید عضله‌ی اسکلتی رت‌های دیابتی نوع یک شد. این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی که نشان دادند تمرین موجب بهبود معنی‌دار آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در رت‌های دیابتی می شود، همخوان است [۲۶، ۲۷]. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سازگاری‌های ایجاد شده طی یک دوره تمرینات مقاومتی باعث تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در عضله‌ی اسکلتی رت های دیابتی نوع یک می‌شود. در دیابت گلوکز و اسیدهای چرب آزاد در خون افزایش می‌یابند بنابراین ممکن است ساوزکارهای مولکولی را در انواع مختلف سلول فعال کنند. این سازوکارها شامل اضافه بار انتقال الکترون، افزایش تشکیل محصولات جانبی متابولیکی، نشت الکترون و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی [1](ROS) است [۲۸]. تمرین مقاومتی می‌تواند تنظیمات مفیدی در کنترل چربی و قند خون ایجاد کند، زیرا انسولین و هموستاز گلوکز را کنترل می‌کند، باعث افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در عضلات می‌شود، غلظت گلوکز خون را کاهش می‌دهد، التهاب سیستمیک را کاهش می‌دهد و عملکرد سلول‌های ایمنی را بهبود می‌بخشد [۲۹]. نتایج برخی مطالعات پیشنهاد می‌کنند که تمرین مقاومتی ممکن است به‌عنوان یک درمان مهم در دیابت توصیه شود زیرا باعث افزایش گلوکز مصرفی در عضلات اسکلتی می‌شود. این امر تا حدی به‌دلیل فعالیت ورزشی است که باعث افزایش جابجایی ناقل گلوکز ٤ (GLUT-4)[2] و بهبود عملکرد مسیر گلوکز مستقل از انسولین می‌شود [۳۰]. علاوه بر این شواهد پیشنهاد می‌کنند که تمرینات ورزشی به‌دلیل کاهش گونه‌های واکنشی، دفاع آنتی اکسیدانی و فعالیت میتوکندریایی را نیز بهبود می‌بخشد [۲۹، ۳۱]. سازوکار تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گروه‌های تمرینی افزایش پاسخ‌های درون سلولی و واکنش بافت‌های مختلف بدن در برابر استرس اکسایشی تولید شده در جریان تمرینات به اجرا درآمده و کاتابولیسم اجزاء سنتزی پروتئین‌ها و ساختمان دفاعی سلول ها است [۳۲]. تمرین مقاومتی به‌عنوان یک محرک افزایش آنزیم

[1] Reactive oxygen species

[2] Glucose transporter type 4

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

های آنتی اکسیدانی قادر به تعدیل حالت ردوکس سلول‌ها و خنثی کردن اثرات مضر ناشی از ROS با احتمال معکوس‌سازی و کاهش پراکسیداسیون لیپید ناشی از گونه‌های واکنش‌پذیر است [۳۳]. مطالعات بر اثر مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از ورزش بر عضلات تأکید دارند، درحالی‌که محققان اهمیت ROS را در تحریک و واسطه‌ی پاسخ‌های سازگاری بدن به ورزش گزارش کرده‌اند [۳٤]. ورزش حاد باعث ایجاد ROS بیش از حد می شود که باعث آسیب در بدن می‌شود، درحالی‌که ورزش منظم منجر به سازگاری‌های بدن و مقاومت در برابر آسیب اکسیداتیو از طریق مسیرهای آنتی اکسیدانی می‌شود [۳٤]. مشاهده شده است که با تمرینات ورزشی می‌توان ظرفیت آنتی اکسیدانی عضله‌ی اسکلتی را تغییر داد. تمرین ممکن است فعالیت SOD را در عضلات افزایش دهد [۳۵]. این میزان تغییرات با واسطه‌ی ورزش در فعالیت‌های SOD به‌شدت و مدت تمرین بستگی دارد. افزایش SOD و کاهش MDA ناشی از ورزش ویژه نوع تار است و افزایش بیشتری به‌طور معمول در عضلات اسکلتی که عمدتاً از تار بسیار اکسیداتیو تشکیل شده‌اند به‌عنوان مثال، نوع I و نوع IIa مشاهده می‌شود [۳٦]. چندین مسیر مهم در میانجی گری پاسخ‌های سازگاری به تمرین پیشنهاد شده است. پیشنهاد شده است که ROS تولید شده در طی ورزش منظم برای فعال سازی مسیرهای سیگنالینگ اولیه مرتبط با سازگاری عضلانی ضروری است [۳٤]. فاکتور هسته‌ای عامل مرتبط با اریتروئید ۲ (Nrf2)[1]، یک فاکتور رونویسی با حساسیت کاهش اکسیداسیون، تنظیم کننده‌ی اصلی آنتی اکسیدان‌ها و همچنین سایر فاکتورهای محافظتی است که مسئول سیستم تقویت دفاعی آنتی اکسیدانی هستند [۳۷]. سازگاری دیگر با ورزش شامل افزایش بیوژنز میتوکندری از طریق تنظیم بیان ژن گیرنده‌ی آلفا -۱ فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسی‌زوم (PGC-1α)[2] است [۳۸]. سیگنال‌های بالادستی که بیان PGC-1α را تنظیم می‌کنند مانند پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن (MAPK)[3] و فاکتور هسته‌ای کاپا بی (NF-κB)[4] به ردوکس حساس هستند [۳۹]. مخالف با یافته‌های تحقیق ما، عدم تغییر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت قلب رت‌های صحرایی دیابتی پس از تمرین گزارش شده است [۱۹]. به‌نظر می‌رسد اختلافات موجود در نتایج مطالعات مربوط به تفاوت در نوع تمرین و بافت مورد مطالعه و شرایط بیماری است.

همچنین نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال با دوز ۵۰۰ هزار سلول در عضله‌ی رت می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار MDA و افزایش معنی‌دار سطح SOD در بافت عضلانی رت‌های دیابتی نوع یک شود. هم‌خوان با یافته‌های مطالعه‌ی ما، کاهش معنی‌دار MDA سرم رت‌های ماده‌ی دیابتی شده با STZ که پس از شش هفته سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان را به‌صورت داخل وریدی تزریق کردند. مشاهده شده است، رت‌های صحرایی دیابتی درمان شده با سلول‌های بنیادی مزانشیمی به‌طور قابل توجهی افزایش MDA را در مقایسه با حیوانات دیابتی مهار می‌کنند [٤۰]. پتانسیل سلول‌های بنیادی برای تمایز به سلول‌های بالغ دودمان و بیش از همه گسترش خصوصیات درونی و تنظیم کننده سیستم ایمنی را ممکن می‌کند [٤۱]. بنابراین آنها را به ابزاری مهم در سلول درمانی، تبدیل می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که سلول‌های بنیادی استرس اکسیداتیو را سرکوب می‌کند [۱۵]. سازوکارهای اساسی این اثرات شامل کاهش سطح گلوکز خون و گلوکز مصرفی سلول با واسطه GLUT1 است، بنابراین استرس اکسیداتیو را مهار می‌کند [٤۲]. سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌های بتا پانکراس را از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند این نتیجه به‌دلیل عملکرد افت قند خون ناشی از عمل سلول بنیادی مزانشیمی است. سلول‌های بنیادی مزانشیمی توانایی کاهش غلظت گلوکز و بهبود ترشح انسولین را دارند [٤۳]. مشخص شده است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی در برابر شرایط تولید استرس اکسیداتیو مقاوم هستند [٤٤]. از آنجا که تعریف استرس اکسیداتیو، کمبود مقدار مناسب ابزار دفع کننده‌ی ROS است [٤۵] و طبق تحقیق قبلی نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی توانایی کاهش شدت استرس اکسیداتیو و

[1] The nuclear factor erythroid 2–related factor 2
[2] Peroxisome proliferator-activated receptor 1-alpha
[3] mitogen-activated protein kinase
[4] Nuclear factor kappa B

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

افزایش میزان یا فعالیت آنزیم‌های خنثی کننده‌ی ROS را دارند [٤٦] این یافته‌ها نشان می‌دهد که درمان با سلول‌های بنیادی ممکن است به تنظیم تعادل اکسیدان -آنتی اکسیدان عضله‌ی اسکلتی در دیابت نوع یک کمک کند. محدودیت‌هایی نیز در تحقیق حاضر وجود داشت که از جمله می‌توان به مطالعه بر روی نمونه‌های حیوانی اشاره کرد. از دیگر محدویت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم اندازه‌گیری دیگر فاکتورهای آنتی اکسیدانی اشاره کرد. این نقطه ضعف پژوهشی پیشنهادی به مطالعات آینده به‌منظور اندازه‌گیری این فاکتورها در بافت عضله‌ی اسکلتی در رت‌های دیابتی نوع یک است.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تمرین مقاومتی و تزریق سلول های بنیادی اندوتلیال می‌تواند به بهبود وضعیت اکسیدان و آنتی اکسیدان عضله‌ی اسکلتی در رت‌های نر دیابتی القاء شده با STZ کمک کند. بنابراین، تمرین مقاومتی و تزریق سلول‌های بنیادی اندوتلیال می‌تواند به‌عنوان درمان غیردارویی برای کاهش عوارض عضله‌ی اسکلتی در دیابت نوع یک مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

این تحقیق برگرفته از رساله دوره‌ی دکتری گرایش فیزیولوژی ورزشی است که با تأیید کمیته‌ی اخلاق با شماره‌ی IR.IAU.K.REC.1400.62 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج تأیید و اجرا گردید. بدین‌وسیله از کلیه‌ی افرادی که در انجام تحقیق حاضر همکاری داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافعی نداشتند.

مآخذ

1. Xu G, Liu B, Sun Y, Du Y, Snetselaar LG, Hu FB, et al. Prevalence of diagnosed type 1 and type 2 diabetes among US adults in 2016 and 2017: population-based study. *British Medical Association* 2018;362: 1497.
2. You WP, Henneberg M. Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ open diabetes research and care*. 2016; 4(1): e000161.
3. Mameli C, Mazzantini S, Ben Nasr M, Fiorina P, Scaramuzza AE, Zuccotti GV. Explaining the increased mortality in type 1 diabetes. *World journal of diabetes* 2015; 6(7):889-95.
4. Bashan N, Kovsan J, Kachko I, Ovadia H, Rudich A. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiological reviews* 2009; 89(1):27-71
5. Sobhi W. Involvement of Oxidative Stress in Type 1 Diabetes. *American Journal of Biomedical Science & Research* 2020; 6(6).
6. Drews G, Krippeit-Drews P, Düfer M. Oxidative stress and beta-cell dysfunction. *European journal of physiology* 2010; 460(4):703-18
7. Golbidi S, Badran M, Laher I. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. *Experimental diabetes research* 2012; 2012:941868.
8. Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócza E, Vas V, Monostori E, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells* 2008; 26(1):244-53.
9. Fiorina P, Jurewicz M, Augello A, Vergani A, Dada S, La Rosa S, et al. Immunomodulatory function of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental autoimmune type 1 diabetes. *American Association of Immunologists* 2009; 183(2):993-1004.
10. Ezquer F, Ezquer M, Simon V, Conget P. The antidiabetic effect of MSCs is not impaired by insulin prophylaxis and is not improved by a second dose of cells. *Public Library of Science one* 2011; 6(1):e16566.
11. Weir GC, Cavelti-Weder C, Bonner-Weir S. Stem cell approaches for diabetes: towards beta cell replacement. *Genome medicine* 2011; 3(9):61.
12. Qi Y, Ma J, Li S, Liu W. Applicability of adipose-derived mesenchymal stem cells in treatment of patients with type 2 diabetes. *Stem Cell Research & Therapy* 2019; 10:274.
13. Yang LJ. Liver stem cell-derived beta-cell surrogates for treatment of type 1 diabetes. *Autoimmunity reviews* 2006; 5(6):409-13.
14. Milanesi A, Lee JW, Li Z, Da Sacco S, Villani V, Cervantes V, Perin L, Yu JS. β-Cell regeneration mediated by human bone marrow mesenchymal stem cells. *Public Library of Science* 2012; 7(8):e42177.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

15. Yokokawa K, Iwahara N, Hisahara S, Emoto MC, Saito T, Suzuki H, et al. Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Improves Amyloid-β Pathology by Modifying Microglial Function and Suppressing Oxidative Stress. *Journal of Alzheimer's disease* 2019; 72(3):867-884
16. Galassetti P, Riddell MC. Exercise and type 1 diabetes (T1DM). *American Physiological Society* 2013; 3(3):1309-36.
17. Searls YM, Smirnova IV, Fegley BR, Stehno-Bittel L. Exercise attenuates diabetes-induced ultrastructural changes in rat cardiac tissue. *American College of Sports Medicine* 2004; 36(11):1863-70.
18. Pereira AS, Spagnol AR, Luciano E, Leme JAC. de A. Influence of aerobic exercise training on serum markers of oxidative stress in diabetic rats. *Journal of Physical Education* 2016; 27(1): e-2726.
19. Farhangi N, Nazem F, Zehsaz F. Effect of Endurance Exercise on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in the Heart of the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical sciences* 2017; 24 (10) :798-809
20. Nanji SA, Shapiro A. Advances in pancreatic islet transplantation in humans. *Diabetes, obesity and metabolism* 2006; 8(1):15–25.
21. Vija L, Farge D, Gautier JF, Vexiau P, Dumitrache C, Bourgarit A, et al. Mesenchymal stem cells: Stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes metabolism*. 2009;35(2):85–93.
22. Honka MJ, Latva-Rasku A, Bucci M, Virtanen KA, Hannukainen JC, Kalliokoski KK, et al. Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle, adipose tissue and liver: a positron emission tomography study. *European journal of endocrinology* 2018; 178(5):523-531.
23. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current protocols* 2015; 70:5.47.1-5.
24. Siavashi V, Nassiri SM, Rahbarghazi R, Mohseni Z, Sharifi AM. Distinct Tie2 tyrosine phosphorylation sites dictate phenotypic switching in endothelial progenitor cells. *Journal of cellular physiology* 2019; 234(5):6209-6219.
25. Molanouri Shamsi M, Hassan Z M, Mahdavi M, Gharakhanlou R, Azadmanesh K, Baghersad L et al. Influence of Resistance Training on IL-15 mRNA Expression and the Protein Content in Slow and Fast Twitch Muscles of Diabetic Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2012; 14 (2) :185-192
26. Kanter M, Aksu F, Takir M, Kostek O, Kanter B, Oymagil A. Effects of Low Intensity Exercise Against Apoptosis and Oxidative Stress in Streptozotocin-induced Diabetic Rat Heart. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes* 2017; 125(9):583-591.
27. Heydarnia E, Taghian F, Jalali Dehkodi K, Moghadasi M. Effects of Eight Weeks of Combined Training with Antioxidant Vitamins E and C on Glutathione, Glutathione Peroxidase, and Superoxide Dismutase in the Heart Tissue of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Gene, Cell, and Tissue* 2021 8(3): e111277.
28. Newsholme P, Keane KN, Carlessi R, Cruzat V. Oxidative stress pathways in pancreatic β-cells and insulin-sensitive cells and tissues: importance to cell metabolism, function, and dysfunction. *American journal of physiology* 2019; 317(3): 420–33
29. Santos JL, Araujo SS, Estevam CS, Lima CA, Carvalho CRO, Lima FB, et al. Molecular mechanisms of muscle glucose uptake in response to resistance exercise: a review. *Journal of Exercise Physiology* 2017; 20(4):200–11.
30. Klip A, McGraw TE, James DE. Thirty sweet years of GLUT4. *The Journal of biological chemistry* 2019; 294(30):11369–81.
31. Böhm A, Weigert C, Staiger H, Häring HU. Exercise and diabetes: relevance and causes for response variability. *Endocrine* 2016; 51(3):390–401.
32. Hoffman GL, Spagnuolo AP. Effect of repeated exercise stress on caspase 3, Bcl-2, HSP 70 and CuZn-SOD protein expression in mouse intestinal lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology* 2007;187 (2): 94-101.
33. Lee MK, Jung CS, Yoon JH, Lee N. Effects of resistance exercise on antioxidant enzyme activities and apoptosis-related protein expression of hippocampus in OLETF rats. *Technology and health care* 2018; 26(3):457-467.
34. Yavari A, Javadi M, Mirmiran P, Bahadoran Z. Exercise-induced oxidative stress and dietary antioxidants. *Asian journal of sports medicine* 2015; 6(1): e24898.
35. Vieira Junior RC, Silva CMS, Araújo MBD, Garcia A, Voltarelli VA, Reis Filho ADD, et al. Aerobic swimming training increases the actitivy of antioxidant enzymes and the glycogen content in the skeletal muscle of rats. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2013; 19: 204–208
36. Ferraro E, Giammarioli AM, Chiandotto S, Spoletini I, Rosano G. Exercise-induced skeletal muscle remodeling and metabolic adaptation: redox signaling and role of autophagy. *Antioxidants & redox signaling* 2014; 21(1):154-76.
37. Muthusamy VR, Kannan S, Sadhaasivam K, Gounder SS, Davidson CJ, Boeheme C, et al. Acute exercise stress activates Nrf2/ARE signaling and promotes antioxidant mechanisms in the myocardium. *Free radical biology & medicine* 2012; 52(2):366-76.
38. Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules* 2015; 5(2):356-77
39. Derbre F, Ferrando B, Gomez-Cabrera MC, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, Olaso-Gonzalez G, et al. Inhibition of xanthine oxidase by allopurinol

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

prevents skeletal muscle atrophy: role of p38 MAPKinase and E3 ubiquitin ligases. *Public Library of Science one* 2012; e46668.

40. Fang Y, Tian X, Bai S, Fan J, Hou W, Tong H, et al. Autologous transplantation of adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats by inhibiting oxidative stress, pro-inflammatory cytokines and the p38 MAPK signaling pathway. *International journal of molecular medicine* 2012; 30(1):85-92
41. Le Blanc K, Ringdén O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation* 2005; 11(5):321-34.
42. Lv SS, Liu G, Wang JP, Wang WW, Cheng J, Sun AL, et al. Mesenchymal stem cells transplantation ameliorates glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats via inhibiting macrophage infiltration. *International immunopharmacology* 2013; 17(2):275-82.
43. Cao M, Pan Q, Dong H, Yuan X, Li Y, Sun Z, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells improve glucose homeostasis in high-fat diet-induced obese mice. *Stem cell research & therapy* 2015; 6:208.
44. Chen MF, Lin CT, Chen WC, Yang CT, Chen CC, Liao SK, et al. The sensitivity of human mesenchymal stem cells to ionizing radiation. *International journal of radiation oncology, biology, physics* 2006; 66(1):244-53.
45. Chen F, Liu Y, Wong NK, Xiao J, So KF. Oxidative Stress in Stem Cell Aging. *Cell transplantation* 2017; 26(9):1483-1495.
46. Valle-Prieto A, Conget PA. Human mesenchymal stem cells efficiently manage oxidative stress. *Stem cells and development* 2010; 19(12):1885-93.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

The Effect of Resistance Training and Endothelial Stem Cell Injection on Skeletal Muscle Oxidant and Antioxidant Status in STZ-Induced Diabetic Male Rats

Syed Reza Mir Javadi[1], Alireza Rahimi*[1], Fariba Aghaei[1], Mahsa Mohsenzadeh[1]

1. Department of Exercise physiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

ABSTRACT

Background: Because insulin therapy cannot properly control the progression of diabetes and its complications, other alternative therapies may be desirable. The aim of this study was to investigate the effect of resistance training and endothelial stem cell injection on skeletal muscle oxidant and antioxidant status in STZ-induced diabetic male rats.

Method: In this experimental study, 36 male Wistar rats (age 6 weeks) were divided into six groups of control (healthy), basal diabetic control, diabetic control, diabetes + stem cell injection, diabetes + resistance training and diabetes + stem cell injection + resistance training. In this study, rats became diabetic intraperitoneally using streptozotocin as a single dose of 40 mg/kg. Resistance exercises including climbing a one-meter ladder with weights hanging from the tail were performed for 17 sessions. 500,000 bone-derived stem cells were injected by a cell counter. The levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in skeletal muscle tissue of rat were measured by using the kit and ELISA method.

Results: The results showed that the SOD level of rats in the resistance training and endothelial stem cell injection group was significantly higher than the diabetic control group ($P<0.001$). Also, the level of MDA rats in the resistance training and endothelial stem cell injection group was significantly lower than the control group ($P<0.001$).

Conclusion: Resistance training and endothelial stem cell injections can be considered as a non-pharmacological treatment to reduce skeletal muscle complications in type 1 diabetes.

Keywords: Resistance Training, Stem Cells, Superoxide Dismutases, Malondialdehyde, Type 1 Diabetes

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-20]

* Faculty of Physical Education, Islamic Azad University, Moazen Blvd, Rajai Shahr, karaj. Fax: +982614418156, Tel: +989123104965, Email: a_r_rahimi@hotmail.com

Copyright © 2021 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