مجله دیابت و متابولیسم ایران. آذر- دی ۱۳۹۲؛ دوره ۱۳ (شماره ۲)۱۲۲-۱۱۱

تأثیر القاء دیابت و تمرین استقامتی بر بیان RBP4 در عضله نعلی و EDL رت های نر نژاد ویستار

روح الله نیکویی[۱]، ملیحه آوسه[۱]، کبری امیدفر[۲*]

چکیده

مقدمه: هدف از مطالعه حاضر تعیین تاثیر دیابت و ۷ هفته تمرین استقامتی بر میزان بیان RBP4[۱] در عضلات نعلی، باز کننده طویل انگشتان (EDL[۲])، کبد، چربی احشایی و زیر پوستی رت دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها: تعداد ۵۰ رت نژاد ویستار نر با میانگین وزنی ۸/۹ ± ۹۳/۷ گرم تهیه و به طور تصادفی به ٤ گروه کنترل سالم (C) (n = ۱۰)، تمرینی سالم (T) (n = ۱۰)، کنترل دیابتی (DC) (n = ۱۵) و تمرینی دیابتی (TD) (n =۱۵) تقسیم شدند. دیابت از طریق ترکیب تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین[۳] و مصرف غذای پر چرب ایجاد شد. پس از اعمال ۷ هفته تمرین استقامتی، بیان RBP4 در بافت‌های فوق با western blotting و مقادیر سرمی با روش ELISA اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: القاء دیابت نوع دو بیان RBP4 کبد (۳/۵۷ برابر، P <۰/۰۱)، چربی احشایی (۲/۰۲ برابر، P <۰/۰۱) و چربی زیرپوستی (۱/۸٤ برابر، P <۰/۰۱) و EDL (۲/۲۹ برابر، P <۰/۰۱) را درگروه DC نسبت به C افزایش داد. سطوح RBP4 سرم در گروه DC (۲/۹ برابر، P <۰/۰۱) و در گروه TD (۱/۸٤ برابر، P <۰/۰۱) نسبت به گروه C افزایش داشت. با اعمال تمرین، کاهش معنی‌داری در بیان RBP4 چربی احشایی (P <۰/۰۵) و سطوح سرمی آن (P <۰/۰۵) درگروه DT نسبت به CD اتفاق افتاد.

نتیجه‌گیری: دیابت نوع دو به طورقابل توجهی بیان RBP4 را در عضله اسکلتی به روش وابسته به تار، کبد، چربی احشایی، زیر پوستی و در سطح سرم افزایش می‌دهد. ضمن اینکه تمرینات استقامتی بیان RBP4 چربی احشایی و سرم را کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، تمرین استقامتی، بیان RBP4

۱- دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، کرمان، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیوسنسور، پژوهشکده علوم سلولی - مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

* ***نشانی:*** تهران، خیابان کارگر شمالی،خیابان جلال آل احمد، بیمارستان شریعتی، طبقه پنجم، مرکز غدد درون ریز و متابولیسم، **تلفن:** ۰۸۸۲۲۰۰۳۷، **فاکس:** ۸۸۲۲۰۰۵۲، **نشانی الکترونیک:** omidfar@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۸ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۲/۰۸/۲۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۲/۰۹/۰۵

مقدمه

تنظیم هموستاز گلوکز بدن یکی از مهم‌ترین وظایف ارگانیسم است که به‌وسیله مداخله بافت‌های گوناگون از قبیل پانکراس، بافت چربی.... کنترل می‌شود. تحقیقات حاضر نشان می‌دهند که بافت‌های چربی در پاسخ به کاهش غلظت درون سلولی و سرمی گلوکز، از طریق ترشح بعضی فاکتورها به جریان خون به عنوان عاملی تنظیم گر در متابولیسم گلوکز ایفای نقش می‌کنند [۲، ۱]. RBP4[1] یکی از این آدیپوکین‌ها می‌باشد که غلظت سرمی آن در مدل‌های گوناگون رت‌های دیابتی و افرادی که دچار مقاومت انسولین و یا دیابت نوع دو هستند افزایش می‌یابد [٤-۲]. این آدیپوکین از بافت‌های چربی احشایی و زیر پوستی به درون جریان خون ترشح می‌شود و متابولیسم گلوکز خون سیستمیک را از طریق گلوکونئوژنز کبد تنظیم می‌کند [۲]. نقش RBP4 در توسعه مقاومت انسولین در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است [٤-۲]. در واقع RBP4 گلوکونئوژنز کبدی را افزایش و سیگنالینگ انسولین در عضله‌های اسکلتی را تضعیف می‌کند [۵]. در مطالعاتی که از خاموش کردن ژن GLUT4[2] در بافتهای چربی رت استفاده کرده اند، افزایش سطوح mRNA RBP4 در بافت چربی گزارش شده است [۱]. از طرف دیگر، درمان همین رت‌ها با rosigilitazon – داروی افزایش دهنده حساسیت انسولین – بیان mRNA RBP4 را در بافت چربی و غلظت سرمی آن را کاهش می‌دهد [۵].

از آنجایی که بافت چربی احشایی و زیرپوستی تفاوت‌های متابولیکی قابل توجهی با هم دارند، بافت چربی احشایی نسبت به چربی کل بدن ارتباط نزدیک‌تری با مقاومت انسولین را از خود نشان می‌دهد [۸-٦]. دلیل این مسئله ممکن است تولید بیشتر RBP4 در چربی احشایی نسبت به چربی زیر پوستی باشد [۱۰، ۹]. با این که نقش سلول‌های چربی در ترشح RBP4 به خوبی ثابت شده است، ارتباط ضعیفی بین بیان RBP4 بافت چربی و سطح‌های RBP4 سرم در انسان گزارش شده است که نشان دهنده این است که بافت چربی ممکن است نقش کم اهمیت‌تری در تعیین سطوح RBP4 سرم در انسان نسبت به حیوانات داشته باشد. حتی در جوندگان نیز فقط ۲۰٪ از RBP4 سرم به وسیله بافت‌های چربی تولید می‌شود [٦] و این امکان وجود دارد که افزایش در غلظت RBP4 سرم درافراد مقاوم به انسولین یا افراد دیابتی نوع دو[۹-۷] با افزایش تولید RBP4 در بافت چربی قابل توجیه نباشد.

این یافته‌ها نشان می‌دهد که احتمالاً بافت‌های دیگر نیز می‌توانند عامل افزایش غلظت RBP4 سرم دردیابت نوع دو باشد. اخیراً عضله اسکلتی به عنوان محل اصلی مصرف گلوکز در نظر گرفته شده و می‌تواند متابولیسم گلوکز خود را تحت موقعیت کاهش قند خون (هایپوگلیسیما) با ترشح میوکین‌ها از جمله اینترلوکین ٦ (IL6) و RBP4 تنظیم کند [۱۱]. افزایش در mRNA RBP4 عضله اسکلتی رت بعد از یک جلسه تمرین استقامتی شدید گزارش شده است [۱۲] که این بافت را به عنوان یک منبع ترشح کننده RBP4 معرفی کرده است. در واقع عضله اسکلتی در پاسخ به افزایش فعالیت انقباضی میوکین هایی را تولید و رها می کند که می تواند بر متابولیسم دیگر بافت ها تأثیرگذار باشد [۱۱]. در عین حال اثر القای دیابت بر RBP4 در عضله اسکلتی تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. هم چنین علی‌رغم اثبات اثرات مفید فعالیت بدنی در درمان و پیشگیری دیابت نوع دو، اثرات مفید احتمالی این نوع تمرینات در کاهش سطوح RBP4 عضله اسکلتی تاکنون در شرایط دیابت نوع دو مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین هدف از تحقیق حاضر تعیین تأثیر القاء دیابت نوع دو و اثر ۷ هفته تمرین استقامتی بر بیان RBP4 در عضله اسکلتی رت دیابتی نوع دو و سالم بود. لذا در تحقیق حاضر جهت تعیین اثر وابسته به تار دیابت نوع دو و تمرین استقامتی بر بیان RBP4، بیان این آدیپوکین در دو عضله نعلی و EDL[3] که از لحاظ متابولیکی ناهمگن هستند و همچنین در بافت‌های کبد، چربی احشایی و زیر پوستی به عنوان منابع مهم در تولید RBP4 و همچنین سطوح سرمی این آدیپوکین به عنوان برونداد نهایی بافت‌های مختلف ترشح کننده آن اندازه‌گیری گردید.

1 retinol binding protein 4
2 Glucose transporter 4
3 extensor digitorum longus

روش‌ها

نمونه‌ها

تعداد ۵۰ رت نژاد ویستار نر در سن ۵ هفتگی با میانگین وزنی ۸/۹ ± ۹۳/۷ گرم از انستیتوی پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی ٤ ± ۲۲ درجه سانتیگراد تحت سیکل ۱۲:۱۲ساعت تاریکی – روشنایی نگه‌داری شدند. وزن بدن به طور روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت ۲ هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن مطلوب)، رت‌ها به طور تصادفی به ٤ گروه کنترل سالم (C) (n = ۱۰)، تمرینی سالم (T) (n = ۱۰)، کنترل دیابتی (DC) (n = ۱۵) و تمرینی دیابتی (TD) (n = ۱۵) تقسیم و گروه‌ها بر اساس وزن همسان‌سازی شدند. در نهایت در تجزیه و تحلیل داده‌ها، در سنجش بیان RBP4 از هر گروه ٦ راس و در آنالیزهای بیوشیمیایی از گروه کنترل سالم، تمرینی سالم، کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی به ترتیب ۷، ۸، ۹، ۹ استفاده شد. دیابت در این تحقیق از طریق ترکیب تزریق استرپتوزوتوسین[1] (STZ) ومصرف غذای پُرچرب[2] ایجاد شد [۱۳]. غذای مورد استفاده شامل ۵۸ درصد چربی، ۲۵ درصد پروتئین و ۱۷ درصد کربوهیدرات بود و عناصر تشکیل دهنده آن در جدول ۱ گزارش شده است. این ترکیب غذایی به‌وسیله محقق به صورت دست‌ساز و با همکاری شرکت کانی دام و موسسه واکسن‌سازی و سرم‌سازی رازی ایران تهیه گردید. رت‌های گروه دیابتی به مدت ۲ هفته تحت مصرف غذای پُرچرب۲ قرارگرفتند در حالی‌که گروه کنترل سالم غذای طبیعی[3] مصرف می‌کرد. بعد از آن تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین به میزان ۳۵ mg/kg در بافر سیترات 0.1 M (PH 4.5) بعد از ٦ ساعت ناشتایی در دو گروه دیابتی انجام گرفت [۱۳]. ٤۸ ساعت بعد از تزریق دارو، نمونه خونی از چشم حیوان جمع‌آوری و جداسازی سرم با 3000 g, 10 min, 4 °C انجام و غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. غلظت گلوکز بالاتر از ۳۰۰mg/dl به‌عنوان دیابت تعریف [۱۳] و رت‌های واجد شرایط وارد تحقیق شدند. مجوز اخلاق جهت انجام تحقیق حاضر از کمیته اخلاقی پژوهشگاه غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه تهران اخذ گردید.

پروتکل تمرینی

تمرین استقامتی به مدت ۷ هفته، هر روز بر گروه های T و TD اعمال شد (جدول ۲). به دلیل شـرایط خـاص رت‌های تحقیق (دیابت شدید)، اعمال مدت‌های طولانی‌تر تمرینی بیشتر از ۳۵ دقیقه امکان‌پذیر نبود و این مدت به عنوان مدت نهایی در اواخر تمرین درنظر گرفته شد و هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند.

تست HOMA-IR

٢٤ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بعد از ۸ ساعت ناشتایی نمونه خونی به میزان 1ml از چشم حیوان جمع آوری و جداسازی پلاسما با سانتریفیوژ کردن در 3000 g, 10 min, 4 °C انجام و جهت اندازه‌گیری گلوکز و انسولین ناشتایی جهت تعیین HOMA-IR در ۸۰- نگه‌داری شد. اندازه‌گیری انسولین به روش ELISA و با کیت ساخت شرکت Millipore با حساسیت اندازه‌گیری 0.1 ng/ml، catalog number: # EZRMI-13K و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید.

مقادیر HOMA-IR با استفاده از فرمول زیرمحاسبه گردید

$$\text{HOMA-IR} = \text{Insulin [}\mu\text{U/ml]} * \text{Glucose [mmol/l]} / 22.5$$

واجد بودن شرایط مقاومت انسولین منوط به داشتن دو شرط زیر بود:

۱– مقادیر HOMA-IR بالاتر از ۲,۵ [١٤]

۲ – مقادیر انسولین ناشتایی بالاتر از ٦۰ pmol [١٤] و تنها رت‌هایی که شرایط فوق را دارا بودند در تجزیه و تحلیل نهایی وارد شدند.

1 streptozotocin
2 high fat diet
3 standard pellet diet

جدول ۱- ترکیب غذای پُرچرب و عناصر تشکیل دهنده آن

عناصر تشکیل دهنده	گرم / کیلو گرم
پودر غذای طبیعی رت	۳٦۵
روغن گیاهی	۳۱۰
کازئین	۲۵۰
کلسترول	۱۰
ویتامین و مواد معدنی	٦۰
متیونین	۳
کلراید سدیم	۱
جوش شیرین	۱

جدول ۲- مشخصات پروتکل تمرینی مورد استفاده در تحقیق

زمان	آشنا سازی ۵ روز	هفته ۱	هفته ۲	هفته۳	هفته٤	هفته۵	هفته ٦	هفته۷
سرعت (متر در دقیقه)	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت (دقیقه)	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

استخراج نمونه

٤۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها به‌وسیله تزریق درون صفاقی کتامین [90 mg/kg] و زایلازین [10 mg/kg] بی هوش و عضلات نعلی، EDL و چربی زیرپوستی و احشایی و کبد بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگه‌داری شد. نمونه خونی نیز مستقیم از قلب حیوان جمع آوری و جداسازی سرم با سانتریفیوژ کردن در 3000 g, 10 min, 4° C انجام شد.

Western blotting

حدود۲۰۰ - ۱۵۰ میلی‌گرم از هر بافت با روش هاون کوبی در نیتروژن مایع پودر گردید. بافت‌های عضله و کبد در ۱ میلی‌لیتر از PBS هموژن و در ۱۲۰۰۰g و دمای ٤° به مدت ۱۵ دقیقه سانتی‌گراد سانتریفیوز شد. سطح رویه برداشت و به عنوان نمونه نهایی جهت انجام western blotting در نظر گرفته شد. نمونه‌های چربی ابتدا در Tris buffer(۲۰ mM Tris، ۱۳۷ mM NaCl، mM $CaCl_2$۱، ۱ mM $MgCl_2$، ۱ mM dithiothretol، mM ۱PMSF ، ۲ mM Na_3PO_4، NP-40 ٪۱، گلیسرول ٪۱۰، pH = ۷/۲) لیز و همانند روش فوق جداسازی سطح رویه انجام گردید. تعیین غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش Bradford و با استفاده از Bovin Serum Albumin (BSA) به عنوان استاندارد انجام گرفت. سپس میزان 20µg پروتئین در هر چاهک ریخته شد و جداسازی پروتئین با استفاده از تکنیک SDS-PAGE[1] با ژل ۱۲ درصد انجام شد. پروتئین‌های جدا شده به غشای PVDF[2] با منافذ 45. میکرون انتقال داده شدند. سپس مرحله Blocking غشاء با محلول محتوی 150 mM Nacl, 0.1% Tween 20, 50 mM Tris-HCL, 5% Skim milk, Ph 7.4 به مدت ۱/۵ ساعت خوابانده شد. سپس غشاء در طول شب در محلول محتوی آنتی بادی اولیه با غلظت (1 micrograms/ml) که در بافر محتویBSA و Skim milk رقیق شده بود، قرار گرفت. پس از انجام شستشوی غشاء جهت رفع آنتی بادی های غیر متصل، غشاء در معرض آنتی بادی ثانویه

1 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels electrophoresis
2 Polyvinylidene difluoride membrane

(HRP) قرار گرفته و مجدداً به‌وسیله آب مقطر، 0.05 1 M Nacl،Tween – 20 شسته شد. بیان پروتئین با استفاده از روش Enhanced Chemiluminescence [ECL] انـدازه‌گیری شد. غشاء در معرض فیلم رادیوگرافی قرار گرفت و ظهور باندها بر روی فیلم در تاریک‌خانه به انجام رسید. چگالی باندها با تکنیک Densitometric scanning تعیین شد. جهت نیمه کمی کردن بیان RBP4 در هر بار انجام الکتروفرز و blotting به میزان ۵ نانوگرم از پروتئین RBP4 رت با نمونه‌ها ران گردیده و چگالی باند به‌دست آمده از آن برابر ۱ قرار گرفته و باندهای دیگر با آن مقایسه می‌شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از اینکه نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K – S تایید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری ANOVA ONE WAY و آزمون تعقیبی Tukey استفاده گردید. جهت تعیین توانایی پیش بینی و میزان سهم بافت‌های مختلف در تعیین سطوح RBP4 سرم از آنالیز رگرسیون تشخیصی استفاده گردید. مقدار α درتمامی مراحل برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۳- متغیرهای فیزیولوژیک و آنتروپومتریک گروه‌های تحقیق در انتهای مطالعه

متغیر	کنترل سالم	تمرینی سالم	کنترل دیابتی	تمرینی دیابتی
وزن (gr)	۲۹۹/۷۹ ± ۳۰/ ۸۱ *	۳۰۳/۸۲ ± ۲۶/۰۶ *	۳۳۱/۷ ± ۱۸/۱٤ #	۲۹۱/۱۷ ± ۲۵/۲۱ *
گلوکز(ng/dl)	۱۰٦/٤ ± ۹/۲٦ *	۱۰۱/٦۲ ± ۹/۰۲ *	۳۹٤/٤٤ ± ٤۸/۷٤ #	۳۰۱/۷ ± ٤۷/۹۵ *#
انسولین (µU/ml)	٦/۲۵ ± ۱/۱۵ *	۵/۷۳ ± ۰/٦۸ *	۱۰/۵۵ ± ۱/۱۲ #	۸/۹۵ ± ۰/۷۸ *#
شاخص HOMA-IR	۱/٦۲ ± ۰/۲٤ *	۱/٤۵ ± ۰/۱۹ *	۱۰/٤۸ ± ۱/٤٤ #	٦/٦۸ ± ۱/۳۱ *#

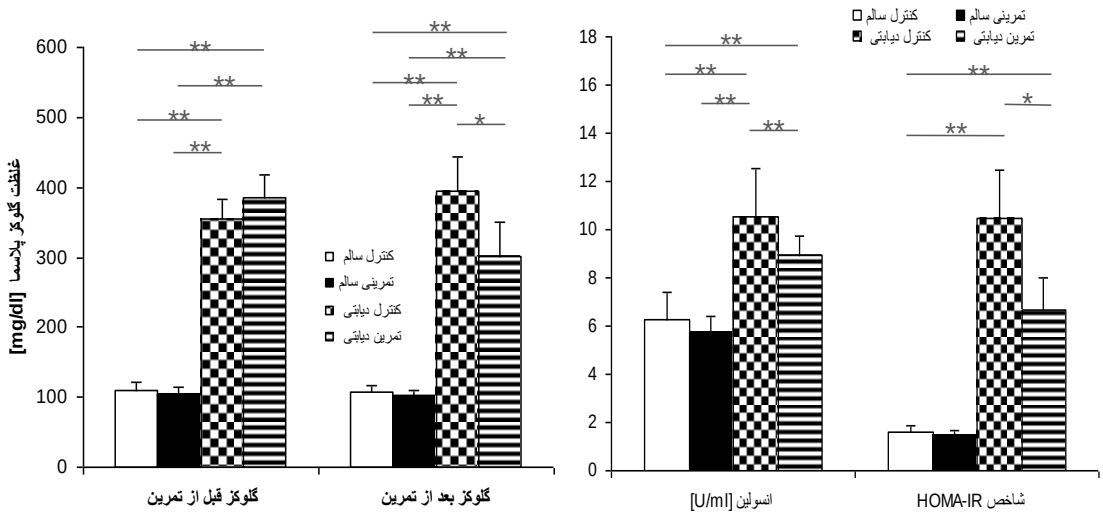
* اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی، # اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل سالم

کنترل سالم(n = ۷)، دیابتی (n = ۹)، (تمرین دیابتی (n = ۹)، تمرین سالم (n = ۸)

یافته‌ها

تاثیرSTZ و غذای پُرچرب بر متغیرهای متابولیک و وزن بدن

جدول ۳ تاثیر STZ و غذای پُرچرب بر متغیرهای متابولیک و وزن بدن را نشان می‌دهد. نتایج تست تایید دیابت قبل از شروع تحقیق افزایش معنی‌دار سطح گلوکز خون (Pre glucose) در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم را نشان داد (p < ۰/۰۰۱) (شکل ۱ الف). نتایج آزمون HOMA-IR و انسولین پلاسما در پایان تحقیق نیز اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دیابتی و گروه کنترل سالم را نشان داد (p < ۰/۰۰۱) (شکل ۱ ب). اختلاف وزن بین گروه کنترل دیابتی و سایر گروه‌ها در انتهای تـحقیق مـعنی‌دار بود (p < ۰/۰۵).



کنترل سالم(۷ = n)، دیابتی (۹ = n)، تمرین دیابتی (۹ = n)، تمرین سالم (۸ = n)

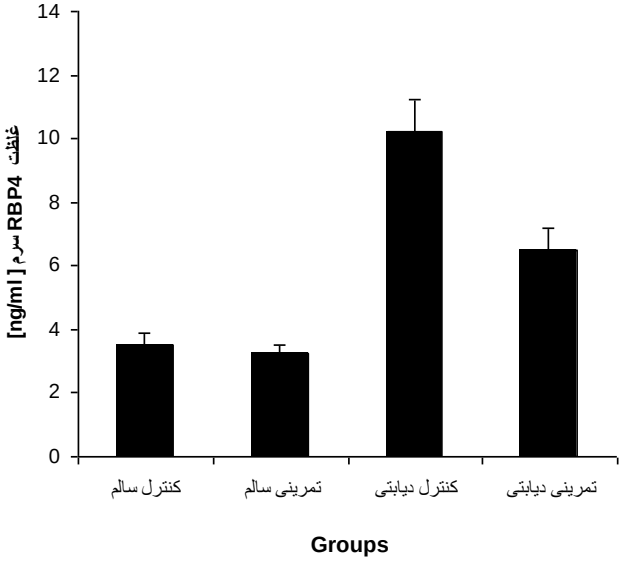
* اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵، ** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱

شکل ۱ الف- نمودار تغییرات انسولین پلاسما و HOMA-IR index

شکل ۱ ب- نمودار تغییرات گلوکزپلاسما قبل و بعد از پروتکل تمرین

تاثیر دیابت و تمرین بر غلظت RBP4 سرم

بعد از القاء دیابت و در انتهای تحقیق سطوح RBP4 سرم در گروه DC (۲/۹ برابر، P <۰/۰۱) و در گروه TD (۱/۸٤ برابر، P <۰/۰۱) نسبت به گروه C افزایش داشت. با اعمال ۷ هفته تمرین استقامتی، کاهش معنی‌داری در سطوح سرمی RBP4 (P <۰/۰۵) درگروه DT نسبت به CD اتفاق افتاد. علی‌رغم وجود کاهش اندک در سطوح سرمی RBP4 در گروه T نسبت به C این تفاوت معنی‌دار نبود (شکل ۲).



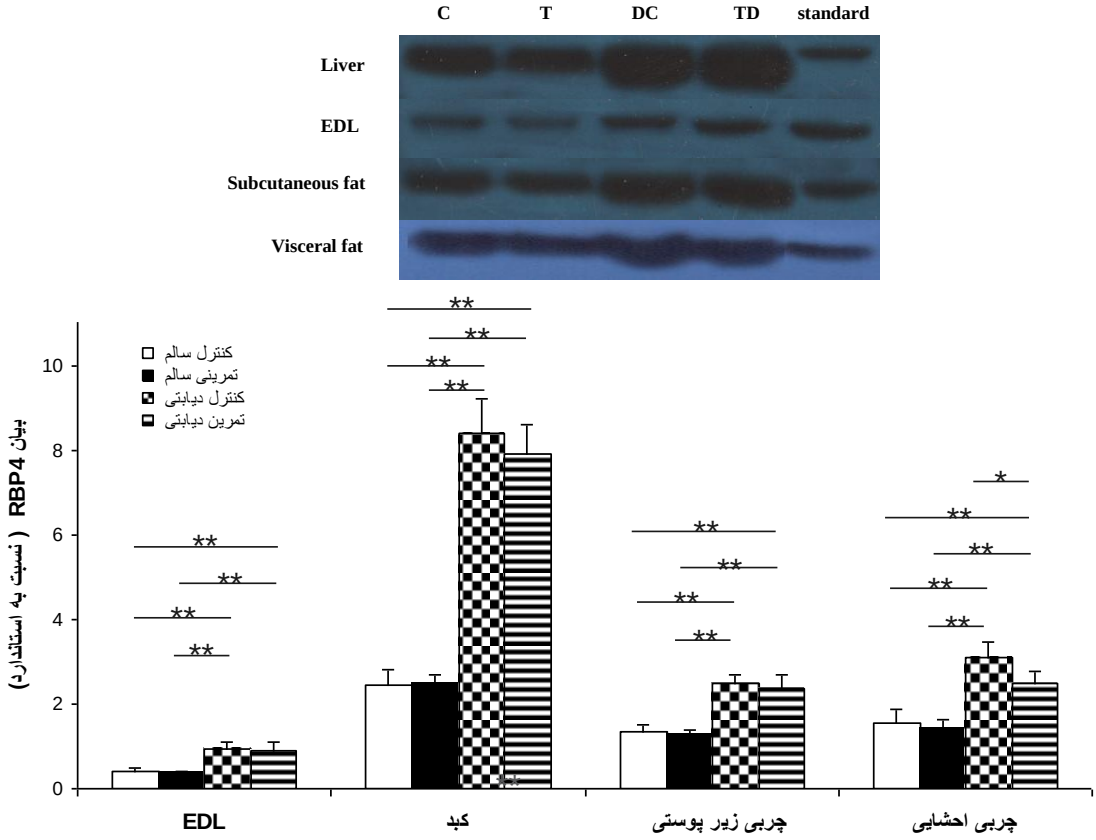
کنترل سالم (۷ = n)، دیابتی (۹ = n)، تمرین دیابتی (۹ = n)، تمرین سالم (۸ = n)

*اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵، ** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱

شکل ۲- تغییرات RBP4 سرم در گروه‌های تحقیق

تاثیر دیابت و تمرین بر بیان بافتی RBP4

بعد از ۷ هفته القاء دیابت نوع دو مقدار RBP4 کبد (۳/۵۷ برابر، P <۰/۰۱)، چربی احشایی (۲/۰۲ برابر، P <۰/۰۱) و چربی زیرپوستی (۱/۸٤ برابر، P <۰/۰۱) و EDL (۲/۲۹ برابر، P <۰/۰۱) درگروه DC به طور معنی‌دار بالاتر از گروه C بود. هم چنین در انتهای تحقیق سطوح RBP4 سرم در گروه DC (۲/۹ برابر، P <۰/۰۱) و در گروه TD (۱/۸٤ برابر، P <۰/۰۱) نسبت به گروه C افزایش داشت. بیشترین میزان بیان RBP4 در کبد و کمترین مقدار آن در عضله EDL یافت شد. بیان RBP4 درعضله نعلی قابل اندازه‌گیری نبود (شکل ۳). بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی بیان RBP4 کبد (۰/۹۰ برابر)، چربی احشایی (۲/۰۲ برابر)، چربی زیرپوستی (۰/۹٤ برابر) و EDL (۰/۸۹ برابر) درگروه TD نسبت به گروه DC. بود. تنها کاهش در بیان RBP4 چربی احشایی بین این دو گروه معنی‌دار بود (P <۰/۰۵). هم چنین در انتهای تحقیق بیان RBP4 کبد (۰/۹۳ برابر)، چربی زیرپوستی (۰/۹۲ برابر) و EDL (۰/۸۸ برابر) درگروه T نسبت به گروه C پایین‌تر بود، جایی‌که هیچ‌کدام از اختلافات مشاهده شده معنی‌دار نبودند (شکل ۳).



کنترل سالم (n = ٦)، دیابتی (n = ٦)، تمرین دیابتی (n = ٦)، تمرین سالم (n = ٦)

*اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵، ** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱

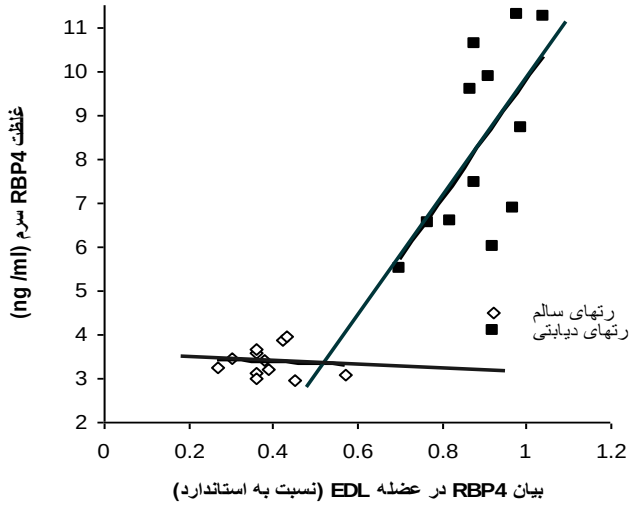
شکل ۳- تغییرات RBP4 در کبد، EDL، چربی زیر پوستی و احشایی

برای تعیین یک یا چند متغیر که بتواند تغییرات غلظت RBP4 سرم را بعد از القاء دیابت توضیح دهد، در تحقیق حاضر بیان RBP4 در EDL، کبد، چربی زیر پوستی و چرب احشایی با روش آماری رگرسیون تشخیصی پیشرونده قدم به قدم تجزیه و تحلیل شدند. نتایج تحلیل حاکی از وجود یک مدل پیش‌بینی کننده نسبتاً قوی بر اساس بیان RBP4 در چربی احشایی و کبد بود (جدول ٤، r^2 =۰/٦۹ ، P <۰/۰۰۵). همچنین بیان RBP4 در عضله EDL همبستگی معناداری با غلظت RBP4 سرم داشت (r =۰/٦۱، p <۰/۰۵) اما در مدل پیش‌بینی رگرسیون وارد نشد (شکل ٤) .

جدول ۴- مدل رگرسیون پیش بین جهت تعیین شاخص‌های موثر در تعیین غلظت RBP4 سرم: بیان RBP4 در کبد و چربی احشایی، (متغیر مستقل)RBP4 سرم (متغیر وابسته)

متغییر وابسته	مرحله ورود	متغیر پیش بین	R^2	P value
غلظت RBP4 سرم	۱	بیان RBP4 چربی احشایی	۰/٤۹	۰/۰۱
	۲	بیان RBP4 کبد	۰/٦۹	۰/۰۰۵

روش آماری مورد استفاده آنالیز رگرسیون تشخیصی قدم به قدم، تعداد نمونه (n = ٢٤)



رت‌های دیابتی (n = ۱۲)، رت‌های سالم (n = ۱۲)

شکل ۴- ارتباط بین بیان RBP4 در عضله EDL و سطوح سرمی آن

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر با ایجاد شرایط دیابت نوع دو در رت‌های آزمایشگاهی شروع و با پیاده کردن یک دوره تمرین استقامتی به منظور تعیین تغییرات در بیان RBP4 در عضلات اسکلتی، کبد، چربی زیر پوستی و احشایی و همچنین غلظت سرمی این آدیپو کین به پایان رسید. مهم‌ترین یافته این تحقیق این بود که دیابت نوع دو به طورقابل توجهی بیان RBP4 را در عضله اسکلتی به روش وابسته به تار افزایش می‌دهد. این افزایش در بافت‌های کبد، چربی احشایی، زیر پوستی و در سطح سرم نیز دیده

می‌شود. ضمن اینکه تمرینات استقامتی بیان RBP4 چربی احشایی و سرم را کاهش می‌دهد.

نکته منحصر به فرد تحقیق حاضر این بود که این اولین مطالعه‌ای است که تاثیربلند مدت القای دیابت نوع دو و تمرین استقامتی بر بیان RBP4 را در شرایط دیابت نوع دو مورد بررسی قرار داده است. مطالعه تغییرات RBP4 در شرایط دیابت نوع دو بیشتر در سطح سرم و به تعداد بسیار معدود در سطح mRNA بررسی شده است[۱۸-۱۵، ۱] و تاکنون مطالعه‌ای تاثیر دیابت و تمرین بر بیان این آدیپوکین در عضله اسکلتی را مورد بررسی قرار نداده است. مشخصه‌های مربوط به رت‌های تحقیق حاضر به گونه‌ای است که با شرایط دیابت نوع دو هم خوانی دارد. اختلاف معنی‌دار فاکتور وزن گروه کنترل دیابتی با سایر گروه‌ها، افزایش سطوح کلسترول و TG خون (داده‌ها ارائه نشده اند)، وقوع هایپرگلیسمیا و از همه مهم‌تر افزایش سطوح انسولین همگی دلالت بر این دارد که در تحقیق حاضر مدل دیابت نوع دو به درستی اعمال گردیده است. وجود انسولین در خون نشان از تخریب ناکامل پانکرانس را دارد که امکان توسعه مقاومت انسولین را مهیا می‌سازد. ضمن اینکه داده‌های مربوط به HOMA-IR index نیز توسعه مقاومت انسولین در گروه‌های دیابتی را تبیین می‌کند.

از طرف دیگر، ۷ هفته تمرین استقامتی غلظت گلوکز ناشتای پلاسما را در حیوانات TD نسبت به گروه DC کاهش داد. تمرین استقامتی می‌تواند از طریق افزایش حساسیت انسولین [۱۹]، افزایش بیان GLUT4 در غشای سارکولمای عضله اسکلتی[۲۰] و افزایش انتقال آن به غشای پلاسمایی [۲۱] غلظت گلوکز پلاسما را در شرایط دیابت نوع دو کاهش دهد. همچنین در پایان تحقیق غلظت انسولین پلاسما در گروه TD نسبت به گروه DC کاهش معنی دار داشت. این کاهش ناشی از تمرین می‌تواند از طریق افزایش در بیان IRS-2، افزایش فعالیت مسیر PI3P و MAPK [۲۲] رخ دهد.

القاء دیابت به طور قابل توجهی غلظت RBP4 سرم را افزایش داد همان طور که قبلاً در تحقیقات دیگر ذکر شده است [۲۳، ۵، ۳]. در این تحقیق نشان داده شد که سطح RBP4 سرم در حیوانات دیابتی نسبت به غیر یابتی بالاتر بود. افزایش غلظت RBP4 سرم با ایجاد اختلال در فعالیت PI-3-kinase[1] و IRS-1[2] که دو جزء مهم در مسیر سیگنالینگ انسولین هستند، برداشت وابسته به انسولین گلوکز در بافت عضلانی را کاهش می‌دهد که یکی از دلایل افزایش سطوح گلوکز خون در رت‌های دیابتی تحقیق حاضر می باشد [۵، ۲٤]. در مقابل در کبد،RBP4 بر PI-3-kinase تأثیر ندارد، اما با افزایش بیان آنزیم PEPCK در این بافت نهایتاً باعث افزایش فعالیت میسر گلوکونئوژنز گردیده و با تشدید گلوکز خروجی کبد به افزایش گلوکز خون منجر می شود [۵]. وقوع این دو عامل می‌تواند عمل انسولین در برداشت گلوکز را مختل و مقادیر HOMA-IR بالایی را که در گروه‌های دیابتی تحقیق مشاهده کردید، را توجیه نماید. به منظور تعیین اینکه آیا بیان RBP4 در بافت‌های مترشحه کننده آن می‌تواند تغییرات سطوح RBP4 سرم را توجیه نماید یا نه، بیان RBP4 در این بافت‌ها جهت پیش‌بینی وارد رگرسیون تشخیصی شدند. چنانکه نتایج نشان داد، تغییرات در غلظت RBP4 سرم به طور نسبتاً قوی با استفاده از مدل رگرسیونی قابل تفسیر بود و بیان RBP4 در کبد و چربی احشایی توانست ٦٩ درصد از تغیراتRBP4 سرم را تفسیر نماید. این نتیجه نشان می‌دهد که بالا رفتن RBP4 سرم در حیوانات دیابتی تحقیق ممکن است نتیجه افزایش بیان آنها در این بافت‌ها باشد. هم چنین بیان RBP4 در عضله EDL هم با سطوح سرمی آن رابطه معنی‌دار داشت لیکن در مدل پیش بین رگرسیونی وارد نشد. این امر می‌تواند به بیان نسبی کمتر RBP4 در این بافت نسبت به کبد و بافت چربی احشایی باشد.

تمرینات استقامتی غلظت RBP4 سرم را در حیوانات TD کاهش داد، همان‌طور که که در تحقیقات دیگر گزارش شده است [۱۸، ۱۷]. این امر با کاهش بیان RBP4 در چربی احشایی و عضله اسکلتی همراه بود بدون اینکه تمرین بر بیان RBP4 در کبد اثری گذاشته باشد. از طرف دیگر، تمرین غلظت RBP4 سرم را در گروه T تغییر نداد. این یافته‌ها نشان داد که تأثیر تمرین بر غلظت RBP4 سرم

1 phosphoinositide-3-kinase
2 insulin receptor substrate-1

به سطح اولیه آن‌ها بستگی دارد. این امکان وجود دارد که به دلیل بالاتر بودن سطح پایه RBP4 در گروه TC نسبت به گروه T تمرین استقامتی تاثیر بیشتری بر RBP4 سرم در این گروه داشته است، این موضوع در تحقیقات دیگر نیز حمایت می‌شود [۳].

در مطالعه حاضر بیان RBP4 و پاسخ آن به تمرین بین چربی احشایی و زیر پوستی متفاوت بود جایی‌که بیان RBP4 در بافت چربی احشایی بیشتر بود. این نتیجه با یافته‌های تحقیقات دیگر که بیان بیشتر RBP4 در چربی احشایی را نشان داده‌اند [۲٦، ۲۵] هم‌خوانی دارد. تفاوت در بیان ژن RBP4 بین دو ذخایر چربی می‌تواند با تصفیه ماکروفاژی بیشتر در چربی احشایی در مقایسه با چربی زیرپوستی تفسیر شود [۲۷]. نشان داده شده است که بعضی از عوامل سیگنالی مشتق شده از عمل ماکروفاژها نظیر TNF-α می‌تواند منجر به بیان متفاوت و بیشتر RBP4 در بافت چربی احشایی شود [۲۸]. عامل احتمالی دیگر تنظیم منفی GLUT4 در شرایط دیابت نوع دو است که بین بافت‌های چربی احشایی و زیر پوستی متفاوت است. نشان داده شده است که بین بیان GLUT4 در بافت چربی احشایی و بیان RBP4 رابطه معکوس وجود دارد [۲٦]. از آنجایی که تنظیم منفی GLUT4 در بافت چربی احشایی نسبت به چربی زیر پوستی بیشتر اتفاق می‌افتد، این عامل می‌تواند افزایش بیشتر RBP4 در این بافت را تفسیر نماید. بیان RBP4 در چربی زیرپوستی و احشایی تحت تاثیر تمرین استقامتی کاهش معنی‌دار از خود نشان داد. اندازه سلول‌های چربی در مطالعات پیشین به‌عنوان یک مارکر مستقل برای مقاومت انسولین توصیف شده است [۲۹] و نشان داده شده است که انجام تمرین استقامتی می‌تواند توده و سایز سلول‌های چربی را در رت‌هایی که رژیم غذایی پُر چرب مصرف می‌کردند را در حد نرمال نگه دارد [۳۰]. با وجود اینکه در تحقیق حاضر اندازه‌گیری مستقیم از توده چربی گروه‌های دیابتی به عمل نیامد، لیکن با توجه به کاهش معنی‌دار وزن در گروه TD نسبت به CD در انتهای مطالعه می‌توان این امر را محتمل دانست که کاهش بیان RBP4 چربی بعد از ۷ هفته تمرین استقامتی ممکن است با حفظ سایز سلول چربی توضیح داده شود.

در مطالعه حاضر mRNA RBP4 در هر دو عضله کند و تند انقباض نعلی و EDL قابل اندازه‌گیری بود. عضله اسکلتی یک اندام است که مانند غده درون‌ریز عمل می‌کند که میوکین‌ها از جمله RBP4 و IL6 را در پاسخ به انقباض تولید و آزاد می‌کند که می‌تواند بر متابولیسم دیگر بافت‌ها و اعضاء تأثیر گذارد. گزارش شده است که تمرین استقامتی حاد می‌تواند غلظت RBP4 سرم و بیان آن در عضله دوقلو را بـدون تغییر در بـیان RBP4 کبـدی و بافت‌های چربی، افزایش دهد [۱۲]. با توجه به نتایج تحقیقات گذشته [۱۲] و اینکه در این تحقیق بیان RBP4 در عضله EDL قابل اندازه‌گیری بود و همچنین به‌دلیل اینکه بیان RBP4 در عضله EDL تحت تاثیر تمرین استقامتی کاهش یافت، می‌توان این فرضیه را توسعه داد که عضله اسکلتی می‌تواند RBP4 را تحت شرایط هایپوگلیسیمای عضلانی– که در دیابت نوع دو و تمرین استقامتی دیده می‌شود– تولید و به درون جریان خون آزاد کند. همچنین کاهش در سطوح گلیکوژن عضلانی در حین تمرین استقامتی نیز می‌تواند دیگر عامل کاندید باشد چرا که در تحقیقات پیشین کاهش در سطوح گلیکوژن عضلانی به‌عنوان یک سیگنال در تولید میوکین‌ها گزارش شده است (۱۱). با این وجود اظهار نظر قطعی در این باره نیازمند مطالعه اثر مستقیم سطوح گلیکوژن عضلانی بر بیان RBP4 در عضله اسکلتی **دارد**. در مطالعه حاضر به دنبال القای دیابت بیان RBP4 در عضله EDL در گروه DC نسبت به C افزایش داشت. با توجه به اینکه نشان داده شده است که افزایش سطوح تری گلیسیرید درون عضلانی (IMTG) در شرایط چاقی و دیابت نوع دو با مقاومت انسولین در ارتباط است [۳۱] و اینکه افزایش سطوح چربی درون کبدی می‌تواند باعث افزایش بیان RBP4 در این بافت شود [۳۲]. این احتمال وجود دارد که افزایش سطوح IMTG عضلانی نیز همین نقش را در مورد افزایش بیان RBP4 عضلات اسکلتی در تحقیق حاضر ایفا نماید. به‌دلیل این که در این تحقیق سطوح IMTG اندازه‌گیری نشد، اظهار نظر قطعی در این مورد امکان پذیر نیست. به علاوه تغییرات بیان RBP4 در عضلات اسکلتی وابسته به تار بود به این معنی که میزان تغییرات در تارهای کند و تند انقباض نعلی

و EDL متفاوت و در عضله EDL بیشتر بود. هر دو عضله EDL و نعلی در حین دویدن بر روی تردمیل درگیر می‌شوند. تاثیر پذیری این دو عضله از تمرین اعمال شده با افزایش سطوح سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی در این دو عضله اثبات می‌شود که در تحقیقی دیگر با هدفی مجزا اندازه‌گیری شده است [۳۳]. نشان داده شده است که تارهای کند انقباض نسبت به تارهای کند تند انقباض حساسیت بیشتری به انسولین دارند و دارای ظرفیت اکسید اتیو بالاتری نیز می‌باشند. به‌دلیل داشتن این ویژگی‌ها، این فیبرها اتکای کمتری به متابولیسم گلوکز دارند و تغییرات میوکین‌هایی از قبیل RBP4 – که با هموستاز گلوکز سر و کار دارند – در پاسخ به اختلالات متابولیسم گلوکز در این فیبرها کمتر است. تحقیقات بیشتری لازم است که نقش عضلات اسکلتی در بیان RBP4 و نقش‌هایی که این عامل می‌تواند تحت شرایط هایپوگلیسیمیا در عضله اسکلتی بازی کنند را تعیین نماید.

به‌طور خلاصه، نتایج نشان داد که دیابت نوع دو بیان RBP4 را به روش وابسته به تار در عضلات اسلکتی رت، کبد، چربی زیرپوستی واحشایی افزایش می‌دهد. افزایش در سطوح RBP4 سرم در شرایط دیابت اعمال شده در تحقیق حاضر با بیان این آدیپوکین در کبد و بافت چربی احشایی قابل تفسیر است و انجام تمرینات استقامتی روشی مناسب در تعدیل افزایش RBP4 در بافت‌های مترشحه آن است.

سپاسگزاری

نویسندگان بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران به جهت حمایت مالی از تحقیق حاضر، شرکت دام و طیور کانی دام و موسسه واکسن‌سازی و سرم‌سازی رازی کرج به جهت همکاری در تهیه غذای پُرچرب ابراز می‌دارند.

مأخذ

1- Abel ED, Peronie O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hardo E, et al. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature* 2001; 409: 672– 673.
2- Anita O, Anna D, Martin L, Eriksson U, Fredrik HN, Peter S. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin-induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes. *FASEB J* 2007; 21, 3696 –704.
3- Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med* 2006; 354:2552–2563.
4- Takebayashi K, Suetsugu M, Wakabayashi S. Retinol binding protein-4 levels and clinical features of type 2 diabetes patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(7):2712-9.
5- Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Natur* 2005; 436:356– 362.
6- Ohlson LO, Larsson B, Svardsudd K, Welin L, Eriksson H, Wilhelmsen L, et al. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus: 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes* 2010; 34:1055–1058.
7- Haffner SM, Stern MP, Mitchell BD, Hazuda HP, Patterson JK. Incidence of type II diabetes in Mexican Americans predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity, and body-fat distribution. *Diabetes* 1990; 39:283–288.
8- Kissebah AH, Peiris AN, Evans DJ. Mechanisms associating body fat distribution to glucose intolerance and diabetes mellitus: window with a view. *Acta Med Scand Suppl* 1988; 723:79–89.
9- Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes* 2007; 56: 1010–1013.
10- Weiping J, Haiya W, Yuqian B, Chen W, Junxi L, Jiehua Z, et al. Association of Serum Retinol-Binding Protein 4 and Visceral Adiposity in Chinese Subjects with and without Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92(8): 3224–3229.
11- Bente KP, Mark AF. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev* 2008; 88: 1379–1406.
12- Josef B, Timothy EG, Katja SC, Christopher W, Laurie JG, Barbara B. Acute exercise increases serum retinol binding protein 4 concentrations. *The FASEB Journal* 2007; 21:764-6.
13- Viswanad KB, Lydia A, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2

diabetes and pharmacological screening Srinivasan. *Pharmacological Research* 2005; 52 313–320.

14- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Tumer RC, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28, 412–419.

15- Weiping J, Haiya W, Yuqian B, Chen W, Junxi L, Jiehua Z, et al. Association of Serum Retinol-Binding Protein 4 and Visceral Adiposity in Chinese Subjects with and without Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92(8):3224–3229.

16- Bajzova M, Kovacikova M, Vítkova M, Klimcakova E, Polak J, Kovacova Z, et al. retinol-Binding Protein 4 Expression in Visceral and Subcutaneous Fat in Human. Obesity.*Physiol Res* 2008; 57: 927-934.

17- Choi KM, Kim TN, Yoo HJ, Lee KW, Cho GJ, Hwang TG, et al. Effect of exercise training on A-FABP, lipocalin-2, and RBP4 levels in obese women. *Clin Endocrinol* 2009; 70(4):569-74.

18- Lim S, Choi SH, Jeong K, Kim JH, Moon MK, Park KS, et al. Insulin-sensitizing Effects of Exercise on Adiponectin and Retinol Binding Protein-4 Concentrations in Young and Middle-aged Women. *J Clin Endocrin Metab* 2008; 2021-2028

19- Becker ZK. Berger M, Berchtold P, Gries FA, Herberg L, Schewenen M. Treadmill training improves intravenous glucose tolerance and insulin sensitivity in fatty Zucker rats. *Diabetologia* 1982; 22:468–474.

20- Kraniou GN, Smith D, Hargreaves M. Acute exercise and GLUT4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity. *J Appl Physiol* 2006; 101, 934–937.

21- Furtado ML, Poon V, Klip A. GLUT4 activation: thoughts on possible mechanisms. *Acta Physiol Scand* 2003; 178:287–296.

22- Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. Effects of endurance exercise training on insulin 122chleiche in human skeletal muscle:interactions at the level of PI3-K, Akt and AS160. *Diabetes* 2007; 56, 2093–2102.

23- Zhang F, Ye C, Li G, Ding W, Zhou W, Zhu H, et al. the rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycommetabolism character. *Exp Anim* 2003; 52(5):401-7.

24- Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. Effects of endurance exercise training on insulin 122chleiche in human skeletal muscle: interactions at the level of PI3-K, Akt and AS160. Diabetes 2007; 56, 2093–2102.

25- Klotig N, Graham TE, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Wason C, et al. Serum retinol-binding protein is more highly expressed in visceral than in subcutaneous adipose tissue and is a marker of intra-abdominal fat mass. *Cell Metab* 2007; 6: 79-87.

26- Bajzova M, Kovacikova M, Vitkova, Klimcakova E, Polak J, Kovacova Z, et al. retinol-Binding Protein 4 Expression in Visceral and Subcutaneous Fat in Human Obesity. *Physiol. Res* 2008; 57: 927-934.

27- Cancello R, Tordjman J, Pitou C, Guilhem G, Bouilloty J, Hugol D,et al. Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity. *Diabetes* 2006; 55: 1554-1561.

28- Sell H, Eckel J. Regulation of retinol binding protein 4 production in primary human adipocyt guilhem g, bouilloty jl, hugol d,es by adiponectin, troglitazone and TNF-α. *Diabetologia* 2007; 10: 2221-2223.

29- Lundgren M, Svensson M, Lindmark S, Renstrom F, Ruge T, Eriksson JW. Fat cell enlargement is an independent marker of insulin resistance and "hyperleptinaemia." *Diabetologia* 2007; 50: 625–633.

30- Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297: E495–E504.

31- Samuel VT, Liu ZX, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 2004; 279:32345–3253.

32- Moro C, Bajpeyi S, Smith SR. Determinants of intramyocellular triglyceride turnover: implications for insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 294: E203–E213.

33- Nikooie, R, Rajabi H, Gharakhanlu R, Atabi, F, Omidfar, K, Aveseh, M, and Larijani, B. Exercise-induced changes of MCT1 in cardiac and skeletal muscles of diabetic rats induced by high-fat diet and STZ. J Physiol Biochem DOI 10.1007/s13105-013-0263-6, 2013.

EFFECTS OF DIABETES INDUCTION AND ENDURANCE TRAINING ON RBP4 EXPRESSION OF SOLEUS AND EDL MUSCLES IN MALE WISTAR RATS

Rohollah Nikooie [1], Malihe Aveseh [1], Kobra Omidfar[*,2]

1. *Shahid Bahonar University of kerman, Faculty of physical education and sport science, Kerman, Iran*
2. *Biosensor Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular -Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

ABSTRACT

Background: the aim of the present study was to investigate the effects of diabetes and seven weeks of endurance training on RBP4 expression in Soleus, extensor digiturom longuse (EDL), liver, visceral and subcutaneous fat in type 2 diabetic rats.
Methods: Fifty male wistar rats (93.7 ± 8.9 g) were randomly divided into four groups including: control (C) [n=10], trained (T) [n=10], diabetic control (DC) [n=15] and diabetic trained (TD) [n=15]. The combination of Intraperitoneally injection of streptozotocin (STZ) and high fat diet feeding were used for diabetes induction. After seven weeks of endurance training, serum RBP4 and its expression in above tissues were measured by ELISA and western blotting techniques, respectively.
Results: diabetes induction increased the RBP4 expression of the liver (3.57-fold, $p < 0.01$), visceral fat (2.02-fold, $p < 0.01$), and subcutaneous fat (1.84-fold, $p < 0.01$) and EDL (2.29-fold, $p < 0.01$) in DC in comparison to C group. Serum RBP4 concentration was significantly higher in DC (2.9-fold, $p < 0.01$) and TD (1.84-fold, $p < 0.01$) in comparison to C group. Endurance training significantly decreased serum RBP4 ($p < 0.01$) and its expression in visceral fat ($p < 0.01$) in DT in comparison to DC.
Conclusion: type 2 diabetes extensively decreases the skeletal muscle RBP4 expression in isoform – specific manner, liver, subcutaneous and visceral fat. In addition, endurance training decreases serum RBP4 concentration and its expression in visceral fat.

Keywords: type 2 diabetes, endurance training. RBP4

* Floor 5th , Shariati Hospital, North Karegar St., Tehran, Iran, Post code:1411413137, Tel: +98(21)88220037, Fax: +98(21)88220052, Email: omidfar@tums.ac.ir