Original Article

The effect of 8 weeks caloric restriction on PLIN5 and ATGL visceral adipose tissue and insulin resistance in type 2 diabetic male rats

Alimoradi A, Mateen-Homaie H*, Rahmati S

Department of Exercise Physiology، Faculty of Physical Education and Sport Sciences، Central Tehran Branch، Islamic Azad University، Tehran، I.R. Iran.

Received: 2022/01/3 | Accepted: 2022/03/6

Abstract:

Background: There is a close link between eating fatty foods, the prevalence of obesity and type 2 diabetes. This study aimed to evaluation the effect of 8 weeks caloric restriction on Perilipins (PLIN5) and ATGL visceral adipose tissue and insulin resistance in male diabetic rats.

Material and Methods: In this experimental study, 24 male rats were divided into healthy control, diabetic control and diabetic group with caloric restriction. In the caloric restriction group, %40 of the calorie intake was restricted and other groups received the standard food they needed freely for 8 week. The relative expression of prilipine 5 and ATGL protein by Western blotting and insulin resistance were also evaluated using Homa index. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

Result: A significant difference was showed between the means of the three groups in comparing the expression of PLIN5 and ATGL proteins. Post hoc test showed a significant increase in PLIN5 and ATGL in the caloric restriction group compared to the healthy and diabetic control group (P=0.001). There was also a significant decrease in insulin and glucose levels in the caloric restriction group compared to the diabetic control group (p = 0.001).

Conclusion: Calorie restriction may prevent insulin resistance by acting on the overlying proteins and thus reducing fat accumulation.

Keywords: Caloric restriction, Perilipins, Adipose triglyceride lipase, Insulin resistance

***Corresponding Author**

Email: hasanmatinhomaee@gmail.com

Tel: 0098 212 248 1621

Fax: 0098 212 248 1621

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2022; Vol. 26, No 1, Pages 47-54

Please cite this article as: Alimoradi A, Mateen Homaie H, Rahmati S. The effect of 8 weeks caloric restriction on PLIN5 and ATGL visceral adipose tissue and insulin resistance in type 2 diabetic male rats. ***Feyz*** 2022; 26(1): 47-54.

بررسی تأثیر ۸ هفته محدودیت کالری بر میزان PLIN5 و ATGL بافت چرب احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

آرش علی‌مرادی [۱]، حسن متین‌همایی [۲*]، صالح رحمتی احمدآباد [۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: ارتباط نزدیکی بین مصرف غذاهای چرب، همه‌گیرشدن چاقی و دیابت نوع ۲ وجود دارد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته محدودیت کالری، بر Perilipins 5 (PLIN5) و ATGL (Adipose triglyceride lipase) بافت چرب احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر دیابتی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش صحرایی نر در سه گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و گروه دیابتی با محدودیت کالریک تقسیم شدند. در گروه محدودیت کالری ۴۰ درصد از کالری دریافتی محدود شد و گروه‌های دیگر غذای استاندارد موردنیاز خود را به‌صورت آزادانه به‌مدت ۸ هفته دریافت کردند. بیان نسبی پروتئین PLIN5 و ATGL با تکنیک وسترن‌بلات و مقاومت به انسولین نیز با استفاده از شاخص هما موردارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاد از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند.

نتایج: در مقایسه بیان پروتئین PLIN5 و ATGL تفاوت معنی‌داری بین میانگین سه گروه نشان داده شد. نتایج آزمون تعقیبی بیانگر افزایش معنی‌دار PLIN5 و ATGL در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی بود (P=۰/۰۰۱). همچنین کاهش معنی‌دار انسولین و گلوکز در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل دیابتی وجود داشت (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: محدودیت کالری احتمالاً ازطریق تأثیر بر پروتئین‌های پوشاننده قطرات چربی و درنتیجه کاهش تجمع چربی می‌تواند از ایجاد مقاومت به انسولین جلوگیری کند.

واژگان کلیدی: محدودیت کالری، پری‌لیپین ۵، تری‌گلیسیرید لیپاز چربی، مقاومت به انسولین

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۴۰۱، صفحات ۵۴-۴۷

مقدمه

گرایش جهانی به سوی چاقی می‌باشد [۱] و ارتباط نزدیکی بین مصرف غذاهای چرب، همه‌گیرشدن چاقی و دیابت نوع ۲ وجود دارد [۲]. مطالعات برای درک این‌که تغییرات در متابولیسم لیپیدها چگونه موجب توسعه مقاومت به انسولین و دیابت می‌شود، ادامه دارد [۴،۳]. در چاقی احشایی، مکانیسم‌های طبیعی بدن مختل و تجمع دی‌آسیل گلیسرول منجر به فعال‌شدن اعضای خانواده پروتئین کیناز C می‌شود [۳].

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه فیزیولوژی و تغذیه ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی و تغذیه ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه فیزیولوژی و تغذیه ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**
تهران، گروه فیزیولوژی و تغذیه ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۳ **دورنویس:** ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۱

پست الکترونیک: hasanmatinhomaee@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

پروتئین کیناز C، ریشه سرین در سوبسترای گیرنده‌های انسولین Insulin receptor substrate 1 (IRS-1) را فسفوریله کرده، موجب مهار فعالیت و مسدودشدن انتقال پیام پایین‌دست آن می‌شود [۴]. اختلال در مسیر سیگنالینگ پایین‌دست منجر به کاهش جذب گلوکز می‌شود که در این حالت مقاومت به انسولین رخ می‌دهد [۵]. چربی مازاد رژیم غذایی احتمالاً در پاتوژنز دیابت نوع ۲ نقش مهمّی دارد [۶]. پریلیپین‌ها (Perilipins) روی سطوح قطرات چربی قرار داشته، باعث افزایش لیپولیز می‌شوند [۸،۷]. مهم‌ترین خانواده پروتئین‌های پوشاننده قطرات چربی پریلیپین‌های PLIN1 تا PLIN5 است [۸]. برخی از پروتئین‌های پوشاننده، بر روی قطرات چربی جای گرفته، شامل آنزیم‌های لیپوژنیک و لیپولیتیک هستند [۹]. این پروتئین‌ها در انتقال لیپاز از شبکه اندوپلاسمیک به دستگاه گلژی و در انتقال لیپاز بافت چربی ATGL (Adipose triglyceride lipase) به قطرات چربی نقش دارند [۱۰]. سطوح PLIN5 در زمان انقباض عضلات ناشی از فعالیت بدنی افزایش یافته، رونویسی ژن فعال‌کننده PGC-1α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha) را القا می‌کند. این پریلیپین عمدتاً در بافت‌های با ظرفیت اکسیداتیو بالا بیان می‌شود [۱۱]. افزایش PGC-1α منجر به افزایش بیان عامل رونویسی

میتوکندریایی Mitochondrial transcription) (TFAM) A factor A) و سایر زیرواحدهای زنجیره انتقال الکترون می‌شود [۱۳،۱۲]. به نظر می‌رسد نقش تنظیمی لیپولیز برای PLIN5 هنوز مشخص نیست. بعضی مطالعات نقش تسهیل‌کننده در لیپولیز و بعضی دیگر نقش مهارکنندگی را برای PLIN5 در لیپولیز تأیید کرده‌اند [۱۴]. بیان بیش از حدّ PLIN5 در عضله رت‌ها تجمع تری‌گلیسرید را افزایش می‌دهد [۱۴]. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که PLIN5 در زمانی‌که بدن با محدودیت کالری روبه‌روست، مورداستفاده قرار می‌گیرد و به نظر می‌رسد مطالعه واکنش پروتئین‌های قطره چربی به محدودیت کالری منجر به ایجاد شرایطی شود که تشـخیص مکانیسم زیربنایی عملکرد تری‌گلیسرید رژیم‌های غذایی و دیابت نوع ۲ را فراهم نماید [۱۴]. همچنین، عقیده بر این است که ATGL لیپولیز را با برداشتن نخستین اسیدهای چرب آزاد از تری‌گلیسرید و تولید دی‌گلیسرید شروع نموده، برای لیپولیز بتا آدرنرژیک و پایه تری‌گلیسرید در سلول‌های بافت چربی نقش میانجی دارد [۱۵]. مهار ATGL در بافت ذخیره چربی انسان کلّ فعالیت تری‌گلیسرید لیپاز را تا ۸۰ درصد کاهش می‌دهد [۱۶]. ارزیابی پروتئین‌های پریلیپین در شرایط ورزش و محدودیت کالری در افراد دیابتی، هنگامی‌که محتویات IMTG (Intramyocellular triacylglycerol) مستقل از تغییرات سطوح پروتئین‌های PLIN است، تغییر می‌کند و بنابراین ممکن است سرنخ‌هایی را درمورد نقش بالقوه پروتئین‌های PLIN در مقاومت به انسولین ارائه دهد [۱۷]. در پژوهش‌های موجود، نشان داده شده است که PLIN5 در زمان محدودیت کالری در بافت عضله اسکلتی، با افزایش اکسیداسیون چربی به دنبال فعالیت و تحریک لیپولیتیکی، همراه بوده است [۱۷]. با این‌حال نقش احتمالی PLIN5 و تنظیم لیپولیز بافت چربی در بیشتر قسمت‌ها نادیده گرفته شده است. Glardo و همکاران (۲۰۱۶) افزایش بیان PLIN5 را به‌دنبال یک تمرین حاد و تحریک لیپولیز و اکسیداسیون چربی گزارش نمودند [۱۸]. باتوجه به اهمیت‌یافتن مکانیسم‌های درون‌سلولی تسهیل‌کننده یا مهارکننده لیپولیز تری‌گلیسریدهای درون‌عضلانی در کاهش یا افزایش فرآیندهای التهابی ناشی از دیابت یا سایر اختلالات متابولیکی، بررسی عوامل تنظیم‌کننده ذخیره و آزادشدن تری‌گلیسریدهای درون‌عضلانی ازجمله محدودیت کالری بسیار اهمیت دارد. همچنین از آن‌جا که PLIN5 ازجمله پروتئین‌های مهم در ذخیره‌سازی و مصرف IMTGها است و نشان داده شده که عدم گردش و ذخیره‌سازی آن با مقاومت به انسولین و توسعه دیابت ارتباط دارد و محدودیت کالری ممکن است موجب بهینه‌سازی مصرف و ذخیره‌سازی IMTG شود [۱۹] و در پژوهش‌های گذشته نیز در این مورد تناقض وجود دارد، بر این اساس در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر ۸ هفته محدودیت کالری PLIN5 و ATGL بافت چرب احشایی و مقاومت به انسولین رت‌های نر دیابتی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با کد اخلاق IR.IAU.CTB.REC.1400.017 تأیید شده است. پژوهش حاضر از نوع تجربی است که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. در این تحقیق از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بالغ با دامنه وزنی ۴۲±۲۰۴ گرم و سنّ ۸ هفته استفاده شد. برای سازگاری با محیط جدید، موش‌ها در محیطی با دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و در قفس‌های پلی‌کربنات نگهداری شدند. پس از ۲ هفته، رت‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل سالم (۸ سر) و دیابتی نوع ۲ (D) (۱۶ سر) تقسیم شدند. سپس، گروه دیابتی به‌مدت ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب و گروه کنترل سالم، غذای استاندارد مصرف کردند. پس از اتمام ۱۰ هفته، در گروه دیابتی، تزریق تک‌دوز استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) حل‌شده در بافر سدیم‌سیترات با ۵/ PH۴= به مقدار mg/kg ۳۰ به روش درون‌صفاقی(IP) انجام شد [۲۰]. برای تأیید ایجاد دیابت، ۷۲ ساعت پس از تزریق با ایجاد جراحت کوچک در دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری (شرکت بورر، مدل GL42، ساخت کشور آلمان) با دامنه سنجش mg/dl ۷۰۰-۵ و حساسیت mg/dl ۱۰ قرار گرفت و توسط دستگاه گلوکومتر خوانده شد و سطوح گلوکز خون بالاتر از mg/dl ۲۵۰ به‌عنوان شاخص دیابتی‌شدن در نظر گرفته شد [۲۰]. در ادامه موش‌های صحرایی دیابتی‌شده به‌طور تصادفی به ۲ گروه محدودیت کالری و کنترل دیابتی (DC) تقسیم شدند تا مطالعه حاضر روی سه گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی و گروه دیابتی محدودیت کالریک انجام شود. گروه محدودیت کالریک روزانه تحت مداخله غذایی قرار گرفت. غذای گروه محدودیت کالری دو هفته تحت‌نظر قرار گرفته شد تا میانگین غذای دریافتی هر قفس مشخص شود. سپس برای این گروه به‌مدت ۸ هفته به میزان ۴۰ درصد از کالری دریافتی محدود شد [۱۸] و گروه‌های کنترل سالم و دیابتی ۱۰۰ درصد غذای موردنیاز خود را به‌صورت آزادانه دریافت کردند. پس از پایان هفته هجدهم، موش‌ها با تزریق داخل‌صفاقی ترکیبی از کتامین (mg/kg ۵۰-۳۰) و زایلازین (mg/kg ۳-۵) بیهوش شدند و بافت چرب دور روده برداشته شد و پس از نمونه‌گیری خون، با ایجاد برش در ناحیه جانبی شکم، بافت چربی از نواحی احشایی بدن استخراج و

پس از پاکسازی از خون، به فالکون استریل‌شده حاوی سرم منتقل و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این روش ابتدا پروتئین‌ها با الکتروفورز در ژل آکریلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (SDS) تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشا ترانسفر شده، سپس با روش کمّی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی ظاهر شدند. دانسیته باندها توسط نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری شد. حساسیت این روش در حدّ پیکوگرم بر میلی‌لیتر است. سطوح گلوکز به‌وسیله گلوکومتر ازطریق بریدن نوک دم، سطوح پلاسمایی انسولین با کیت الایزا با حساسیت کمتر از ۵ میکرویونیت بر میلی‌لیتر و ضریب تغییرات ۰/۳۶ درصد، و مقاومت به انسولین نیز با استفاده از شاخص هما موردارزیابی قرار گرفت. برای مطالعه معنی‌داری بین گروهی در پس‌آزمون به‌ترتیب از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیه عملیات آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و معنی‌داری آزمون‌ها در سطح $P\leq$۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج

در شروع تحقیق، تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزنی گروه‌های موردمطالعه وجود نداشت. اما ۸ هفته بعد از اعمال متغیرهای مستقل دیابت و محدودیت کالری، بین سه گروه موردمطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در بررسی مقادیر گلوکز و وزن در بین سه گروه، مشاهده شد که مقادیر گلوکز خون و وزن گروه محدودیت کالری به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش یافته است ($P\leq$۰/۰۵) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- میانگین داده‌های مربوط به وزن بدن و گلوکز خون موش‌های صحرایی

گروه‌ها	وزن بدن (kg)		گلوکز خون mg/dl	
	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	پس‌آزمون
کنترل سالم	۲۰۳/۲۳±۶/۱۵	۳۰۵/۶۵±۵/۸۶	۱۳۴/۵۷±۲/۱۸	۱۳۸/۷۸±۴/۷۸
محدودیت کالری	۱۹۹/۹۵±۴/۳۹	۲۹۳/۲۸±۶/۴۴	۲۶۵/۱۲±۳/۹۸	۱۴۵/۳۹±۵/۸۹
کنترل دیابتی	۲۰۶/۲۷±۵/۷۸	۳۵۴/۷۶±۵/۲۱	۲۵۵/۳۶±۲/۳۶	۲۹۶/۰۵±۱۱/۵۲

جدول شماره ۲- آزمون آنوا برای گلوکز و وزن بدن

	مجموع سوم مربعات	میانگین متوسط	درجه آزادی	F	P
وزن	۱۶۰۵/۶	۸۰۲/۸	۲	۲۶۵/۳۵	۰/۰۰۴
گلوکز	۲۶۳۴/۳۹	۱۳۱۷/۱۹	۲	۵۵۶/۴۸	۰/۰۰۲

جدول شماره ۳- نتایج آزمون تعقیبی برای گلوکز و وزن بدن در پس‌آزمون

	گروه	گروه	تفاوت میانگین	انحراف معیار	P
وزن (گرم)	کنترل سالم	محدودیت کالری	۴/۰۵	۲/۵۴	۰/۷۵
		کنترل دیابت	۴۶/۵۷	۲	۰/۰۰۶
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۶۲/۵	۳/۱	۰/۰۱
گلوکز Mg/dl	کنترل سالم	محدودیت کالری	۳۶۳/۱۶	۱۱	۰/۲۶
		کنترل دیابت	۱۸۱/۸۳	۱۲	۰/۰۰۵
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۱۸۱/۳۳	۹	۰/۰۰۷

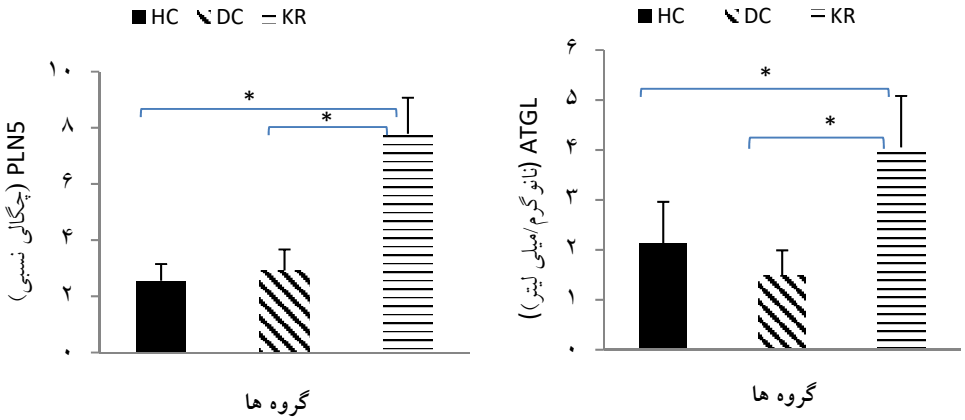
نتایج آزمون ANOVA در مقایسه بیان پروتئین PLIN5 و ATGL در سه گروه کنترل سالم، محدودیت کالری و کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری را بین میانگین سه گروه نشان داد. نتایج آزمون تعقیبی، بیانگر افزایش معنی‌دار PLIN5 و ATGL در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی بود (P=۰/۰۰۱). همچنین بین گروه کنترل سالم و دیابتی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۰۱). سطوح سرمی گلوکز و انسولین نیز بین گروه‌های پژوهش تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (P=۰/۰۰۱). نتایج آزمون تعقیبی، بیانگر کاهش معنی‌دار انسولین و گلوکز در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل دیابتی بود (P=۰/۰۰۱). همچنین بین گروه کنترل دیابتی و کنترل سالم نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت. (جدول شماره ۵) (شکل شماره ۱).

جدول شماره ۴- نتایج آزمون آنوا

	مجموع مربعات	میانگین متوسط	F	مقدار P
گلوکز	۳۳۹۰/۴۶	۱۶۹۵/۲۳	۴۴۹/۴۸	۰/۰۰۱
انسولین	۶/۹	۳۰/۴۵	۲/۲۱	۰/۰۰۱
ATGL	۳۴/۸۵	۱۷/۴۲	۱۷۷/۸۴	۰/۰۰۱
پریلیپین ۵	۹/۳۹	۴/۶۹	۲۰/۲۵	۰/۰۰۱

جدول شماره ۵- نتایج آزمون تعقیبی توکی

	گروه	گروه	تفاوت میانگین	انحراف معیار	P
پریلیپین ۵ (چگالی نسبی)	کنترل سالم	محدودیت کالری	۵/۳	۱/۰۲	۰/۰۰۱
		کنترل دیابت	۰/۴۲	۰/۲۱	۰/۰۰۱
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۴/۸۷	۰/۷	۰/۰۰۱
گلوکز Mg/dl	کنترل سالم	محدودیت کالری	۳۶۳/۱۶	۱۱	۰/۲۶
		کنترل دیابت	۱۸۱/۸۳	۱۲	۰/۰۴
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۱۸۱/۳۳	۹	۰/۰۰۷
ATGL Pg/ml	کنترل سالم	محدودیت کالری	۱/۹۲	۰/۰۶	۰/۰۰۱
		کنترل دیابت	۰/۶۵	۰/۰۲	۰/۰۰۱
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۲/۵۷	۰/۸	۰/۰۰۱
انسولین (uIU/mL)	کنترل سالم	محدودیت کالری	۱/۲	۰/۰۶	۰/۶۵
		کنترل دیابت	۶/۵۱	۱/۰۲	۰/۰۰۱
	کنترل دیابت	محدودیت کالری	۵/۹۸	۰/۸۱	۰/۰۰۱



شکل شماره ۱- تغییرات PLIN5 و ATGL در گروه‌های مختلف. HC: گروه سالم، Dc: کنترل دیابتی و KR: محدودیت کالری.
* تفاوت معنادار بین گروهی ($P \leq ۰/۰۵$)

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح انسولین و گلوکز همراه با محدودیت کالری در موش‌های دیابتی کاهش معنی‌داری یافت، که با تحقیقات Mackenzie (۲۰۱۵) [۱] و Akbar (۲۰۱۱) [۲] همسو بود. تصور می‌شود که برخی عوامل، ازجمله: محتوای لیپید عضله، فعالیت آدنوزین منوفسفات کیناز، محتوای گلیکوژن عضله و افزایش سنتز گلیکوژن، افزایش پیام‌رسانی به گیرنده انسولین، افزایش بیان پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز، کاهش آزادسازی اسیدهای چرب آزاد، افزایش آزادسازی گلوکز خون به عضله و تغییرات در ترکیب عضله در حین افزایش برداشت گلوکز، نقش مهمّی در تنظیم سازوکار تأثیر محدودیت کالری بر شاخص مقاومت به انسولین داشته باشد [۱۸]. نتایج تحقیقات دیگر نشان داده است که در روند دیابتی‌کردن حیوانات، تخریب سلول‌های B پانکراس ترشح‌کننده انسولین، موجب کاهش شدید انسولین و افزایش فعالیت HSL (Hormone-sensitive lipase) می‌گردد، که این فرآیند با کاهش بافت چربی در مدل‌های کاهش انسولینی همراه بوده است

[۲۰]. باتوجه به این‌که چاقی مهم‌ترین عامل پیشرفت مقاومت به انسولین است، کاهش درصد چربی می‌تواند سبب بهبود در حساسیت به انسولین شود که از اهداف آغازین فرآیند درمان است [۱۹]. از تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که محدودیت کالری به کاهش مقاومت به انسولین در رت‌های دیابتی می‌انجامد. مطالعات نشان داده است که محدودیت کالری باعث بهبود حساسیت به انسولین در آزمودنی‌های مبتلا به مقاومت به انسولین می‌شود. این نکته به هم‌زمانی کاهش وزن و تنظیم مثبت بیان پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز به عضله اسکلتی نسبت داده شده است [۲۲،۲۱]. همچنین در پژوهش حاضر مقادیر ATGL در بین سه گروه تحقیق تفاوت معنی‌داری را نشان داد. نتایج آزمون تعقیبی بیانگر افزایش معنی‌دار ATGL در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی بود. مطالعات نشان دادند که ATGL در عضله اسکلتی، شروع‌کننده تجزیه IMTG است که اوّلین اسید چرب آزاد را از تری‌گلیسرید جدا و آن را به دی‌گلیسرید تبدیل می‌کند [۲۳]. در غیاب آنزیم ATGL تجمع تری‌گلیسرید دیده می‌شود که نشان‌دهنده نقش تنظیمی ATGL در اکسیداسیون چربی است. حتی زمانی‌که HSL و دیگر آنزیم‌های درگیر در تجزیه تری‌گلیسرید به‌وسیله بازدارنده مربوط به خود منع می‌شوند، هیدرولیز تری‌گلیسرید به میزان ۵۸ درصد مقادیر پایه دیده می‌شود [۲۴]. این پاسخ، شواهدی غیرمستقیم مبنی‌بر دخالت TGF-β1 (Transforming growth factor beta 1) در تنظیم اکسیداسیون تری‌گلیسرید ازطریق آنزیم ATGL را ارائه می‌نماید [۲۵]. متعاقب محدودیت کالری، تخلیه گلیکوژنی در عضله حادث می‌شود که راهکار عضله در چنین مواقعی استفاده از اکسیداسیون چربی درون‌عضلانی جهت تأمین نیازهای انرژتیک خود و حفظ هرچه بیشتر گلوکز جهت بازسازی سریع‌تر ذخایر گلیکوژنی است [۲۴]. با این‌وجود، رد یا تأیید این ادعا منوط به اندازه‌گیری سطوح گلیکوژن در دوره محدودیت کالری است و به‌دلیل محقق‌نشدن این مهم در تحقیق حاضر، اظهارنظر قطعی در این‌باره میسر نیست، اما در تحقیقات انسانی انجام‌گرفته، نرخ استفاده از تری‌گلیسرید با نرخ بازسازی گلیکوژن ارتباط منفی داشته است [۲۶] که می‌تواند از این ادّعا حمایت نماید. در کنار عوامل فوق، ذکر این نکته حائز اهمیت است که عملکرد یک آنزیم، نتیجه بیان و فعالیت آن آنزیم است. این احتمال وجود دارد که در ساعات آغازین ریکاوری (بعد از ورزش) نیز اکسیداسیون تری‌گلیسرید در اثر افزایش فعالیت آنزیم ATGL دستخوش تغییر شده باشد. این‌که TGF-β1 چگونه می‌تواند بیان ATGL در عضله را تغییر دهد، از طرح تحقیق حاضر قابل استناد نیست و بررسی مسیر سیگنالینگ TGF-β1 در متابولیسم سلولی و اکسیداسیون لیپید به محققان بعدی پیشنهاد می‌شود. در مطالعات اخیر گزارش شده است که میزان لیپولیز در طی محدودیت کالری همراه با افزایش فعالیت ATGL افزایش یافته است. براساس اطلاعات جمع‌آوری‌شده در آزمایشگاه و دیگر تحقیقات موجود در این‌زمینه می‌توان مدلی جدید تدوین کرد که چگونه لیپولیز در سلول‌های چربی به‌وسیله پری‌لیپین‌ها 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 pKa در لیپولیز بافت چربی به جای فعال‌سازی لیپازها می‌گردد. مدل اخیر به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای پیچیده است. زمانی‌که حیوانات در شرایط سیری قرار دارند، PLIN5 به‌طور حداقل فسفوریله‌شده وجود دارد و شکل‌گیری حفاظ‌های موجود در سطح قطرات چربی به‌صورتی است که باعث ایجاد محدودیت در دسترسی لیپازهای سیتوسولیک به تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ذخیره‌شده می‌گردد. لیپولیز در یک سرعت بسیار پایین اتفاق می‌افتد و احتمالاً ازطریق ATGL، لیپازی که با بیشترین ظرفیت خود متصل به قطرات چربی است، کاتالیز می‌شود [۱۳]. علاوه‌براین نتایج پژوهش حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار PLIN5 در گروه محدودیت کالری نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی بود. همچنین بین گروه کنترل سالم و دیابتی نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت؛ بدین‌معنی که در گروه دیابتی مقادیر PLIN5 در کمترین سطح خود قرار داشت. Shepherd و همکاران (۲۰۱۳) افزایش بیان PLIN5 به‌دنبال محدودیت کالری و تحریک لیپولیز و ارتباط با اکسیداسیون چربی را گزارش نمودند و نشان دادند که از کار انداختن یا فلج کردن PLIN5 در میوتیوب‌های اوّلیه به‌شدت اکسیداسیون چربی را کاهش می‌دهد و به نظر می‌رسد در به حرکت درآوردن چربی برای لیپولیز و متابولیسم، درگیر است [۲۷]. برخلاف نظریه‌ای که بیان می‌دارد پریلیپین‌ها به تجمع چربی کمک می‌کنند، بیان PLIN5 در بافت چرب گروه محدودیت کالری از سطح بالایی برخوردار بود، اما وزن این گروه کمترین مقدار را داشت که این کاهش وزن می‌تواند به فراخوانی میتوکندری مرتبط باشد. از این‌طریق می‌توان برداشت کرد که با افزایش PLIN5 و از سوی دیگر فعال‌شدن مسیر AMPK(AMP-activated protein kinase) و SIRT-1 (Sirtuin 1) در پی محدودیت کالری، بایوژنز میتوکندری افزایش داشته و موجب شده است تا اکسیداسیون چربی‌ها افزایش یافته و از تجمع بیش از حدّ چربی که یک عامل ایجاد مقاومت به انسولین است، جلوگیری نماید؛ چراکه تجمع چربی در بافت احشایی می‌تواند موجب مقاومت به انسولین و دیابت نوع دوم شود [۲۸]. درواقع بیان بالای پریلیپین ۵ در عضله اسکلتی، تجمع تری‌گلیسرید

را افزایش می‌دهد. Holmes و همکاران میزان پریلیپین ۵ را در موش‌ها افزایش دادند تا نقش آن را در کنترل متابولیک و مقاومت به انسولین بررسی کنند. آن‌ها مشاهده کردند که همراه با افزایش پریلیپین ۵ در عضله اسکلتی، مقاومت به انسولین کاهش یافته است [۲۰]. برخی مطالعات نیز نشان دادند که سطوح پریلیپین عضله نعلی موش‌های صحرایی به‌دنبال فعالیت بدنی با افزایش معنی‌داری همراه بوده‌اند. Minnaard و همکاران [۲۵] در موش‌های صحرایی و Peters و همکاران [۲۹]، افزایش PLIN5 را در عضله اسکلتی انسان در اثر ورزش هوازی گزارش نمودند. Kuramoto و همکاران نیز بیان نمودند که هشت هفته تمرین تناوبی سبب افزایش معنی‌دار PLIN5 و لیپاز حساس به هورمون در بیماران مبتلا به دیابت شده است [۳۰]. همچنین نشان داده شده است که افزایش بیان PLIN5 در شرایط آزمایشگاهی موجب افزایش ذخیره‌سازی TAG (Triacylglycerol) پس از ورزش می‌شود [۳۰]. در مطالعه حاضر، سطوح PLIN5 پس از ۸ هفته محدودیت کالری با افزایش معنی‌داری همراه بوده است که با نتایج تحقیقات Kuramoto و همکاران هم‌راستا می‌باشد و احتمالاً با مقادیر IMTG ارتباط دارد [۱۲]. درواقع همراه‌با بایوژنز میتوکندریایی، پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین (Calmodulin-dependent protein kinase II) نسخه‌برداری از DNA میتوکندری را افزایش می‌دهد. این اثر به‌وسیله بیان ژنی PGC-1α انجام می‌گیرد. PGC-1α فعال‌شده به فاکتور رونویسی متصل می‌شود و بیان ژن‌های میتوکندری را که در هسته واقع شده‌اند و DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری‌شده در هسته تارهای عضلات را تنظیم می‌کند [۱۹]. در تحقیق حاضر، مقدار TGF-β1، PGC-1α و SIRT-1 بررسی نشده است که از محدودیت‌های تحقیق به‌شمار می‌آید.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج مطالعه حاضر، محدودیت کالریک احتمالاً می‌تواند موجب افزایش بیان PLIN5 شده که همسو با فراخوانی میتوکندری و اتصال آن (PLIN5) به قطرات چربی می‌تواند اکسیداسیون چربی‌ها را افزایش داده، از تجمع بیش از حدّ چربی جلوگیری نماید. همچنین، افزایش بیان ATGL در بافت چربی و کاهش وزن در گروه محدودیت کالریک می‌تواند نشان‌دهنده این امر باشد که پریلیپین فسفوریله در قطرات چربی افزایش یافته که موجب لیپولیز بیشتر چربی‌ها شده و از تجمع چربی جلوگیری کرده است و در پایان باعث کاهش مقادیر چربی و افزایش حساسیت به انسولین می‌شود. محدودیت کالری به‌طور بالقوه می‌تواند رسیدن به سلامت را در یک مدت زمانی مؤثر و کارآمد میسر کند؛ مطالعات زیادی بر روی افراد سالم وجود دارد که نشان می‌دهد محدودیت کالری باعث کاهش شانس ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی می‌شود که مشابه یا برابر با افرادی است که در فعالیت‌های منظم ورزشی شرکت می‌کنند.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه مقطع دکتری رشته تربیت‌بدنی گرایش فیزیولوژی ورزش است که در دانشگاه آزاد واحد تهران مرکز به تصویب و بدون حمایت مالی به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات اساتید محترم دانشکده تقدیر و تشکر می‌شود.

References:

[1] Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Brickley G, Watt P. Acute hypoxia and exercise improve insulin sensitivity (SI2*) in individuals with type 2 diabetes. ***Diabetes Metab Res Rev*** 2011; 27: 94-101.

[2] Akbar S, Bellary S, Griffiths HR. Dietary antioxidant interventions in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. ***British J Diabetes Vascular Disease*** 2011; 11: 62-8.

[3] 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: 1815-26.

[4] 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: 211-22.

[5] Cartee GD. Roles of TBC1D1 and TBC1D4 in insulin-and exercise-stimulated glucose transport of skeletal muscle. ***Diabetologia*** 2015;58:19-30

[6] 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: E1158-E65.

[7] Paul A, Chan L, Bickel PE. The PAT family of lipid droplet proteins in heart and vascular cells. ***Curr Hypertens Rep*** 2008; 10: 461-6.

[8] 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: 2679-90.

[9] Titus AR, Ridgway EN, Douglas R, Brenes ES, Mann EK, Kooijman EE. The C-Terminus of

Perilipin 3 Shows Distinct Lipid Binding at Phospholipid-Oil-Aqueous Interfaces. ***Membranes*** 2021; 11: 265.
[10] Whytock K, Shepherd S, Wagenmakers A, Strauss J. Hormone sensitive lipase preferentially redistributes to perilipin-5 lipid droplets in human skeletal muscle during moderate-intensity exercise. ***J Physiol*** 2018.
[11] Dubé JJ, Fleishman K, Rousson V, Goodpaster BH, Amati F. Exercise dose and insulin sensitivity: relevance for diabetes prevention. ***Med Sci Sports Exerc*** 2012; 44: 793.
[12] 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: E857-E62.
[13] Zhang X, Jing S, Lin H, Sun W, Jiang W, Yu C, et al. Anti-fatigue effect of anwulignan via the NRF2 and PGC-1α signaling pathway in mice. ***Food Funct*** 2019; 10: 7755-66
[14] Louche K, Badin P-M, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, de Glisezinski I, et al. Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. ***J Clin Endocrinol Metab*** 2013; 98: 4863-71.
[15] 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: R29-R36.
[16] 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: 1936-46.
[17] Kim D-H, Kim S-H, Kim W-H, Moon C-R. The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF-α of soleus muscle in obese Zucker rats. ***J Exerc Nutrition Biochem*** 2013; 17: 199.
[18] Gallardo-Montejano VI, Saxena G, Kusminski CM, Yang C, McAfee JL, Hahner L, et al. Nuclear Perilipin 5 integrates lipid droplet lipolysis with PGC-1α/SIRT1-dependent transcriptional regulation of mitochondrial function. ***Nat Commun*** 2016; 7: 1-14.
[19] Liu Y, Ni Y, Zhang W, Sun YE, Ma Z, Gu X. Antinociceptive effects of caloric restriction on post-incisional pain in nonobese rats. ***Sci Rep*** 2017; 7: 1-11.
[20] Holmes A, Coppey LJ, Davidson EP, Yorek MA. Rat models of diet-induced obesity and high fat/low dose streptozotocin type 2 diabetes: effect of reversal of high fat diet compared to treatment with enalapril or menhaden oil on glucose utilization and neuropathic endpoints. ***J Diabetes Res*** 2015;2015.
[21] 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: 2021.
[22] Qi Y, Xie M, Wei L, Hou G. Insulin resistance exacerbates lung inflammation in obese patients via PI3K/Akt signaling pathway. ***Eur Respiratory Soc*** 2019; 54: PA3343.
[23] Mengeste AM, Rustan AC, Lund J. Skeletal muscle energy metabolism in obesity. ***Obesity*** 2021; 29: 1582-95.
[24] Larsen S, Vigelsø A, Dandanell S, Prats C, Dela F, Helge JW. Simvastatin-induced insulin resistance may be linked to decreased lipid uptake and lipid synthesis in human skeletal muscle: the LIFESTAT study. ***J Diabetes Res*** 2018; 2018.
[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: 4077-85.
[26] Zhou J, Waskowicz LR, Lim A, Liao X-H, Lian B, Masamune H, et al. A liver-specific thyromimetic, VK2809, decreases hepatosteatosis in glycogen storage disease type Ia. ***Thyroid*** 2019;29:1158-67.
[27] Shepherd SO, Cocks M, Tipton K, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. ***J Physiol*** 2013; 591: 657-75.
[28] 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: 2721-31.
[29] 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: 724-35.
[30] Kuramoto K, Okamura T, Yamaguchi T, Nakamura TY, Wakabayashi S, Morinaga H, et al. Perilipin 5, a lipid droplet-binding protein, protects heart from oxidative burden by sequestering fatty acid from excessive oxidation. ***J Biol Chem*** 2012; 287: 23852-63.