مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۷، ویژه‌نامه فیزیولوژی ورزش، ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرینات هوازی طولانی مدت بر بیان لیپوکالین ۲ در بافت چربی زیر پوستی و عملکرد انسولین در رت‌های دیابتی

حسین ترابی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

مجتبی ایزدی: استادیار فیزیولوژی ورزش، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران (* نویسنده مسئول) izadimojtaba2006@yahoo.com

علی جلالوند: استادیار بیومکانیک ورزشی، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

ابراهیم زرین کلام: استادیار فیزیولوژی ورزش، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: شواهد بالینی از نقش موثر مولفه‌های ژنتیکی در عملکرد انسولین بافت چربی در دیابت نوع ۲ حکایت دارد. مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر یک دوره تمرینات هوازی بر بیان لیپوکالین ۲ در بافت چربی زیر پوستی به عنوان یکی از عوامل رونویسی موثر در عملکرد انسولین در رت‌های دیابتی نوع ۲ انجام گرفت.

روش کار: برای این منظور، ۱۴ سر رت نر ویستار ۱۰ هفته ای (۲۰ ± ۲۲۰ گرم) از طریق تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید و STZ دیابتی نوع ۲ شدند سپس به شیوه تصادفی به گروه ورزش(۱۲ هفته تمرین هوازی، n = ۷) و کنترل(n = ۷) تقسیم شدند. تمرینات هوازی در قالب ۵ جلسه در هفته به شکل دویدن روی تریدمیل جوندگان انجام گرفت. سطوح گلوکز، انسولین و مقاومت انسولین و بیان لیپوکالین ۲ در بافت چربی زیر پوستی در فاصله ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در هر دو گروه در شرایط ناشتا اندازه گیری شد. از آزمون آماری تی مستقل جهت مقایسه متغیرها بین گروه‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: تمرینات هوازی به کاهش معنی دار گلوکز ناشتا (p < ۰/۰۰۰) و مقاومت انسولین (p = ۰/۰۰۸) و بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی زیر پوستی (p = ۰/۰۰۳) نسبت به گروه کنترل منجر شد. همچنین سطوح انسولین سرم در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری پیدا کرد (p = ۰/۰۰۹).

نتیجه‌گیری: بر پایه این یافته‌ها، می‌توان گفت بهبود گلوکز خون و مقاومت انسولین در رت‌های گروه ورزشی نسبت به گروه کنترل احتمالا ریشه در کاهش بیان لیپوکالین-۲ در پاسخ به تمرینات هوازی دارد. با این وجود، شناخت مکانیسم‌های عهده‌دار بهبود هموستاز گلوکز در پاسخ به تمرینات ورزشی نیازمند اندازه‌گیری دیگر مولفه‌های ژنتیکی و هورمونی است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

کلیدواژه‌ها

تمرین هوازی،
لیپوکالین-۲،
مقاومت انسولین،
هموستاز گلوکز،
دیابت نوع ۲

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۱۶

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۰۵

شیوه استناد به این مقاله:

Torabi H, Eizadi M, Jalalvand A, Zarrinkalam E. The effect of long-term aerobic training on lipocalin2 expression in subcutaneous fatty tissue and insulin function in diabetic rats. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):46-56.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

Razi Journal of Medical Sciences. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):46-56.
http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

The effect of long-term aerobic training on lipocalin2 expression in subcutaneous fatty tissue and insulin function in diabetic rats

Hussein Torabi: PhD Student of Exercise Physiology, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran
Mojtaba Eizadi: Assistant Professor of Exercise Physiology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran (*Corresponding author) izadimojtaba2006@yahoo.com
Ali Jalalvand: Assistant Professor of Sports Biomechanics, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran
Ebrahim Zarrinkalam: Assistant Professor of Exercise Physiology, Hamadan Branch, Islamic Azad University, Hamadan, Iran

Abstract

Background & Aims: Although insufficient secretion of insulin from pancreatic beta cells or increased release of hepatic glucose are factors in the prevalence of type 2 diabetes, but insulin inefficiency in target tissues such as adipose tissue, liver and muscle is the most important factor in the disease in the form of increased insulin resistance or decreased Insulin sensitivity appears. Laboratory studies have also identified adipose tissue as one of the most important secretory areas of these mediators. Apart from adiponectin, leptin, resistin, TNF-α and IL-10, the effective role of lipocalin-2 as another adipose-secreted adipocytokine in insulin function and type 2 diabetes has been repeatedly suggested. As one of the most important members of the lipocalin family, lipocalin-2 peptide derived from adipose tissue as a biomarker of various diseases is also an effective factor in inflammatory responses related to metabolic disorders and a close relationship between its levels and adipose tissue has been observed. On the other hand, a significant relationship with fatty pancreas and a non-significant relationship with fatty liver has been observed. These findings suggest that increased synthesis and secretion of lipocalin-2 leads to the accumulation of fat in the pancreas, known as the fatty pancreas. Overall, these findings indicate a lack of general consensus on the role of lipocalin-2 on insulin resistance and sensitivity. However, modification of lipocalin-2 levels or its expression in target tissue in mice and humans leads to increased insulin sensitivity. Therefore, it seems that the invention of strategies to eliminate these shortcomings will reduce the severity of this disease. In this regard, it seems that therapeutic interventions that are able to improve lipocalin-2 function and lipocalin-2 expression in target tissues such as adipose tissue can provide a better understanding of the processes associated with their changes in reducing metabolic abnormalities or diseases Vascular are effective lead. It is well established that proper exercise or physical activity is associated with beneficial effects on metabolic or cardiovascular disease. However, there is evidence of conflicting responses to systemic levels or lipocalin-2 expression to exercise. Some studies have reported an increase in circulatory levels or expression of lipocalin-2 and others have decreased in response to exercise. Based on the evidence, the findings in this area depend on multiple factors such as the study population, pathological conditions, type of exercise (endurance, resistance), intensity of training (low, moderate, severe), duration of training (immediate, chronic, short-term, Long-term) and gender are different from each other. Therefore, in the present study, the effect of a course of aerobic exercise on lipokalin-2 expression in subcutaneous adipose tissue, as well as glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats were measured and the findings were discussed.
Methods: For this purpose, type 2 diabetes were induced in 14 male wistar rats 10 weeks (220 ± 20 g) by intraperitoneal injection of nicotine amide and STZ, then were randomly divided into exercise (aerobic training, 12 weeks, n = 7) or control (n = 7) groups. Aerobic training was performed 5 sessions weekly in the form of running on a rodent treadmill. Glucose level, insulin, insulin resistance and lipocalin 2 expression in subcutaneous adipose

Keywords
Aerobic Training,
Lipocalin-2,
Insulin Resistance,
Glucose Homeostasis,
Type 2 Diabetes

Received: 06/07/2020
Published: 24/02/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

tissue were measured at 48 hours after lasting exercise in 2 groups. Independent t-test was used for comparing variables between groups.
Results: Aerobic training induced significant decrease in fasting glucose ($p < 0.001$), insulin resistance ($p = 0.008$) and lipocalin-2 expression in subcutaneous adipose tissue ($p = 0.003$) compared to the control group. On the other hand, serum insulin levels increased significantly in response to aerobic training compared to the control group ($p = 0.009$).
Conclusion: Decreased expression of lipocalin-2 in the subcutaneous adipose tissue of diabetic rats in response to the main aerobic exercise found in the present study. Also, aerobic exercise was associated with decreased glucose levels, increased serum insulin and decreased insulin resistance. Improving serum glucose and insulin can be attributed to a decrease in insulin resistance in response to aerobic exercise. On the other hand, based on the available evidence, the decrease in insulin resistance may be attributed to the decreased expression of lipocalin-2 in subcutaneous adipose tissue. Regarding glucose and insulin homeostasis in response to exercise, although contradictory findings are observable, often consistent results have been reported. Decreased lipocalin-2 in response to internal or external stimuli appears to be dependent on changes in other cytokines. In this regard, Samarra et al. (2009) first introduced IL-1B as a regulator of the function and expression of lipocalin-2 in adipose tissue. On the other hand, Mehrabani et al. (2014) attributed the decrease in lipocalin-2 in response to aerobic exercise to a decrease in IL-1B and introduced the improvement of insulin resistance as a result of the interaction between lipocalin-2 and IL-1B. Inflammatory cytokines TNF-α and INF-γ induce the expression and secretion of lipocalin-2 in adipose tissue. On the other hand, it has been suggested that lipocalin-2 has a kind of anti-inflammatory function by modulating the process of PPARγ receptors to reduce the function of nuclear factor kappa (NF-kB). However, some researchers have attributed the decrease in fasting insulin and glucose resistance to the interaction of lipocalin 2 with hepatic insulin sensitivity rather than peripheral insulin sensitivity.
In conclusion, the secretion and expression of lipocalin-2 in adipose tissue is regulated by various stimuli such as insulin, fatty acids, insulin-dependent glucose uptake and cytokines, especially IL-1B, TNF-α and NF-κβ. It seems that the possible changes of each of these variables in response to exercise affect the secretion and expression of lipocalin 2 in adipose tissue. Among these, insulin-dependent glucose uptake has been introduced as one of the most important transcriptional stimulators of lipocalin 2. As fasting glucose and insulin levels decrease, increased fatty acids and norepinephrine play an important role in the secretion and induction of lipocalin-2 expression in adipose tissue. Therefore, it is hypothesized that reducing fasting levels of norepinephrine and fatty acids in response to exercise tends to reduce the secretion and expression of lipocalin-2 in laboratory rats.
Altogether, Based on these findings, it can be say that the improvement in blood glucose and insulin resistance in exercise group compared to the control is probably rooted in the reduction of lipocalin-2 expression in response to aerobic training. However, understanding the mechanisms responsible for improving glucose homeostasis in response to exercise training requires measuring other genetic and hormonal components.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Torabi H, Eizadi M, Jalalvand A, Zarrinkalam E. The effect of long-term aerobic training on lipocalin2 expression in subcutaneous fatty tissue and insulin function in diabetic rats. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):46-56.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

مقدمه

اگرچه ترشح ناکافی انسولین از سلول های بتای پانکراس یا افزایش رهایی گلوکز کبدی از عوامل شیوع دیابت نوع ۲ هستند اما عدم کارایی انسولین در بافت های هدف نظیر بافت چربی، کبدی و عضلانی مهمترین عامل شیوه این بیماری است که در قالب افزایش مقاومت انسولین یا کاهش حساسیت انسولین نمایان می شود(۱). مطالعات اخیر آشکار نموده اند که علاوه بر اختلالات متابولیکی، چاقی و کم تحرکی همچنین اختلال در سطوح سیستمیک آدیپوسایتوکین ها یا سطوح پروتئین و بیان آنها در بافت های هدف نظیر کبد و بافت چربی یا عضلانی میل به دیابت نوع ۲ یا شدت آن را بواسطه تاثیر بر عملکرد انسولین را بویژه در افراد مستعد افزایش می دهند. مطالعات آزمایشگاهی همچنین از بافت چربی چربی به عنوان یکی از مهمترین نواحی مترشحه این میانجی ها اشاره نموده اند. در این بین، جدای از آدیپونکتین، لپتین، رزیستین، TNF-α (Tumour Necrosis Factor alpha) و IL-10 (Interleukin 10)، نقش موثر لیپوکالین-۲ به عنوان یکی دیگر از آدیپوسایتوکین های مترشحه از بافت چربی در عملکرد انسولین و دیابت نوع ۲ بارها مطرح شده است(۲). به عنوان یکی از مهمترین اعضای خانواده لیپوکالین، لیپوکالین-۲ پپتید مشتق از بافت چربی به عنوان بیومارکر بیماری های متعدد همچنین فاکتور موثر در پاسخ های التهابی وابسته به ناهنجاری های متابولیکی است و ارتباط نزدیکی بین سطوح آن با بافت چربی مشاهده شده است. از طرفی، ارتباط معنی دار آن با پانکراس چرب و ارتباط غیر معنی دار با کبد چرب مشاهده شده است. این یافته ها اشاره به این نکته دارد که افزایش سنتز و ترشح لیپوکالین-۲ به تجمع چربی در پانکراس که به پانکراس چرب معروف است منجر می شود(۲).

اغلب مطالعات آشکار نموده اند که خانواده لیپوکالین در گسترش و بروز برخی بیماری ها نظیر چاقی، مقاومت انسولین و آترواسکلروسیس و ... درگیرند و لیپوکالین-۲ مهمترین و موثرترین آنهاست. مطالعات بالینی آشکار نموده اند که لیپوکالین-۲ در پیشرفت التهاب، چاقی، مقاومت انسولین، بیماری های متابولیکی و قلبی-عروقی درگیر است. افزایش بیان لیپوکالین-۲ در چاقی و بیماری های متابولیکی با بیماری عروق کرونری، شدت آترواسکلروسیس و مرگ و میر در بیماران ناتوانی قلبی مرتبط است که به نقش لیپوکالین-۲ به عنوان یک شاخص تشخیص و شناخت بیماری های قلبی-عروقی وابسته به ناهنجاری های متابولیکی اشاره دارد(۲). یافته های مطالعه هوانگ و همکاران(۲۰۱۲) به این نکته اشاره دارد که افزایش سطوح لیپوکالین-۲ به شدت مستقلا با اختلال متابولیسم گلوکز و دیابت نوع ۲ همراه است(۳). از طرفی، افزایش لیپوکالین-۲ به افزایش بیان IL-6 منجر می شود درحالیکه بیان آدیپونکتین و PPARγ (Peroxisome proliferator-activated receptors) کاهش می یابد. به عبارتی افزایش بیان لیپوکالین-۲ به کاهش بیان آدیپونکتین در بافت هدف منجر می شود. این یافته ها به این نکته اشاره می کند که افزایش لیپوکالین-۲ به افزایش مقاومت انسولین در بافت چربی آزمودنی های انسانی منجر می شود(۴).

بیان آن در حضور مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ به میزان معنی داری افزایش می یابد(۵). با این وجود، نقش لیپوکالین-۲ در پاتولوژی مقاومت انسولین بافت چربی هنوز به خوبی مشخص نشده است. شواهدی وجود دارد که تغییر در سطوح لیپوکالین-۲ به اختلال در بیان PPARγ و آدیپونکتین منجر می شود(۶) و مصرف آن به افزایش اثر مهارکنندگی TNF-α روی جذب گلوکز وابسته به انسولین منجر می شود(۵). از طرفی، دیگر شواهد آشکار نموده اند که حذف لیپوکالین-۲ به بهبود حساسیت انسولین در آدیپوسیت ها منجر می شود(۷). مطالعات در خصوص شناخت عملکرد لیپوکالین در کل بدن در پاسخ به حذف لیپوکالین در موش ها آشکار نموده اند که نقص لیپوکالین-۲ به دیس لیپیدمی، کبد چرب و مقاومت انسولین منجر می شود(۸). در مطالعه دیگری حذف لیپوکالین در موش ها، به بهبود مقاومت انسولین وابسته به سن و چاقی منجر شد(۹).

روی هم رفته، این یافته ها به عدم یک اتفاق نظر کلی در خصوص نقش لیپوکالین-۲ روی مقاومت و حساسیت انسولین اشاره دارد. با این وجود، اصلاح و بهبود سطوح لیپوکالین-۲ و یا بیان آن در بافت هدف در موش ها و انسان ها به افزایش حساسیت انسولین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

منجر می شود(۱۰). از این رو به نظر می رسد که ابداع راهکارهای منتهی به رفع این نواقص به کاهش شدت این بیماری منتهی خواهد شد. در این زمینه، به نظر می رسد مداخلات درمانی که قادر به بهبود عملکرد لیپوکالین-۲ و بیان لیپوکالین-۲ در بافت هدف نظیر بافت چربی هستند می توانند به درک بهتری از فرآیندهای وابسته به تغییرات آنها که در کاهش ناهنجاری های متابولیکی یا بیماری های عروقی موثرند منجر شود. به خوبی مشخص شده است که ورزش یا فعالیت بدنی مناسب با اثرات سودمندی روی بیماری های متابولیکی یا قلبی-عروقی همراه است. با این وجود، شواهد از پاسخ های متناقض سطوح سیستمیک یا بیان لیپوکالین-۲ به تمرینات ورزشی حکایت دارد. بطوریکه برخی مطالعات به افزایش سطوح گردش خونی یا بیان لیپوکالین-۲ (۱۱،۱۲) و برخی دیگر به کاهش آن در پاسخ به تمرینات ورزشی(۱۳) اشاره نموده اند. بر پایه شواهد مذکور، یافته ها در این زمینه بسته به عوامل چندگانه ای نظیر جمعیت مورد مطالعه، شرایط پاتولوژیکی، نوع تمرین (استقامتی، مقاومتی)، شدت تمرین (پایین، متوسط، شدید)، مدت تمرین (آنی، مزمن، کوتاه مدت، طولانی مدت) و جنسیت متفاوت از یکدیگرند. از این رو، در مطالعه حاضر، اثر یک دوره تمرینات هوازی بر بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی زیر پوستی، همچنین سطوح گلوکز و مقاومت انسولین در رت های دیابتی نوع ۲ اندازه گیری و یافته ها مورد بحث و بررسی قرار می گیرد.

روش کار

مطالعه تجربی-کاربردی حاضر بر روی ۱۴ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته ای با میانگین وزن ۲۰±۲۲۰ گرم که از حیوانخانه انستیتو پاستور تهیه شدند انجام شد. تمامی رت ها مورد مطالعه که همگی از ویژگی‌های فیزیکی و سنی مشابهی برخوردار بودند در ادامه پس از القای دیابت نوع ۲ به شیوه تصادفی در ۲ گروه (۱۲ هفته تمرین هوازی، n = ۷) و کنترل (n = ۷) قرار گرفتند. این مطالعه در قالب رساله دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد با کد اخلاق (IR.SSU.REC.1398.511) در زمستان ۱۳۹۸ مصوب شده است.

کلیه رت های مورد مطالعه در شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، شروع روشنایی ۶ عصر و شروع خاموشی ۶ صبح) با دمای (۳±۲۲ سانتی گراد)، و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۶۰ نگهداری شدند. بدین منظور قفس هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد ۲۵ در ۲۷ در ۴۳ سانتی متر تهیه شد تا موش ها در آن آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند. برای اطمینان از شرایط محیطی مناسب و حفظ رطوبت، دما و تهویه مناسب (برای تعدیل سطح آلودگی موجود در محل و کاهش بوی بد محیط ناشی از انباشت آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات و کاهش احتمال بیماری های تنفسی در حیوانات) از دستگاه تهویه هوا و از دماسنج و رطوبت سنج برای پایش تغییرات شبانه روزی دما و رطوبت استفاده شد. همچنین ، قفس های نگه داری حیوانات روزانه با آب و ماده شوینده شستشو داده شد. برای حفظ نظافت قفس ها و جمع آوری ادرار و مدفوع حیوانات از پوشال (تراشه چوب) استفاده شد. در سرتا سر دوره تحقیق رت ها توسط یک نفر نیز جابجا و دستکاری شدند.

القای دیابت نوع۲: دیابت نوع ۲ به شیوه تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید و STZ القاء شد. بطوریکه پس از یک شب ناشتایی(۱۲ ساعت)، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن موش، به صورت داخل صفاقی تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، محلول تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با PH=۴/۵ نیز به صورت داخل صفاقی با دوز ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد(۱۴). یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه گیری و قند خون بالای بین ۴۰۰-۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش ها به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد(۱۴).

پروتکل تمرینات هوازی: پس از تفکیک رت ها به دو گروه هوازی و کنترل، گروه هوازی از هفته دوازدهم در یک دوره تمرینات هوازی شرکت نمودند. برنامه تمرینی برای مدت ۱۲ هفته به تعداد ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی سرعت (۱۸ الی ۲۶ متر بر دقیقه) و زمان (۱۰ الی ۵۵ دقیقه) در قالب دویدن روی تریدمیل انجام گرفت(۱۵). همه موش های دو گروه ۴۸ ساعت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۱- توزیع شدت و مدت تمرین به تفکیک هفته در گروه هوازی

زمان تمرین (به تفکیک هفته)	اول	دوم- سوم	چهارم- پنجم	ششم- هفتم	هشتم- نهم	دهم- دوازدهم
زمان تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۵۵
سرعت دویدن (متر بر دقیقه)	۱۸	۲۰	۲۲	۲۲	۲۴	۲۶

جدول ۲- الگوی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
Lipocalin2	For: AGCGAATGCGGTCCAGAAAG	159 bp	60	
	Rev: GACGAGGATGGAAGTGACGTTG			NM_001191052.1
RNA	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC	164 bp	60	
PolymraseII	Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC			XM_008759265.1

پس از آخرین جلسه تمرینی پس از یک گرسنگی شبانه ۱۰ تا ۱۲ ساعته (ناشتا) تشریح شدند.

نمونه گیری خون و استخراج یافت: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی رت های مورد مطالعه در هر دو گروه بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح (۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا)، بواسطه تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین ۱۰ درصد و با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد و با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند. سپس قفسه سینه حیوان شکافته شده و برای اطمینان از کمترین آزار حیوان، نمونه خون بطور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. در ادامه بافت چربی زیرپوستی نمونه برداری شده و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNAlater™ RNA) (Stabilization reagent 50 mL با نسبت ۲۰ درصد جهت انجام آزمایش های مولکولی غوطه ور گردید. غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ سنجی با فن آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران اندازه گیری شد. انسولین سرم به روش الیزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری(Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت کشور آلمان اندازه گیری شد. از مقادیر گلوکز و انسولین ناشتا برای مقاومت انسولین استفاده گردید(۱۶).

$$\text{HOMA-R} = \frac{\text{Fasting Insulin } (\mu U/ml) \text{ X Fasting Glucose } (mmol/l)}{22.5}$$

استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN انجام گرفت (۱۷). تعیین Lipocalin mRNA توسط RT-Real time PCR بوسیله سیستم روتورژن ۶۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله ای One Step SYBR TAKARA از شرکت تاکارا مطابق با دستور العمل شرکت استفاده گردید. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار انجام گرفت. پروتکل چرخه حرارتی مورد استفاده دستگاه از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان لیپوکالین-۲ استفاده گردید. الگوی توالی پرایمرها در جدول ۲ بیان شده اند.

آنالیز آماری: از آزمون شاپرووبک جهت اطمینان از توزیع نرمال داده ها استفاده گردید. مقایسه متغیرها بین دو گروه با استفاده از آزمون تی مستقل انجام گرفت. همچنین برای تعیین تغییرات درون گروهی وزن بدن در دو گروه از آزمون تی همبسته استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS/Win نسخه ۱۶ انجام گرفت. تغییرات کمتر از ۵ درصد معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات وزن بدن در هر دو گروه در شرایط قبل و پس از مداخله ورزشی در جدول ۳ خلاصه شده اند. یافته‌های حاصل از آزمون تی مستقل نشان داد که در شرایط قبل از شروع مطالعه تفاوت معنی داری در وزن بدن بین دو گروه وجود ندارد (P = ۰/۱۶۷) وجود ندارد. از طرفی، مقایسه تغییرات درون گروهی وزن بدن در هر دو گروه توسط آزمون تی همبسته نشان داد که سطوح وزن بدن در پایان مطالعه نسبت به شروع مطالعه در هوازی (p < ۰/۰۰۰۱) و کنترل (p < ۰/۰۰۰۱) به میزان معنی داری افزایش یافته است، همچنین یافته های حاصل از آزمون تی مستقل بیانگر سطوح پایین تر

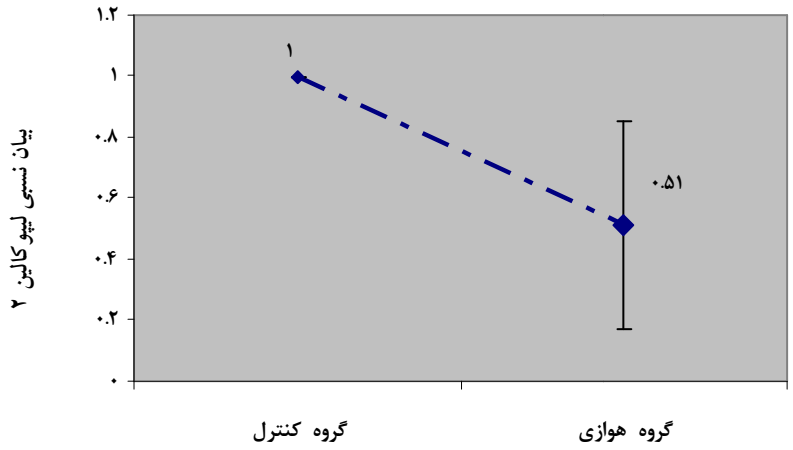
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۳- وزن بدن (گرم) در شرایط قبل مداخله های تمرینی در گروه های مورد مطالعه

گروه	قبل از مداخله	پس از مداخله	Sig (تی همبسته)
کنترل	۲۲۲ ± ۲/۴۱	۲۵۹ ± ۸/۱۴	< ۰۰۰۱
هوازی	۲۲۴ ± ۲/۶۷	۲۳۹ ± ۲/۷۶	< ۰۰۰۱
Sig (تی مستقل)	۰/۱۶۷	< ۰۰۰۱	-----

جدول ٤- بیان نسبی لیپوکالین ۲ در گروه های هوازی و کنترل

متغیر	گروه کنترل	گروه هوازی	Sig
بیان نسبی لیپوکالین ۲	۱	۰/۵۱ ± ۰/۳۴	۰/۰۰۳



نمودار ۱- الگوی تغییرات بیان نسبی لیپوکالین ۲ در گروه های مورد مطالعه

جدول ۵-سطوح شاخص های تعیین دیابت در گروه های هوازی و کنترل

متغیر	گروه کنترل	گروه هوازی	Sig
گلوکز (mg/dL)	۲۹۴ ± ۱۱	۲۱۹ ± ۱۶	< ۰۰۰۱
انسولین (µIU/ml)	۴/۵۶ ± ۰/۴۹	۵/۳۷ ± ۰/۴۹	۰/۰۰۹
مقاومت انسولین (HOMA-IR)	۳/۳۰ ± ۰/۲۹	۲/۹۰ ± ۰/۱۷	۰/۰۰۸

وزن بدن در گروه هوازی نسبت به گروه کنترل است ($p < ۰/۰۰۰۱$).

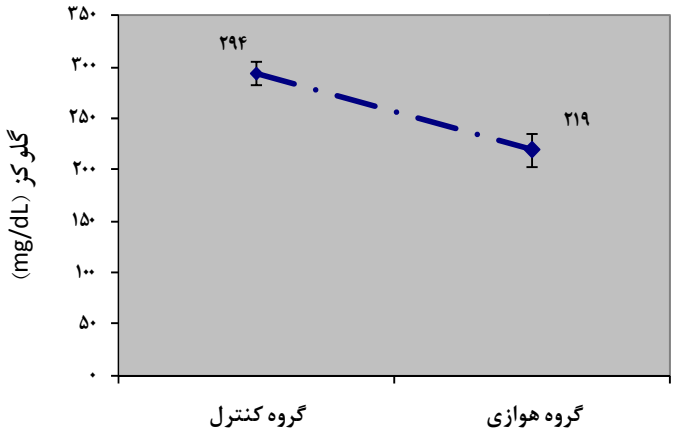
نتایج حاصل از آزمون تی مستقل بیانگر کاهش بیان لیپوکالین ۲ در بافت چربی زیرپوستی در پاسخ به تمرینات هوازی است. به عبارتی، تمرینات هوازی به کاهش معنی دار در بیان نسبی لیپوکالین ۲ بافت چربی زیرپوستی گروه هوازی نسبت به گروه کنترل منجر شد. (جدول ۴، نمودار ۱).

بر پایه یافته های حاصل، تمرینات هوازی همچنین با تغییر در سطوح گلوکز ناشتا، انسولین سرم و مقاومت انسولین همراه بود. به عبارتی، در مقایسه با گروه کنترل، تمرینات هوازی به کاهش معنی دار گلوکز ($P < ۰/۰۰۰۱$) و مقاومت انسولین ($P = ۰/۱۶۷$) و افزایش معنی دار انسولین سرم ($P = ۰/۱۶۷$) در گروه ورزش منجر شد (جدول ۵، نمودارهای ۲ و ۳).

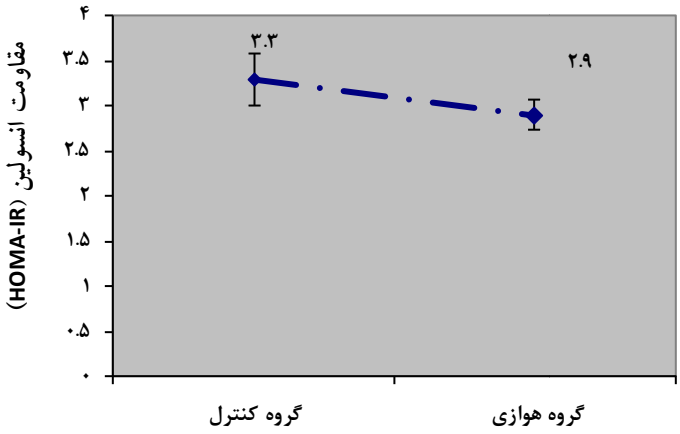
بحث

کاهش بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی زیرپوستی رت های دیابتی در پاسخ به تمرینات هوازی یافته اصلی مطالعه حاضر است. همچنین اجرای تمرینات هوازی با کاهش سطوح گلوکز، افزایش انسولین سرم و کاهش مقاومت انسولین همراه بود. بهبود گلوکز و انسولین سرم را می توان به کاهش مقاومت انسولین در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت داد. از طرفی، بر پایه شواهد

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]



نمودار ۲- الگوی تغییرات گلوکز ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه



نمودار ۳- الگوی تغییرات مقاومت انسولین در گروه‌های مورد مطالعه

موجود، کاهش مقاومت انسولین را شاید بتوان به کاهش بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی زیر پوستی نسبت داد. در خصوص هموستاز گلوکز و انسولین در پاسخ به تمرینات ورزشی، اگرچه یافته های متناقضی قابل مشاهده اند اما اغلب نتایجی همسو با یافته های ما گزارش شده اند. در این زمینه اگرچه مالتیس و همکاران (۲۰۱۶)، عدم تغییر انسولین و گلوکز در پاسخ به ۴ ماه تمرین مقاومتی را گزارش نموده اند(۱۸). همچنین در مطالعه دیگری، ۲۰ هفته فعالیت ورزشی در قالب ۳ الی ۵ جلسه با شدت ۷۰ درصد VO_2max درهفته به تغییری در هموگلوبین گلیکوزیله به عنوان برآیندی از تغییرات طولانی مدت گلوکز منجر نشد (۱۹). اما گلانز و همکاران (۲۰۰۹)، کاهش قابل توجه گلوکز را متعاقب ۶ ماه تمرین هوازی و مقاومتی را در بیماران دیابتی گزارش نموده اند(۲۰). در مطالعه دیگری، افزایش ترشح انسولین از جزایر پانکراس ایزوله شده، متعاقب ۸ هفته تمرین شنای هوازی گزارش شد(۲۱). لوپز و همکاران (۲۰۱۶) نیز کاهش گلوکز خون متعاقب ۱۲ هفته تمرین ترکیبی را به افزایش حساسیت انسولین در پاسخ به تمرینات ورزشی نسبت داده اند(۲۲). در مطالعه عبداقادر و همکاران(۲۰۱۳) نیز بهبود HbA1C در بیماران دیابتی نوع ۲ متعاقب ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط به عملکرد انسولین در بافت هدف یا کاهش مقاومت انسولین نسبت داده شد(۲۳). بر پایه شواهد موجود، بهبود مقاومت انسولین در موش های مورد مطالعه را شاید بتوان به کاهش بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی زیرپوستی در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت داد. با این وجود، در مطالعه مقدسی و همکاران(۲۰۱۴) علیرغم کاهش سطوح لیپوکالین-۲ در پاسخ به ۸ هفته تمرین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

هوازی و مقاومتی در مردان سالم جوان غیرفعال، اما سطوح CRP و مقاومت انسولین در پاسخ به هر دو شیوه تمرینی دستخوش تغییر معنی داری نشد(۴). از طرفی، طالبی و همکاران(۱۳۹۱) به کاهش معنی دار بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی و کاهش گلیکوژن کبدی در زمان های ۴ و ۲۴ ساعت پس از یک جلسه ورزش هوازی با شدت متوسط در سرعت ۲۰ متر بر دقیقه در موش های دیابتی اشاره نموده اند (۱۲). در مطالعه آتشک و همکاران(۲۰۱۷) نیز ۸ هفته تمرینات مقاومتی به کاهش معنی دار لیپوکالین-۲ در مردان چاق منجر شد(۱۱).

مطالعات آزمایشگاهی سلولی و حیوانی آشکار نموده اند که لیپوکالین-۲ به شدت مسیرهای سیگنالینگ انسولین و مقاومت انسولین در بافت هدف نظیر بافت چربی را متاثر می کند. در سلولهای T3-L13 بافت چربی، کاهش بیان لیپوکالین۲ به افزایش جذب گلوکز وابسته به انسولین می شود، در حالی که استفاده از لیپوکالین۲ نوترکیب برونزا می تواند تولید گلوکز سلولهای کبدی را افزایش دهد(۲۴،۲۵). این پدیده ها نشان می دهد که لیپوکالین۲ در شکل گیری مقاومت به انسولین آدیپوسیت ها و افزایش قند خون نقش داشته دارد. اثر محافظتی حذف لیپوکالین۲ بر حساسیت به انسولین مربوط به تنظیم ۱۲ لیپوکسیژناز و TNF-α در بافت چربی است. بطوریکه حذف لیپوکالین۲ بافت چربی با بهبود تحمل گلوکز در موشهای نر که رژیم غذایی پرچربی دارند همراه است(۲۴،۲۵).

به نظر می رسد کاهش لیپوکالین-۲ در پاسخ به محرک های درونی یا بیرونی به تغییر در دیگر سایتوکین ها نیز وابسته است. در این زمینه، سامرا و همکاران(۲۰۰۹) برای اولین بار IL-1B را تنظیم کننده عملکرد و بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی معرفی کرده اند(۲۶). از طرفی، مهرباتی و همکاران(۲۰۱۴) کاهش لیپوکالین-۲ در پاسخ به تمرینات هوازی را به کاهش IL-1B نسبت داده اند و بهبود مقاومت انسولین را حاصل تعامل بین لیپوکالین-۲ و IL-1B معرفی نموده اند(۲۷). سایتوکین های التهابی TNF-α و INF-γ به القای بیان و ترشح لیپوکالین-۲ در بافت چربی منجر می شوند(۲۸). از طرفی، اشاره شده است که لیپوکالین-۲ بواسطه تعدیل فرآیند گیرنده های PPARγ به کاهش عملکرد عامل هسته ای کاپا (NF-kB) دارای نوعی عملکرد ضدالتهابی است(۲۹). با این وجود، برخی محققان کاهش مقاومت انسولین و گلوکز ناشتا را به تعامل لیپوکالین۲ با حساسیت انسولین کبدی نسبت داده اند تا حساسیت انسولین محیطی (۳۰).

در یک جمع بندی، ترشح و بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی توسط محرک های متعددی نظیر انسولین، اسیدهای چرب، میزان ورود گلوکز وابسته به انسولین و سایتوکین‌ها بویژه IL-1B, TNF-α و NF-kβ که عدم اندازه گیری آنها از محدودیت های مطالعه است تنظیم می شود(۳۱) و به نظر می رسد که تغییرات احتمالی هر یک از این متغیرها در پاسخ به تمرینات ورزشی میزان ترشح و بیان لیپوکالین۲ در بافت چربی را متاثر می کند. با این وجود، اندازه گیری بیان لیپوکالین ۲ از نقاط قوت مطالعه حاضر است. در این میان، جذب گلوکز وابسته به انسولین از مهمترین محرک های رونویسی لیپوکالین۲ معرفی شده است. از آنجاکه در شرایط ناشتا سطوح گلوکز و انسولین کاهش می یابد افزایش اسیدهای چرب و نوراپی نفرین نقش مهمی را در ترشح و القای بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی بازی می کنند(۳۲). از این رو، این فرضیه مطرح می شود که کاهش سطوح ناشتایی نوراپی نفرین و اسیدهای چرب در پاسخ به تمرینات ورزشی میل به کاهش ترشح و بیان لیپوکالین-۲ در رت های آزمایشگاهی را رقم می‌زند و عدم اندازه گیری این مولفه‌های هورمونی از محدودیت‌های مطالعه حاضر است.

نتیجه‌گیری

اجرای تمرینات هوازی طولانی مدت با بهبود نیمرخ گلیسیمیک در رت های دیابتی نوع ۲ همراه است و این کاهش ریشه در کاهش مقاومت انسولین در پاسخ به تمرینات ورزشی دارد. از طرفی، با توجه به شواهد سلولی-مولکولی که از نقش موثر لیپوکالین-۲ در مسیرهای سیگنالینگ انسولین حمایت نموده اند، کاهش مقاومت انسولین در رت‌های گروه ورزش را شاید بتوان به کاهش بیان لیپوکالین-۲ در پاسخ به تمرینات هوازی نسبت داد. با این وجود، شناخت مکانیسم های

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

اصلی عهده دار این تغییرات در پاسخ به تمرینات ورزشی نیازمند مطالعات بیشتری در این زمینه است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از همکاری کارکنان انستیتو پاستور تهران در آزمایش های ژنتیکی تشکر و قدردانی می نمایند.

تعارض منافع: هیچگونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

References

1. Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C, White RD. Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American diabetes association. Diabetes Care. 2006; 29: 1433–1438.

2. Singh RG, Nguyen NN, Cervantes A, Kim JU, Stuart CE, Petrov MS. Circulating levels of lipocalin-2 are associated with fatty pancreas but not fatty liver. Peptides. 2019 Sep; 119:170117.

3. Huang Y, Yang Z, Ye Z, Li Q, Wen J, Tao Xl. Lipocalin-2, glucose metabolism and chronic low-grade systemic inflammation in Chinese people. Cardiovasc Diabetol. 2012 Jan 31; 11:11.

4. Moghadasi M, Mohammadi Domieh A. Effects of Resistance versus Endurance Training on Plasma Lipocalin-2 in Young Men. Asian J Sports Med. 2014 Jun; 5(2):108-14.

5. Jessen,BA, Stevens GJ. Expression profiling during adipocyte differentiation of 3T3-L1 fibroblasts. Gene. 2002; 299:95-100.

6. Zhang,J, Wu,Y, Zhang,Y, Leroith,D, Bernlohr,DA, Chen,X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. Mol Endocrino. 2008; l 22:1416-1426.

7. Yan QW, Yang Q, Mody N, Graham TE, Hsu CH, Xu Z, et al. The adipokine lipocalin 2 is regulated by obesity and promotes insulin resistance. Diabetes. 2007; 56:2533-2540.

8. Guo H, Jin D, Zhang Y, Wright W, Bazuine M, Brockman DA, et al. Lipocalin-2 deficiency impairs thermogenesis and potentiates dietinduced insulin resistance in mice. Diabetes. 2010; 59:1376-1385.

9. Law IK, Xu A, Lam KS, Berger T, Mak TW, Vanhoutte PM, etal.Lipocalin-2 deficiency attenuates insulin resistance associated with aging and obesity. Diabetes. 2010; 59:872-882.

10. Zhao, Peng, Pro-inflammatory cytokines induce lipocalin-2 expression in vivo and in vitro. (2014). LSU Doctoral Dissertations. 3356.

11. Atashak S, Ahmadi-Zad A. Effect of eight weeks of resistance exercise on new biomarkers of cardiovascular disease in obese adult males. Feyz 2017; 21(3): 256-64.

12. Talebi-garakani E, Hoseini-Andargoli M, Fathi R, Safarzade A R. Changes of Adipose Tissue Lipocalin-2 gene Expression in Response to One Session Exercise in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2012; 14 (2): 178-184.

13. Damirchi A, Rahmani-Nia F, Mehrabani J. Lipocalin-2: Response to a Progressive Treadmill Protocol in Obese and Normal-weight Men. Asian J Sports Med. 2011 Mar; 2(1):44-50.

14. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats. JSSU. 2017; 24 (12) :981-993

15. Eizadi M, Ravasi AA, Soori R, Baesi K, Choubineh S. Effect of three months aerobic training on TCF7L2 expression in pancreatic tissue in type 2 diabet es rats induced by streptozotocin-nicotinamide. Feyz 2017; 21(1): 1-8.

16. McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, Duncan AW. Diagnosing insulin resistance in the general population. Diabetes Care. 2001 Mar; 24(3):460-4.

17. Lopes FL, Desmarais J, Gevry NY, Ledoux S, Murphy BD. Expression of vascular endothelial growth factor isoforms and receptors Flt-1 and KDR during the peri-implantation period in the mink, Mustela vison. Biol Reprod. 2003 May; 68(5):1926-33.

18. Maltais ML, Perreault K, Courchesne-Loyer A, Lagacé JC, Barsalani R, Dionne IJ. Effect of Resistance Training and Various Sources of Protein Supplementation on Body Fat Mass and Metabolic Profile in Sarcopenic Overweight Older Adult Men: A Pilot Study. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2016 Feb; 26(1):71-7.

19. Vancea DM, Vancea JN, Pires MI, Reis MA, Moura RB, Dib SA. Effect of frequency of physical exercise on glycemic control and body composition in type 2 diabetic patients. Arq Bras Cardiol. 2009; 92(1):23-30.

20. Glans F, Eriksson KF, Segerström A, Thorsson O, Wollmer P, Groop L. Evaluation of the effects of exercise on insulin sensitivity in Arabian and Swedish women with type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract. 2009 Jul; 85(1):69-74.

21. Oliveira CAM, Paiva MF, Mota CAS, Ribeiro C, Leme JACA, Luciano E, et al. Exercise at anaerobic threshold intensity and insulin secretion by isolated pancreatic islets of rats. Islets. 2010 Jul-Aug; 2(4):240-6.

22. Lopes WA, Leite N, da Silva LR, Brunelli DT, Gáspari AF, Radominski RB, et al. Effects of

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. J Sports Sci. 2016 Oct; 34(20):1902-12.

23. Abd El-Kader S, Gari A, Salah El-Den A. Impact of moderate versus mild aerobic exercise training on inflammatory cytokines in obese type 2 diabetic patients: a randomized clinical trial. Afr Health Sci. 2013 Dec; 13(4):857-63.

24. Guo H, Jin D, Chen X. Lipocalin 2 is a regulator of macrophage polarization and NF-κB/STAT3 pathway activation. Mol Endocrinol. 2014, 28(10):1616-28.

25. Wei N. Role of Lipocalin-2 in Brain Injury after Intra cerebral Hemorrhage. J Cerebral Blood Flow Metab. 2015, 35(9):1454.

26. Sommer G, Weise S, Kralisch S. Lipocalin-2 is induced by interleukin-1β in murine adipocytes in vitro, J Cell Biochemistry, 2009; 106:103-8.

27. Mehrabai J, Damirchi M, Rahmaninia F. Effect of Two Aerobic Exercise Intensities on Lipocalin-2, Interleukin-1ß Levels, and Insulin Resistance Index in Sedentary Obese Men. Sport Physiology. 2014; 6(21): 10-95.

28. Zhao P, Elks CM, Stephens JM. The induction of lipocalin-2 expression in vivo and in vitro. J Biol Chem. 2014; 289(9): 5960-9.

29. Zhang J, Wu Y, Zhang Y, Leroith D, Bernlohr DA, Chen X. The role lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. Mol Endocrinol. 2008; 22(6): 1416-26.

30. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. Mol Cell. 2002; 10(5): 1033-43.

31. Zhang Y, Rocio R, Deis JA, Guo H, Bernlohr DA, Chen X. Lipocalin 2 Expression and Secretion Is Highly Regulated by Metabolic Stress, Cytokines, and Nutrients in Adipocytes. PLOS. 2014; 9(5): 1-9.

32. Ferreira A C, Mesquita S D, Sousa J C. From the periphery to the brain: Lipocalin-2, a friend or foe? Progress Neurobiol. 2015, 131:120-136.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]