

مقایسه دو شدت تمرین هوازی (کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین پری لیپین 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

^۱گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، ^۲گروه 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 پری لیپین ۲ (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.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت 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 به صورت 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 یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج مقایسه بین گروهی، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه در متغیرهای PLIN2 نشان داد ($p=0/037$). نتایج آزمون تعقیبی بیانگر افزایش معنی‌دار PLIN2 در گروه دیابتی تمرین با شدت بالا نسبت به گروه کنترل بود ($p=0/033$)، اما تفاوت معنی‌داری در میزان PLIN2 در گروه تمرین کم شدت نسبت به گروه کنترل وجود نداشت ($p=0/18$). همچنین بین گروه تمرینی کم شدت و با شدت بالا نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/66$). سطوح سرمی گلوکز و انسولین بین گروه‌های کنترل دیابتی و تمرینی کم شدت و شدت بالا اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p=0/001$). این تفاوت بین گروه تمرین با شدت بالا با گروه شدت کم به ترتیب ($p=0/04$ و $p=0/01$)، کنترل دیابت به ترتیب ($p=0/001$ و $p=0/001$) 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، پری لیپین ۲، تمرین استقامتی، تری گلیسیریدهای درون عضلانی، مقاومت به انسولین

* نویسنده مسئول: ابراهیم بنی طالبی، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، گروه تربیت بدنی

Email: banitalebi.e@gmail.com

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 می آید (۱). تری گلیسیرید درون عضلانی (IMTG)^(۱) با مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع ۲ ارتباط دارد (۲). مفهوم «مقاومت به انسولین عضلات اسکلتی ناشی از تجمع چربی»^(۲) نشان دهنده رابطه IMTG و مقاومت به انسولین در افراد کم تحرک با ظرفیت اکسیداتیو پایین است (۳). اخیراً نشان داده شده، پروتئین های پوشاننده قطره چربی نقش مهمی در پروسه های مهم سلولی مانند ذخیره سازی و هموستاز انرژی سلول دارند (۴). مهم ترین خانواده مشخص شده از پروتئین های قطره چربی پری لپین ها (PLINs) از جمله PLIN1 تا PLIN5 هستند (۵). نتایج تحقیق ها نشان داده که محتوای پری لپین ها در تارهای نوع ۱ انقباض بیشتر از تارهای نوع ۲ است (۶، ۷). ارزیابی پروتئین های پری لپین در شرایط ورزش در افراد دیابتی، هنگامی که محتویات IMTG مستقل از تغییرات سطوح پروتئین های PLIN تغییر می کند، ممکن است سرخ هایی را در مورد نقش بالقوه پروتئین های PLIN در مقاومت به انسولین ارائه دهد. در مطالعه های قبلی نشان داده شده است که PLIN2 و PLIN5 به ترتیب در تمرین شدید متوسط (۹ و ۷) مورد استفاده قرار می گیرند (۶، ۸). به نظر می رسد مطالعه واکنش پروتئین قطره چربی عضله اسکلتی به تمرین

استقامتی شدید، سرخ هایی از تشخیص مکانیسم زیربنایی IMTG، تمرین ورزشی و دیابت نوع ۲ فراهم می کند.

مطالعه های قبلی نشان دادند که تأثیر تمرین های تمرینی بر روی میزان IMTG روشن نیست، مطالعه ها گزارش شده 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، مطالعه های قبلی نشان داده است که تمرین های ورزشی با شدت های مختلف اثر متفاوتی بر اکسیداسیون چربی عضلات اسکلتی دارد (۱۱، ۱۲)، اما شفره و همکاران نشان دادند که تمرین های شدید و تمرین های مداوم موجب بهبود مشابه در شکست IMTG می شود (۸).

علاوه بر این، در برخی مطالعه ها، پاسخ های متفاوتی از پروتئین PLIN عضله اسکلتی به تمرین های 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

میزان بیشتری IMTG ذخیره می‌گردد (۸). اعتقاد بر این است شدت تمرین استقامتی تعیین‌کننده میزان مصرف IMTG و تعیین‌کننده ظرفیت اکسیداتیو است (۴). در بیماران دیابتی با توجه به تجمع چربی، اضافه وزن، امکان ابتلا به سندروم متابولیک، بیماری‌های قلبی عروقی و آتروواسکروزیس، تعیین شدت تمرین مهم است. از طرفی گزارش شده است که حداقل شدت تمرینی برای تأثیرگذاری مطلوب بر لیپیدها، فعالیت بدنی با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب است (۱۶) که البته از سوی برخی محققان رد شده است (۱۷) در برخی از تحقیقات مربوط به دیابت نیز شدت تمرین‌ها مورد استفاده یا ذکر نشده و یا به طور 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 (۲) (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 پری لیپین ۲ عضله اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز، انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین مورد بررسی قرار گرفت.

تحقیق‌ها نشان داده PLIN2 در اکثر اندام‌های بدن انسان بیان می‌شود، اما نقش دقیق آن به طور کامل در عضله اسکلتی شناخته شده 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 (۱۴). PLIN2 میزان لیپولیز قطرات چربی را از طریق تعامل با اسیلتری گلیسرول لیپاز (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 (۱۴). با این حال داده‌های اخیر نشان می‌دهد که عملکرد بیولوژیکی این پروتئین احتمالاً از آنچه قبلاً تصور می‌شد، پیچیده‌تر است (۱۵) و (۸). 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 مورد توجه قرار گرفته است (۸). به عنوان مثال در پژوهش‌ها تمرین‌های تناوبی شدید (HIT) (۱) نسبت به تمرین‌های استقامتی با شدت متوسط مورد مقایسه قرار گرفته است (۱۷ و ۱۶). در برخی تحقیق‌ها نشان داده شده در تمرین‌های HIT میزان IMTG بیشتری مصرف می‌گردد و پس از ورزش

1- High Intensity Training
2- Turn Over

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی 40 ± 250 در سن هشت هفته از مراکز تحقیقات تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند. همچنین، کلیه قواین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC^(۱) رعایت گردید. برای دیابتی کردن هر موش صحرایی، استرپتوزوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه صفاقی تزریق شد. گلوکز خون ناشتا پس از ۱۲ ساعت بی‌غذایی هر حیوان قبل از تزریق استرپتوزوسین و نیز به ترتیب در فاصله زمانی ۱، ۳ و ۵ هفته پس از تزریق استرپتوزوسین با خون‌گیری از طریق بریدن نوک دم، به وسیله گلوکومتر اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که دارای قند خون ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بودند به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. بعد از گذشت یک هفته و آشنایی با محیط آزمایشگاه، در ابتدا برای آشنایی موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل، به مدت یک هفته با سرعتی معادل ۱۰ متر بر دقیقه به مدت پانزده تا بیست دقیقه تمرین در نظر گرفته شد (۱۶). این تحقیق به وسیله کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد مورد تأیید قرار گرفت. موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در گروه کنترل، گروه تمرین کم شدت و گروه تمرین شدت بالا

تقسیم شدند. موش‌ها در گروه‌های تجربی به مدت ۸ هفته تمرین کردند. سرعت دویدن به ترتیب در گروه تمرین با شدت پایین (سرعت ۵-۸ متر بر دقیقه، معادل ۵۰-۶۰ درصد Vo2max) و در گروه تمرین با شدت بالا (سرعت ۲۲-۲۵ متر بر دقیقه، معادل ۸۰ درصد Vo2max) بود (۱۷) و گروه کنترل سالم و دیابتی هیچ مداخله‌ای را در این مدت دریافت نکردند.

برای تهیه و تحلیل نمونه خونی، پس از دوره ۸ هفته تمرین، موش‌های تمامی گروه‌ها به مدت ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی با اتر بیهوش شدند و خون‌گیری مستقیماً از قلب موش به عمل آمد و خون سریعاً در لوله‌های حاوی اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA)^(۱) ریخته شد و برای جدا کردن پلاسماي خون، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطوح گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان از طریق بریدن نوک دم، اندازه‌گیری شد. سطوح پلاسمایی انسولین با کیت الیزا ویژه موش صحرایی (بیوسپس، چین) با حساسیت کمتر از ۵ میکرویونیت بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۰/۳۶ درصد اندازه‌گیری شد.

پس از دوره تمرین ۸ هفته، ۴۸ ساعت پس از آخرین تمرین، عضله نعلی استخراج و در نیتروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شد و سپس

1- Ethylenediaminetetraacetic Acid

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 ($p=0/002$) بود. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار دیابت بر شاخص‌های، گلوکز و انسولین بود ($p=0/001$). 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 (جدول ۱).

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 ($p=0/037$) (جدول ۲). همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تمرین استقامتی با شدت بالا تأثیر معنی‌داری بر بیان PLIN2 دارد ($p=0/033$). در مقایسه گروه‌های تمرینی کم شدت با غیر تمرینی، تمرین استقامتی کم شدت باعث افزایش غیر معنی‌دار بیان این شاخص شده است ($p=0/18$) (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

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 ۸۰- 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 آکریل 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 - اسمیرنوف، تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

انسولین نیز بود ($P=0/05$)، 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	گروه 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	۷۲۹۴/۶۱	۴۲۴۰/۲	۳/۸۰۵	۰/۰۳۷*
تمرین استقامتی با شدت کم	۵۲۹۲/۲۲	۳۷۲۸/۱		
کنترل دیابتی	۳۴۰۰/۵۶	۱۲۲۰/۰		

*معنی‌داری در سطح ($P\leq 0/05$)

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

گروه	گروه	تفاوت میانگین	سطح معنی‌داری
تمرین استقامتی با شدت بالا	کنترل دیابتی	۳۸۹۴/۱۲	۰/۰۳۳*
تمرین استقامتی با شدت بالا	تمرین استقامتی با شدت کم	۲۰۰۲/۴۴	۰/۶۶
تمرین استقامتی با شدت کم	کنترل دیابتی	۱۸۹۱/۶۶	۰/۱۸

*معنی‌داری در سطح ($P\leq 0/05$)

جدول ۴: تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه سطوح سرمی گلوکز و انسولین در بین گروه‌ها

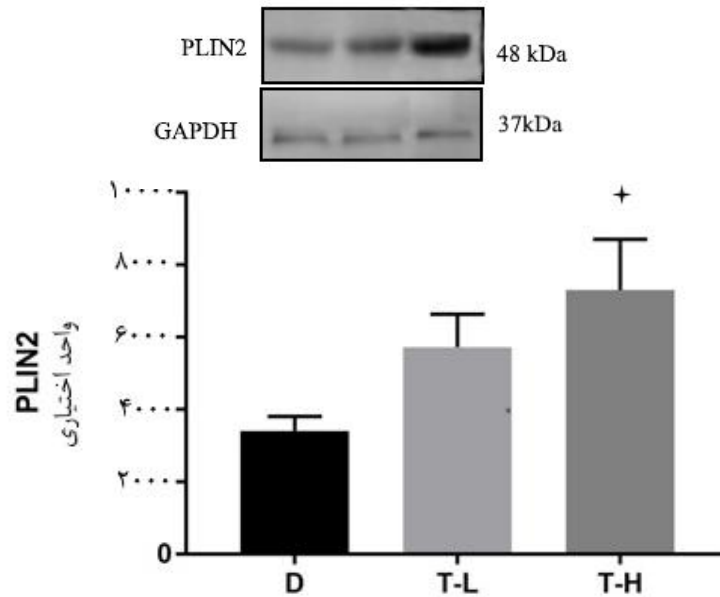
گروه	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	انسولین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
تمرین استقامتی با شدت بالا	341/50	211/35
تمرین استقامتی با شدت کم	497	0/031
کنترل دیابتی	557/75	0/036

*معنی‌داری در سطح ($P\leq 0/05$)

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

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

*معنی داری 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

پایین معنی دار 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

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

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

برخی پژوهش ها نشان داده اند تکانه های مکرر در طول یک تمرین ورزشی موجب هماهنگی آنزیم های مرتبط با متابولیسم IMTG در طول فعالیت بدنی می شود (۲۴) که حساسیت به انسولین بالاتر در افراد تمرین کرده موجب مصرف بیشتر IMTG می گردد (۲۴). مصرف بیشتر IMTG در طی فعالیت از تجمع متابولیت های اسید چرب، اسید کوآ زنجیره بلند، سرامید، دی اسیل گلیسرول که با کاهش حساسیت انسولین در ارتباط هستند، جلوگیری می کند (۲۵) و با نتایج تحقیق رشیدی و همکاران (۲۶) و محمود زاده و همکاران همسو بود (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده تأثیر تمرین با شدت بالا بر افزایش معنی دار 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 می گردد (۲۸) پیشنهاد شده است که سطوح بیش از حد بالای گلوکز پلاسما می تواند 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 می رسد تمرین استقامتی با شدت بالا از اثر تحریکی بر جبران سنتز پروتئین PLIN2 عضله دارد (۱۴). برخی مطالعه ها نیز بیانگر افزایش PLIN2 در فیبرهای عضلانی عضله نعلی موش های صحرایی به دنبال ورزش هستند (۳۰). در موش های 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 ۶ 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). شفورد و همکاران نشان دادند تمرین استقامتی موجب افزایش بیان پروتئین کیناز (PAK) که به نوبه خود منجر به افزایش بیان، فعال سازی و هم پوشانی PLIN2 با لیپاز حساس به هورمون (HSL) می گردد (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

آزمایشگاهی موجب افزایش ذخیره سازی TAG پس از ورزش می شود (۵). هم چنین PLIN2 در عضله اسکلتی با هدایت FAS به سمت ذخیره سازی TAG در قطرات چربی، موجب کاهش مقاومت به انسولین می شود (۵).

در مطالعه حاضر تمرین استقامتی کم شدت موجب افزایش بیان PLIN2 شده، اما این افزایش معنی دار نبود. پترز و همکاران نیز نشان دادند پس از یک پروتکل تمرین استقامتی ۱۲ هفته ای با ۵۰ درصد $V_{O_{2max}}$ 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 (۳۲). به همین دلیل عدم افزایش معنی دار PLIN2 در تمرین های استقامتی با شدت کم مشاهده می شود. ون لون و همکاران نشان دادند میزان IMTG در طول ۶۰ دقیقه فعالیت استقامتی با شدت متوسط پس از ۶ هفته تغییر معنی داری پیدا نکرد (۳۴). هم چنین در ورزشکاران حرفه ای 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 تناوبی شدید، نشان دادند که تمرین های تناوبی شدید منجر به تجمع بیشتر و تجزیه بیشتر IMTG نسبت به تمرین های استقامتی می گردد. در طی تمرین تناوبی با شدت بالا منابع مورد استفاده برای اکسیداسیون چربی از سمت اسیدهای چرب

پلازما بیشتر به سمت IMTG سوق داده می شود. بنابراین باعث افزایش بیان PLIN2 و احتمالاً حفظ غلظت کم متابولیت های اسید چرب عضلانی می شود و این به نوبه خود منجر به بهبود حساسیت انسولین در تمرین های شدید می گردد (۵).

نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد PLIN2 در پاسخ به تمرین استقامتی با شدت بالا، افزایش می یابد. افزایش PLIN2 به نظر می رسد موجب سهولت اکسیداسیون IMTG در طول ورزش می شود. علاوه بر این، افزایش PLIN2 موجب افزایش محتوای IMTG همراه با کاهش غلظت متابولیت های اسید چرب، پس از ورزش می شود.

تقدیر و تشکر

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

REFERENCES

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, Bindsbøll 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 athlete's 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: V o 2 max and cardiac hypertrophy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001;280(3):H1301-H10.

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, Saghebjo 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.

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 M¹, Banitalebi E^{1*}, Faramarzi M¹, Mohebi A²

¹Department of Exercise Physiology, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran, ²Department 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.