مقاله پژوهشی

نقش شدت تمرین استقامتی بر میزان بیان پروتئین لیپاز حساس به هورمون (HSL) در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر ویستار دیابتی شده با استرپتوزوسین

مهدی فلاح مهرجردی [۱]، جواد رمضانی [۲*]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۵/۱۶ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۷/۲۹

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: افزایش چربی‌های درون‌عضلانی باعث توسعه بیماری‌های متابولیکی ازجمله دیابت نوع ۲ می‌شود. تمرین استقامتی با تأثیر بر پروتئین لیپولیتیک HSL (لیپاز حساس به هورمون) می‌تواند جنبه درمانی نیز داشته باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی نقش شدت تمرین استقامتی بر سطح انسولین پلاسما، گلوکزخون ناشتا و بیان پروتئین HSL در عضله نعلی موش‌های صحرایی‌نر ویستار دیابتی نوع ۲ است.

مواد و روش کار: تعداد ۴۰ سر موش صحرایی‌نر نژاد ویستار با سن ۱۱-۹ هفته و میانگین وزنی ۲۴ ± ۲۳۰ گرم به‌صورت تصادفی در پنج گروه هشت‌تایی (کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی+تمرین با شدت پایین، دیابتی+تمرین با شدت متوسط، دیابتی+تمرین با شدت زیاد) قرار گرفتند. القای دیابت با تزریق تک‌مرحله‌ای STZ با دوز ۶۰mg/kg و نیکوتین آمید با دوز ۹۰ mg/kg داخل صفاقی انجام شد. برنامه تمرینی استقامتی به مدت شامل ۸ هفته (۵ جلسه در هفته) بودانجام شد. سرعت تردمیل به‌عنوان شاخصی از شدت تمرین در گروه‌ها به ترتیب ۸-۵، ۱۷-۱۴ و ۲۵-۲۲ متربردقیقه بود. میزان انسولین و گلوکز پلاسما به روش الایزا و بیان پروتئین HSL به روش وسترن‌بلاتینگ اندازه‌گیری شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی جهت تعیین معنی‌داری استفاده شد.

یافته‌ها: میزان انسولین پلاسما در گروه تمرینی با شدت بالا و گلوکزخون ناشتا در گروه تمرینی با شدت متوسط نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۵$). همچنین میزان بیان پروتئین HSL در گروه تمرینی با شدت بالا نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌دار پیدا کرد ($P<۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق، تمرین استقامتی شدید، اثر بیشتری برکاهش سطح انسولین پلاسما و همچنین افزایش بیان پروتئین HSL در عضله نعلی دارد، اما جهت کنترل گلوکزخون و وزن‌بدن، تمرینات هوازی با شدت متوسط مناسب‌تر به‌نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: دیابت نوع ۲، تمرین استقامتی، گلوکزخون ناشتا، انسولین پلاسما، HSL

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره نهم، ص ۷۰۵-۶۹۶، آذر ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: یزد، شهرستان میبد، خیابان کاشانی، دانشگاه پیام نور مرکز میبد، تلفن: ۰۳۵-۳۲۳۳۹۶۶۱

Email: Ramezani.javad@gmail.com

مقدمه

دیابت یک اختلال متابولیکی مزمن در بدن است. در این بیماری توانایی تولید انسولین در بدن از بین رفته و یا اینکه سلول‌های بدن در مقابل انسولین تولیدی مقاوم می‌گردند و انسولین تولیدی نمی‌تواند عملکرد طبیعی خود را انجام دهد و درنتیجه میزان قند خون افزایش‌یافته و مسیر متابولیسم در بدن دچار تغییراتی می‌شود(۱). چربی و کربوهیدرات، سوبستراهای اصلی سنتز هوازی ATP در عضلات اسکلتی هستند. کربوهیدرات‌ها به‌صورت گلیکوژن در عضلات اسکلتی و کبد ذخیره می‌شوند و چربی‌ها نیز به‌صورت تری گلیسیریدها در بافت‌های چربی زیرپوستی و احشایی ذخیره می‌گردند. بخش کوچک‌تری از این چربی‌ها در قطرات چربی در درون فیبرهای عضلانی تحت عنوان تری‌گلیسریدهای درون عضلانی (IMTG[1]) ذخیره می‌شوند. تحقیقات نشان داده‌اند که افزایش محتوای تری‌گلیسریدهای درون‌عضلانی، باعث توسعه دیابت نوع ۲ می‌گردد(۲–۵). تجزیه‌وتحلیل میکروسکوپ الکترونی بافت عضله اسکلتی نشان داده است که قطرات چربی داخل سلولی (IMCL[2])

[۱] استادیار گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران.

[۲] استادیارگروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران (نویسنده مسئول).

[1]intramuscular triacylglycerol
[2]intramyocellular lipid

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

در مجاورت با میتوکندری عضلانی(۶) واقع‌شده‌اند، و این به معنای این است که ذخایر تری‌گلیسریدهای درون عضلانی به‌عنوان یک حوضچه قابل‌دسترس اسیدهای چرب برای اهداف اکسیداتیو عمل می‌کنند. حضور لیپاز حساس به هورمون در بافت عضله اسکلتی (۷،۸) و فعال شدن آن توسط کاتکولامین‌ها و انقباض عضلانی (۹،۱۰) می‌تواند از حوضچه‌های تری‌گلیسریدهای درون عضلانی در حین فعالیت بدنی به‌عنوان ذخایر سوخت استفاده کرده و از توسعه دیابت نوع ۲ جلوگیری کند.

اسیدهای چرب آزاد (FFAs) نیز نقش مهمی در پاتوژنز دیابت نوع ۲ بازی می‌کنند(۱۱). اسیدهای چرب آزاد از ذخایر چربی در زمان گرسنگی یا حین فعالیت بدنی توسط آنزیم‌های لیپولیتیک آزاد می‌شوند. عقیده بر این است که HSL[3] اولین آنزیم مسئول برای هیدرولیز تری‌آسیل گلیسرول‌ها (TAGs) و دی‌آسیل گلیسرول‌ها (DAGs) هستند که باعث رهایش اسیدهای چرب آزاد می‌شوند(۱۲). HSL در مقایسه با سایر لیپازها دارای خاصیت سوبسترایی منحصربه‌فردی است. این لیپاز، تمام آسیل‌گلیسرول‌ها را هیدرولیز می‌کند: ازجمله تری‌گلیسریدها، دی‌گلیسریدها و مونوگلیسریدها(۱۳،۱۴). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد، شدت و مدت تمرین از عوامل مؤثر در استفاده از چربی و کربوهیدرات حین تمرین است(۱۵). با افزایش شدت تمرین از کم تا زیاد و به دنبال آن افزایش جریان خون به سمت بافت‌های چربی، میزان لیپولیز بافت چربی افزایش‌یافته و باعث بالا رفتن سطوح اسید چرب آزاد خون می‌شود و درنتیجه دسترسی به این سوبسترا برای بافت‌های مصرف‌کننده ازجمله عضله اسکلتی افزایش می‌یابد(۱۶). افزایش در مدت‌زمان تمرین نیز اثری مشابه را به همراه دارد(۱۷)، بااین‌وجود در شدت‌های بالاتر از ۷۵- ۶۵ درصد VO_{2max}، علی‌رغم افزایش لیپولیز بافت چربی، سطوح اسید چرب آزاد پلاسما تغییر نمی‌کند که این اتفاق به دلیل کاهش جریان خون بافت چربی است که از طریق اپی‌نفرین واسطه‌گری می‌شود(۱۸). لذا در هنگام شدت‌های تمرینی بالاتر از ۷۵ درصد VO_{2max}، عضله اسکلتی مجبور به استفاده از ذخایر چربی درونی خود است که به‌عنوان یک منبع انرژی هنگام فعالیت ورزشی معرفی‌شده است (۱۷،۱۹). در تحقیق هاشیموت و همکاران بر روی موش‌های صحرایی چاق نر، نشان داده شد شش هفته تمرین هوازی با شدت متوسط، باعث افزایش معنی‌داری در آنزیم‌های مؤثر بر تجزیه چربی‌های درون عضلانی می‌شود(۲۰). در تحقیقی که اخیراً توسط دشتی و همکاران انجام گرفت، نشان داده شد که پروتئین ATGL که یکی دیگر از آنزیم‌های مؤثر بر تجزیه چربی‌های درون عضلانی است در عضلات اسکلتی موش‌های صحرایی با افزایش شدت تمرین استقامتی، افزایش می‌یابد اما اشاره‌ای بر میزان بیان پروتئین HSL نشده است(۲۱). همچنین در مورد شدت بهینه تمرین استقامتی که می‌تواند باعث افزایش قابل‌توجهی در این آنزیم در نمونه‌های دیابتی شود، تحقیقی صورت نگرفته است. درمجموع، این پرسش مطرح است که تمرین استقامتی با شدت‌های متفاوت (کم، متوسط و زیاد)، بر بیان پروتئین HSL عضله نعلی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین چه تأثیری دارد؟ افزایش بیان این پروتئین در عضله، نشان‌دهنده افزایش تجزیه چربی‌های درون عضلانی خواهد بود. در این مطالعه، میزان بیان پروتئین HSL به‌عنوان یک آنزیم هیدرولیز کننده چربی‌های درون عضلانی، در عضله نعلی موش‌های صحرایی نر ویستار دیابتی شده با استرپتوزوسین موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع تجربی با پنج گروه بود. گروه‌ها شامل، گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی+ تمرین استقامتی با شدت کم، دیابتی+ تمرین استقامتی با شدت متوسط و دیابتی+ تمرین استقامتی با شدت بالا بودند. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۴ ±۲۳۰ گرم و سن ۱۱-۹ هفته‌ای از مرکز تحقیقات تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲/۱۲ (هفت شب تا هفت صبح) نگهداری شدند. این تعداد موش به‌صورت تصادفی در پنج گروه هشت‌تایی قرار گرفتند. این گروه‌ها بر اساس وزن بدن در ابتدای تحقیق همسان‌سازی شدند. همچنین در این تحقیق دسترسی موش‌های صحرایی به آب و غذا آزاد بود. ملاحظات اخلاقی در این مطالعه توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه پیام نور با شناسه IR.PNU.REC.1397.027 مورد تأیید قرار گرفت. القای دیابت در موش‌های صحرایی به‌وسیله تزریق تک‌مرحله‌ای استرپتوزوسین حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار (PH=۴/۵) با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه نیکوتین آمید به میزان ۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (داخل صفاقی،(IP انجام شد. تزریق نیکوتین‌آمید ۱۵ دقیقه قبل از تزریق استرپتوزوسین انجام شد(۲۲). پس از گذشت یک هفته از القای دیابت و ۱۲ ساعت ناشتایی، با ایجاد جراحت کوچک در ناحیه دم حیوان و قرار دادن یک قطره خون بر روی نوار تست قند خون (دستگاه گلوکوکارد ۰۱ ساخت ژاپن)، گلوکزخون آن‌ها تعیین شد. قند خون بالای ۲۱۶ میلی‌گرم بر دسی لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی

[3]hormone-sensitive lipase

[4]Hashimoto T et al

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

شدن و ملاک ورود به مطالعه در نظر گرفته شد(۲۲). در این مطالعه القای دیابت در تمام نمونه‌های انتخابی به صورت موفقیت‌آمیزی انجام گرفت.

بعد از گذشت یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به مدت یک هفته با نحوه انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه آشناسازی شامل راه رفتن با سرعت ۴-۲ متر بر دقیقه و شیب صفر درصد به مدت پنج تا ۱۰ دقیقه بود. پروتکل اصلی تمرین شامل ۸ هفته تمرین روی نوارگردان با سرعت‌های گوناگون با تواتر ۵ جلسه در هر هفته بود. سرعت دویدن در گروه تمرین با شدت پایین (پنج تا هشت متر بر دقیقه، معادل ۶۰-۵۰ درصد Vo_{2max})، در گروه تمرین با شدت متوسط (۱۷-۱۴ متر بر دقیقه، معادل ۷۰-۶۵ درصد Vo_{2max}) و در گروه تمرین با شدت بالا (۲۵-۲۲ متر بر دقیقه، معادل ۸۰ درصد Vo_{2max}) بود (۲۳،۲۴). همچنین به‌منظور اجرای مراحل گرم و سرد کردن، حیوانات به مدت پنج دقیقه در ابتدا و پنج دقیقه در انتهای پروتکل اصلی با سرعت ۳ تا ۵ متر بر دقیقه راه رفتن که این زمان به زمان اصلی اضافه گردید. گروه[۱]کنترل سالم و دیابتی هیچ‌گونه مداخله تمرینی را دریافت نکردند.

چهل‌وهشت ساعت بعد از آخرین جلسه فعالیت ورزشی (جهت از بین بردن پاسخ آخرین جلسه فعالیت ورزشی) و بعد از ناشتایی ۱۲ ساعته، نمونه‌گیری از گروه‌های کنترل و تیمار انجام گرفت(۲۵). برای جمع‌آوری نمونه‌ها، ابتدا حیوانات با تزریق هم‌زمان داروی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن) به‌صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. سپس قفسه سینه شکافته شد و خون‌گیری از قلب به عمل آمد. بلافاصله خون در لوله‌های حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA[۵]) ریخته شد. سپس خون به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی در داخل کرایوتیوپ ۲ سی‌سی ریخته شد و بلافاصله به تانک ازت منتقل گردید. سطوح گلوکز خون به‌وسیله دستگاه گلوکوکارد ۰۱ ساخت کشور ژاپن از طریق نمونه خونی گرفته‌شده و سطوح سرمی انسولین با استفاده از کیت الایزا ویژه رت ساخت کمپانی Mercodia کشور سوئد اندازه‌گیری شد. عضله نعلی بلافاصله از بدن حیوان جدا گردیده و در داخل میکروتیوپ ۵ سی‌سی گذاشته و در نیتروژن مایع جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شد. در روز آزمایش ابتدا قطعه کوچکی از بافت عضله در حدود ۱۰۰ میلی‌گرم را در ۱ میلی‌لیتر بافر PBS (PH=7/4) قرار داده و توسط هموژنایزر (مدل T 10 Basic، IKA آلمان) بر روی یخ به مدت ۵ دقیقه کاملاً حل شد. سپس محلول با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت‌زمان ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی به یک میکروتیوپ ۱ سی‌سی منتقل گردید و درنهایت به روش برادفورد غلظت‌سنجی شد. مقدار بیان پروتئین‌های موردنظر در بافت طبق دستورالعمل وسترن بلاتینگ اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی، مقادیر مساوی از پروتئین‌ها به‌وسیله ژل پلی آکریل آمید ۱۲ درصد جداسازی شدند. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF[۶] منتقل‌شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ جهت پوشاندن جایگاه‌های اتصال غیراختصاصی پروتئین قرار گرفت. سپس کاغذها یک‌شب در آنتی‌بادی‌های اولیه[۸] شرکت abcam در چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در روز دوم، سه بار با محلول TBST[۹] شستشو داده شدند و کاغذها به مدت یک ساعت و نیم با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شدند. بعدازاین مرحله بلاتها را با کیت ECL[۱] پوشانده و با استفاده از دستگاه اسکنر LI-COR ساخت آمریکا از باندهای پروتئین تصویربرداری انجام گرفت. برای عکس‌برداری از نرم‌افزار Gene tools و برای کمی‌سازی باندها از نرم‌افزار Image J استفاده گردید.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، ابتدا جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد و سپس برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و نیز آزمون تعقیبی توکی برای آنالیز داده‌ها مورد استفاده شدقرار گرفت. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام گرفت و سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین نوشته شده است.

یافته‌ها

نتایج نشان دادند که گلوکز خون ناشتا در گروه تمرینی با شدت متوسط نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌دار داشته است ($p= ۰/۰۲$)(جدول ۱). همچنین انسولین پلاسما در گروه تمرینی با شدت بالا نسبت به گروه کنترل دیابتی، کاهش معنی‌دار داشته است ($p= ۰/۰۳$)(جدول ۱). در سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

5. Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid
6. Insulin Rat ELISA DEV8811
7. polyvinylidene fluoride
8. rabbit polyclonal to HSL antibody- ab45422
9. Tris-buffered saline, 0.1% Tween 20
10. ab6771
11. Enhanced chemiluminescence

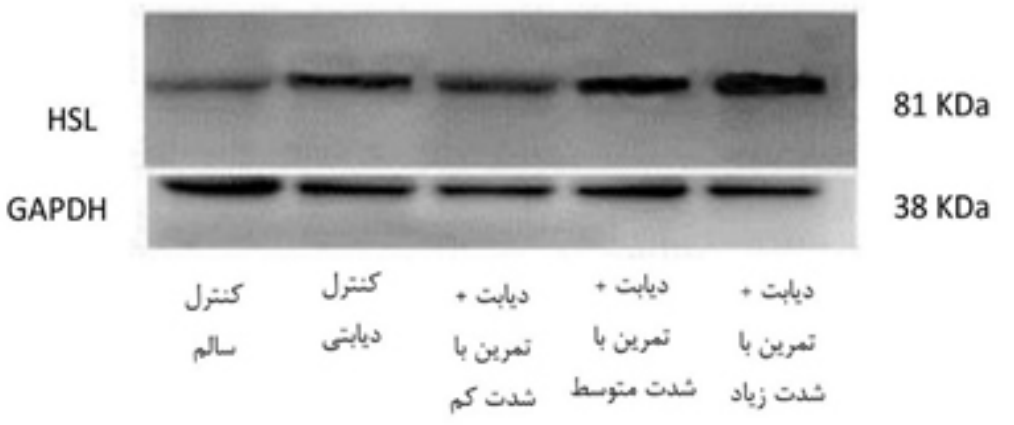
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

جدول (۱): Mean ± SD شاخص‌های وزن، گلوکزخون ناشتا، انسولین پلاسما و دانسیته نسبی HSL در گروه‌های موردمطالعه

گروه متغیر	کنترل سالم	کنترل دیابتی	تمرین با شدت کم	تمرین با شدت متوسط	تمرین با شدت زیاد
وزن قبل از مداخله	۶۶/۰۹ ± ۲۴۲/۲۳	۲۴۲/۵۰±۲۳/۰۹	۲۴۵/۱۸ ± ۶۲/۴۲	۲۴۴/۱۹ ± ۱۲/۸۰	۵۰/۷۸ ± ۲۴۳/۱۴
وزن بعد از مداخله	۸۳/۰۲ ± ۳۱۲/۲۷	۲۷۸/۳۴±۲۱/۲۸	۲۸۸/۴۲ ± ۵۰/۵۷	۳۰۰/۲۲ ± ۰۰/۳۶	۸۵/۶۷ ± ۲۸۴/۴۶
گلوکز خون mg/dl	۹۶/۳۰ ± ۵/۲۲	۲۷۵/۱۲ ± ۷/۸۳ €	۲۲۶/۱۶ ± ۸/۲۱	۱۷۰/۰۹ ± ۶/۶۷ ×	۲۳۹/۴۳ ± ۵/۳۳
مقدار P		۰/۰۰۱		۰/۰۲	
انسولین پلاسما Ng/ml	۰ /۵۳ ± ۰/۱۲	۰/۴۲ ± ۰/۵۱ €	۰/۴۰ ± ۰/۰۹	۰/۳۷ ± ۰/۱۹	۰/۳۱ ± ۰/۲۱ ×
مقدار P		۰/۰۰۸			۰/۰۳
HSL (دانسیته نسبی باند)	۳۷۴۰±۶۵۶	۸۱۲۳±۱۷۷۵ €	۷۴۵۳±۱۱۰۳	۹۱۰۳±۱۵۲۰	۱۴۱۹۷±۲۱۶۵ ××
مقدار P		۰/۰۰۱			۰/۰۰۰۱

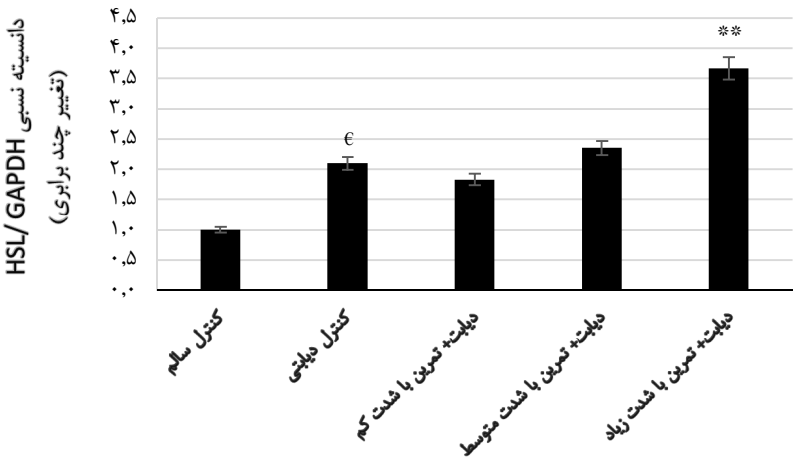
€) بیانگر اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل سالم (P<۰/۰۵) ×) بیانگر کاهش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۵)
××) بیانگر افزایش معنی‌دار نسبت به تمام گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۵)

نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه همچنین نشان داد که میزان بیان پروتئین HSL در عضله نعلی گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معنی‌دار داشته است (P>۰/۰۵). در گروه تمرینی با شدت پایین نسبت به گروه کنترل دیابتی، میزان بیان پروتئین HSL اندکی کاهش را نشان داد اما به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در گروه تمرینی با شدت بالا، بیان پروتئین HSL در عضله نعلی نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)(شکل‌های ۱ و ۲).



شکل (۱): بیان پروتئین HSL در گروه‌های موردمطالعه

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]



شکل (۲): دانسیته نسبی HSL در عضله نعلی گروه های مورد مطالعه (تغییر چند برابری)

€) بیانگر افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل سالم. **) بیانگر افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل دیابتی

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، بیشترین میزان کاهش گلوکز خون و انسولین پلاسما در گروه تمرین با شدت متوسط دیده شد (جدول ۱). همچنین وزن بدن در گروه تمرین با شدت متوسط نسبت به سایر گروه‌ها، به گروه کنترل سالم نزدیک‌تر شد که احتمالاً ناشی از بهبود وضعیت دیابت در این گروه باشد. مطالعات گذشته نیز نشان دادند که تمرینات استقامتی باعث بهبود وضعیت گلوکز خون، وزن بدن و همچنین انسولین پلاسما در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ می‌شود(۲۶،۲۷). در دیابت نوع ۲ میزان بیان GLUT4 و به دنبال آن حساسیت به انسولین در عضلات اسکلتی کاهش می‌یابد(۲۸). تمرین ورزشی هوازی یک مداخله مؤثر برای بهبود حساسیت به انسولین است زیرا باعث افزایش حمل‌ونقل گلوکز در بافت حساس به انسولین، به‌خصوص عضلات اسکلتی می‌شود(۲۹). نشان داده شده است که افزایش حاد در جذب گلوکز که در پاسخ به انقباضات عضلانی اتفاق می‌افتد توسط جابجایی وزیکولهای داخل سلولی حاوی پروتئین‌های انتقال دهنده گلوکز نوع ۴ (GLUT4) به غشای سلولی واسطه‌گری می‌شود(۳۰،۳۱). علاوه بر تأثیر حاد بر حرکت GLUT4 در داخل سلول ، تمرین ورزشی، بیان پروتئین GLUT4 را در عضله اسکلتی افزایش می‌دهد، که یک عامل اصلی تعیین کننده حداکثر پاسخ حمل و نقل گلوکز به دست آمده توسط انقباض(۲۹،۳۲) و / یا مسیر تحریک‌شده وابسته به انسولین است(۳۳،۳۴). رونویسی GLUT4 در عضلات اسکلتی توسط فاکتور تقویت‌کننده میوسیت ۲A (MEF2A) انجام می‌شود(۳۵،۳۶). ورزش باعث افزایش اتصال MEF2A به پروموتر GLUT4 در عضلات اسکلتی شده(۳۷،۳۸) و MEF2 ناشی از ورزش برای بیان ژن GLUT4 در عضله اسکلتی ضروری است(۳۷–۳۹). همچنین فعالیت ورزشی برای فعال کردن AMPK ، PPARβ و PGC-1α شناخته شده است که هر کدام نقش مهمی در تنظیم جذب گلوکز بر عهده دارند(۴۰،۴۱).

در خصوص پروتئین HSL، نتایج ما حاکی از آن است که همراه با دیابتی شدن موش‌های صحرایی، میزان بیان پروتئین HSL در عضله نعلی افزایش می‌یابد. تمرین استقامتی با شدت کم، میزان بیان این پروتئین را نسبت به گروه کنترل دیابتی کمی کاهش داد اما با افزایش شدت تمرین، میزان بیان این پروتئین در عضله نعلی رو به افزایش گذاشت بطوریکه بیشترین میزان افزایش HSL را در تمرین استقامتی با شدت بالا داشتیم. در زمان فعالیت ورزشی، عضلات اسکلتی به مقدار زیادی به اکسیداسیون چربی متکی هستند(۱۷). تری‌گلیسریدهای درون عضلانی (IMTGs) یکی از منابع مهم تأمین انرژی موضعی در بدن به شمار می‌روند که از طریق متابولیت‌های درون‌سلولی و هورمونی تنظیم می‌گردند. HSL یک آنزیم لیپولیتیک است که باعث تسهیل تجزیه چربی‌های درون عضلانی می‌گردد(۴۲). با افزایش شدت تمرین، نیاز بدن به انرژی افزایش پیدا می‌کند که تأمین بخش مهمی از آن، توسط تجزیه چربی‌های درون عضلانی و در حضور آنزیم لیپولیتیک HSL رخ می‌دهد. با افزایش تجزیه چربی‌های درون عضلانی، علی‌رغم اینکه سطوح اسید چرب آزاد پلاسما افزایش چندانی پیدا نمی‌کند،

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

دسترسی سلول‌های عضلانی به اسیدهای چرب آزاد افزایش پیداکرده و در غیاب گلوکز، انرژی موردنیاز سلول‌ها فراهم می‌گردد(۴۳). هرچند در زمان فعالیت ورزشی عوامل دیگری نظیر کاهش ترشح انسولین و افزایش فعالیت مسیرهای آلفا آدرنرژیک نیز برای افزایش لیپولیز ذکر شده است(۴۳) ضمناً با افزایش رهایش GLUT4 در هنگام فعالیت ورزشی، ظرفیت انتقال گلوکز به داخل سلول‌های عضلانی افزایش یافته و بدین ترتیب سهم گلوکز خارجی و چربی درون عضلانی در تأمین انرژی موردنیاز بدن افزایش می‌یابد(۴۴).

در همین راستا، لوچ و همکاران (۲۰۱۳)، استلینگ ورف و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند تمرین استقامتی باعث افزایش فسفریلاسیون HSL می‌شود(۴۵،۴۶). اخیراً جو یونگ بایی و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند بعد از هشت هفته تمرین، سطح HSL افزایش می‌یابد(۴۷). به احتمال زیاد علت همسان بودن نتایج این تحقیقات با مطلعه حاضر، نوع و شدت‌های یکسان تمرینات ورزشی است. بدین و همکاران (۲۰۱۱)، در نتایج تحقیقات خود نشان دادند که کاهش بیان پروتئین ATGL و HSL در عضله اسکلتی می‌تواند باعث تجمع بیش‌ازحد دی‌آسیل‌گلیسرول در سلول‌های عضلانی شده و در سیگنالینگ و عمل انسولین اختلال ایجاد کند. بنابر این به احتمال زیاد هدف قرار دادن لیپازهای عضلات اسکلتی یک استراتژی درستی برای بهبود حساسیت به انسولین در دیابت نوع ۲ است(۴۸). در زمان استراحت، فعالیت هیدرولیزی لیپاز حساس به هورمون در عضله اسکلتی به‌صورت خنثی بوده، درحالی‌که تمرین باعث افزایش عملکرد این آنزیم و تقریباً فعال‌شدن تمام لیپازها را شده که این مسئله به اهمیت فعال‌سازی این آنزیم در پروسه لیپولیتیک اشاره می‌کند (۴۹).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، تمرین استقامتی با شدت بالا باعث افزایش در بیان پروتئین HSL عضله نعلی شده که احتمالاً به دلیل کاهش سطح سرمی انسولین و افزایش فعالیت مسیرهای بتا آدرنرژیک در گروه موردنظر است. از طرفی نتایج نیز نشان داد که تمرینات استقامتی با شدت متوسط[1] نسبت به سایر شدت‌ها، تأثیر بیشتری[2] در بهبود وضعیت گلوکز خون و وزن بدن گروه دیابتی دارد. بنابر این بر اساس نتایج این مطالعه، توصیه ما به افراد دیابتی نوع ۲ برای[3] کنترل بهتر و موثرتر دیابت، انجام ورزش‌های هوازی با شدت متوسط است.

تشکر و قدردانی[4]

بدین‌وسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تقدیر و تشکر می‌نماییم. این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه پیام نور استان یزد به شماره قرارداد ۳۲/۶۳۱۷۴/د مورخ ۱۳۹۷/۰۱/۲۹ و کد اخلاق به شناسه IR.PNU.REC.1397.027 انجام‌شده است.

References:

1. Mohajeri D, Mousavi G, Doustar Y. Antihyperglycemic and Pancreas-Protective Effects of Crocus sativus L. (Saffron) Stigma Ethanolic Extract on Rats with Alloxan-Induced Diabetes. IJBS 2009 Apr 1;9(4):302–10.
2. Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. Diabetes 2001;50(7):1612–7.
3. Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, et al. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. Diabetes 1999;48(5):1113–9.
4. Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, et al. Skeletal Muscle Triglyceride Levels Are Inversely Related to Insulin Action. Diabetes 1997;46(6):983–8.
5. Perseghin G, Scifo P, Danna M, Battezzati A, Benedini S, Meneghini E, et al. Normal insulin sensitivity and IMCL content in overweight humans are associated with higher fasting lipid oxidation. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab 2002;283(3):E556–64.
6. Hoppeler H, Howald H, Conley K, Lindstedt SL, Claassen H, Vock P, et al. Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. J. Appl. Physiol 1985;59(2):320–7.
7. Holm C, Østerlund T, Laurell H, Contreras JA. Molecular mechanisms regulating hormone-

[1] Louche et al
[2] stellingwerff
[3] JuYong Bae
[4] Badin et al

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

sensitive lipase and lipolysis. Annu Rev Nutr 2000;20(1):365–93.

8. Langfort J, Ploug T, Ihlemann J, Enevoldsen LH, Stallknecht B, Saldo M, et al. Hormone-sensitive lipase (HSL) expression and regulation in skeletal muscle. Adv Exp Med Biol 1998;441:219–28.
9. Kjaer M, Howlett K, Langfort J, Zimmerman-Belsing T, Lorentsen J, Bülow J, et al. Adrenaline and glycogenolysis in skeletal muscle during exercise: a study in adrenalectomised humans. J Physiol 2000;528(2):371–8.
10. Watt MJ, Stellingwerff T, Heigenhauser GJF, Spriet LL. Effects of Plasma Adrenaline on Hormone-Sensitive Lipase at Rest and during Moderate Exercise in Human Skeletal Muscle. J Physiol 2003;550(1):325–32.
11. Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β-cell dysfunction. Eur J Clin Invest 2002;32(s3):14–23.
12. Zechner R, Strauss JG, Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R. Lipolysis: pathway under construction. Curr Opin Lipidol 2005;16(3):333–40.
13. Fredrikson G, Strålfors P, Nilsson NO, Belfrage P. Hormone-sensitive lipase of rat adipose tissue. Purification and some properties. J Biol Chem 1981;256(12):6311–20.
14. Østerlund T, Beussman DJ, Julenius K, Poon PH, Linse S, Shabanowitz J, et al. Domain identification of hormone-sensitive lipase by circular dichroism and fluorescence spectroscopy, limited proteolysis, and mass spectrometry. J Biol Chem 1999;274(22):15382–8.
15. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. Med. Sci. Sports. Exerc 2002;34(1):92–7.
16. Achten J, Jeukendrup AE. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. Int. J. Sports. Med 2003;24(08):603–8.
17. Holloway GP, Bezaire V, Heigenhauser GJF, Tandon NN, Glatz JFC, Luiken JJFP, 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(1):201–10.
18. Jeukendrup AE, Saris WHM, Wagenmakers AJM. Fat metabolism during exercise: a review--part II: regulation of metabolism and the effects of training. Int. J. Sports. Med 1998;19(5):293–302.
19. Valizadeh A, Khosravi A, Azmoon HR. Fat oxidation rate during and after three exercise intensities in non-athlete young men. World Appl Sci J 2011;15(9):1260–6.
20. Hashimoto T, Sato K, Iemitsu M. Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes. J. Appl. Physiol 2013;115(2):260–7.
21. Dashti Khavidaki MH, Faramarzi M, Azamian Jazi A, Banitalebi E. 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. Sci J Kurdistan Univ Med Sci 2018;23(2):92–102.
22. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. Diabetes 1998;47(2):224–9.
23. 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 Nutr Biochem 2013;17(4):199.
24. Ghafari M, Banitalebi E, Faramarzi M, Mohebi A. Comparison of Two Intensities of Aerobic Training (low intensity and High Intensity) on Expression of Perlipin 2 Skeletal Muscle, Serum Glucose and Insulin levels in Streptozotocin-Diabetic Rats. Armaghane danesh 2017;22(3):282–94.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

25. Negin Farhangi FNZ. Effect of Endurance Exercise on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in the Heart of the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2017;24(10):798–809.
26. Wisløff U, Haram PM, Kemi OJ, Al-Share QY, Lee SJ, Najjar SM, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. Cardiovasc Res 2008;81(4):723–32.
27. Caponi PW, Lehnen AM, Pinto GH, Borges J, Markoski M, Machado UF, et al. Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. Clinics 2013;68(7):1010–7.
28. Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Brechtel-Hook G, Wallace P, Baron AD. Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. J Clin Invest 1998;101(11):2377–86.
29. Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, Kahn BB, Ohkuwa T, Vinten J, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. Am J Physiol Metab 1990;259(6):E778–86.
30. Holloszy JO, Hansen PA. Regulation of glucose transport into skeletal muscle. In: Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology. Volume 128. Springer; 1996. p. 99–193.
31. Holloszy JO. A forty-year memoir of research on the regulation of glucose transport into muscle. Am J Physiol Metab 2003;284(3):E453–67.
32. Rodnick KJ, Henriksen EJ, James DE, Holloszy JO. Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles. Am J Physiol Physiol 1992;262(1):C9–14.
33. Henriksen EJ, Bourey RE, Rodnick KJ, Koranyi L, Permutt MA, Holloszy JO. Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. Am J Physiol Metab 1990;259(4):E593–8.
34. Kern M, Wells JA, Stephens JM, Elton CW, Friedman JE, Tapscott EB, et al. Insulin responsiveness in skeletal muscle is determined by glucose transporter (Glut4) protein level. Biochem J 1990;270(2):397–400.
35. McGee SL, Sparling D, Olson A-L, Hargreaves M. Exercise increases MEF2-and GEF DNA-binding activity in human skeletal muscle. FASEB J 2006;20(2):348–9.
36. Mora S, Pessin JE. The MEF2A isoform is required for striated muscle-specific expression of the insulin-responsive GLUT4 glucose transporter. J Biol Chem 2000;275(21):16323–8.
37. Holmes BF. Regulation of GLUT4 mRNA expression with AICAR treatment and exercise. Carolina: East Carolina University; 2004.
38. Thai M V, Guruswamy S, Cao KT, Pessin JE, Olson AL. Myocyte enhancer factor 2 (MEF2)-Binding site is required forGLUT4 gene expression in transgenic mice regulation of mef2 dna binding activity in insulin-deficient diabetes. J Biol Chem 1998;273(23):14285–92.
39. Smith JAH, Collins M, Grobler LA, Magee CJ, Ojuka EO. Exercise and CaMK activation both increase the binding of MEF2A to the Glut4 promoter in skeletal muscle in vivo. Am J Physiol Metab 2007;292(2):E413–20.
40. Gan Z, Burkart-Hartman EM, Han D-H, Finck B, Leone TC, Smith EY, et al. The nuclear receptor PPARβ/δ programs muscle glucose metabolism in cooperation with AMPK and MEF2. Genes Dev 2011;25(24):2619–30.
41. Holloszy JO. Regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 expression by exercise. Compr Physiol 2011;1(2):921–40.
42. Yao-Borengasser A, Varma V, Coker RH, Ranganathan G, Phanavanh B, Rasouli N, et al. Adipose triglyceride lipase expression in human

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

adipose tissue and muscle. Role in insulin resistance and response to training and pioglitazone. Metabolism 2011;60(7):1012–20.

43. Howe III 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(7):976–81.
44. Morville T, Rosenkilde M, Munch-Andersen T, Andersen PR, Groenbaek KK, Helbo S, et al. Repeated prolonged exercise decreases maximal fat oxidation in older men. Med Sci Sport Exerc 2017;49(2):308–16.
45. 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(12):4863–71.
46. Stellingwerff T, Spriet LL, Watt MJ, Kimber NE, Hargreaves M, Hawley JA, et al. Decreased PDH activation and glycogenolysis during exercise following fat adaptation with carbohydrate restoration. Am J Physiol Metab 2006;290(2):E380–8.
47. Bae JY, Woo J, Roh HT, Lee YH, Ko K, Kang S, et al. The effects of detraining and training on adipose tissue lipid droplet in obese mice after chronic high-fat diet. Lipids Health Dis 2017;16(1):13.
48. Badin P-M, Louche K, Mairal A, Liebisch G, Schmitz G, Rustan AC, et al. Altered skeletal muscle lipase expression and activity contribute to insulin resistance in humans. Diabetes 2011;60(6):1734–42.
49. Watt MJ, Holmes AG, Steinberg GR, Mesa JL, Kemp BE, Febbraio MA. Reduced plasma FFA availability increases net triacylglycerol degradation, but not GPAT or HSL activity, in human skeletal muscle. Am J Physiol Metab 2004;287(1):E120–7.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]

Original Article

THE ROLE OF ENDURANCE TRAINING INTENSITY ON THE PROTEIN EXPRESSION OF HSL IN THE SOLEUS MUSCLE OF STREPTOZOCIN-DIABETIC MALE WISTAR RATS

*Mehdi Fallah Mehrjerdi [1], Javad Ramezani [2]**

Received: 17 Aug, 2019; Accepted: 21 Oct , 2019

Abstract

Background & Aims: Increase in intramuscular fat contribute to the development of metabolic diseases, including type 2 diabetes. Endurance training with an effect on the lipolytic protein hormone-sensitive lipase (HSL) can also have a therapeutic aspect. The purpose of this study was to investigate the role of endurance training intensity on plasma insulin, fasting blood glucose, and HSL protein expression in Soleus muscle of type 2 diabetic male Wistar rats.

Materials & Methods: 40 male Wistar rats aged 9-11 weeks and with an average weight of 230±24 (gr) were randomly divided into five groups(healthy control, diabetic control, diabetic+low intensity exercise, diabetic+moderate intensity training, diabetic+Extreme Exercise). Diabetes was induced by single-dose injection of 60 mg/kg STZ and 90 mg/kg nicotine amide intraperitoneally. The endurance training program was conducted for 8 weeks (5 sessions per week). The treadmill speed as an indicator of the intensity of training in the groups was 5-8, 14-17and 22-25 m/min. Plasma insulin and glucose levels were measured by ELISA and HSL protein expression by western blotting method. One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used to determine the significance.

Results: Plasma insulin level in the high-intensity training group and fasting blood glucose in the moderate-intensity group decreased significantly compared to the diabetic control group($P<0.05$). Also, HSL protein expression increased in the high-intensity training group compared to the diabetic control group ($P<0.05$).

Conclusion: Based on the results of this study, extreme endurance training seem to have a greater effect on plasma insulin levels and also increases the expression of HSL protein in Soleus muscle, but moderate training is better for controlling glucose and body weight in diabetic groups.

Keywords: Endurance Training, Diabetes, Fasting blood glucose, Insulin, HSL

Address: Meybod center, Payame Noor University (PNU), Meybod, Kashani avenue, Yazd, Iran. P.O.BOX, 19395-3697
Tel: +983532339661
Email: Ramezani.javad@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2019: 30(9): 705 ISSN: 1027-3727

[1]. Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran
[2]. Assistant Professor, Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran (Corresponding Author)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2025-01-15]