مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۲، شماره۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۶(شماره پی در پی۱۲۲)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

مقایسه دو شدت تمرین هوازی (کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین پری‌لیپین ۲ عضله اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین

مهدی غفاری[۱]، ابراهیم بنی طالبی[۱*]، محمد فرامرزی[۱]، عبدالناصر محبی[۲]

[۱]گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، [۲] گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ وصول : ۱۳۹۶/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۱۳

چکیده:

زمینه و هدف: اختلال متابولیسم چربی در ایجاد مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی نقش مهمی ایفا می‌کند و پروتئین‌های قطره چربی همچون پری‌لیپین۲ (PLIN2) در تنظیم سوخت و ساز چربی داخل سلولی مؤثر است. از جمله مسیرهای پیشنهاد شده برای اعمال اثرات فعالیت استقامتی در بیماری‌های متابولیک، تأثیر فعالیت بدنی بر لیپولیز درون عضلانی است، لذا هدف از این مطالعه مقایسه دو شدت تمرین هوازی(کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین PLIN2 عضله اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

روش‌بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی ساده به سه گروه ۸ تایی شامل دو گروه مداخله (گروه با تمرین استقامتی کم شدت و گروه با تمرین استقامتی با شدت بالا) و یک گروه کنترل تقسیم شدند. پس از دیابتی کردن موش‌های صحرایی از طریق تزریق (۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) داروی استرپتوزوسین به‌صورت درون صفاقی، تمرین استقامتی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته روی موش‌های صحرایی دیابتی اعمال شد. تمرین در گروه تمرین با شدت کم با سرعت ۵-۸ متر بر دقیقه، معادل ۵۰-۶۰ درصد Vo_{2max}و در گروه تمرین با شدت بالا با سرعت ۲۲-۲۵ متر بر دقیقه، معادل ۸۰ درصد Vo_{2max} بود و گروه کنترل هیچ مداخله‌ای را در این مدت دریافت نکردند. بیان نسبی پروتئین PLIN2 با تکنیک وسترن بلات انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج مقایسه بین گروهی، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه در متغیرهای PLIN2 نشان داد(p=۰/۰۳۷). نتایج آزمون تعقیبی بیانگر افزایش معنی‌دار PLIN2 در گروه دیابتی تمرین با شدت بالا نسبت به گروه گنترل بود(p=۰/۰۳۳)، اما تفاوت معنی‌داری در میزان PLIN2 در گروه تمرین کم شدت نسبت به گروه کنترل وجود نداشت(p=۰/۱۸). همچنین بین گروه تمرینی کم شدت و با شدت بالا نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت(p=۰/۶۶). سطوح سرمی گلوکز و انسولین بین گروه¬های کنترل دیابتی و تمرینی کم شدت و شدت بالااختلاف معنی‌داری را نشان داد (p=۰/۰۰۱). این تفاوت بین گروه تمرین با شدت بالا با گروه شدت کم به ترتیب (p=۰/۰۴ و p=۰/۰۱)، کنترل دیابت به ترتیب (p=۰/۰۰۱ و p=۰/۰۰۰) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش می‌توان به اثرات تعدیلی تمرین‌های استقامتی با شدت بالا در افزایش بیان PLIN2 در نمونه‌های دیابتی اشاره کرد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، پری‌لیپین ۲، تمرین استقامتی، تری گلیسیریدهای درون عضلانی، مقاومت به انسولین

[*]**نویسنده مسئول**: **ابراهیم بنی طالبی**، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، گروه تربیت‌بدنی

Email:banitalebi.e@gmail.com

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

مقدمه

دیابت نوع دو با تجمع چربی به صورت تری گلیسیرید در بافت های غیر چرب مانند کبد، عضلات اسکلتی، قلب و روده به وجود می‌آید(۱). تری‌گلیسیرید درون عضلانی(IMTG)[1] با مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع ۲ ارتباط دارد(۲). مفهوم «مقاومت به انسولین عضلات اسکلتی ناشی از تجمع چربی [2]» نشان‌دهنده رابطه IMTG و مقاومت به انسولین در افراد کم‌تحرک با ظرفیت اکسیداتیو پایین است(۳). اخیراً نشان داده شده، پروتئین های پوشاننده قطره چربی نقش مهمی در پروسه‌های مهم سلولی مانند ذخیره‌سازی و هموستاز انرژی سلول دارند(۴). مهم‌ترین خانواده مشخص شده از پروتئین های قطره چربی پری‌لیپین‌ها(PLINs) از جمله PLIN1 تا PLIN5 هستند(۵). نتایج تحقیق‌ها نشان داده که محتوای پری‌لیپین‌ها در تارهای نوع ۱ انقباض بیشتر از تارهای نوع ۲ است(۶, ۷). ارزیابی پروتئین‌های پری لیپین در شرایط ورزش در افراد دیابتی، هنگامی که محتویات IMTG مستقل از تغییرات سطوح پروتئین‌های PLIN تغییر می‌کند، ممکن است سرنخ‌هایی را در مورد نقش بالقوه پروتئین های PLIN در مقاومت به انسولین ارایه دهد. در مطالعه های قبلی نشان داده‌شده است که PLIN2 و PLIN5 به ترتیب در تمرین شدید متوسط(۹ و۷) مورداستفاده قرار می‌گیرند(۶, ۸). به نظر می‌رسد مطالعه واکنش پروتئین قطره چربی عضله اسکلتی به تمرین استقامتی شدید، سرنخ‌هایی از تشخیص مکانیسم زیربنایی IMTG ، تمرین ورزشی و دیابت نوع ۲ فراهم می‌کند.

مطالعه‌های قبلی نشان دادند که تأثیر تمرین‌های تمرینی بر روی میزان IMTG روشن نیست، مطالعه‌ها گزارش‌شده در مورد افزایش(۹, ۱۰)، بدون تغییر(۱۰) یا کاهش(۳) در محتوای IMTG در افراد چاق سالم و بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ وجود دارد. علاوه بر این، مطالعه‌های قبلی نشان داده است که تمرین‌های ورزشی با شدت‌های مختلف اثر متفاوتی بر اکسیداسیون چربی عضلات اسکلتی دارد(۱۱, ۱۲)، اما شفرد و همکاران نشان دادند که تمرین‌های شدید و تمرین‌های مداوم موجب بهبود مشابه در شکست IMTG می‌شود(۸).

علاوه بر این، در برخی مطالعه‌ها، پاسخ‌های متفاوتی از پروتئین PLIN عضله اسکلتی به تمرین‌های ورزشی گزارش شده است. در مطالعه پورتیمور و همکاران نشان داده شده است که پس از ۱۲ هفته تمرین هوازی و مقاومت ترکیبی، کاهش بیان ژن PLIN4 در ماهیچه اسکلتی مشاهده شد(۷). لوچ و همکاران نشان داد که تغییرات قابل توجهی در بیان ژن PLIN2 و محتوای پروتئین پس از ۸ هفته آموزش استقامتی وجود ندارد(۱۳).

1-Inter Muscle Triglyceride
2-lipid-Induced Skeletal Muscle Insulin Resistance

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

تحقیق‌ها نشان داده PLIN2 در اکثر اندام‌های بدن انسان بیان می‌شود، اما نقش دقیق آن به‌طور کامل در عضله اسکلتی شناخته‌شده نیست(۱۳). نتایج حاصل از تعداد محدودی از مطالعه‌ها نشان می‌دهد که PLIN2 در تنظیم میزان سوخت و ساز IMTG مهم است و بر دیابت و مقاومت به انسولین نقش دارد(۱٤). PLIN2 میزان لیپولیز قطرات چربی را از طریق تعامل با اسیل‌تری‌گلیسرول‌لیپاز(ATGL) کنترل می‌کند(۱۲ و ۱۱)، در عضله اسکلتی موش صحرایی در پاسخ به محرک لیپولیز(انقباض‌های الکتریکی و انقباض ناشی از آدرنالین) افزایش لیپاز حساس به هورمون(HSL) همراه با افزایش PLIN2 و افزایش HSL متصل به قطره چربی مشاهده شده است(۱٤). با این حال داده‌های اخیر نشان می‌دهد که عملکرد بیولوژیکی این پروتئین احتمالاً از آنچه قبلاً تصور می‌شد، پیچیده‌تر است(۱۵ و۸). مطالعه‌ها در موش‌های صحرایی نشان داده که سطوح بالایی از PLIN2 با اختلال عملکرد سلول‌های بدن همراه است(۱۵).

در تحقیق‌های اخیر، شدت فعالیت بدنی به عنوان یک فاکتور مهم تلقی می‌گردد و تأثیرگذاری آن بر بیماران دیابتی موردتوجه قرارگرفته است(۸). به عنوان مثال در پژوهش‌ها تمرین‌های تناوبی شدید(HIT)[1] نسبت به تمرین‌های استقامتی با شدت متوسط مورد مقایسه قرار گرفته است(۱۷ و۱٦). در برخی تحقیق‌ها نشان داده‌شده در تمرین‌های HIT میزان IMTG بیشتری مصرف می‌گردد و پس از ورزش میزان بیشتری IMTG ذخیره می‌گردد(۸). اعتقاد بر این است شدت تمرین استقامتی تعیین‌کننده میزان مصرف IMTG و تعیین‌کننده ظرفیت اکسیداتیو است(٤). در بیماران دیابتی با توجه به تجمع چربی، اضافه‌وزن، امکان ابتلا به سندروم متابولیک، بیماری‌های قلبی عروقی و آترواسکلروزیس، تعیین شدت تمرین مهم است. از طرفی گزارش‌شده است که حداقل شدت تمرینی برای تأثیرگذاری مطلوب بر لیپیدها، فعالیت بدنی با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب است(۱٦) که البته از سوی برخی محققان رد شده است(۱۷) در برخی از تحقیقات مربوط به دیابت نیز شدت تمرین‌ها مورداستفاده یا ذکر نشده و یا به‌طور دقیق مشخص نشده است(۱۸).

از آنجا که PLIN2 از جمله پروتئین‌های مهم در ذخیره‌سازی و مصرف IMTG ها است و نشان داده شده عدم گردش[2](مصرف و ذخیره‌سازی)IMTG با مقاومت به انسولین و توسعه دیابت ارتباط دارد و از طرفی تمرین استقامتی موجب بهینه سازی مصرف و ذخیره‌سازی IMTG می‌شود و شدت تمرین نقش مهمی را در این زمینه ایفا می‌کند و در پژوهش‌های گذشته نیز در این مورد تناقض وجود دارد، بر این اساس در پژوهش حاضر شدت تمرین هوازی(کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین پری‌لیپین ۲ عضله اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز، انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین مورد بررسی قرار گرفت.

1- High Intensity Training
2- Turn Over

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

روش‌بررسی

در ایـن مطالعـه تجربـی تعـداد ۲٤ مـوش صحرایی‌نر نژاد ویستار با میانگین وزنـی ٤۰ ± ۲۵۰ در سن هشت هفتگی از مراکـز تحقیقـات تهـران(پاسـتور) تهیه و در شرایط دمـایی۲۲±۳ درجـه سـانتی‌گـراد در شرایط ۱۲: ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهـداری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند. هـم‌چنین، کلیـه قـوانین و نحـوه رفتـار بـا حیوانـات (آشناسـازی، تمـرین، بیهوشـی و کشـتن حیـوان) بـر اساس AAALAC[1] رعایـت گردید. برای دیـابتی کـردن هـر مـوش صـحرایی، استرپتوزوسـین بـا دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بـدن از راه صـفاقی تزریـق شد. گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ ساعت بی‌غذایی هـر حیوان قبل از تزریق استرپتوزوسین و نیـز بـه ترتیـب در فاصـله زمـانی ۱، ۳ و ۵ هفتـه پـس از تزریـق استرپتوزوسین با خون‌گیری از طریق بریدن نوک دم، به‌وسیله گلوکومتر اندازه‌گیری شد و مـوش‌هـایی کـه دارای قند خون ۳۰۰ میلـی‌گـرم بـر دسـی‌لیتـر بودنـد به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. بعد از گذشت یک هفته و آشنایی بـا محـیط آزمایشـگاه، در ابتـدا بـرای آشنایی موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل، به مدت یک هفته با سرعتی معادل ۱۰ متـر بـر دقیقـه بـه مـدت پـانزده تـا بیسـت دقیقـه تمـرین در نظـر گرفتـه شد(۱٦). ایـن تحقیق به وسیله کمیتـه اخـلاق معاونـت پژوهشی دانشـگاه شهرکرد مـورد تأییـد قرار گرفـت. موش‌هـای صـحرایی بـه صـورت تصـادفی در گـروه کنترل، گروه تمرین کم شدت و گروه تمرین شدت بـالا تقسیم شدند. موش‌ها در گروه‌های تجربی بـه مـدت ۸ هفته تمرین کردند. سرعت دویدن به ترتیـب در گـروه تمرین با شدت پایین (سرعت ۵-۸ متر بر دقیقه، معادل ۵۰-٦۰ درصد Vo2max)و در گروه تمرین با شدت بالا (سـرعت ۲۲-۲۵ متـر بـر دقیقـه، معـادل ۸۰ درصـد Vo2max) بود(۱۷) و گروه کنترل سالم و دیـابتی هـیچ مداخله‌ای را در این مدت دریافت نکردند.

برای تهیه و تحلیل نمونه خـونی، پـس از دوره ۸ هفته تمرین، موش‌های تمامی گروه‌هـا بـه مـدت ٤۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمـرین و پـس از ۱۲ ساعت ناشتایی بـا اتـر بیهـوش شـدند و خـون‌گیـری مستقیماً از قلب موش به عمل آمـد و خـون سـریعاً در لولـه‌هـای حـاوی اتـیلن دی آمـین تتـرا اسـتیک اسـید (EDTA)[1] ریخته شد و برای جداکردن پلاسـمای خـون، نمونـه‌هـا بـه مـدت ۱۵ دقیقـه در دمـای ٤ درجـه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سـانتریفیوژ و در دمای ۲۰ــ درجـه سـانتی‌گـراد نگهـداری شـدند. سطوح گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان از طریـق بریـدن نـوک دم، انـدازه‌گیـری شـد سـطوح پلاسمایی انسولین با کیت الایزا ویژه موش صـحرایی (بیوسپس، چین) با حساسیت کمتـر از ۵ میکرویونیـت بـر میلـی‌لیتـر و ضـریب تغییـرات ۰/۳٦ درصـد اندازه‌گیری شد.

پس از دوره تمرین ۸ هفته، ٤۸ سـاعت پـس از آخرین تمرین، عضـله نعلـی اسـتخراج و در نیتـروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شد و سپس

1- Ethylenediaminetetraacetic Acid

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

با روش هاون‌کوبی در نیتروژن مایع پودر و به نسبت ۱ به ۵ در بافر RIPA لیز و به‌طور کامل هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به مدت پانزده دقیقه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و غلظت پروتئینی محلول با روش براد فورد و با استفاده از سرم آلبومین گاوی(BSA) به‌عنوان استاندارد تعیین و در دمای ۸۰ـ درجه برای مراحل بعدی نگهداری شد. مقدار بافتی پروتئین PLIN2 طبق دستورالعمل روش وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی مقادیر مساوی از پروتئین به وسیله ژل پلی آکربل آمید SDS-PAGE، ۱۲ درصد جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (GP40 anti-Adipophilin / Perilipin 2 / PLIN2) شرکت Progen در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. بعد از این مرحله بلاتها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از دستگاه اسکنر LI-COR ساخت آمریکا مشخص شدند.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌آفزار SPSS و آزمون آماری کولموگروف ـ اسمیرنوف، تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در شروع تحقیق تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزنی گروه‌های مورد مطالعه وجود نداشت. وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه‌های کنترل دیابتی و دیابت تمرین با شدت کم و دیابت تمرین با شدت بالا در طول پژوهش کاهش (p=۰/۰۰۲)بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار دیابت بر شاخص‌های، گلوکز و انسولین بود (p=۰/۰۰۱). این شاخص‌ها در گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه‌های سالم تغییر داشته‌اند. گروه‌های دیابتی در مقایسه با گروه‌های سالم دارای وزن کمتر، گلوکز بالاتر و انسولین پایین‌تری هستند(جدول۱).

تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان پروتئین PLIN2 در سه گروه تمرین استقامتی با شدت بالا، تمرین استقامتی با شدت کم و کنترل دیابتی تفاوت معنی‌دار بین سه میانگین گروه را نشان داد (p=۰/۰۳۷)(جدول ۲). هم‌چنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تمرین استقامتی با شدت بالا تأثیر معنی‌داری بر بیان PLIN2 دارد(p=۰/۰۳۳). در مقایسه گروه‌های تمرینی کم شدت با غیر تمرینی، تمرین استقامتی کم شدت باعث افزایش غیر معنی‌دار بیان این شاخص شده است(p=۰/۱۸)(نمودار ۱). نتایج مربوط به بیان پروتئین PLIN2 در عضله نعلی در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان دهنده تأثیر معنی‌دار تمرین بر شاخص‌های گلوکز و

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

انسولین نیز بود(P=۰/۰۵)، این شاخص‌ها در گروه دیابتی و تمرین با شدت بالا در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و گروه دیابت و تمرین با شدت پایین کمتر شده بود(جدول ۴). ضمن این که نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تفاوت بین گروه دیابت و تمرین با شدت زیاد در مقایسه با گروه‌های دیابت و تمرین کم شدت و کنترل دیابت بود(جدول ۵).

جدول ۱: ویژگی‌های پایه گروه‌های مورد مطالعه

مقادیر	گروم کنترل سالم (تعداد=۸)	گروه کنترل دیابتی (تعداد=۸)	گروه دیابتی تمرین استقامتی کم شدت (تعداد=۸)	گروه دیابتی تمرین استقامتی با شدت بالا
وزن پیش از مداخلات (گرم)	277/33±7/57	280/38±6/66	282/51±4/18	283/3±5/43
وزن پس از مداخلات (گرم)	297/33±3/27	241/38±10/56	252/51±5/28	243/3±7/43
گلوکز پیش از مداخلات (میلی گرم در دسی لیتر)	80/46±2/23	431/6±25/3	466/66±20/78	450/68±25/38

جدول ۲: تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان پروتئین PLIN2 در سه گروه تمرین استقامتی با شدت بالا، تمرین استقامتی با شدت کم و کنترل دیابتی

گروه	میانگین	انحراف استاندارد	F	معنی‌داری
تمرین استقامتی با شدت بالا	۷۲۹٤/٦۱	٤۲٤۰/۲	۳/۸۰۵	۰/۰۳۷*
تمرین استقامتی با شدت کم	٥۲۹۲/۲۲	۲۷۲۸/۱		
کنترل دیابتی	۳٤۰۰/٥٦	۱۲۲۰/۰		

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰٥)

جدول ۳: نتایج تحلیل تعقیبی توکی بر میزان بیان PLIN2 در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	گروه	تفاوت میانگین	سطح‌معنی‌داری
تمرین استقامتی با شدت بالا	کنترل دیابتی	۳۸۹۴/۱۲	۰/۰۳۳*
تمرین استقامتی با شدت بالا	تمرین استقامتی با شدت کم	۲۰۰۲/٤٤	۰/٦٦
تمرین استقامتی با شدت کم	کنترل دیابتی	۱۸۹۱/٦٦	۰/۱۸

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰٥)

جدول ٤: تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه سطوح سرمی گلوکز و انسولین در بین گروه‌ها

گروه	گلوکز(میلی‌گرم بر دسی لیتر)				انسولین(نانوگرم بر میلی‌لیتر)			
	میانگین	انحراف استاندارد	F	معنی داری	میانگین	انحراف استاندارد	F	معنی داری
تمرین استقامتی با شدت بالا	341/50	91/905	18/892	*0/001	0/1213	0/009	211/35	*0/001
تمرین استقامتی با شدت کم	497	25/439			0/1725	0/031		
کنترل دیابتی	557/75	158/847			0/1925	0/036		

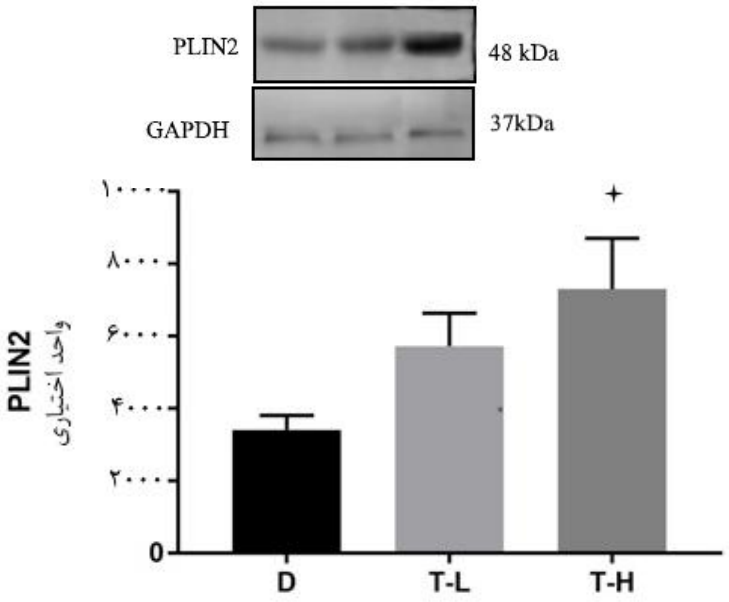
*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰٥)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

جدول ۵: نتایج تحلیل تعقیبی توکی سطوح سرمی انسولین و گلوکز

گروه		انسولین		گلوکز	
		تفاوت میانگین	معنی داری	تفاوت میانگین	معنی داری
تمرین استقامتی با شدت بالا	کنترل دیابتی	-۰/۰۷۱۲	*۰/۰۰۰	-۲۳۶/۲۵۰	*۰/۰۰۱
	تمرین استقاتی با شدت کم	-۰/۰۵۱۲	*۰/۰۱۱	-۱۵۵/۵۰۰	*۰/۰۴۶

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)



نمودار ۱: اثر مداخله تمرین بر بیان نسبی PLIN2 در عضله نعلی
(D: دیابت کنترل؛ T-L: تمرین با شدت کم؛ T-H: تمرین با شدت بالا)

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد سطوح انسولین و گلوکز همراه با افزایش شدت تمرین استقامتی در موش‌های دیابتی کاهش یافت. کاهش سطوح سرمی انسولین و گلوکز در گروه‌های دیابت و تمرین با شدت زیاد و دیابت و تمرین با شدت متوسط در مقایسه با کنترل دیابتی و دیابت و تمرین با شدت پایین معنی‌دار بود(P≤۰/۰۵). تحقیق‌های دیگر نشان داده است در روند دیابتی کردن حیوانات با تزریق استرپتوزوسین، تخریب سلول‌های B پانکراس ترشح‌کننده انسولین، موجب کاهش شدید سطوح انسولین و افزایش فعالیت HSL می‌گردد که از بین رفتن توده عضلانی و کاهش بافت چربی در مدل‌های کاهش انسولینی شدید (دیابت ایجاد شده با استفاده از

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

استرپتوزوسین) مشاهده شده است(۱۸). سازوکارهای احتمالی کاهش انسولین و گلوکز سرمی در اثر تمرینات استقامتی می تواند شامل افزایش پروتئین‌های ناقل گلوکز(GLUT4) کاهش ترشح و افزایش پاک‌سازی اسیدهای چرب آزاد، افزایش تحویل گلوکز به عضلات و تغییر در افزایش تمایل عضلات به گلوکز در دسترس باشد(۱۹). اغلب مطالعه‌هایی که کاهش این شاخص را به دنبال برنامه تمرینی گزارش کرده‌اند، از شدت نسبتاً بالای تمرین برخوردار بوده‌اند(۲۰-۲۳). با توجه به این موارد، کاهش سطوح انسولین و گلوکز در پژوهش حاضر منطقی به نظر می‌رسد. تناقض در نتایج مطالعه‌ها می‌تواند ناشی از عوامل متفاوتی از قبیل نوع تغذیه، برنامه تمرینی، نوع آزمودنی، شدت و مدت فعالیت ورزشی باشد.

برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند تکانه‌های مکرر در طول یک تمرین ورزشی موجب هماهنگی آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم IMTG در طول فعالیت بدنی می‌شود(۲٤) که حساسیت به انسولین بالاتر در افراد تمرین کرده موجب مصرف بیشتر IMTG می‌گردد(۲٤). مصرف بیشتر IMTG در طی فعالیت از تجمع متابولیت‌های اسید چرب، اسیل کوآ زنجیره بلند، سرامید، دی‌اسیل‌گلیسرول که با کاهش حساسیت انسولین در ارتباط هستند، جلوگیری می‌کند(۲۵) و با نتایج تحقیق رشیدی و همکاران(۲۶) و محمود زاده و همکاران همسو بود (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان‌دهنده تأثیر تمرین با شدت بالا بر افزایش معنی‌دار بیان PLIN2 نسبت به گروه کنترل دیابتی بوده است. از آنجا که دیابت ناشی از STZ به دلیل افزایش سطوح گلوکز و کاهش سطوح انسولین، موجب آتروفی عضلانی می‌گردد(۲۸) پیشنهاد شده است که سطوح بیش از حد بالای گلوکز پلاسما می‌تواند همراه با سطوح انسولین پایین منجر به آتروفی عضلانی شود که با کاهش سنتز پروتئین و افزایش تجزیه پروتئین در عضله اسکلتی ارتباط دارد(۲۹). به نظر می‌رسد تمرین استقامتی با شدت بالا از اثر تحریکی بر جبران سنتز پروتئین PLIN2 عضله دارد (۱٤). برخی مطالعه‌ها نیز بیانگر افزایش PLIN2 در فیبرهای عضلانی عضله نعلی موش‌های صحرایی به دنبال ورزش هستند(۳۰). در موش‌های صحرایی مینارد و همکاران(۳۰) و در عضلات اسکلتی انسان، آماتی و همکاران (۲۵) و پیترز و همکاران(۳۱)، افزایش بیان PLIN2 را بعد از ورزش گزارش کردند. شاو و همکاران نیز در طی ٦ ماه تمرین استقامتی با شدت بالا (۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، افزایش سه برابری در بیان PLIN2 در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ را نشان دادند(۳). شفرد و همکاران نشان دادند تمرین استقامتی موجب افزایش بیان پروتئین کیناز A(PAK) که به نوبه خود منجر به افزایش بیان، فعال‌سازی و هم‌پوشانی PLIN2 با لیپاز حساس به هورمون(HSL) می‌گردد(۸). هم‌چنین پیشنهاد شده است که در پاسخ به افزایش تحویل FFA به سلول، محافظت در برابر لیپوتکسیتی و به منظور افزایش تجمع IMTG، PLIN2 افزایش یافته است(۳۲). بوسما و همکاران نشان دادند افزایش بیان PLIN2 در شرایط

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

آزمایشگاهی موجب افزایش ذخیره‌سازی TAG پس از ورزش می‌شود(۵). هم‌چنین PLIN2 در عضله اسکلتی با هدایت FAS به سمت ذخیره‌سازی TAG در قطرات چربی، موجب کاهش مقاومت به انسولین می‌شود(۵).

در مطالعه حاضر تمرین استقامتی کم شدت موجب افزایش بیان PLIN2 شده، اما این افزایش معنی‌دار نبود. پترز و همکاران نیز نشان دادند پس از یک پروتکل تمرین استقامتی ۱۲ هفته‌ای با ۵۰ درصد Vo_{2max} میزان پروتئین PLIN2 تغییری پیدا نکرد(۳۱). در فعالیت استقامتی با شدت کم، این احتمال وجود دارد که تنها بخش کوچکی از تارهای عضلانی نوع یک به کار گرفته شده باشد(۳۳)، به همین دلیل عدم افزایش معنی‌دار PLIN2 در تمرین‌های استقامتی با شدت کم مشاهده می‌شود. ون لون و همکاران نشان دادند میزان IMTG در طول ٦٠ دقیقه فعالیت استقامتی با شدت متوسط پس از ٦ هفته تغییر معنی‌داری پیدا نکرد(٣٤). هم‌چنین در ورزشکاران حرفه‌ای ۲ تا ۳ ساعت ورزش با شدت متوسط تغییری در میزان ذخایر IMTG مشاهده نشد(۳۵). همان طور که اشاره شد عدم تغییر در تجزیه IMTG با عدم تغییر در بیان PLIN2 در ارتباط است(۳۸ و ۱۴). در همین راستا شفرد و همکاران با مقایسه دو شیوه تمرین استقامتی و تمرین متناوبی شدید، نشان دادند که تمرین‌های تناوبی شدید منجر به تجمع بیشتر و تجزیه بیشترIMTG نسبت به تمرین‌های استقامتی می‌گردد. در طی تمرین تناوبی با شدت بالا منابع مورد استفاده برای اکسیداسیون چربی از سمت اسیدهای چرب پلاسما بیشتر به سمت IMTG سوق داده می‌شود. بنابراین باعث افزایش بیان PLIN2 و احتمالاً حفظ غلظت کم متابولیت‌های اسید چرب عضلانی می‌شود و این به نوبه خود منجر به بهبود حساسیت انسولین در تمرین‌های شدید می‌گردد(۵).

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد PLIN2 در پاسخ به تمرین استقامتی با شدت بالا، افزایش می‌یابد. افزایش PLIN2 به نظر می‌رسد موجب سهولت اکسیداسیون IMTG در طول ورزش می‌شود. علاوه بر این، افزایش PLIN2 موجب افزایش محتوای IMTG همراه با کاهش غلظت متابولیت‌های اسید چرب، پس از ورزش می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه دکتری دانشگاه شهرکرد می‌باشد، که با حمایت مالی این دانشگاه انجام شد. بدینوسیله از همکاری و مساعدت آن معاونت محترم پژوهشی تشکر و قدردانی می‌شود.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

REFE RENCES

1.Bacchi E, Moghetti P. Exercise for hepatic fat accumulation in type 2 diabetic subjects. International Journal of Endocrinology 2013; 2013(309191): 5.

2.Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2001;86(12):5755-61.

3.Shaw CS, Shepherd SO, Wagenmakers AJ, Hansen D, Dendale P, van Loon LJ. Prolonged exercise training increases intramuscular lipid content and perilipin 2 expression in type I muscle fibers of patients with type 2 diabetes. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2012;303(9):E1158-E65.

4.Paul A, Chan L, Bickel PE. The PAT family of lipid droplet proteins in heart and vascular cells. Current hypertension reports. 2008;10(6):461-6.

5.Bosma M, Hesselink MK, Sparks LM, Timmers S, Ferraz MJ, Mattijssen F, et al. Perilipin 2 improves insulin sensitivity in skeletal muscle despite elevated intramuscular lipid levels. Diabetes. 2012;61(11):2679-90.

6.Shepherd SO, Cocks M, Tipton K, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. Preferential utilization of perilipin 2-associated intramuscular triglycerides during 1 h of moderate-intensity endurance-type exercise. Experimental physiology. 2012;97(8):970-80.

7.Pourteymour S, Lee S, Langleite TM, Eckardt K, Hjorth M, Bindesbøll C, et al. Perilipin 4 in human skeletal muscle: localization and effect of physical activity. Physiological reports. 2015;3(8):e12481.

8.Shepherd SO, Cocks M, Tipton K, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. The Journal of physiology. 2013;591(3):657-75.

9.Dubé JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Sauers SE, Goodpaster BH. Exercise-induced alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete9s paradox revisited. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008;294(5):E882-E8.

10.Pruchnic R, Katsiaras A, He J, Kelley DE, Winters C, Goodpaster BH. Exercise training increases intramyocellular lipid and oxidative capacity in older adults. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2004;287(5):E857-E62.

11.Van Aggel-Leijssen DP, Saris WH, Wagenmakers AJ, Senden JM, Van Baak MA. Effect of exercise training at different intensities on fat metabolism of obese men. Journal of applied physiology. 2002;92(3):1300-9.

12.Scribbans TD, Edgett BA, Vorobej K, Mitchell AS, Joanisse SD, Matusiak JB, et al. Fibre-specific responses to endurance and low volume high intensity interval training: striking similarities in acute and chronic adaptation. PLoS One. 2014;9(6):e98119.

13.Louche K, Badin P-M, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, De Glisezinski I, et al. Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2013;98(12):4863-71.

14.MacPherson RE, Herbst EA, Reynolds EJ, Vandenboom R, Roy BD, Peters SJ. Subcellular localization of skeletal muscle lipid droplets and PLIN family proteins OXPAT and ADRP at rest and following contraction in rat soleus muscle. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2012;302(1):R29-R36.

15.Straub BK, Stoeffel P, Heid H, Zimbelmann R, Schirmacher P. Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de novo perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. Hepatology. 2008;47(6):1936-46.

16.Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Intensity-controlled treadmill running in rats: V̇ o 2 max and cardiac hypertrophy. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2001;280(3):H1301-H10.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

17.Kim D-H, Kim S-H, Kim W-H, Moon C-R. The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF-α of soleus muscle in obese Zucker rats. Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry. 2013;17(4):199.
18.Sztalryd C, Kraemer FB. Regulation of hormone-sensitive lipase in streptozotocin-induced diabetic rats. Metabolism. 1995;44(11):1391-6.
19.Kim ES, Im JA, Kim KC, Park JH, Suh SH, Kang ES, et al. Improved insulin sensitivity and adiponectin level after exercise training in obese Korean youth. Obesity. 2007;15(12):3023-30.
20.Ivy JL. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Sports medicine. 1997;24(5):321-36.
21.Berger M, Kemmer F, Becker K, Herberg L, Schwenen M, Gjinavci A, et al. Effect of physical training on glucose tolerance and on glucose metabolism of skeletal muscle in anaesthetized normal rats. Diabetologia. 1979;16(3):179-84.
22.James D, Burleigh K, Kraegen EW, Chisholm D. Effect of acute exercise and prolonged training on insulin response to intravenous glucose in vivo in rat. Journal of Applied Physiology. 1983;55(6):1660-4.
23.Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of physical activity on insulin action and glucose tolerance in obesity. 1999.
24.Bergman BC, Perreault L, Hunerdosse DM, Koehler MC, Samek AM, Eckel RH. Increased intramuscular lipid synthesis and low saturation relate to insulin sensitivity in endurance-trained athletes. Journal of applied physiology. 2010;108(5):1134-41.
25.Amati F, Dubé JJ, Alvarez-Carnero E, Edreira MM, Chomentowski P, Coen PM, et al. Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance. Diabetes. 2011;60(10):2588-97.
26.Rashidi M, Soori R, Choobineh S, Ravasi AA, Baesi K. The Effect of an Aerobic Exercise on MTNR1B Gene Expression. Danesh va Tasdorosty 2016; 11(3): 40-8.
27.Mahmudzadeh T, Saghebjoo M, Seghatol Eslami A, Hedayati M. EFFECT OF AEROBIC TRAINING AND PISTACIA ATLANTICA EXTRACT CONSUMPTION ON PANCREATIC B-CELLS FUNCTION IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders. 2014;13(3):252-62.
28.Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. Experimental Physiology. 2011;96(2):179-93.
29.Kuramoto K, Sakai F, Yoshinori N, Nakamura TY, Wakabayashi S, Kojidani T, et al. Deficiency of a lipid droplet protein, perilipin 5, suppresses myocardial lipid accumulation, thereby preventing type 1 diabetes-induced heart malfunction. Molecular and cellular biology. 2014;34(14):2721-31.
30.Minnaard R, Schrauwen P, Schaart G, Jorgensen JA, Lenaers E, Mensink M, et al. Adipocyte differentiation-related protein and OXPAT in rat and human skeletal muscle: involvement in lipid accumulation and type 2 diabetes mellitus. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2009;94(10):4077-85.
31.Peters SJ, Samjoo IA, Devries MC, Stevic I, Robertshaw HA, Tarnopolsky MA. Perilipin family (PLIN) proteins in human skeletal muscle: the effect of sex, obesity, and endurance training. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2012;37(4):724-35.
32.Phillips D, Caddy S, Ilic V, Fielding B, Frayn K, Borthwick A, et al. Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. Metabolism. 1996;45(8):947-50.
33.De Bock K, Richter EA, Russell A, Eijnde BO, Derave W, Ramaekers M, et al. Exercise in the fasted state facilitates fibre type-specific intramyocellular lipid breakdown and stimulates glycogen resynthesis in humans. The Journal of physiology. 2005;564(2):649-60.

34.Loon LJ, Koopman R, Stegen JH, Wagenmakers AJ, Keizer HA, Saris WH. Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance-trained males in a fasted state. The Journal of physiology. 2003;553(2):611-25.
35.Stellingwerff T, Boon H, Jonkers RA, Senden JM, Spriet LL, Koopman R, et al. Significant intramyocellular lipid use during prolonged cycling in endurance-trained males as assessed by three different methodologies. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2007;292(6):E1715-E23.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:41 +0330 on Saturday October 19th 2019

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Comparison of Two Intensities of Aerobic Training (low intensity and High Intensity) on Expression of Perlipin 2 Skeletal Muscle, Serum Glucose and Insulin levels in Streptozotocin-Diabetic Rats

Ghafari M[1], Banitalebi E[1*], Faramarzi M[1], Mohebi A[2]

[1]Department of Exercise Physiology, University of Shahrekord. Shahrekord, Iran, [2]Department of Clinical Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received: 14 Jun 2017 Accepted: 4 Aug 2017

Abstract

Background & aim: Lipid metabolism disorder plays an important role in insulin resistance in skeletal muscle and lipid drop proteins such as perlipine 2 (PLIN2) are effective in regulating intracellular fat metabolism. One of the suggested pathways for the effects of endurance activity in metabolic diseases is the effect of physical activity on intramuscular. Therefore, the purpose of this study was compare the intensity of aerobic exercise intensity (low intensity and high intensity) on expression of PLIN2 skeletal muscle, serum glucose and insulin levels in streptozotocin-diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats were randomly divided into three groups of 8, including two intervention groups (low intensity endurance training group and high intensity continuous exercise group) and one control group. After induction of diabetic rats by injection streptozotocin (55 mg / kg body weight), Intraperitoneally, endurance training was applied for eight weeks, three sessions per week in diabetic rats. Exercise intensity in the low-intensity group was equal to 5-8 m / min (equivalent to 50-60% Vo2max), the intensity of training in a high intensity training group was equivalent to a speed of 22-25 m / min (equivalent to 80% Vo2max) and the control group did not receive intervene in this time. Relative protein expression of PLIN2 was performed using western blot technique. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

Results: The results of the intergroup comparison revealed a significant difference among three groups in the PLIN2 variables (p = 0.037). The results of post hoc test showed a significant increase in PLIN2 in high intensity training diabetic group compared to the control group (p = 0.033) However, there was no significant difference in PLIN2 level in the low exercise group compared to the control group (p = 0.18). Also, there was no significant difference between the low intensity and high intensity training groups (p = 0.66). Serum glucose and insulin levels were significantly different between diabetic control groups and low intensity and high intensity training (p = 0.001). This difference was between the high intensity training group with low intensity group (p = 0.04, p = 0.01), diabetes control (p = 0.001, p = 0/000), respectively.

Conclusion: Regarding the results of the study, modulation effects of high intensity endurance exercises on increasing the expression of PLIN2 in diabetic specimens were noted.

Keywords: Diabetes, PLIN2, endurance training, intramuscular triglycerides, insulin resistance

[*]**Corresponding Author: Banitalebi E,** Department of Sport Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.
Email: banitalebi.e@gmail.com

Please cite this article as follows:
Ghafari M, Banitalebi E, Faramarzi M, Mohebi A. Comparison of Two Intensities of Aerobic Training (low intensity and High Intensity) on Expression of Perlipin 2 Skeletal Muscle, Serum Glucose and Insulin levels in Streptozotocin-Diabetic Rats. Armaghane-danesh 2017; 22 (3): 282-294.