[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

Effect of endurance training intensity (low, moderate and high) on the expression of skeletal muscle ATGL protein and serum levels of insulin and glucose in male diabetic rats

Dashti khavidaki M.H., PhD Candidate[1], Faramarzi M., PhD[2], Azamian Jazi A., PhD[3], Banitalebi E., PhD[4]

1. PhD student in Exercise Physiology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2. Associate Professor in exercise physiology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran (Corresponding Author),Tel:+98-38-32324401, md.faramarzi@gmail.com
3. Associate Professor in exercise physiology, Shahrekord University,Shahrekord, Iran.
4. Assistant professor in exercise physiology, Shahrekord University, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: The purpose of this study was to investigate the effect of endurance training intensity (low, moderate and high) on the expression of skeletal muscle ATGL protein and serum levels of insulin and glucose in male diabetic rats.

Material and Method: 40 streptozotocin induced diabetic male Wistar rats were randomly assigned to five groups of eight, including low (DL , moderate (DM) and high intensity (DH) endurance training diabetic groups, diabetic control group (D), and healthy control group (Con). Three sessions of endurance training with low intensity (DL) equivalent to 5-8 m / min, moderate intensity (DM) equivalent to 17-14 m / min and high intensity (DH) equivalent to 25-22 m / min were performed every week for eight weeks. The relative expression of ATGL protein was measured with western blot technique. Serum insulin and glucose levels were measured by ELISA method. To determine the difference between the groups we used one way ANOVA test.

Result: The results showed a significant difference in the expression of ATGL between the control and training groups (with low, moderate and high intensity) (p=0.0002). This difference was significant between DH and D (p=0.0049), DH and DL (p = 0.0053) and also between DH and DM (P = 0.0136) groups. Serum glucose levels were also significantly different between the DH group with the groups D (p = 0.002) and DL (p = 0.039), also, the DM group with groups D (p = 0.0018) and DL (p = 0.0165). There was a significant difference in the amount of insulin in the DH group compared to the groups DL (p = 0.011), D (p = 0.0002), and the DM group with D (p = 0.014).

Conclusion: Moderate and high intensity endurance training can to some extent compensate for diabetes-induced reduction in the expression of ATGL protein and cause reduction of serum insulin and glucose levels in diabetic rats. It seems higher intensity of endurance training can lead to greater increase in expression of ATGL in diabetic rats.

Keywords: Diabetes, ATGL, Endurance training intensity, Insulin, Glucose.

Received: Oct 17, 2017 **Accepted:** Jan 29, 2018

Archive of SID

www.SID.ir

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و سوم / خرداد و تیر ۱۳۹۷/ ۱۰۲-۹۲

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

تأثیر شدت تمرینات استقامتی (کم، متوسط و زیاد) بر بیان ATGL عضله اسکلتی، سطوح گلوکز و انسولین موش‌های صحرایی دیابتی

محمدحسن دشتی خویدکی[۱]، محمد فرامرزی[۲]، اکبر اعظمیان جزئ[۳]، ابراهیم بنی طالبی[۴]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد ایران،

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، (نویسنده مسئول)،تلفن ثابت: ۰۳۸-۳۲۳۲۴۴۰۱ md.faramarzi@gmail.com

۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده:

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی تأثیر شدت های مختلف تمرینات استقامتی (کم، متوسط و زیاد) بر بیان پروتئینی ATGL عضله اسکلتی، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی: ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار دیابتی شده با استرپتوزوسین به صورت تصادفی ساده به پنج گروه هشت تایی شامل; گروه دیابتی همراه با تمرین استقامتی کم شدت (DL)، تمرین استقامتی با شدت متوسط (DM) ، تمرین استقامتی با شدت زیاد (DH)، گروه کنترل دیابتی (D) و گروه کنترل (Con) سالم تقسیم شدند. تمرین استقامتی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته با شدت کم (DL) معادل سرعت ۸-۵ متر بر دقیقه، با شدت متوسط(DM) معادل سرعت ۱۷-۱۴ متر بر دقیقه و با شدت بالا (DH)معادل سرعت ۲۵-۲۲ متر بر دقیقه انجام شد. بیان نسبی ATGL با تکنیک وسترن‌بلات و گلوکز و انسولین سرم با کیت تخصصی اندازه‌گیری شد. از آزمون آماری ANOVA جهت تعیین تفاوت بین گروه‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان ATGL بین گروه‌های کنترل و گروه‌های تمرین (با شدت کم، متوسط و زیاد) تفاوت معناداری داشت (p=۰/۰۰۰۲). این تفاوت بین گروه‌های تمرین با DH با گروه D (P=۰/۰۰۴۹)، گروه‌های تمرین با DH و DL (P=۰/۰۰۵۳) وDH و DM (P=۰/۰۱۳۶) معنی دار بود. سطوح سرمی گلوکز نیز بین گروه DH با گروه‌های D (p=۰/۰۰۲) و DL (p=۰/۰۳۹) و همچنین ، گروه DMبا گروه D (p=۰/۰۰۱۸) و DM تفاوت معنی‌داری داشت. مقدار انسولین نیز در گروه DH در مقایسه با گروه‌های DL (p=۰/۰۱۱) و D (p=۰/۰۰۰۲) و نیز گروه DM با D (p=۰/۰۱۴) تفاوت معنی‌داری داشت.

نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی با شدت متوسط و زیاد می‌تواند تا حدودی کاهش ناشی از دیابت در بیان پروتئین ATGL را جبران و باعث کاهش سطح سرمی انسولین و گلوکز در موش‌های دیابتی شود. به نظر می‌رسد شدت بالاتر تمرین استقامتی، افزایش بیشتری در بیان ATGL در موش‌های دیابتی ایجاد کند.

واژگان کلیدی: دیابت،ATGL، شدت تمرین استقامتی، انسولین، گلوکز

وصول مقاله: ۹۶/۷/۲۵ اصلاحیه نهایی:۹۶/۱۱/۳ پذیرش:۹۶/۱۱/۹

Archive of SID

www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

مقدمه

در افراد چاق، کم‌تحرک و دیابتی، غلظت بالای تری‌گلیسرید درون عضلانی [1] (IMTG) با مقاومت به انسولین همراه است(۱). مقاومت به انسولین به عنوان یک عامل خطرزای مهم در بیماری دیابت نوع دو و بیماریهای قلبی عروقی شناخته شده است. بطور کلی، میزان پایین گردش IMTG به تنظیم منفی آبشار انسولین در بیماران دیابتی نوع ۲ منجر می‌شود(۲). از طرفی IMTG ها را به عنوان یک منبع مهم انرژی در فعالیت‌های ورزشی طولانی و شدید در نظر می‌گیرند. تمرینات ورزشی حساسیت به انسولین کل بدن و شرایط متابولیکی افراد چاق و دارای دیابت نوع دو را بهبود می‌دهند. یکی از این مکانیسم‌ها که به وسیله آن تمرینات ورزشی می‌توانند حساسیت به انسولین را بهبود دهد، افزایش بیان لیپازها و کاهش مقدار چربی عضله اسکلتی است(۳).

شواهد نشان می‌دهند تنظیم لیپولیز عضله اسکلتی با اثرات متقابل پروتئین‌های سطح قطره چربی تنظیم می‌شود. به طور ویژه، یکی از پروتین های قطره چربی که به عنوان عامل مداخله‌گر هیدرولیز IMTG در نظر گرفته شده است آدیپوز تری گلیسرید لیپاز (ATGL)[2] است(۵و۴). ATGL آنزیم محدود کننده سرعت هیدرولیز تری آسیل گلیسرول (TAG[3])(۶) و عامل اصلی لیپولیز هم در بافت‌های چربی(۹-۷) و هم در عضله‌های اسکلتی است(۱۰). در واقع، نشان داده شده است هم در انسان(۱۲و ۱۱) و هم در موش(۱۳) کمبود ATGL تجمع چشمگیری در IMTGs عضلات قلبی و اسکلتی را ایجاد می کند. از سوی دیگر، آلستد و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند پس از ۸ روز تمرینات استقامتی ،ATGL عضلات اسکلتی دو برابر شد(۱۴).

از طرفی، شدت و مدت تمرین بعنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل مؤثر در استفاده از چربی و کربوهیدرات هنگام تمرین هستند(۱۵). لذا هنگام شدت‌های تمرینی بالاتر از ۷۵ درصد VO_{2max}، عضله اسکلتی مجبور به استفاده از ذخایر چربی درون خود می شود که به عنوان یک منبع انرژی مهم هنگام فعالیت ورزشی معرفی شده اند(۱۶). هاشیموت و همکاران (۲۰۱۳) درتحقیقی در مورد تاثیر شش هفته تمرین هوازی با شدت متوسط بر روی موش‌های صحرایی چاق نر نشان دادند ATGL، لیپاز حساس به هورمون (HSL) [4] و ژن شناسایی تطبیقی- ۵۸ (CGI-58)[5] و پری‌لیپین [5] افزایش معنی‌داری داشت(۱۷) .

با توجه به اهمیت، یافتن مکانیسم‌های درون سلولی تسهیل کننده یا مهارکننده لیپولیز تری‌گلیسیریدهای دورن عضلانی در کاهش یا افزایش فرآینده‌های التهابی ناشی از دیابت یا سایر اختلالات متابولیکی، بررسی عوامل تنظیم کننده ذخیره و آزاد شدن IMTG از جمله فعالیت ورزشی بسیار اهمیت دارد. همچنین، درتحقیقات قبلی تا کنون تاثیر شدت‌های مختلف تمرین استقامتی بر تغییرات ATGL بررسی نشده است. بنابراین، هدف این تحقیق بررسی تأثیر شدت‌های مختلف تمرینات استقامتی بر بیان پروتئین ATGL عضله اسکلتی و سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش‌های صحرایی دیابتی بود.

روش بررسی

تحقیق از نوع تجربی و آزمودنی های پژوهش ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار بودند که به پنج گروه هشت تایی دیابت و تمرین استقامتی کم شدت(DL)، دیابت و تمرین شدت متوسط(DM)، دیابت و تمرین با شدت زیاد(DH)،گروه کنترل دیابتی(D) و کنترل سالم(CON) تقسیم شدند.

[1] Intramuscular Triglyceride
[2]- Adipose triglyceride lipase (ATGL)
[3]- Triacylglycerol (TAG)
[4]- Hormone-sensitive lipases(HSL)-
5- Comparative Gene Identification-58 (CGI-58)

Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

حیوانات: تعداد ۴۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن هشت هفتگی با محدوده وزنی ۱۸۰-۱۷۰ گرم از مرکز تحقیقات تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲: ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند(۲۱) . همچنین، کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس) بر اساس AAALAC[1] و تائید کمیته اخلاق شورای پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه رعایت گردید. برای دیابتی کردن هر موش صحرایی، استرپتوزوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه صفاقی تزریق شد(۱۸). 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 روز پس از تزریق استرپتوزوسین اندازه‌گیری شد و موش‌هایی که دارای قند خون ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر بودند به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند(۱۹). سطوح گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان، از طریق ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست روی ورید دم موش ها اندازه گیری شد.

پروتکل‌های تمرین استقامتی : 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 ۵-۳ متر بر دقیقه به مدت پانزده تا بیست دقیقه تمرین در نظر گرفته شد(۲۰). موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی در گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، گروه تمرین با شدت متوسط و گروه تمرین با شدت بالا تقسیم شدند. شدت تمرین در گروه تمرین استقامتی کم شدت معادل سرعت ۸-۵ متر بر دقیقه (معادل ۶۵-۵۵ درصد VO_{2max})، شدت تمرین در گروه تمرین استقامتی با شدت متوسط معادل سرعت ۱۶-۱۴ متر بر دقیقه (معادل ۶۵-۷۰ درصد VO_{2max}) و در گروه تمرین استقامتی با شدت بالا معادل سرعت ۲۵-۲۲ متر بر دقیقه (معادل ۸۰ درصد VO_{2max}) بود(۲۱).

روش اندازه‌گیری متغیرها: برای تهیه و تحلیل نمونه خونی، پس از ۸ هفته تمرین استقامتی، موش‌های تمامی گروه‌ها به مدت ۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی حیوان با ترکیبی از داروی کتامین (۷۵ میلی گرم/ کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم/ کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بی هوش و خون گیری مستقیماً از قلب موش به عمل آمد و خون سریعاً در لوله‌های حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید[2] (EDTA) ریخته شد و برای جداکردن سرم 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 سرمی گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان از طریق بریدن نوک دم و سطوح سرمی انسولین با کیت الایزا ویژه موش صحرایی (Insulin rat ELISA DEV8811) ساخت کمپانی Demeditec کشور آلمان با حساسیت ng/mL ۰/۱ اندازه‌گیری شد(۱۹).

استخراج بافت: پس از انجام پروتکل تمرینی، ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، بافت عضله نعلی تمام موش‌های صحرایی استخراج و در نیتروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شد. سپس با روش‌هموژنایزر در نیتروژن مایع پودر و به نسبت ۱ به ۵ در بافر RIPA لیز و به طور کامل هموژن و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به مدت پانزده دقیقه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد(۲۲). سوپرناتانت برداشته و غلظت پروتئینی محلول با روش براد فورد و با استفاده ازسرم آلبومین گاوی (BSA)[3] به‌عنوان استاندارد تعیین و در دمای ۸۰- درجه برای مراحل بعدی نگهداری شد. مقدار بافتی پروتئین ATGL طبق دستورالعمل روش وسترن‌بلات اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی مقادیر

1 Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International

2 Ethylenediaminetetraacetic acid

3- Bovin serum albumin

Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

مساوی از پروتئین به وسیله ژل پلی آکریل آمید -SDS PAGE، ۱۲ درصد جدا سازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ جهت پوشاندن جایگاه‌های اتصال غیر اختصاصی پروتئین قرار گرفت. سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی اولیه (rabbit polyclonal to ATGL antibody- ab99532) شرکت abcam 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 امریکا باند پروتئین‌ها مشخص شدند(۲۲).

روش آماری: پس از جمع‌آوری داده‌ها، ابتدا جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه به منظور بررسی تفاوت بین گروه‌ها (کنترل، تمرین هوازی با شدت کم ، متوسط و زیاد) استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار ازآزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و در سطح $\alpha \leq ۰/۰۵$ انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان دهنده تأثیر معنی‌دار تمرین بر شاخص‌های گلوکز (P=۰/۰۰۰۳)و انسولین (P=۰/۰۰۰۱) بود (جدول ۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد سطوح سرمی گلوکز بین گروه تمرین با شدت زیاد با گروه‌های کنترل دیابت (p=۰/۰۰۲) و تمرین با شدت کم (p=۰/۰۳۹) وگروه تمرین با شدت متوسط با گروه کنترل دیابت (p=۰/۰۰۱۸) و تمرین با شدت کم (p=۰/۰۱۶۵) تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین ، مقدار انسولین نیز در گروه تمرین با شدت زیاد در مقایسه با گروه‌های تمرین با شدت کم (p=۰/۰۱۱) و کنترل دیابت (p=۰/۰۰۰۲) و نیز گروه تمرین با شدت متوسط با کنترل دیابت (p=۰/۰۱۴) تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲).

مقایسه بیان پروتئین ATGL در گروه‌های دیابت و تمرین استقامتی با شدت بالا، کنترل دیابتی، تمرین استقامتی با شدت متوسط و تمرین استقامتی با شدت کم تفاوت معنی‌داری بین این گروه‌ها را نشان داد (P=۰/۰۰۰۲) (جدول ۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تفاوت بین گروه‌های تمرین با شدت زیاد با گروه کنترل دیابتی(P=۰/۰۰۴۹)، گروه‌های تمرین با شدت متوسط (P=۰/۰۱۳۶)و تمرین استقامتی با شدت کم (P=۰/۰۰۵۳) معنی دار بود (جدول ۳). نتایج نشان داد که بیان ATGL با افزایش شدت تمرین نسبت به گروه کنترل دیابتی، تمایل به افزایش داشت (نمودار ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

جدول ۱. میانگین، انحراف معیار و آزمون تحلیل واریانس یک طرفه

گروه / متغیر		کنترل سالم (Con)	کنترل دیابتی (D)	گروه تمرین با شدت کم (DL)	گروه تمرین با شدت متوسط (DM)	گروه تمرین با شدت زیاد (DH)
وزن پیش از مداخله (گرم)	میانگین	۲۲۹/۶۶± ۲۳/۰۹	۱۷۶/۵۰± ۱۸/۰۹	۱۸۳/۶۲± ۱۸/۴۲	۲۰۷/۱۲± ۱۹/۸۰	۱۹۹/۵۰۰± ۱۴/۷۸
وزن بعد از مداخله(گرم)	میانگین	۲۶۸/۸۳± ۲۷/۰۲	۱۸۳/۵۷±۳۴/۲۸	۱۸۶/۵۰±۴۲/۵۷	۱۷۷/۰±۲۲/۳۶	۲۲۸/۸۵±۴۶/۶۷
گلوکز (mg/ dl)	میانگین	۱۰۱/۳±۲۲/۹۵	۵۷۷/۸±۱۵۸/۳	۵۰۰/۴±۲۰/۹۱	۳۲۳/۱±۱۴۸/۶	۳۴۱/۵±۹۱/۹۱
	F				۸/۷۱	
	معناداری				۰/۰۰۰۳	
انسولین (ng / ml)	میانگین	۰/۴۹±۰/۰۳	۰/۱۹±۰/۰۳۶	۰/۱۷±۰/۰۳۱	۰/۱۴±۰/۰۳۰	۰/۱۲±۰/۰۰۹
	F				۹/۸۱	
	معناداری				/۰۰۰۱	
ATGL (چگالی نسبی باند)	میانگین	۴۷۰۱±۲۴۹۳	۳۸۵۵±۲۷۱۰	۳۸۹۵±۲۸۰۷	۴۴۸۹±۲۶۹۰	۹۶۵۱±۴۱۱۴
	F				۴/۶	
	معناداری				۰/۰۰۰۲	

Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا. مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار ارائه شده است. *معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)

جدول ۲: نتایج آزمون تعقیبی توکی سطوح سرمی انسولین و گلوکز

		انسولین		گلوکز	
گروه متغیر	گروه	تفاوت میانگین	سطح معنی داری	تفاوت میانگین	سطح معنی داری
D-H	D	-/۰۷۱۲۵	*۰/۰۰۰۲	-۲۳۶/۳	*۰/۰۰۲
	D-M	-۰/۰۲۱۲۵	۰/۶۰۵	۱۸/۳۷۵	۰/۹۹۷
	D-L	-۰/۰۵۱۲۵	*۰/۰۱۱	-۱۵۸/۹	*۰/۰۳۹
D-M	D	-۰/۰۵۰۰	*۰/۰۱۴	-۲۵۴/۶۲۵	*۰/۰۰۱۸
	D-H	۰/۰۲۱۲۵	۰/۶۰۵	-۱۸/۳۷۵	۰/۹۹۷
	D-L	-۰/۰۳۰۰	۰/۲۷۰	-۱۷۷/۳	*۰/۰۱۶۵

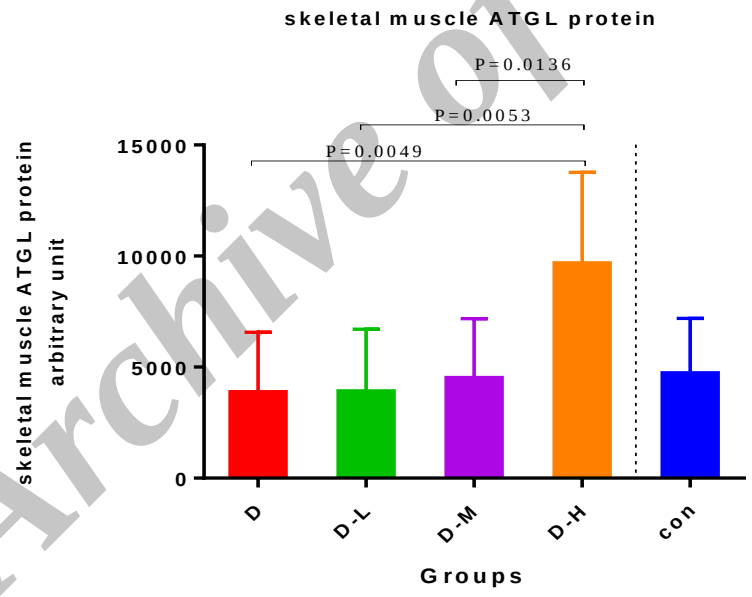
Archive of SID
www.SID.ir

Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. *معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)

جدول ۳ نتایج آزمون تعقیبی توکی بر میزان بیان ATGL

گروه متغیر	گروه	تفاوت میانگین	معنی داری
D-H	D	۵۷۹۶	۰/۰۰۴۹*
	D-M	۵۱۶۳	۰/۰۱۳۶*
	D-L	۵۷۵۷	۰/۰۰۵۳*

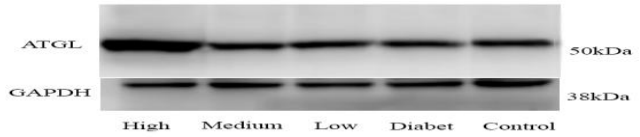
Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا. مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است. * معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵)



نمودار ۱ : مقایسه شدت تمرینات استقامتی بر بیان پروتئین ATGL در گروه‌های تمرینی.D: گروه کنترل دیابتی،DL: گروه دیابتی با تمرین استقامتی کم شدت، DM گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت متوسط، DH: گروه دیابتی با تمرین استقامتی با شدت بالا Con: گروه کنترل سالم

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018
Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018



شکل ۱: چگالی باند پروتئین ATGL در گروه‌ها

بحث

در مقاومت به انسولین، محتوی چربی عضله اسکلتی عامل قوی‌تری در مقایسه با اسیدهای چرب آزاد در افراد کم تحرک می‌باشد(۲۳). حفظ هموستاز مناسب IMTG از طریق تمرینات ورزشی جهت جلوگیری از پیدایش بیماری‌های متابولیکی از جمله مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو بسیار حیاتی است و بی نظمی در دینامیک قطرات چربی(LDs)[1] و یا بیان پروتئینی LD ها در حساسیت به انسولین و لیپوتاکسیتی اثر گذار می‌باشد(۲۴).

یافته‌ها نشان داد سطوح انسولین و گلوکز همراه با افزایش شدت تمرین استقامتی در موش‌های دیابتی کاهش یافت. کاهش سطوح سرمی انسولین و گلوکز در گروه‌های دیابت و تمرین با شدت زیاد و دیابت و تمرین با شدت متوسط در مقایسه با کنترل دیابتی و دیابت و تمرین با شدت پایین معنادار بود ($P\leq$۰/۰۵). عصارزاده و همکاران (۲۰۱۲) هم در مطالعات خود نشان دادند تمرینات ترکیبی در مردان غیرفعال موجب کاهش معنادار غلظت انسولین و شاخص مقاومت به انسولین شد(۲۵). سازوکارهای احتمالی کاهش انسولین و گلوکز سرمی در اثر تمرینات استقامتی می‌تواند شامل افزایش پروتئین‌های ناقل گلوکز (GLUT4)[2] ، 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. تمرین ورزشی با شدت بالا و مدت طولانی، احتمالاً از طریق افزایش انتقال گلوکز به عضله یا کاهش سنتز اسیدهای چرب ، باز جذب گلوکز به واسطه فعالیت عضلات اسکلتی را افزایش می‌دهد(۲۶). همچنین، علت دیگر کاهش انسولین، می‌تواند مربوط به کاهش تودهٔ چربی باشد(۲۷). اغلب مطالعاتی که کاهش این شاخص را به دنبال برنامه تمرینی گزارش کرده‌اند، از شدت نسبتاً بالای تمرین برخوردار بوده‌اند (۳۱-۲۸).

در افراد سالم، عضلات مسئول جذب بیش از ۸۰ درصد گلوکز بعد از وعده غذایی با تحریک انسولین هستند(۳۲) و در تمرین استقامتی ، تحریک جذب گلوکز مستقل از انسولین بوده و به جای آن از طریق مسیرهای ناشی از انقباض فعال می‌شوند. روشن است که هدف از جذب گلوکز بدون حضور انسولین هنگام تمرین می‌تواند برای افرادی که در برابر انسولین مقاوم‌اند یا دچار کمبود انسولین هستند ، فواید بالینی سریعی داشته باشد(۳۳). با توجه به این موارد، کاهش سطوح انسولین و گلوکز در پژوهش حاضر منطقی به نظر می‌رسد.

همچنین، بیان پروتئین ATGL در بین گروه‌های دیابت و تمرین با شدت زیاد در مقایسه با دیابت و تمرین با شدت پایین و کنترل دیابتی معنادار بود. بین گروه دیابت و تمرین با شدت زیاد در مقایسه با دیابت و تمرین با شدت متوسط هم معنادار بود ($P<$۰/۰۵). به نظر می‌رسد افزایش معنی دار ATGL در موش‌های تمرین کرده دیابتی باعث می‌شود بسیج و مصرف IMTGs از طریق متابولیت های درون

[1] Lipid Droplets
[2]- Glucose transporter 4 (GLUT-4)

Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

سلولی و هورمونی تنظیم گردد. سجادیان و همکاران (۱۳۹۳) نیز نشان دادند در پاسخ به تمرین تناوبی با شدت بالا سطوح آنزیم ATGL افزایش می‌یابد(۳۴). برخلاف لیپولیز بافت چربی که به مرور زمان بر اثر تخلیه انرژی بدن تحریک می‌شود، به نظر می‌رسد لیپولیز در عضلات اسکلتی به شکل ویژه‌ای به نیاز موضعی عضله پاسخ می‌دهد. همچنین، هنگام تمرین تنظیم آن افزایش و در حالت مقاومت به انسولینی ناشی از رژیم غذایی پر چرب کاهش می‌یابد(۳۷-۳۵). نتایج تحقیقی ترنبال و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد ۸ هفته تمرین استقامتی در عضلات اسکلتی موش صحرایی باعث افزایش پروتئین ATGL در تمام عضلات تمرینی شد(۳۸). این افزایش بیان ATGL احتمالاً باعث حفظ غلظت کم متابولیت های اسید چرب عضلانی و در نهایت به بهبود حساسیت به انسولین در تمرین‌های شدید منجر می‌گردد. با این حال، هنگام افزایش شدت تمرین ، استفاده از سطوح اسید چرب (FA)[1] پلاسمایی در همان حد باقی مانده، اما لیپولیز IMTG s در شدت‌های بالاتر افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد بیشترین تأثیر گذاری بر آنها در این دامنه باشد(۳۷). در همین راستا شفرد و همکاران با مقایسه دو شیوه تمرین استقامتی و تمرین تناوبی شدید نشان دادند تمرین های تناوبی شدید به تجمع بیشتر و تجزیه بیشتر IMTG نسبت به تمرینهای استقامتی منجر می‌گردد . هنگام تمرین تناوبی با شدت بالا منابع مورد استفاده برای اکسیداسیون چربی از اسیدهای چرب پلاسما بیشتر به سمت IMTG سوق داده می‌شود(۳۸). آنها دریافتند افزایش میزان تجزیۀ IMTG با افزایش حساسیت به انسولین متعاقب تمرین ورزشی ارتباط دارد. در واقع، افزایش میزان بیان و یا فعالیت آنزیم‌های لیپولیتیک (ATGL و HSL) توسط تمرینات استقامتی، تجزیه چربی‌های IMTG را تسهیل و سوبسترای کافی برای عضله‌ها را فراهم می نماید(۳۹). با توجه به شدت و مدت تمرین و میزان دسترسی به سوبسترا، میزان استفاده از FA برای متابولیسم اکسیداسیون در زمان تمرینات استقامتی متوسط به بالاترین حد می‌رسد(۴۰).

عضلات اسکلتی هنگام استراحت و فعالیت ورزشی به مقدار زیادی به اکسیداسیون چربی متکی هستند(۴۱). با این وجود در شدت‌های بالاتر، علیرغم افزایش لیپولیز بافت چربی، سطوح اسیدچرب آزاد پلاسما تغییر نمی‌کند و در نهایت افزایش بیان ATGL در موش های دیابتی، باعث افزایش لیپولیز و در نتیجه رهایش اسیدهای چرب بیشتر می‌شود و در غیاب گلوکز انرژی مورد نیاز سلولها را فراهم می‌کند. هر چند عوامل ثابت شده دیگری مانند کاهش انسولین و مسیرهای آلفا آدرنرژیک نیز برای افزایش لیپولیز در افراد دیابتی ذکر شده است(۴۲). نتایج مطالعات موروویل و همکاران (۲۰۱۷) هم نشان داد تکرار تمرین طولانی مدت اکسیداسیون چربی در مردان مسن را کاهش و باعث افزایش قابل توجهی در بیان پروتئین HKII، GLUT4 و ATGL شد که نشان دهنده افزایش ظرفیت انتقال گلوکز و افزایش ظرفیت لیپولیز عضله و در نهایت کمک به افزایش سهم گلوکز خارجی و چربی درون سلولی هنگام تمرین است(۴۳).

از طرفی دیگر بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، لوچ و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند لیپازهای عضله اسکلتی نقش مهمی در اختلالات متابولیک مرتبط با چاقی بازی می‌کنند در حالی که تمرین استقامتی بر بیان ATGL، پری‌لیپین ۳، پری‌لیپین ۵، هیچ تغییری ایجاد نکرد(۴۴). بوسما و همکاران (۲۰۱۴) هم، در تحقیقات خود پیشنهاد کردند مطالعات بیشتری برای تعیین میزان شدت فعالیت ورزشی برمتابولیسم قطرات چربی نیاز است(۴۰) و یا اینکه این تفاوت‌ها ممکن است مربوط به نوع تمرین (تمرین حاد، مزمن)، پروتکل تمرینی (مدت و شدت تمرین) و روش اندازه گیری ATGL باشد.

[1]- fatty acid(FA)

Archive of SID
www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

نتیجه‌گیری

تمرین استقامتی با شدت کم، متوسط و زیاد می تواند تا حدودی باعث افزایش بیان پروتئین ATGL و کاهش سطح سرمی انسولین و گلوکز در موش‌های دیابتی می‌شود. با این حال ، به نظر می‌رسد با افزایش شدت تمرین استقامتی، افزایش بیشتری در بیان ATGL در موش‌های دیابتی ایجاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تقدیر و تشکر می‌نمایم. این مقاله برگرفته از رساله دکتری تخصصی بیوشیمی و متابولیسم ورزشی دانشگاه شهرکرد می‌باشد، که در تاریخ ۹۵/۰۹/۲۷ تصویب شده است.

Reference

1. Schenk S, Horowitz JF. Acute exercise increases triglyceride synthesis in skeletal muscle and prevents fatty acid–induced insulin resistance. J Clin Invest 2007;117:1690.
2. 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. J Physiol 2013; 591: 657-75.
3. Fröberg SO, Mossfeldt F. Effect of prolonged strenuous exercise on the concentration of triglycerides, phospholipids and glycogen in muscle of man. Acta Physiologica 1971;82:167-71.
4. MacPherson RE, Ramos SV, Vandenboom R, Roy BD, Peters SJ. Skeletal muscle PLIN proteins, ATGL and CGI-58, interactions at rest and following stimulated contraction. Am J Physiol Regul Integr Comp 2013;304: R644-R50.
5. Prats C, Donsmark M, Qvortrup K, Londos C, Sztalryd C, Holm C, et al. Decrease in intramuscular lipid droplets and translocation of HSL in response to muscle contraction and epinephrine. J Lipid Res 2006; 47: 2392-9.
6. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. Science 2004; 306: 1383-6.
7. Fanelli C, Calderone S, Epifano L, De Vincenzo A, Modarelli F, Pampanelli S, et al. Demonstration of a critical role for free fatty acids in mediating counterregulatory stimulation of gluconeogenesis and suppression of glucose utilization in humans. J Clin Invest 1993; 92: 1617.
8. Villena JA, Roy S, Sarkadi-Nagy E, Kim K-H, Sul HS. Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. J Biol Chem 2004; 279: 47066-75.
9. Wei Wu J, Wang SP, Casavant S, Moreau A, Yang GS, Mitchell GA. Fasting energy homeostasis in mice with adipose deficiency of desnutrin/adipose triglyceride lipase. Endocrinology 2012; 153: 2198-207.
10. Sitnick MT, Basantani MK, Cai L, Schoiswohl G, Yazbeck CF, Distefano G, et al. Skeletal muscle triacylglycerol hydrolysis does not influence metabolic complications of obesity. Diabetes 2013; 62: 3350-61.
11. Fischer J, Lefèvre C, Morava E, Mussini J-M, Laforêt P, Negre-Salvayre A, et al. The gene encoding adipose triglyceride lipase (PNPLA2) is mutated in neutral lipid storage disease with myopathy. Nat Genet 2007; 39: 28-30.

www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

12. Schweiger M, Lass A, Zimmermann R, Eichmann TO, Zechner R. Neutral lipid storage disease: genetic disorders caused by mutations in adipose triglyceride lipase/PNPLA2 or CGI-58/ABHD5. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 297: E289-E96.
13. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, Gorkiewicz G, Meyer C, Rozman J, et al. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. Science 2006; 312: 734-7.
14. Alsted TJ, Nybo L, Schweiger M, Fledelius C, Jacobsen P, Zimmermann R, et al. Adipose triglyceride lipase in human skeletal muscle is upregulated by exercise training. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 296: E445-E53.
15. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. Med Sci Sports Exerc 2002; 34: 92-7.
16. Valizadeh A, Khosravi A, Azmoon H. Fat oxidation rate during and after three exercise intensities in non-athlete young men. WASJ 2011; 15: 1260-6. [In Persian]
17. Hashimoto T, Sato K, Iemitsu M. Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes. J Appl Physiol 2013; 115: 260-7.
18. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol Res 2001; 50: 537-46.
19. Pushparaj P, Low H, Manikandan J, Tan B, Tan C. Anti-diabetic effects of Cichorium intybus in streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 2007; 111: 430-4.
20. Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Intensity-controlled treadmill running in rats: V̇ o 2 max and cardiac hypertrophy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001; 280: H1301-H10.
21. 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. J Exerc Nutrition Biochem 2013; 17: 199–207.
22. 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: 282-94. [In Persian]
23. Laurens C, Moro C. Intramyocellular fat storage in metabolic diseases. HMBCI 2016; 26: 43-52.
24. Badin P-M, Langin D, Moro C. Dynamics of skeletal muscle lipid pools. Trends Endocrinol Metab 2013; 24: 607-15.
25. Assarzade Noushabadi Mohsen, Abedi B. The combined effects of exercise on insulin resistance and some inflammatory markers in men inactive. Horizon Med Sci 2012; 18: 96-101. [In Persian]
26. 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: 3023-30.
27. Pasman W, Westerterp-Plantenga M, Saris W. The effect of exercise training on leptin levels in obese males. Am J Physiol Endocrinol Metab 1998; 274: E280-E6.
28. Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of physical activity on insulin action and glucose tolerance in obesity. Med Sci Sports Exerc 1999; 31: S619-23.
29. Ivy JL. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Sports Med 1997; 24: 321-36.

Archive of SID

www.SID.ir

[DOI: 10.29252/sjku.23.2.92]
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 10:53 +0430 on Sunday July 8th 2018

30. 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. J Appl Physiol 1983; 55: 1660-4.
31. 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: 179-84.
32. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes Care 2009; 32: S157-S63.
33. Stephenson EJ1, Smiles W, Hawley JA.The relationship between exercise, nutrition and type 2 diabetes. Med Sport Sci 2014; 60: 1-10.
34. Sajadian S, Nikooie R. TGF-β1 protein expression in the skeletal muscle following high interval training and its relationship with intramuscular triglycerides oxidation. Journal of Sport in Biomotor Sciences 2015; 6: 45-54. [In Persian]
35. Holloszy JO, Coyle EF. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. Eur J Appl Physiol 1984; 56: 831-8.
36. Kim C-H, Kim M-S, Youn J-Y, Park H-S, Song H-S, Song KH, et al. Lipolysis in skeletal muscle is decreased in high-fat-fed rats. Metabolism 2003; 52: 1586-92.
37. Romijn J, Coyle E, Sidossis L, Gastaldelli A, Horowitz J, Endert E, et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. Am J Physiol Endocrinol Metab 1993; 265: E380-E91.
38. Turnbull PC, Longo AB, Ramos SV, Roy BD, Ward WE, Peters SJ. Increases in skeletal muscle ATGL and its inhibitor G0S2 following 8 weeks of endurance training in metabolically different rat skeletal muscles. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2016; 31: R125-R33.
39. Yao-Borengasser A, Varma V, Coker RH, Ranganathan G, Phanavanh B, Rasouli N, et al. Adipose triglyceride lipase expression in human adipose tissue and muscle. Role in insulin resistance and response to training and pioglitazone. Metabolism 2011; 60: 1012-20.
40. Bosma M. Lipid homeostasis in exercise. Drug discov Today 2014;19:1019-23.
41. Holloway GP, Bezaire V, Heigenhauser GJ, Tandon NN, Glatz JF, Luiken JJ, et al. Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyltransferase I activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. J Physiol 2006; 571: 201-10.
42. Howe HR, Heidal K, Choi MD, Kraus RM, Boyle K, Hickner RC. Increased adipose tissue lipolysis after a 2-week high-fat diet in sedentary overweight/obese men. Metabolism 2011; 60: 976-81.
43. Morville T, Rosenkilde M, Munch-Andersen T, Andersen PR, Kjær GK, Helbo S, et al. Repeated prolonged exercise decreases maximal fat oxidation in older men. Med Sci Sports Exerc 2017; 49: 308-16.
44. 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. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98: 4863-71.

Archive of SID

www.SID.ir