مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین- اردیبهشت ۱۳۹۷؛ دوره ۱۷ (شماره ۴) ۲۰۵-۱۹۸

مقاله‌ی پژوهشی

مقایسه‌ی دو شدت متفاوت تمرین استقامتی بر بیان پروتئین پری‌لیپین ۳ عضله‌ی اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین

مهدی غفاری*[۱]، محمد فرامرزی[۱]، ابراهیم بنی‌طالبی[۱]

چکیده

مقدمه: اختلال متابولیسم لیپیدهای درون عضلانی در ایجاد مقاومت به انسولین و دیابت نقش مهمی ایفا می‌کنند. پری‌لیپین ۳ از جمله پروتئین‌های مهم خانواده‌ی پری لیپین در تنظیم لیپولیز و ذخیره‌ی آن در سلول‌های عضلانی است. لذا هدف از این مطالعه مقایسه دو شدت متفاوت تمرین استقامتی (کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین پری‌لیپین ۳ عضله‌ی اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین است.

روش‌ها: تعداد ۲٤ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی ساده به سه گروه (تمرین استقامتی کم شدت ، تمرین استقامتی با شدت بالا و کنترل) تقسیم شدند. تمرین استقامتی به مدت هشت هفته و شدت تمرین در گروه کم‌شدت ٦۰ درصد Vo_{2max} ، شدت بالا ۸۵ درصد Vo_{2max} بود و گروه کنترل هیچ مداخله‌ای دریافت نکردند. بیان نسبی پروتئین پری‌لیپین ۳ با تکنیک وسترن بلات انجام شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج مقایسه بین گروهی، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه در متغیرهای پری‌لیپین ۳ نشان داد (P=۰/۰۱۲). نتایج آزمون تعقیبی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان پروتئین پری‌لیپین۳ در تمرینات شدید استقامتی نسبت به گروه کنترل دیابتی بود (P=۰/۰۰۹)، اما تفاوت معنی‌داری در میزان پری‌لیپین ۳ در گروه تمرین کم شدت استقامتی نسبت به گروه کنترل وجود نداشت (P=۰/٤٤۲). نتایج مقایسه بین گروهی، اختلاف معنی‌داری بین سه گروه در سطوح سرومی گلوکز و انسولین نشان داد (به ترتیب p=۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۰۰۳).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش می‌توان به تأثیر تمرینات استقامتی با شدت بالا بر افزایش بیان پری‌لیپین۳ در نمونه‌های دیابتی اشاره کرد.

واژگان کلیدی: دیابت، پری‌لیپین۳، تمرین استقامتی، مقاومت به انسولین

۱- گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

نشانی: شهرکرد، بلوار رهبر، دانشگاه شهرکرد، تلفن و دورنگار: ۰۳۸۳۲۳۲٤٤۰۱ الی۰۳۸۳۲۳۲٤٤۰۷، کدپستی: ۸۸۱۸٦۳٤۱٤۱، پست الکترونیک: ghafari.mehdi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۶ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۷/۰۱/۱۷ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۰۲/۲۱

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز است [۱]. با تغییر سبک زندگی و عادات غذایی در جهان بیماری دیابت همچنان رو به افزایش است. گزارش‌های آینده‌نگر پیش‌بینی کننده شیوع دیابت در سال ۲۰۲۵ در حدود ۳۲۰ میلیون نفر در جهان است [۱]. میزان شیوع دیابت در ایران نیز حدود ۵/۵ درصد است که البته رو به افزایش است [۲].

تجمع چربی در بافت‌های غیر چرب مانند عضله‌ی اسکلتی، نقش مهمی در علت شناسی مقاومت به انسولین و دیابت دارد [۳]. لیپیدهای اضافی عمدتاً به‌عنوان تری‌گلیسریدها (TGs) درون قطرات چربی[1] (LD) ذخیره می‌گردند. LD ها در افراد عادی به‌صورت متعادل ذخیره و مصرف می‌گردند اما در افراد دیابتی این تعادل وجود ندارد [٤] و در تحقیقات ارتباط ذخیره بیش‌ازحد LD با بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نشان داده شده است [٦، ٥]. مشخص شده است که افزایش غلظت IMTG در عضلات اسکلتی با لیپوتکسیتی[2] و افزایش مقاومت انسولین ارتباط دارد [۲، ۱]. در مقابل نشان داده شده است مصرف‌تری گلیسیریدهای درون عضلانی[3] (IMTG) موجب حساسیت به انسولین بالاتر می‌شود [٤–۲]. اکسیداسیون بیشتر IMTG از تجمع متابولیت‌های اسید چرب مانند اسیل‌کوآ زنجیره بلند، سرامید، دی‌اسیل‌گلیسرول (DAG) که باعث کاهش حساسیت به انسولین می‌شوند، جلوگیری می‌کند [٦، ٥]

پری‌لیپین‌ها[4] (PLINs) از جمله پروتئین‌های مهم برای تنظیم میزان مصرف و ذخیره LDs هستند [۷]. پری‌لیپین ۳[5] (PLIN3) عضوی از پروتئین‌های PLINs است که در تشکیل و اکسیداسیون LDs مشارکت می کند [۸] و عمدتاً در بافت متابولیکی فعال به وفور یافت می‌شود [۱۰، ۹] و به‌نظر می‌رسد در تمرین استقامتی پری‌لیپین۳ میزان لیپولیز LD در بافت‌های اکسیداتیو مانند عضله‌ی اسکلتی را تنظیم می‌کند [۱۱]. محققان بیان کردند پری‌لیپین۳ با ذخیره و مصرف LD و اکسیداسیون چربی در مدل‌های مختلف مقاومت به انسولین مرتبط است [۱۲]. تحقیقات نشان داده میزان بیان پری‌لیپین۳ بر اندازه‌ی LD تأثیرگذار است [۱۰]. به‌عنوان مثال پژوهشی نشان داده است، افزایش بیان پری‌لیپین۳ در عضله‌ی موش صحرایی با افزایش مقاومت به انسولین ارتباط دارد [۱۲]. گزارش‌های اخیر نشان داده‌اند که پری‌لیپین ۳ به‌عنوان یک پروتئین حامل اسید های چرب آزاد (FFAs) عمل می کند، همچنین باعث افزایش تبدیل ماکروفاژها به سلول‌های فوم می شود [۱۳]. برخی تحقیقات کاهش سطوح پری‌لیپین۳ را همراه با بهبود هموستاز گلوکز در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی چربی بالا گزارش کرده اند [١٤].

اخیراً IMTG به‌عنوان منابع سوخت در طی ورزش شناخته شده‌اند [۱۱]. اعتقاد بر این است تمرین حساسیت به انسولین را به همراه کاهش محتوای چربی درون عضلانی عضلات اسکلتی بهبود می‌بخشد [۵]. شدت تمرین استقامتی تعیین‌کننده میزان مصرف IMTG و تعیین‌کننده ظرفیت اکسیداتیو است [۷]. نشان داده شده است در تمرینات تناوبی شدید[6] (HIT) میزان IMTG بیشتری مصرف می‌گردد و پس از ورزش میزان بیشتری IMTG ذخیره می‌گردد [۵]. همچنین نشان داده شده است تمرین HIT نسبت به تمرینات استقامتی با شدت متوسط موجب بهبود و سازگاری بیشتر انسولین در عضلات اسکلتی می‌گردد [١٦، ١٥]. از طرفی در بیماران دیابتی با توجه به تجمع چربی، اضافه‌وزن، امکان ابتلا به سندرم متابولیک، بیماری‌های قلبی عروقی و آترواسکلروزیس[7]، تعیین شدت تمرین مهم است. گزارش شده است که حداقل شدت تمرینی برای تأثیرگذاری مطلوب بر لیپیدها، فعالیت بدنی با شدت ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب است [۸] که البته از سوی برخی محققان رد شده است [۹] در برخی از تحقیقات مربوط به دیابت نیز شدت تمرینات مورد استفاده یا ذکر نشده و یا به‌طور دقیق مشخص نشده است [۱۰] .از آنجا که پری‌لیپین۳ در ذخیره‌سازی و مصرف LD ها نقش دارد و عدم مصرف LD ها با مقاومت به انسولین و توسعه‌ی دیابت ارتباط دارد و از طرفی تمرین استقامتی موجب بهینه سازی مصرف و ذخیره‌سازی LDs 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 ما دو شدت متفاوت تمرینی (کم شدت و شدت بالا) بر بیان پروتئین پری‌لیپین ۳ عضله

[1] Lipid droplets
[2] lipotoxicity
[3] Intramyocellular triacylglycerol
[4] Perilipins
[5] Perilipin 3
[6] High intensity interval
[7] Atherosclerosis

اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز، انسولین موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین را مورد بررسی قرار دادیم.

روش‌ها

تعداد ٢٤ موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ٤٠ ±٢٥٠ در سن هشت هفتگی از مرکز تحقیقات پاستور تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی ٣±٢٢ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط ١٢: ١٢ ساعت تاریکی و روشنایی نگه‌داری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند. هـمچنین، کلیـه‌ی قـوانین و نحوه‌ی رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC[1] تحت کد اخلاق در پــژوهش دانشگاه شهرکرد شماره ٩٤/٢٢٠/م‌پ رعایــت گردید. برای دیابتی کردن هر موش صحرایی، استرپتوزوسین با دوز ٥٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه صفایی تزریق شد. گلوکز خون ناشتا پس از ١٢ ساعت بی‌غذایی هر حیوان قبل از تزریق استرپتوزوسین و نیز به‌ترتیب در فاصله‌ی زمانی ١، ٣ و ٥ هفته پس از تزریق استرپتوزوسین با خون‌گیری از طریق بریدن نوک دم، به‌وسیله گلوکومتر اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که دارای قند خون ٣٠٠ میلی‌گرم بر دسی لیتر بودند به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. بعد از گذشت یک هفته و آشنایی با محیط آزمایشگاه، در ابتدا برای آشنای موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل، به‌مدت یک هفته با سرعتی معادل ١٠ متر بر دقیقه به‌مدت پانزده تا بیست دقیقه تمرین در نظر گرفته شد [١٧].

موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی در گروه کنترل، گروه تمرین کم شدت و گروه تمرین شدت بالا تقسیم شدند. شدت تمرین در گروه کم شدت معادل سرعت ١٨ متر بر دقیقه (معادل ٥٥-٦٥ درصد Vo_{2max})، شدت تمرین در گروه تمرینی با شدت بالا معادل سرعت ٣٤ متر بر دقیقه (معادل ٨٥ درصد Vo_{2max}) بود [٢٠-١٨، ١٦]. و گروه کنترل هیچ مداخله‌ای را در این مدت دریافت نکردند.

برای تهیه و تحلیل نمونه خونی، پس از دوره ٨ هفته تمرین، موش‌های تمامی گروه‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه‌ی تمرین و پس از ١٢ ساعت ناشتایی با اتر بیهوش شدند و خونگیری مستقیماً از قلب موش به‌عمل آمد و خون سریعاً در لوله‌های حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید[2] (EDTA) ریخته شد و برای جداکردن پلاسمای خون، نمونه‌ها به‌مدت ١٥ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ٣٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ٢٠- درجه‌ی سانتی گراد نگه‌داری شدند. سطوح گلوکز به‌وسیله‌ی گلوکومتر ساخت کشور آلمان از طریق بریدن نوک دم، اندازه‌گیری شد سطوح پلاسمایی انسولین با کیت الایزا ویژه‌ی موش صحرایی (بیوسپس، چین) با حساسیت کمتر از ٥ میکرویونیت بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ٠/٣٦ درصد اندازه‌گیری شد.

پس از دوره‌ی تمرین ١٢ هفته، ٤٨ ساعت پس از آخرین تمرین، عضله‌ی نعلی استخراج و در نیتروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگه‌داری شد و سپس با روش هاون‌کوبی در نیتروژن مایع پودر و به نسبت ١ به ٥ در بافر RIPA لیز و به‌طور کامل هموژن شد و به‌مدت ٣٠ دقیقه در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به‌مدت پانزده دقیقه در ١٤٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت برداشته و غلظت پروتئینی محلول با روش Bradford و با استفاده از BSA (Bovin serum albumin) به‌عنوان استاندارد تعیین و در دمای ٨٠- درجه برای مراحل بعدی نگه‌داری شد. مقدار بافتی پروتئین پری‌لیپین ٢ طبق دستورالعمل روش وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی مقادیر مساوی از پروتئین توسط ژل پلی اکریل آمید SDS-PAGE ١٢ درصد جداسازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به‌مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (TIP47 Antibody (B-3)_200 µg/ml) شرکت Santa Cruz در ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ٣ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به‌مدت 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.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نحوه‌ی توزیع داده‌ها بررسی شد. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه به‌منظور بررسی تفاوت بین گروه‌ها (کنترل، تمرین هوازی کم شدت و تمرین هوازی شدت بالا) در مقادیر متغیرهای مورد نظر استفاده شد. در صورت معنی‌داری تفاوت بین گروهی با توجه به این‌که تعداد آزمودنی‌ها در گروه‌ها یکسان بود از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ٢١ و در سطح α=٠/٠٥ انجام گرفت.

[1] Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International

[2] 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 یافت (P=۰/۰۰۲). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان دهنده تأثیر معنی‌دار دیابت بر شاخص‌های، گلوکز و انسولین است (به ترتیب (P=۰/۰۰۱) (P=۰/۰۰۱)) بود. 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. ازآنجایی‌که تمرین بر سطوح سرمی گلوکز و انسولین تأثیر معنی‌دار داشته (به‌ترتیب (P=۰/۰۰۰۱) و (P=۰/۰۰۰۳))، تمرین نتوانسته است تغییری در سطوح این فاکتورها ایجاد کند (جدول ۱).

تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان پروتئین پری‌لیپین۳ 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=۰/۰۰۰۶) (جدول ۲).

همچنین نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تمرین استقامتی با شدت بالا تأثیر معنی‌داری بر بیان پری‌لیپین ۳ دارد (P=۰/۰۱). در مقایسه گروهای تمرینی کم شدت با غیر تمرینی، تمرین استقامتی کم شدت باعث افزایش غیر معنی‌دار بیان این پروتئین شده است (P=۰/٦٧) (نمودار ۱). نتایج مربوط به بیان پروتئین پری‌لیپین ۳ در عضله‌ی نعلی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد تمرین استقامتی با شدت بالا تأثیر معنی‌داری بر سطوح گلوکز (P=۰/۰۰۱) و انسولین (P=۰/۰۰۰) دارد (جدول ٤).

جدول ۱- ویژگی‌های پایه

مقادیر	گروه کنترل سالم (n=۸)	گروه کنترل دیابتی (n=۸)	گروه دیابتی تمرین استقامتی کم شدت (n=۸)	گروه دیابتی تمرین استقامتی با شدت بالا
وزن پیش از مداخلات (گرم)	۲۷۷/۳۳±۷/۵۷	۱۸۲/۹۰±۱۷/۰۲٦	۲۷۱/٦۲±۲٤/۰۱۷	۲۰۱/۱۰±۱٤/۷۰۰
وزن پس از مداخلات (گرم)	۲۹۷/۳۳±۳/۲۷	۱۷۲/۸۸±۱۵/۳٦٦	۱۸٦/۵۰±٤۲/۵۷۸	۱۹۱/۵۰±۱۵/٤٦٤
گلوکز پیش از مداخلات (mg/dl)	۸۰/٤٦±۲/۲۳	٤۳۱/٦±۲۵/۳	٤٦٦/٦٦±۲۰/۷۸	٤۵۰/٦۸±۲۵/۳۸

جدول ۲- تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان پروتئین پری‌لیپین۳ در سه گروه تمرین استقامتی با شدت بالا، تمرین استقامتی با شدت کم و کنترل دیابتی

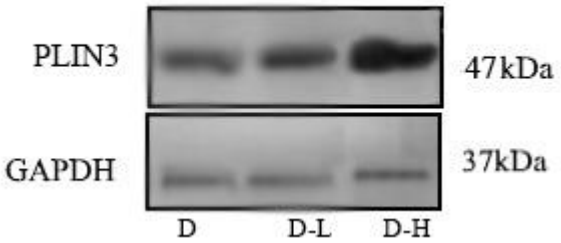
گروه‌ها	تمرین استقامتی با شدت بالا	تمرین استقامتی کم شدت	کنترل دیابتی	ANOVA	
متغیرها	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد	میانگین و انحراف استاندارد	F	معناداری
پری‌لیپین۳ (اختیاری)	٦۱۹٦±۲٤۹۰	٤۰۳۵±۲٤۰۲	۳٤۰۰/۵٦±۲٤۹۷/۲۱	۵/۵٤	*۰/۰۰۰٦
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۳٤۱/۵۰±۹۱/۹۰۵	۱۲۱۳±۰/۰۰۹	۲۷۰۹±۱۲٤٤	۱۸/۸۹۲	*۰/۰۰۱
انسولین نانوگرم بر میلی‌لیتر	۰/۱۲۱۳±۰/۰۰۹	۰/۱۷۲۵±۰/۰۳۱	۰/۱۹۲۵±۰/۰۳٦	۲۱۱/۳۵	*۰/۰۰۱

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)

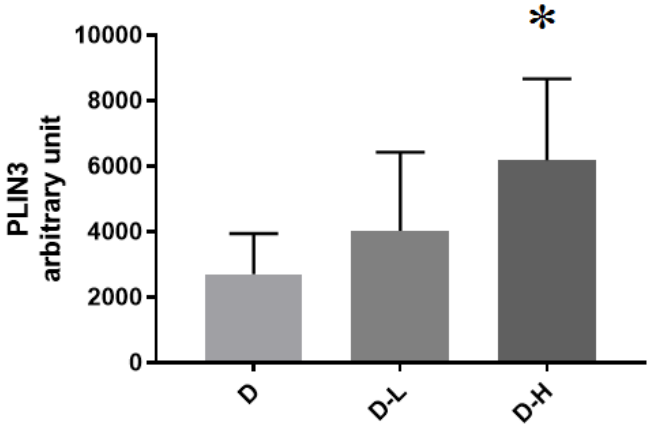
جدول ۳- نتایج تحلیل تعقیبی توکی بر میزان بیان پری‌لیپین۳

گروه	گروه	تفاوت میانگین	P
تمرین استقامتی با شدت بالا	کنترل دیابتی	۹۹۲/۵	۰/۰۱*
	تمرین استقامتی با شدت کم	۲۱۵۷	۰/۲۲
تمرین استقامتی با شدت کم	کنترل دیابتی	۱۳۲۶	۰/۶۷

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)



(D: دیابت کنترل؛ D-L: دیابت همراه با تمرین با شدت کم؛ D-H: دیابت همراه با تمرین با شدت بالا)



نمودار ۱- اثر مداخله تمرین بر بیان نسبی پری‌لیپین۳ در عضله‌ی نعلی

(D: دیابت کنترل؛ D-L: دیابت همراه با تمرین با شدت کم؛ D-H: دیابت همراه با تمرین با شدت بالا. *: معناداری)

جدول ۴- نتایج تحلیل تعقیبی توکی سطوح سرمی انسولین و گلوکز

گروه	گروه	انسولین		گلوکز	
		تفاوت میانگین	معنی‌داری	تفاوت میانگین	معنی‌داری
دیابت و تمرین استقامتی با شدت زیاد	کنترل دیابتی	۰/۰۷۱۲	*۰/۰۰۰	۲۳۶/۲۵۰	*۰/۰۰۱
	دیابت و تمرین استقامتی با شدت متوسط	۰/۰۲۱۲	۰/۶۰۵	۱۸/۳۷۵	۰/۹۹۷
	دیابت و تمرین استقاتی با شدت کم	۰/۰۵۱۲	*۰/۰۱۱	۱۵۵/۵۰۰	*۰/۰۴۶
دیابت و تمرین استقامتی با شدت متوسط	کنترل دیابتی	۰/۰۵۰۰	*۰/۰۱۴	۲۵۴/۶۲۵	*۰/۰۰۰
	دیابت و تمرین استقامتی با شدت زیاد	۰/۰۲۱۲	۰/۶۰۵	۱۸/۳۷۵	۰/۹۹۷
	دیابت و تمرین استقاتی با شدت کم	۰/۰۳۰۰	۰/۲۷۰	۱۷۳/۸۷۵	*۰/۰۲۰

*معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)

بحث

یافته‌ها در پژوهش حاضر نشان داد سطوح انسولین و گلوکز همراه با فعالیت استقامتی کم شدت و شدت بالا در موش‌های دیابتی کاهش پیدا کرده است. تحقیقات نشان داده است که در روند دیابتی کردن حیوانات با تزریق STZ، تخریب سلول‌های B پانکراس ترشح‌کننده انسولین، موجب کاهش شدید سطوح انسولین و در نتیجه هایپرگلیسمی می‌گردد [۲۱, ۲۲]. که از بین رفتن توده‌ی عضلانی در مدل‌های کاهش انسولینی شدید (دیابت ایجاد شده با استفاده از STZ) مشاهده شده است [۲۱]. به‌دلیل آتروفی عضلانی همراه با تخریب سلول‌های B پانکراس، به‌نظر می‌رسد تمرین استقامتی نقش جبرانی که به کاهش مقاومت به انسولین منجر می‌شود، داشته باشد [۲۲, ۲۳]. تحقیقات 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].

نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده‌ی تأثیر تمرین با شدت بالا بر افزایش معنی‌دار بیان پری‌لیپین۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی بوده است. از آنجاکه دیابت ناشی از STZ به‌دلیل افزایش سطوح گلوکز و کاهش سطوح انسولین، موجب آتروفی عضلانی می‌گردد [۲۰, ۲٦]، آتروفی عضلانی موجب کاهش سنتز پروتئین و افزایش تجزیه‌ی پروتئین در عضله‌ی اسکلتی می‌گردد [۲۷]. به‌نظر می‌رسد تمرین استقامتی با شدت بالا، اثر تحریکی بر جبران سنتز پروتئین پری‌لیپین۳ عضله دارد [۲۸]. برخی مطالعات نیز بیانگر افزایش پری‌لیپین۳ و پری‌لیپین ۲ در فیبرهای عضلانی عضله نعلی موش‌های صحرایی به‌دنبال ورزش هستند [۲۲, ۲۹-۳۱]. در موش‌های صحرایی Roms و همکاران (۲۰۱٤) [۳۱] و در عضلات اسکلتی انسان، Amati و همکاران (۲۰۱۱) [۳۲] و Roms و همکاران (۲۰۱٦) [۲۵] ، افزایش بیان پری‌لیپین۳ را بعد از ورزش گزارش کردند. در مطالعه‌ی Roms و همکاران (۲۰۱٤) همراه با افزایش محتوای پری‌لیپین۳ میتوکندری پس از ۳۰ دقیقه انقباض با شدت بالا ورود اسیدهای چرب بیشتری به داخل میتوکندری مشاهده شد [۳۱]. از سازوکارهایی که در تمرین استقامتی با شدت بالا موجب افزایش بیان پروتئین پری‌لیپین۳ می‌شود، فعالیت بیشتر مسیر پروتئین کیناز A [۱] (PAK) است که به نوبه‌ی خود منجر به افزایش بیان پری‌لیپین۳ و افزایش بیان لیپاز حساس به هورمون (HSL) می‌گردد [۵]. همچنین به نظر می‌رسد افزایش پری‌لیپین۳ در پاسخ به افزایش تحویل FA به میتوکندری، محافظت در برابر لیپوتکسیتی [۲] افزایش یافته است [۱۲] زیرا پری‌لیپین۳ اسید های چرب را به سمت ذخیره در LD ها هدایت می‌کند و از تجمع آنها جلوگیری می‌کند [۵]. Bosma و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند افزایش بیان پری‌لیپین۳ ممکن است موجب افزایش ذخیره‌سازی IMTG همراه با کاهش لیپوتکسیتی پس از ورزش شود [۳۳]. همچنین برخی تحقیقات بیان کردند افزایش پری‌لیپین۳ در عضله‌ی اسکلتی در پاسخ به فعالیت ورزشی به انتقال

[۱] protein kinase A

[۲] lipotoxicity

FA به سمت میتوکندری کمک می‌کند در نتیجه موجب تسهیل اکسیداسیون FA کاهش مقاومت به انسولین می‌شود [۱۲].

در مطالعه‌ی حاضر تمرین استقامتی کم شدت موجب افزایش بیان پری‌لیپین۳ شده اما این افزایش معنی‌دار نبود. MacPherson و همکاران (۲۰۱۲) نیز در تمرین استقامتی باشدت متوسط افزایش معناداری رادر میزان پری‌لیپین۳ مشاهده نکردند [۲۷].

در فعالیت استقامتی با شدت کم، این احتمال وجود دارد که تنها بخش کوچکی از تارهای عضلانی نوع یک به‌کار گرفته شده باشد [۳٤] و در نتیجه IMTG مکتری مصرف شده باشد، به همین دلیل عدم افزایش معنی‌دار پری‌لیپین۳ در تمرینات استقامتی با شدت کم مشاهده شود. Loon و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند میزان IMTG در طول ٦۰ دقیقه فعالیت استقامتی با شدت متوسط پس از ٦ هفته تغییر معنی‌داری پیدا نکرد [۳۵]. همچنین در ورزشکاران حرفه‌ای ۲ تا ۳ ساعت ورزش با شدت متوسط تغییری در میزان ذخایر IMTG مشاهده نشد [۲۷]. همان طور که اشاره شد عدم تغییر در تجزیه IMTG با عدم تغییر در بیان پری‌لیپین۳ در ارتباط است. در همین راستا شفرد و همکاران (۲۰۱۳) با مقایسه دو شیوه تمرین استقامتی و تمرین متناوبی شدید، نشان دادند که تمرینات تناوبی شدید منجر به تجمع بیشتر و تجزیه بیشتر IMTG نسبت به تمرینات استقامتی می‌گردد. نسبت به تمرینات با شدت پایین، در طی تمرین تناوبی با شدت بالا منابع مورد استفاده برای کسیداسیون چربی از سمت اسیدهای چرب پلاسما بیشتر به سمت IMTG سوق داده می‌شود که باعث افزایش بیان پری‌لیپین۳ و احتمالاً حفظ غلظت کم متابولیت‌های اسید چرب عضلانی می‌شود و این به نوبه خود ممکن است منجر به بهبود حساسیت انسولین در تمرینات شدید گردد [۳۳].

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد پری‌لیپین۳ در پاسخ به تمرین استقامتی با شدت بالا، افزایش می‌یابد. افزایش پری‌لیپین۳ به‌نظر می‌رسد نقش هدایت FAs را بر عهده دارد. علاوه بر این، افزایش پری‌لیپین۳ موجب افزایش محتوای IMTG همراه با کاهش غلظت متابولیت‌های اسید چرب، پس از ورزش می‌شود.

مآخذ

1. Rahbarian, R. and S.D. Sadooghi, Investigating the effects of aqueous extract of asafoetida resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 2014. 16(3): p. 16-21.
2. Zar, A., F. Ahmadi, and M. Rezaei, Effects of Ginger together with Swimming Training on Blood Fat Profiles in Adult Diabetic Rats with Streptozotocin. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 2016. 11(2): p. 65-74.
3. Samuel, V.T. and G.I. Shulman, Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. Cell, 2012. 148(5): p. 852-871.
4. Sitnick, M.T., et al., Skeletal muscle triacylglycerol hydrolysis does not influence metabolic complications of obesity. Diabetes, 2013. 62(10): p. 3350-3361.
5. Shepherd, S.O., 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): p. 657-675.
6. Bruce, C., et al., Disassociation of muscle triglyceride content and insulin sensitivity after exercise training in patients with Type 2 diabetes. Diabetologia, 2004. 47(1): p. 23-30.
7. Dalen, K.T., et al., LSDP5 is a PAT protein specifically expressed in fatty acid oxidizing tissues. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2007. 1771(2): p. 210-227.
8. Bulankina, A.V., et al., TIP47 functions in the biogenesis of lipid droplets. The Journal of cell biology, 2009. 185(4): p. 641-655.
9. Yamaguchi, T., et al., MLDP, a novel PAT family protein localized to lipid droplets and enriched in the heart, is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor α. Journal of Biological Chemistry, 2006. 281(20): p. 14232-14240.
10. Wang, H., et al., Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. Journal of lipid research, 2011. 52(12): p. 2159-2168.
11. Louche, K., 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): p. 4863-4871.
12. Fan, B., et al., High glucose, insulin and free fatty acid concentrations synergistically enhance perilipin 3 expression and lipid accumulation in macrophages. Metabolism-Clinical and Experimental, 2013. 62(8): p. 1168-1179.
13. Buers, I., et al., TIP47, a lipid cargo protein involved in macrophage triglyceride metabolism. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2009. 29(5): p. 767-773.
14. Carr, R.M., et al., Reduction of TIP47 improves hepatic steatosis and glucose homeostasis in mice. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2012. 302(8): p. R996-R1003.

15. Burgomaster, K.A., et al., Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. Journal of applied physiology, 2005. 98(6): p. 1985-1990.
16. Wisløff, U., et al., Intensity-controlled treadmill running in rats: V̇ o 2 max and cardiac hypertrophy. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2001. 280(3): p. H1301-H1310.
17. Lawler, J.M., et al., Oxygen cost of treadmill running in 24-month-old Fischer-344 rats. Medicine and science in sports and exercise, 1993. 25(11): p. 1259-1264.
18. Robergs, R., et al., HIGH INTENSITY SPRINT TRAINING REDUCES LIPID PEROXIDATION IN FAST-TWITCH SKELETAL MUSCLE.
19. Naito, H., et al., Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. Medicine and science in sports and exercise, 2001. 33(5): p. 729-734.
20. Molanouri Shamsi, M., et al., Effect of Intensive Resistance Exercise Training on Protein Expression of IL-6, IL-1β and TNF-α myokines in fast twitch skeletal muscle of diabetic rats. 2, 2014. 6(11): p. 69-77.
21. Dan, M. and J.K. Chantler, A novel pancreatropic coxsackievirus vector expressing glucagon-like peptide 1 reduces hyperglycemia in streptozotocin-treated mice. Journal of virology, 2011. 85(23): p. 12759-12768.
22. Ghafari, M., et al., 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): p. 282-294.
23. Ivy, J.L., Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Sports medicine, 1997. 24(5): p. 321-336.
24. Bergman, B.C., et al., Increased intramuscular lipid synthesis and low saturation relate to insulin sensitivity in endurance-trained athletes. Journal of applied physiology, 2010. 108(5): p. 1134-1141.
25. Ramos, S.V., P.C. Turnbull, and R.E. MacPherson, Adipose tissue depot specific differences of PLIN protein content in endurance trained rats. Adipocyte, 2016. 5(2): p. 212-223.
26. Kuramoto, K., 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): p. 2721-2731.
27. MacPherson, R.E., et al., 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): p. R29-R36.
28. Minnaard, R., 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): p. 4077-4085.
29. Gjelstad, I., et al., Expression of perilipins in human skeletal muscle in vitro and in vivo in relation to diet, exercise and energy balance. Archives of physiology and biochemistry, 2012. 118(1): p. 22-30.
30. Sentinelli, F., et al., The perilipin 2 (PLIN2) gene Ser251Pro missense mutation is associated with reduced insulin secretion and increased insulin sensitivity in Italian obese subjects. Diabetes/metabolism research and reviews, 2015.
31. Ramos, S., Changes in mitochondrial PLIN3 and PLIN5 protein content in rat skeletal muscle following acute contraction and endurance training. 2014.
32. Amati, F., et al., Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance. Diabetes, 2011. 60(10): p. 2588-2597.
33. Bosma, M., et al., Perilipin 2 improves insulin sensitivity in skeletal muscle despite elevated intramuscular lipid levels. Diabetes, 2012. 61(11): p. 2679-2690.
34. Loon, L.J., et al., 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): p. 611-625.
35. van Loon, L.J., Use of intramuscular triacylglycerol as a substrate source during exercise in humans. Journal of applied physiology, 2004. 97(4): p. 1170-1187.

COMPAR TWO DIFFERENT ENDURANCE TRAINING INTENSITIES ON PERILIPIN 3 PROTEIN EXPRESSION IN SKELETAL MUSCLE, SERUM GLUCOSE LEVELS AND INSULIN IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Mahdi Ghafari[1 *], Mohamad Faramarzi[2], Ebrahim Banitalebi[1]

1. *Department of Exercise physiology, University of Shahrekord, Shahrekord ,Iran*

ABSTRACT

Background: Lipid metabolism disorder in muscle plays an important role in creating insulin resistance in skeletal muscle. Perilipin 3 (PLIN3) is one of PLIN proteins in regulation of muscle lipolysis. The purpose of this study was compared two different endurance training intensities on perilipin 3 protein expression in skeletal muscle, serum insulin levels and glucose in streptozotocin-induced diabetic rats.
Method: 24 male Wistar rats were randomly divided into three groups. Low and high and high-intensity and control group. Endurance training was applied three times a week for eight weeks. The low-intensity exercise group was trained to the treadmill by running at a speed of 60 percent of vo2max and high-intensity training 85%Vo2max. The expression of the plin2 protein was analyzed by Western blot technique. To determine the significance of differences between the groups, the results were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post-hoc test (α= 0.05).
Results: Direct comparison between the groups by ANOVA showed significant differences in perilipin 3 (p=0.0006). Tukey's post hoc test showed that there was a statistical difference between the mean values of the diabetic control group and high-intensity endurance group (P = 0.01). Perilipin 3 not significantly increased in low-intensity exercise compared to the control group (P=0. 67). Also, the comparison between groups showed, there was significant difference between the three groups. The serum levels of glucose and insulin (respectively p=0.001 and p=.001).
Conclusion: The results of the present study showed that the Effects of with high-intensity endurance training increase the expression perilipin 3 in diabetes rats.

Keywords: Diabetes, Perilipin 3, Endurance training, Insulin resistance

* ShahreKord, Rahbar Blv, University of Shahrekord, Phone and Fax: 03832324401 to 03832324407, Zip code: 8818634141, Email: ghafari.mehdi@gmail.com