

تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط بر پری‌لیپین ۳ بافت چربی احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع دو

رویا بشارتی^۱، رامین شعبانی^۲، شهرام غلامرضایی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: واکنش پروتئین‌های قطره‌ی چربی به تمرین تناوبی، ممکن است منجر به ایجاد شرایطی شود که تشخیص مکانیسم زیربنایی تمرین ورزشی و دیابت نوع دو را فراهم نماید. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر دو شدت متفاوت تمرین تناوبی بر پری‌لیپین ۳ (PLIN3 یا Perilipin-3) بافت چرب احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر بود.

روش‌ها: ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در دو گروه سالم و مبتلا به دیابت به دیابت قرار گرفتند. سپس موش‌های مبتلا به دیابت به سه زیرگروه (شاهد مبتلا به دیابت، تمرین تناوبی با شدت بالا و شدت متوسط) و یک گروه شاهد سالم تقسیم شدند تا مطالعه بر روی چهار گروه (هر گروه ۸ سر) انجام شود. تمرین در گروه متوسط با ۶۵-۷۰ درصد و در گروه شدت بالا با ۸۵-۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی در طول هشت هفته انجام شد. ۴۸ ساعت پس از آخرین نوبت تمرین، موش‌ها با تزریق درون صفاقی (Intraperitoneal یا IP) ترکیبی از کتامین و زایلازین بیهوش شدند و بافت چرب دور روده‌ی آن‌ها برداشته شد. بیان پروتئین PLIN3 با استفاده از تکنیک Western blot و مقاومت به انسولین نیز به روش Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance (HOMA-IR) صورت گرفت. در نهایت، داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: نتایج آزمون تعقیبی بیانگر کاهش معنی‌دار PLIN3 و مقاومت به انسولین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا ($P = 0/001$) و متوسط ($P = 0/001$) نسبت به گروه شاهد مبتلا به دیابت بود؛ در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تمرینی با شدت بالا و متوسط وجود نداشت ($P = 0/328$).

نتیجه‌گیری: تمرینات تناوبی با شدت بالا و متوسط، می‌تواند منجر به بهبود متابولیسم گلوکز و همچنین، تغییرات چشم‌گیر در مقادیر بافتی PLIN3 رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو شود.

واژگان کلیدی: دیابت؛ پری‌لیپین ۳؛ تمرین تناوبی با شدت بالا؛ مقاومت به انسولین

ارجاع: صمدی مهنوش، سلیمانی داود، مرادی محمد، کمری نگین، رضایی منصور، حضوری محمد. تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط بر پری‌لیپین ۳ بافت چربی احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع دو. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۴۰): ۶۶۵-۶۷۲.

(۱-۳). Layne و همکاران در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که ارتباط معنی‌داری بین هیپرانسولینمی و بیماری عروق کرونری وجود دارد (۳). افزایش درازمدت (مزمن) گلوکز در بیماری دیابت، علت اصلی اختلالات ثانویه میکروآنژیوپاتی (Secondary disorders of microangiopathy) و ماکروآنژیوپاتی (Macroangiopathy)، ضعف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، ایجاد فشار اسمزی (Osmotic pressure) و همچنین، اختلال متابولیسم و

مقدمه

سبک زندگی کم‌تحرک، موجب بروز بیماری‌هایی از جمله پرفشاری خون، چاقی و دیابت نوع دو می‌شود (۱). برای حفظ سطح گلوکز در بیماران مبتلا به مقاومت به انسولین، سطح انسولین در گردش افزایش می‌یابد (۲). بر اساس مطالعات صورت گرفته، بین مقاومت به انسولین در کبد با شاخص‌های خطر بیماری‌های قلبی-عروقی ارتباط نزدیکی وجود دارد

- ۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
 - ۲- استاد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
 - ۳- استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
- نویسنده‌ی مسؤؤل: رامین شعبانی؛ استاد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

Email: dr.ramin.shabani@gmail.com

نتایج به دست آمده از تعداد محدودی از مطالعات نشان می‌دهد که PLIN3 در تنظیم میزان سوخت و ساز و IMTG و دیابت و مقاومت به انسولین نقش مهمی دارد (۱۴، ۸-۷). در عضله اسکلتی موش صحرایی در پاسخ به محرک لیپولیز (انقباضات الکتریکی و انقباض ناشی از آدرنالین)، افزایش لیپاز حساس به هورمون (Hormone-sensitive lipase) یا HSL همراه با افزایش PLIN3 و افزایش HSL متصل به قطره‌ی چربی مشاهده شده است (۱۵). با این حال، عملکرد بیولوژیکی این پروتئین احتمالاً از آنچه پیش‌تر تصور می‌شد، پیچیده‌تر است (۱۶). تحقیقات در موش‌های صحرایی نشان داده است که سطوح بالای PLIN3 با اختلال عملکرد سلول‌های بدن همراه می‌باشد. در پژوهش‌های اخیر، شدت فعالیت بدنی شاخص مهمی تلقی شده و تأثیرگذاری آن بر بیماران مبتلا به دیابت مورد توجه قرار گرفته است (۱۷). فعالیت بدنی متغیرترین بخش از مصرف انرژی را در انسان شامل می‌شود و نشان داده است که میزان انرژی دریافتی بیان ژنی عوامل مؤثر بر متابولیسم انرژی را به طور مثبت یا منفی تنظیم می‌کند. بنابراین، ممکن است تغییر در مصرف انرژی از طریق تمرین یا هر عامل دیگری بر این عوامل تأثیر بگذارد (۱۲). همچنین، نتایج مطالعات پیشین نشان داده است که PLIN2 و PLIN5 به ترتیب در تمرینات شدید و متوسط مورد استفاده قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد بررسی واکنش پروتئین‌های قطره‌ی چربی به تمرین تناوبی شدید، منجر به ایجاد شرایطی شود که تشخیص مکانیسم زیربنایی بافت چرب، تمرین ورزشی و دیابت نوع دو را فراهم نماید (۸).

نتایج برخی تحقیقات نشان داده است که در تمرینات تناوبی با شدت بالا، میزان IMTG بیشتری مصرف و پس از ورزش میزان بیشتری IMTG ذخیره می‌گردد (۱۸). پژوهش‌های جداگانه‌ای اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان PLIN در افراد سالم را مورد بررسی قرار داده‌اند و افزایش در محتوای این پروتئین را گزارش کرده‌اند (۱۹). علاوه بر این، تمرینات تناوبی به طور بالقوه می‌تواند رسیدن به سلامتی را در یک مدت زمانی مؤثر و کارآمد میسر کند. مطالعات زیادی بر روی افراد سالم نشان می‌دهد که تمرینات تناوبی، منجر به طیف وسیعی از مزایای قلبی-عروقی و متابولیکی می‌شود که از نظر مقدار، مشابه یا برابر با افرادی است که با ورزش منظم و مداوم هوازی، این مزایا را به دست آورده‌اند که از آن جمله می‌توان به افزایش در بیورژنر میتوکندری عضلانی و سطوح Glucose transporter type-4 (GLUT4) و توسعه و بهبود حساسیت به انسولین اشاره کرد (۱۳). تمرینات تناوبی با شدت بالا، بازسازی فیزیولوژیکی قابل مقایسه با تمرین تداومی با شدت متوسط در بزرگسالان سالم، با وجود الزام زمان کمتر قابل ملاحظه و کاهش حجم کل ورزش را نشان می‌دهد (۱۴). تحقیقات جداگانه‌ای اثر تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان PLIN در افراد سالم را مورد بررسی قرار

پروفایل لیپیدها می‌باشد (۴). عوارض دیررس دیابت شایع‌ترین از جمله نفروپاتی (Nephropathy)، رتینوپاتی (Retinopathy)، عوارض قلبی-عروقی، زخم پوستی، پرفشاری خون و افزایش وزن شایع‌تر می‌باشد و پژوهش‌های بیشتری در مورد آن‌ها صورت گرفته است (۵). به نظر می‌رسد تنظیم تعادل بین انرژی دریافتی و انرژی مصرفی، باعث ورود به مسیرهای بیورژنر قطرات چربی (Fat droplets) و تجمع بافت چربی از یک طرف و شکسته شدن قطرات چربی از طرف دیگر می‌شود. مهم‌ترین خانواده‌ی مشخص شده از پروتئین‌های قطره‌ی چربی، پری‌لیپین‌ها (Perilipins یا PLINs) از جمله PLIN1 تا PLIN5 هستند. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که محتوای PLINs در تارهای کاند انقباض، بیشتر از تارهای تند انقباض است (۶).

ارزیابی پروتئین‌های PLIN در شرایط ورزش در افراد مبتلا به دیابت نشان می‌دهد، هنگامی که محتویات تری‌گلیسرید درون عضلات پروتئین‌های PLIN یا (IMTG یا Intramuscular triglyceride) مستقل از تغییرات سطوح پروتئین‌های PLIN است، تغییر می‌کند (۷). نتایج تحقیقات Shaw و همکاران (۷) و Brasaemle (۸) نشان داد که PLIN3 در تمرین شدید و متوسط مورد استفاده قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد واکنش پروتئین‌های قطره‌ی چربی عضله‌ی اسکلتی به تمرین تناوبی شدید، منجر به ایجاد شرایطی شود که تشخیص مکانیسم زیربنایی IMTG تمرین ورزشی و دیابت نوع دو را فراهم نماید (۸). بر اساس نتایج پژوهش‌های اخیر، PLIN3 در بافت عضله‌ی اسکلتی و در کشت‌های اولیه‌ی عضله‌ی اسکلتی انسان، با افزایش اکسیداسیون چربی به دنبال فعالیت و تحریک لیپولیتیکی، همراه است (۹). با این حال، نقش احتمالی PLIN3 و تنظیم لیپولیز بافت چربی در بیشتر قسمت‌ها نادیده گرفته شده است. نتایج مطالعات نشان داده‌اند که PLIN3 در سلول‌های چربی بسیار بیان شده و پوشاندن قطرات چربی کوچک‌تر، یک اولویت برای PLIN3 توصیف شده است (۱۰). علاوه بر این، یافته‌های تعداد اندکی از تحقیقات در بررسی نقش PLIN3 در لیپولیز عضله‌ی اسکلتی نشان می‌دهد که PLIN3 در موش‌ها، در طی تحریک اپی‌نفرین و انقباض عضله، روی قطرات چربی جایگزین می‌شود (۱۱). Shepherd و همکاران دریافتند که هشت هفته تمرین تناوبی شدید، منجر به افزایش بیان PLIN3 می‌شود (۱۲). با این که سازگاری‌های متابولیکی با تمرینات تداومی اثبات شده است، اما امروزه به تمرینات تناوبی با شدت بالا برای توسعه‌ی سلامتی، بهبود آمادگی جسمانی و همچنین کاهش وزن توجه زیادی شده است. تمرینات تناوبی با شدت بالا، سازگاری‌های مشابه یا حتی بیشتر از تمرینات تداومی با شدت متوسط دارد (۱۳). نتایج پژوهشی نشان داد که PLIN3 در بیشتر اندام‌های بدن انسان بیان می‌شود، اما نقش دقیق آن به طور کامل در عضله‌ی اسکلتی شناخته شده نیست (۱۲).

متوسط و گروه شاهد مبتلا به دیابت تقسیم شدند. گروه‌های تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تناوبی با شدت متوسط به مدت ۸ هفته به فعالیت ورزشی پرداختند. در طی ۸ هفته، رت‌های گروه شاهد هیچ نوع فعالیتی در قفس‌های خود نداشتند. پس از پایان هفته‌ی هشتم و ۴۸ ساعت پس از آخرین نوبت تمرین، موش‌ها با تزریق IP ترکیبی از کسامین (۵۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و بافت چرب دور روده‌ی آن‌ها برداشته شد و پس از نمونه‌گیری خون، با ایجاد برش در ناحیه‌ی جانبی شکم، بافت چربی از نواحی احشایی بدن استخراج و پس از پاکسازی از خون، به فالکون استریل شده‌ی حاوی سرم متقل و تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. در این روش، ابتدا پروتئین‌ها با الکتروفورز در ژل آکرلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (Sodium Dodecyl Sulfate یا SDS) تفکیک شدند و پس از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا ترانسفر گردید و سپس با روش کمی لومینسانس (Luminescence) و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته‌ی باندها در نرم‌افزار ImageJ (Version 4.0, NIH, Bethesda, MD) اندازه‌گیری گردید. حساسیت این روش در حد پیکوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. سطوح گلوکز به وسیله‌ی گلوکومتر از طریق بریدن نوک دم، سطوح پلاسمایی انسولین با استفاده از کیت ELISA Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و حساسیت کمتر از ۵ میکرویونیت بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۰/۳۶ درصد و مقاومت به انسولین نیز با استفاده از شاخص Homeostatic Model Assessment (HOMA) مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون One-way ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) تجزیه و تحلیل گردید. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

پروتکل تمرینات تناوبی با شدت بالا و شدت متوسط مورد استفاده، برنامه‌ی تمرینی تعدیل شده‌ی Hafstad و همکاران (۲۲) بود که به مدت ۸ هفته و ۵ جلسه در هفته بر روی نوار گردان (شیب صفر درجه) اجرا گردید. پروتکل تمرینات تناوبی با شدت بالا شامل اجرای ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۹۰-۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که به صورت پیش‌رونده سرعت نوار گردان از ۲۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول به ۳۱ متر بر دقیقه در هفته‌ی ششم رسید و دو هفته‌ی پایانی این سرعت حفظ گردید. دوره‌های استراحت فعال از سرعت ۱۱ متر بر دقیقه در هفته‌ی اول به سرعت ۱۶ متر بر دقیقه در هفته‌ی ششم رسید.

پروتکل تمرینات تناوبی با شدت متوسط نیز شامل اجرای ۱۳ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت ۶۵-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن

داده و افزایش در محتوای این پروتئین را گزارش کرده‌اند (۱۶). با توجه به مطالعات اندک در زمینه‌ی پروتئین‌های پوشش دهنده‌ی بافت چربی و اهمیت بافت چربی به عنوان یک بافت متابولیک در ایجاد مقاومت به انسولین و همچنین، از آن‌جا که PLIN3 از جمله پروتئین‌های مهم در ذخیره‌سازی و مصرف IMTG می‌باشد و عدم گردش، مصرف و ذخیره‌سازی IMTG با مقاومت به انسولین و توسعه‌ی دیابت ارتباط دارد و از طرف دیگر، تمرین استقامتی موجب بهینه‌سازی مصرف و ذخیره‌سازی IMTG می‌شود و شدت تمرین نیز نقش مهمی در این زمینه ایفا می‌کند (۲۰) که در پژوهش‌های گذشته در این مورد تناقض وجود داشته است (۲۰، ۱۱)، بر این اساس، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر ۸ هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط بر PLIN3 بافت چرب احشایی، سطوح سرمی گلوکز و مقاومت به انسولین رت‌های نر مبتلا به دیابت انجام شد.

روش‌ها

این تحقیق از نوع تجربی بود که پس از اخذ کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1400.008 و گواهی دوره‌ی آموزش اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی (با محوریت اخلاق)، بر روی ۳۲ سر رت نژاد ویستار با سن ۸ هفته و دامنه‌ی وزنی 42 ± 20.4 گرم اجرا گردید. برای سازگاری با محیط جدید، موش‌ها در محیطی با دمای 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی و در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. پس از دو هفته، رت‌ها به طور تصادفی در دو گروه شاهد سالم (۸ سر) و مبتلا به دیابت نوع دو (۲۴ سر) قرار گرفتند. سپس، گروه مبتلا به دیابت به مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب و گروه شاهد سالم غذای استاندارد را مصرف کردند. پس از اتمام ۱۰ هفته، قد، وزن و شاخص Lee برای هر دو گروه محاسبه و رت‌های چاق شده (بر اساس شاخص Lee) وارد پژوهش شدند (۶).

در انتهای هفته‌ی دوازدهم، ۸ سر رت گروه شاهد سالم پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه کشته شدند. در گروه مبتلا به دیابت، تک دز استرپتوزوتوسین (Streptozotocin یا STZ) حل شده در بافر سدیم سیترات با $pH = 4/5$ به مقدار ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش درون صفاقی (Intraperitoneal یا IP) تزریق شد (۲۱). برای تأیید دیابت، ۴۸ ساعت پس از تزریق، با ایجاد جراحی کوچک در دم حیوانات، یک قطره‌ی خون بر روی نوار گلوکومتر (مدل GL42، شرکت Beurer، آلمان) با دامنه‌ی سنجش ۷۰۰-۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و حساسیت ۱۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر قرار گرفت و توسط دستگاه گلوکومتر خوانده شد و سطوح گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابت در نظر گرفته شد (۲۱). در ادامه، موش‌های صحرایی دیابتی شده به طور تصادفی به سه گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین تناوبی با شدت

آزمون One-way ANOVA نشان دهنده تأثیر معنی‌دار دیابت بر شاخص‌های گلوکز و انسولین بود. این شاخص‌ها در گروه‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه سالم تغییر داشت. گروه‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه سالم، دارای گلوکز بالاتر و انسولین پایین‌تر بودند ($P = 0/001$) (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین داده‌های مربوط به متغیرهای پژوهش

گروه‌ها	PLIN3	گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	انسولین (میکرومول در لیتر)
تمرین تناوبی با شدت بالا	$0/80 \pm 0/05$	$263/26 \pm 5/71$	$5/63 \pm 1/18$
تمرین تناوبی با شدت متوسط	$0/70 \pm 0/06$	$251/21 \pm 6/18$	$5/45 \pm 1/01$
شاهد مبتلا به دیابت	$1/40 \pm 0/02$	$354/95 \pm 5/27$	$8/15 \pm 1/98$
شاهد سالم	$1/10 \pm 0/03$	$214/06 \pm 5/43$	$3/30 \pm 0/58$

داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

PLIN3: Perilipin-3

یافته‌های ما نشان داد که بین میانگین چهار گروه مورد بررسی در بیان پروتئین PLIN3 و مقاومت به انسولین تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱). نتایج آزمون تعقیبی Tukey بیانگر کاهش معنی‌دار PLIN3 و مقاومت به انسولین در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط نسبت به شاهد مبتلا به دیابت و شاهد سالم بود ($P = 0/001$). همچنین، بین گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و شدت متوسط اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما بین دو گروه شاهد مبتلا به دیابت و شاهد سالم تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P = 0/001$).

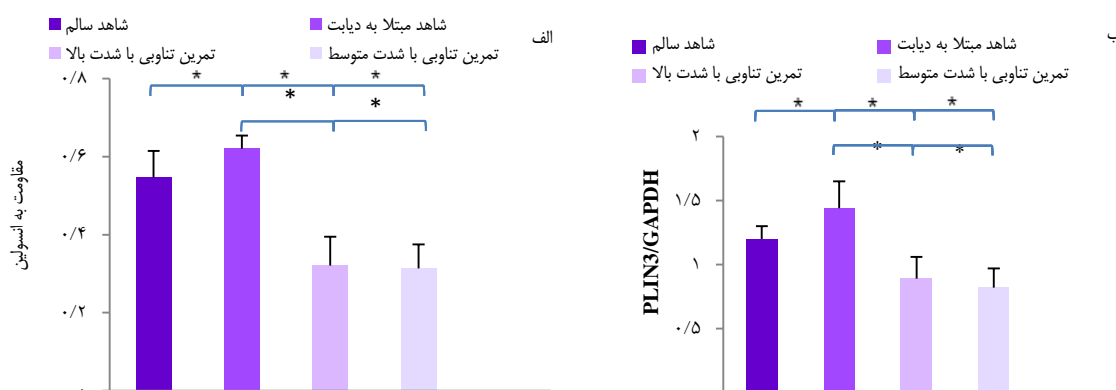
مصرفی و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای بود که مسافت طی شده با پروتکل تمرینات تناوبی با شدت بالا همسان شد و بر این اساس، سرعت نوار گردان در هفته‌ی اول از ۱۶ متر بر دقیقه به ۲۵ متر بر دقیقه در هفته‌ی ششم رسید و دو هفته‌ی پایانی سرعت نوار گردان حفظ شد. لازم به ذکر است که ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن در ابتدا و انتهای هر جلسه‌ی تمرینی اجرا گردید (۹).

به جهت اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون دوییدن رت‌ها شروع و سرعت نوار گردان هر ۲ دقیقه یک بار به میزان $0/03$ متر بر ثانیه ($1/8$ تا 2 متر در دقیقه) افزایش یافت تا حیوانات دیگر قادر به دوییدن نباشند. سرعتی که در آن حداکثر اکسیژن مصرفی به دست آمد، به عنوان سرعت بیشینه تعریف گردید (۱۰).

یافته‌ها

نتایج تحلیل داده‌ها نشان داد که وزن بدن رت‌ها به طور پیوسته در همه‌ی گروه‌ها افزایش یافت. با این حال، القای دیابت نوع دو، منجر به افزایش بیشتر وزن بدن نسبت به رژیم غذایی استاندارد شد ($P \leq 0/001$). مقادیر وزن بدن رت‌ها در گروه رژیم غذایی استاندارد از $11/48 \pm 166/20$ گرم به $10/08 \pm 277/00$ گرم و در گروه‌های مبتلا به دیابت نوع دو از $17/05 \pm 197/25$ گرم به $22/27 \pm 331/19$ گرم رسید. بر اساس نتایج آزمون ANOVA، تفاوت معنی‌داری بین وزن بدن گروه‌های تمرینی (شدت بالا و شدت متوسط) و گروه شاهد مبتلا به دیابت مشاهده نشد ($F = 2/57, P = 0/001$).

توزیع داده‌ها در همه‌ی متغیرها طبیعی بود. در مرحله‌ی پیش‌آزمون، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در هیچ یک از شاخص‌ها مشاهده نشد.



شکل ۱. تغییرات (الف) Perilipin-3 (PLIN3) و (ب) مقاومت به انسولین در گروه‌های مختلف

* وجود تفاوت معنی‌دار در سطح $P \leq 0/05$

PLIN3: Perilipin-3; GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

بحث

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط بر PLIN3 بافت چرب احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر مبتلا به دیابت بود. نتایج نشان داد که سطوح انسولین و گلوکز همراه با تمرین تناوبی در موش‌های مبتلا به دیابت کاهش یافت. سطوح سرمی انسولین و گلوکز در گروه تمرینات تناوبی با شدت بالا و شدت متوسط به ترتیب ۱۴ و ۱۷ درصد کاهش پیدا کرد. با توجه به این که چاقی مهم‌ترین عامل پیشرفت مقاومت به انسولین است، کاهش درصد چربی می‌تواند سبب بهبود در حساسیت انسولین شود که از اهداف آغازین فرایند درمان به شمار می‌رود (۲۰). از مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات تناوبی با شدت‌های بالا و متوسط، به کاهش مقاومت به انسولین در رت‌های مبتلا به دیابت می‌انجامد و با توجه به کاهش وزن در هر دو گروه تمرین تناوبی، مقاومت به انسولین کاهش یافت. از جمله مکانیسم‌هایی که می‌تواند باعث افزایش عمل انسولین بعد از تمرینات هوازی شود، می‌توان به افزایش پیام‌رسانی پس‌گیرنده‌ای انسولین، افزایش بیان GLUT4، افزایش فعالیت گلیکوژن سنتاز و هگزوکیناز، کاهش رهایی و افزایش پاک شدن اسیدهای چرب آزاد، افزایش رهایی گلوکز از خون به عضله به علت افزایش مویرگ‌های عضله و تغییر در ترکیب عضله به منظور افزایش برداشت گلوکز اشاره کرد (۲۱).

مقاومت به انسولین ممکن است به طور بالقوه با واسطه‌ی تغییر در عملکرد چندین واسطه‌ی پپتیدی ترشح شده از آدیپوسیت‌ها مانند عامل نکروز دهنده‌ی تومور آلفا (Tumor necrosis factor- α) یا TNF- α ، لپتین و آدیپونکتین میانجی‌گری شود. در شرایط غیر التهابی، TNF- α از بافت چربی مشتق می‌شود و مقادیر پلاسمايي آن با توده‌ی چربی بدن مرتبط است. TNF- α با پیام‌دهی توسط انسولین مخالفت می‌کند که این عمل را از طریق کاهش سیگنال‌دهی از طریق فسفریلاسیون سرین انجام می‌دهد (۲۳). برخی از ویژگی‌های ضد التهابی فعالیت ورزشی ممکن است با تعدیل سایتوکین‌های تولید شده از بافت چربی باشد. علاوه بر این، فعالیت ورزشی طولانی مدت، موجب کاهش تولید سایتوکین‌های آتروژنیک می‌شود؛ در حالی که تولید سایتوکین‌های آنتی‌آتروژنیک را افزایش می‌دهد (۱۳). همچنین، فسفریله شدن سریع سوبسترای گیرنده‌ی انسولین (Insulin receptor substrate یا IRS) از جمله ساز و کارهای اصلی بروز مقاومت به انسولین است (۲۰) و کاهش تولید انسولین، موجب بهبود حساسیت و کاهش مقاومت به انسولین می‌شود. از طرف دیگر، بسیاری از پژوهشگران بیان کرده‌اند که بهبود آمادگی جسمانی ناشی از اثرات فیزیولوژیک تمرین، عامل اساسی بهبود سطح آدیپوسایتوکین‌ها است (۱۹). علاوه بر این، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تکانه‌های مکرر در طول یک فعالیت ورزشی، موجب هماهنگی آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم IMTG در طول فعالیت بدنی می‌شود و

حساسیت به انسولین در افراد تمرین کرده، سبب مصرف بیشتر IMTG می‌گردد. مصرف بیشتر IMTG در طول فعالیت بدنی، از تجمع متابولیت‌های اسید چرب، استیل کوآی زنجیره بلند، سرامید و دی‌آسیل گلیسرول که با کاهش حساسیت انسولین در ارتباط هستند، جلوگیری می‌کند. با توجه به موارد مذکور، کاهش سطوح گلوکز و انسولین در تحقیق حاضر منطقی به نظر می‌رسد و با نتایج پژوهش‌های Peters و همکاران (۲۴) و Layne و همکاران (۳) همسو بود و احتمالاً تناقض در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از عوامل تغذیه‌ای، برنامه‌ی تمرینی، نوع آزمودنی و مدت و شدت فعالیت بدنی باشد.

تحقیق حاضر نشان داد که سطوح PLIN3 همراه با افزایش شدت تمرین تناوبی در موش‌های مبتلا به دیابت، کاهش یافت و کاهش سطوح سرمی PLIN3 در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و تمرین تناوبی با شدت متوسط معنی‌دار بود. پورتیمور و همکاران افزایش بیان PLIN3 به دنبال یک تمرین حاد (یک وهله‌ی تمرین) و تحریک لیپولیز و ارتباط با اکسیداسیون چربی را گزارش نمودند و دریافتند از کار انداختن یا فلج PLIN3 در میوتیوب‌های اولیه به شدت اکسیداسیون چربی را کاهش می‌دهد و در به حرکت درآوردن چربی برای لیپولیز و متابولیسم درگیر می‌باشد (۱۱). در پژوهش حاضر، سطوح PLIN3 پس از ۸ هفته تمرین تناوبی نسبت به رت‌های سالم و گروه مبتلا به دیابت کاهش معنی‌داری داشت. از آن‌جا که دیابت ناشی از STZ به دلیل افزایش سطوح گلوکز و کاهش سطوح انسولین، موجب آتروفی عضلانی می‌گردد، سطوح بیش از حد بالای گلوکز پلاسما نیز می‌تواند همراه با سطوح انسولین پایین، منجر به آتروفی عضلانی شود که با کاهش سنتز پروتئین و افزایش تجزیه‌ی آن در عضله‌ی اسکلتی ارتباط دارد.

برخی مطالعات نشان داده است که سطوح PLIN3 عضله‌ی نعلی موش‌های صحرایی به دنبال فعالیت بدنی با افزایش معنی‌داری همراه بود. Minnaard و همکاران افزایش PLIN3 را در موش‌های صحرایی (۲۵) و Peters و همکاران این افزایش را در عضله‌ی اسکلتی انسان (۲۴) گزارش نمودند. Kuramoto و همکاران بیان کردند که هشت هفته تمرین تناوبی، سبب افزایش معنی‌دار PLIN3 و هورمون لیپاز حساس به هورمون در بیماران مبتلا به دیابت می‌شود (۲۶). محققان به این نتیجه رسیدند که افزایش بیان PLIN3 در شرایط آزمایشگاهی، موجب افزایش ذخیره‌سازی تری‌اسیل گلیسرول (Triacylglycerol یا TAG) پس از ورزش می‌شود (۲۷). در پژوهش حاضر، سطوح PLIN3 پس از هشت هفته تمرین تناوبی شدید و متوسط با کاهش معنی‌داری همراه بود که با نتایج مطالعات مذکور (۲۴-۲۷) تناقض داشت و احتمالاً با مقادیر IMTG در ارتباط می‌باشد و در حالی است که پس از ۸ هفته انجام تمرینات تناوبی، وزن رت‌ها کاهش و مقادیر انسولین و گلوکز نیز با کاهش‌های معنی‌داری همراه بود. در طی تمرین تناوبی با شدت بالا،

فعال‌سازی فعالیت لیپازها می‌گردد. در مدل اخیر، زمانی که حیوانات در شرایط سیری قرار دارند، PLIN3 به طور حداقل فسفوریله شده وجود دارد و شکل‌گیری حفاظ‌های موجود در سطح قطرات چربی به صورتی است که باعث ایجاد محدودیت در دسترسی لیپازهای سیتوسولیک به TAG ذخیره شده می‌گردد. لیپولیز در یک سرعت بسیار پایین اتفاق می‌افتد و احتمالاً از طریق ATGL، لیپازی که با بیشترین ظرفیت خود متصل به قطرات چربی است، کاتالیز می‌شود. زمانی که کاتکولامین‌ها واکشن‌های آبشاری سیگنالینگ گیرنده‌ای بتا‌آدرنرژیک را فعال می‌کنند، لیپاز حساس به هورمون فسفوریله شده توسط PKA از سیتوپلاسم به سطوح قطرات چربی دسترسی پیدا می‌کند. این لیپاز قوی به سوبستراهای TAG و دی‌آسیل گلیسرول به منظور سرعت بخشیدن به لیپولیز با همکاری ATGL دسترسی پیدا می‌کند (۱۴).

نتیجه‌گیری

تمرینات تناوبی با شدت بالا، باعث افزایش حساسیت به انسولین و اکسیداسیون چربی می‌شود و با توجه به این که اکسیداسیون چربی در شدت‌های متوسط ورزش به اوج می‌رسد و مکانیسم‌های احتمالی از شدت پایین به متوسط تنظیم مثبت می‌شود و همچنین، با علم به این که کاهش pH به دنبال تمرین با شدت بالا به طور بالقوه لیپولیز را کاهش می‌دهد، فرض بر این است که تمرین تناوبی با شدت متوسط در مقایسه با تمرین تناوبی با شدت بالا، می‌تواند تأثیر بیشتری بر میزان متابولیسم گلوکز و لیپیدها داشته باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هر دو پروتکل تمرینات تناوبی با شدت بالا و متوسط، می‌تواند منجر به بهبود متابولیسم گلوکز و تغییرات چشم‌گیر در مقادیر بافتی PLIN3 رت‌های مبتلا به دیابت نوع دو شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از رساله‌ی دکتری تخصصی شماره‌ی ۱۶۲۳۶۱۱۳۰، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت می‌باشد. بدین وسیله از زحمات استادان و مدیران دانشگاه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده برای اکسیداسیون چربی از سمت اسیدهای چرب پلاسما بیشتر به سمت IMTG سوق داده می‌شود. تمرینات تناوبی با شدت بالا و شدت متوسط، با افزایش کاتکولامین‌ها و از طریق تحریک گیرنده‌های بتا‌آدرنرژیک و به دنبال آن، فعال شدن آدنوزین مونوفسفات حلقوی (Cyclic adenosine monophosphate یا cAMP) و فسفریلاسیون پری‌لیپین‌های سطح قطرات چربی که به نوبه‌ی خود فعالیت (ATGL) Adipose triglyceride lipase و HSL (آنزیم‌های تنظیم‌کننده در لیپولیز) را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۸). همچنین، شدت تمرین از اهمیت اولیه برای تنظیم اکسیداسیون چربی در افراد برخوردار است و می‌تواند نقش مؤثری در پاسخ پروتئین‌های پوشاننده‌ی قطرات چربی داشته باشد. در تحقیقات اخیر گزارش شده است که میزان لیپولیز در طی ورزش با شدت بالا، برابر با میزان آن در طی ورزش با شدت متوسط می‌باشد و تفاوتی در فعالیت ATGL در شدت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی مشاهده نشده است، بلکه این اختلاف مربوط به کاهش گردش خون در بافت چرب می‌باشد که قسمتی از اسید چرب در درون بافت چربی به دام می‌افتد و کاهش در دسترس بودن اسید چرب، از دلایل پایین‌تر بودن میزان اکسیداسیون چربی در شدت‌های بالا است (۳۱-۲۹، ۱۳).

اگرچه PLIN برای لیپولیز تحریک شده مورد نیاز است، اما هیچ‌گونه فعالیت آنزیماتیک ندارد. موش‌های فاقد ژن PLIN3، لاغر هستند و به طور کلی توده‌ی چربی کمتری نسبت به موش‌های وحشی دارند. آن‌ها فعالیت لیپولیتیک پایه‌ی بالاتری در سلول‌های چربی نسبت به موش‌های وحشی دارند که منجر به توده‌ی چربی کمتر و اندازه‌ی کوچک‌تر سلول‌های چربی می‌شود (۱۳). بر اساس اطلاعات به دست آمده از آزمایشگاه و دیگر پژوهش‌های موجود در این زمینه، می‌توان مدل جدیدی تدوین کرد که چگونه لیپولیز در سلول‌های چربی به وسیله‌ی PLIN3 در سطوح قطرات چربی در پاسخ به شرایط تغذیه‌ای کنترل می‌شود؟ این مدل در شرایط بلندمدت، جایگزین کنترل فسفوریلاسیون لیپاز حساس به هورمون با واسطه‌گری پروتئین کیناز A (Protein kinase-A یا PTK-A) در لیپولیز بافت چربی به جای

References

- Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Brickley G, Watt P. Acute hypoxia and exercise improve insulin sensitivity (S(I) (2*)) in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27(1): 94-101.
- Akbar S, Bellary S, Griffiths HR. Dietary antioxidant interventions in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. *Diabetes & Vascular Disease* 2011; 11(2): 62-8.
- Layne AS, Nasrallah S, South MA, Howell ME, McCurry MP, Ramsey MW, et al. Impaired muscle AMPK activation in the metabolic syndrome may attenuate improved insulin action after exercise training. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(6): 1815-26.
- Conn VS, Koopman RJ, Ruppar TM, Phillips LJ, Mehr DR, Hafdahl AR. Insulin Sensitivity Following Exercise Interventions: Systematic Review and Meta-Analysis of Outcomes Among Healthy Adults. *J Prim Care Community Health* 2014; 5(3): 211-22.
- Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. Hyperinsulinemia predicts coronary heart disease risk in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Circulation* 1998; 98(5): 398-404.
- Cartee GD. Roles of TBC1D1 and TBC1D4 in

- insulin- and exercise-stimulated glucose transport of skeletal muscle. *Diabetologia* 2015; 58(1): 19-30.
7. Shaw CS, Shepherd SO, Wagenmakers AJ, Hansen D, Dendale P, van Loon LJ. Prolonged exercise training increases intramuscular lipid content and perilipin 2 expression in type I muscle fibers of patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 303(9): E1158-E1165.
 8. Brasaemle DL. Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *J Lipid Res* 2007; 48(12): 2547-59.
 9. Bosma M, Hesselink MK, Sparks LM, Timmers S, Ferraz MJ, Mattijssen F, et al. Perilipin 2 improves insulin sensitivity in skeletal muscle despite elevated intramuscular lipid levels. *Diabetes* 2012; 61(11): 2679-90.
 10. Shepherd SO, Cocks M, Tipton KD, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. Preferential utilization of perilipin 2-associated intramuscular triglycerides during 1 h of moderate-intensity endurance-type exercise. *Exp Physiol* 2012; 97(8): 970-80.
 11. Pourteymour S, Lee S, Langleite TM, Eckardt K, Hjorth M, Bindsboll C, et al. Perilipin 4 in human skeletal muscle: localization and effect of physical activity. *Physiol Rep* 2015; 3(8).
 12. Shepherd SO, Cocks M, Tipton KD, 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(3): 657-75.
 13. Pruchnic R, Katsiaras A, He J, Kelley DE, Winters C, Goodpaster BH. Exercise training increases intramyocellular lipid and oxidative capacity in older adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287(5): E857-E862.
 14. van Aggel-Leijssen DP, Saris WH, Wagenmakers AJ, Senden JM, van Baak MA. Effect of exercise training at different intensities on fat metabolism of obese men. *J Appl Physiol* (1985) 2002; 92(3): 1300-9.
 15. Louche K, Badin PM, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, de G, 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(12): 4863-71.
 16. MacPherson RE, Herbst EA, Reynolds EJ, Vandenboom R, Roy BD, Peters SJ. Subcellular localization of skeletal muscle lipid droplets and PLIN family proteins OXPAT and ADRP at rest and following contraction in rat soleus muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302(1): R29-R36.
 17. Straub BK, Stoeffel P, Heid H, Zimbelmann R, Schirmacher P. Differential pattern of lipid droplet-associated proteins and de novo perilipin expression in hepatocyte steatogenesis. *Hepatology* 2008; 47(6): 1936-46.
 18. Kim DH, Kim SH, Kim WH, Moon CR. The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF-alpha of soleus muscle in obese Zucker rats. *J Exerc Nutrition Biochem* 2013; 17(4): 199-207.
 19. Bergman BC, Perreault L, Hunerdosse DM, Koehler MC, Samek AM, Eckel RH. Increased intramuscular lipid synthesis and low saturation relate to insulin sensitivity in endurance-trained athletes. *J Appl Physiol* (1985) 2010; 108(5): 1134-41.
 20. Rashidi M, Soori R, Choobineh S, Ravasi AA, Baesi K. The effect of an aerobic exercise on mtnr1b gene expression, insulin and glucose levels in pancreas of induced diabetic rat with streptozotocin-nicotinamide. *Knowledge Health* 2016; 11(3): 40-8. [In Persian].
 21. Sishi B, Loos B, Ellis B, Smith W, du Toit EF, Engelbrecht AM. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol* 2011; 96(2): 179-93.
 22. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *J Appl Physiol* (1985) 2011; 111(5): 1235-41.
 23. 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 (Silver Spring)* 2007; 15(12): 3023-30.
 24. Peters SJ, Samjoo IA, Devries MC, Stevic I, Robertshaw HA, Tarnopolsky MA. Perilipin family (PLIN) proteins in human skeletal muscle: the effect of sex, obesity, and endurance training. *Appl Physiol Nutr Metab* 2012; 37(4): 724-35.
 25. Minnaard R, Schrauwen P, Schaart G, Jorgensen JA, Lenaers E, Mensink M, et al. Adipocyte differentiation-related protein and OXPAT in rat and human skeletal muscle: involvement in lipid accumulation and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(10): 4077-85.
 26. Kuramoto K, Sakai F, Yoshinori N, Nakamura TY, Wakabayashi S, Kojidani T, et al. Deficiency of a lipid droplet protein, perilipin 5, suppresses myocardial lipid accumulation, thereby preventing type 1 diabetes-induced heart malfunction. *Mol Cell Biol* 2014; 34(14): 2721-31.
 27. Prentki M, Madiraju SR. Glycerolipid/free fatty acid cycle and islet beta-cell function in health, obesity and diabetes. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 353(1-2): 88-100.
 28. Masuda Y, Itabe H, Odaki M, Hama K, Fujimoto Y, Mori M, et al. ADRP/adipophilin is degraded through the proteasome-dependent pathway during regression of lipid-storing cells. *J Lipid Res* 2006; 47(1): 87-98.
 29. Pollak NM, Schweiger M, Jaeger D, Kolb D, Kumari M, Schreiber R, et al. Cardiac-specific overexpression of perilipin 5 provokes severe cardiac steatosis via the formation of a lipolytic barrier. *J Lipid Res* 2013; 54(4): 1092-102.
 30. Stuart CA, South MA, Lee ML, McCurry MP, Howell ME, Ramsey MW, et al. Insulin responsiveness in metabolic syndrome after eight weeks of cycle training. *Med Sci Sports Exerc* 2013; 45(11): 2021-9.
 31. Mann S, Beedie C, Balducci S, Zanuso S, Allgrove J, Bertiato F, et al. Changes in insulin sensitivity in response to different modalities of exercise: a review of the evidence. *Diabetes Metab Res Rev* 2014; 30(4): 257-68.

The Effect of High and Moderate Intensities of Interval Exercise on Perilipin 3 Visceral Adipose Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Male Rats

Roya Besharati¹, Ramin Shabani², Shahram Gholamrezaei³

Original Article

Abstract

Background: The reaction of fat droplet proteins to interval exercise may lead to the development of conditions that provide an underlying mechanism for exercise and type 2 diabetes. The aim of this study was to investigate the effect of two different intensities of intermittent exercise on perilipin 3 visceral adipose tissue and insulin resistance in male rats.

Methods: 32 male Wistar rats were divided into two groups of healthy and diabetic. Then, the diabetic rats were divided into three subgroups of diabetic control and two interval exercise methods (8 in each group). The exercise was performed in the moderate- and high-intensity group with 65-70 and 85-90 percent of the maximum oxygen consumption during eight weeks. 48 hours after the last training session, the mice were anesthetized by intraperitoneal injection of a combination of anesthetic ketamine and xylazine, and adipose tissue around the intestine was removed. The expression level of perilipin 3 protein was assessed by Western blotting, and insulin resistance by the Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance (HOMA-IR) method. The data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey post hoc tests.

Results: The post hoc test showed a significant decrease in perilipin 3 and insulin resistance in the high-intensity ($P = 0.001$) and moderate-intensity ($P = 0.001$) interval exercise groups compared to the diabetic control group; while there was no significant difference between high- and moderate-intensity interval exercise groups ($P = 0.328$).

Conclusion: High-intensity and moderate-intensity intermittent exercise can improve glucose metabolism as well as dramatic changes in the tissue levels of perilipin 3 in type 2 diabetic rats.

Keywords: Diabetes mellitus; Perilipin-3; High-intensity interval training, Insulin resistance

Citation: Besharati R, Shabani R, Gholamrezaei S. **The Effect of High and Moderate Intensities of Interval Exercise on Perilipin 3 Visceral Adipose Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(640): 665-72.

1- PhD Candidate, Department of Physical Education and Sports Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

2- Professor, Department of Physical Education and Sports Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

3- Assistant Professor, Department of Physical Education and Sports Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Corresponding Author: Ramin Shabani, Professor, Department of Physical Education and Sports Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran; Email: dr.ramin.shabani@gmail.com