



اثر یک جلسه تمرین استقامتی بر بیان ژن و فعالیت لیپوپروتئین لیپاز بافت چربی موش‌های صحرایی

میترا خادم الشریعه^۱، سیدعلیرضا حسینی‌کاخک^{۱*}، محمدرضا حامدی‌نیا^۱، طیبه امیری‌پارسا^۱

^۱ گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه حکیم سبزواری

(دریافت مقاله: ۹۰/۵/۲۵ - پذیرش مقاله: ۹۰/۹/۶)

چکیده

زمینه: لیپوپروتئین لیپاز (LPL) یک آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم چربی بوده و نقش مهمی در برداشت لیپوپروتئین‌ها از پلاسمای دارد.

اثر تمرینات حاد بر LPL بافت چربی به خوبی روشن نمی‌باشد. هدف از تحقیق حاضر بررسی پاسخ ژن و فعالیت LPL بافت چربی به یک جلسه تمرین در موش‌های صحرایی نر بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 388 ± 31 گرم به طور تصادفی در دو گروه کنترل (۱۲ سر) و تجربی (۱۲ سر) قرار گرفتند. گروه تجربی، یک جلسه تمرین به مدت ۱۲۰ دقیقه و با شدت ۱۸ متر بر دقیقه را روی تردمیل انجام دادند. بلافضلله، ۲ و ۲۴ ساعت پس از تمرین موش‌ها بیهوده و نمونه‌گیری خون و بافت چربی اپیدیدیم انجام شد. بیان ژن LPL به روش نسخه‌برداری معکوس واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (RT-PCR) مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس داده‌های تکراری تجزیه و تحلیل شد. سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد که بیان ژن LPL بافت چربی بلافضلله ($P = 0.01$, $F = 14/98$)، دو ($P = 0.01$, $F = 3/97$) و ۲۴ ساعت ($P = 0.001$, $F = 2/48$) پس از تمرین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت. همچنین فعالیت LPL بافت چربی بلافضلله (۰.۰۵، $P = 0.001$, $F = 3/05$) و ۲۴ ساعت (۰.۰۳، $P = 0.001$, $F = 2/06$) پس از تمرین به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت.

نتیجه‌گیری: افزایش LPL بافت چربی پس از یک جلسه تمرین حاد بدان معنی است که تا ۲۴ ساعت پس از تمرین ما شاهد کاهش تری‌گلیسریدهای پلاسمای و تجمع آنها در بافت چربی خواهیم بود. این مسئله حاکی از آثار مثبت حتی یک جلسه تمرین بر متabolism چربی‌هاست.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، LPL، موش صحرایی، بافت چربی

*سبزوار، توحید شهر، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه حکیم سبزواری

مقدمه

بدنی می‌تواند نقش کلیدی در حفظ تعادل انرژی از طریق کاهش بافت چربی و بهبود متابولیسم لیپید و کربوهیدرات داشته باشد (۷) و با افزایش هزینه انرژی، بر سطوح LPL و متابولیسم تری‌گلیسیرید پلاسما اثرگذار باشد (۴). بیشتر مطالعات اثر تمرینات ورزشی طولانی مدت را بر بیان ژن LPL بررسی کرده‌اند (۸ و ۹) و در مطالعات کمی به بررسی یک جلسه تمرین بر بیان ژن LPL در حیوانات پرداخته شده است. همچنین نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه با استفاده از هر دو شیوه تمرینی (بلند مدت و کوتاه مدت) نیز متناقض است. برخی کاهش (۱۰ و ۱۱)، برخی عدم تغییر (۸) و برخی افزایش (۱۲) در بیان ژن و فعالیت LPL بافت چربی را گزارش کرده‌اند. به عنوان مثال در یکی از این مطالعات اثر یک دوره تمرین کوتاه مدت ورزشی بر بیان ژن و فعالیت LPL در بافت چربی مردان بررسی شد. نتیجه تحقیق حاکی از عدم تغییر بیان ژن و فعالیت LPL بود (۸).

در مطالعه‌ای دیگر اثر یک جلسه تمرین شنا بر بیان ژن و فعالیت LPL در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار گرفت. نتیجه تحقیق کاهش فعالیت و بیان ژن LPL را بلا فاصله پس از تمرین نشان داد (۱۰). بالاخره در یک مطالعه متفاوت، اثر یک جلسه تمرین بر فعالیت LPL در مردان و زنان بررسی شد. یافته‌های تحقیق بیانگر افزایش فعالیت LPL در بافت چربی مردان (و نه زنان) در اثر یک جلسه تمرین بود (۱۲).

بنابراین هر چند یکی از عوامل اثرگذار بر LPL تمرین و فعالیت بدنی می‌باشد، اما اثر تمرین حاد روی بیان و فعالیت LPL به خوبی مشخص نیست (۱۳). با توجه به بررسی محقق تا زمان انجام این

بافت چربی صرفاً یک بافت غیرفعال ذخیره کننده انرژی نبوده بلکه یک اندام درون‌ریز فعال می‌باشد که مواد بیولوژیک مختلفی را تولید و بیان می‌کند (۱).

بافت چربی همچنین نقش مرکزی در تنظیم هموستاز انرژی دارد (۲). بافت چربی این اثر تنظیمی خود را از طریق تولید آدیپوکاین‌ها یا آنزیم‌ها انجام می‌دهد. از جمله این آنزیم‌ها لیپوپروتئین لیپاز (LPL) می‌باشد (۳) که عمدتاً توسط بافت چربی و عضله بیان شده (۴) و سبب هیدرولیز تری‌گلیسیریدها (TG) و لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسیرید می‌گردد. بنابراین نقش مهمی در هدایت اسیدهای چرب آزاد به سوی بافت چربی و عضلات اسکلتی ایفا می‌کند.

LPL به عنوان یک تنظیم کننده کلیدی ذخایر چربی شناخته شده است، به طوری که باعث برداشت تری‌گلیسیریدها از جریان خون و انتقال آن‌ها به داخل سلول‌های چربی می‌شود (۵).

تحقیقات انجام شده در دو دهه اخیر نشان داده‌اند که LPL علاوه بر آنکه در متابولیسم کلی چربی‌ها و انتقال آن‌ها نقش اساسی دارد، دارای عملکردهای غیرکاتالیتیکی نیز می‌باشد، به طوری که ناهنجاری‌هایی در عملکرد LPL با برخی شرایط پاتوفیزیولوژیکی مانند آترواسکلروز، شیلومیکرونیما^۱، چاقی، بیماری آزالزیم، اختلالات چربی خون^۲ همراه با دیابت، مقاومت انسولینی و عفونت همراه می‌باشد (۳). بنابراین مطالعه LPL و عوامل اثرگذار بر آن از لحاظ بالینی حائز اهمیت می‌باشد.

عوامل مختلفی از جمله انسولین، گرسنگی، سیری و فعالیت ورزشی بر تنظیم LPL اثرگذار می‌باشند (۶). در این میان مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که فعالیت

^۱ Chylomicronemia

^۲ Dislipidemia

پروتکل تمرین استقامتی

برنامه تمرین عبارت از دویدن روی تردمیل ویژه جوندگان آزمایشگاهی بود. جهت ایجاد آمادگی و رعایت اصل اضافه‌بار، هشت جلسه تمرین آمادگی برای موش‌های گروه تمرین در نظر گرفته شد و تمرین با سرعت ۱۰ متر در دقیقه و زمان ۲۰ دقیقه شروع شد و در مدت دو هفته به تدریج زمان و سرعت دویدن افزایش یافت تا در روز تمرین اصلی به سرعت نهایی (۱۸ متر بر دقیقه) رسید و تمرین اصلی به با زمان ۱۲۰ دقیقه و سرعت ۱۸ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه انجام شد.

در این جلسه برای رعایت مسائل اخلاقی جهت وادار کردن آن‌ها به دویدن، از شوک الکتریکی استفاده نشد، بلکه این کار توسط میله‌ای پلاستیکی انجام می‌گرفت. ۱۰ دقیقه اول و آخر هر جلسه و جلسه اصلی به گرم کردن و سرد کردن اختصاص داده شد. برای همسان‌سازی موش‌ها به فضای آزمایشگاه و تردمیل، گروه کنترل نیز در طی دو هفته آشنایی، سه بار روی تردمیل قرار گرفتند و با سرعت هشت متر بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. ضمناً چهار ساعت قبل از تمرین غذا از قفس موش‌ها برداشته شد تا خونگیری موش‌ها در حالت ناشتا بی‌نسبی انجام شود.

بیهوشی، خون‌گیری و تهیه بافت

بلافاصله پس از اتمام جلسه تمرین موش‌ها از روی تردمیل برداشته شده و داخل قفس‌های برچسب گذاری شده قرار داده شدند. در این مرحله بالافاصله چهار سر موش از گروه تجربی و چهار سر از گروه کنترل به وسیله تزریق داخل صفاقی (ip) پتوباریتال سدیم (۹ میلی‌گرم برای هر ۱۰۰ گرم وزن موش) بیهوش شدند و نمونه‌گیری خون و بافت

تحقيق، تنها در یک مطالعه اثر حاد و تأخیری یک جلسه تمرین هوایی بر بیان ژن و فعالیت LPL در بافت چربی به صورت همزمان مورد بررسی قرار گرفته است (۱۰). همچنین تنها دو مطالعه اثر یک جلسه تمرین طولانی مدت را بر فعالیت LPL بافت چربی مورد بررسی قرار داده‌اند (۱۲ و ۱۴) و اکثر مطالعات به بررسی بیان LPL در بافت عضله پرداخته‌اند. از این رو انجام چنین مطالعه‌ای ضروری به نظر می‌رسد و می‌تواند بینش و شناخت ما را در زمینه مکانیسم‌های اثر ورزش بر تعادل و هموستان افزایش و تنظیم وزن بدن افزایش دهد. لذا این مطالعه به بررسی اثر یک جلسه تمرین استقامتی بر بیان ژن و فعالیت LPL بافت چربی در موش‌های نر صحرایی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و نگهداری آن‌ها

این مطالعه روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد. برای این منظور تعداد ۲۴ سر موش، با وزن ۳۸۸ ± ۳۱ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در گروه‌های چهارتایی، در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف استاندارد ساخت شرکت رازی راد و در اتفاق مخصوص با دمای ۲۲ ± ۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت (۷ صبح تا ۷ عصر) و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند و در سرتاسر دوره تحقیق، توسط یک نفر جابجا و دستکاری شدند. موش‌ها پس از یک هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه و دستکاری توسط محقق، به طور تصادفی به دو گروه کنترل (۱۲ سر) و تجربی (۱۲ سر)، همسان از لحاظ وزن تقسیم شدند.

semi-quantitative RT-PCR روی بافت‌های کنترل و تجربی صورت گرفت. حدود ۲۰ میلی‌گرم از بافت‌ها جداسازی و برای واکنش استخراج RNA به کار گرفته شد.

تخلیص RNA با استفاده از کیت شرکت Macherey-Nagel (کشور آلمان) به صورت زیر انجام گرفت. ابتدا بافت‌ها توسط افروden ۳۵۰ میکرولیتر محلول RA1 و ۳/۵ ml مركاپتواتانول لیز شدن. سپس محلول بافت‌ها به همراه با فریز به داخل ستون (دارای حلقه قرمز رنگ) افزوده و در ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول عبور کرده از ستون در یک میکروتیوب جمع‌آوری شد. سپس شرایط، برای چسبیدن RNA با افزودن الكل ۷۰ درصد به میزان ۳۵۰ میکرولیتر مناسب و در این مرحله چند بار با پیپت، ترکیب خوب مخلوط شد. محلول هموژنیزه شده فوق، به ستون تخلیص RNA (دارای حلقه آبی رنگ) اضافه و در ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ گردید. سپس ۳۵۰ میکرولیتر MDB افزوده و در ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شد. با استفاده از ۹۵ ml محلول I DNase و زمان انکوباسیون ۱۵ دقیقه‌ای، DNAهای همراه با RNA که به غشاء متصل شده‌اند، از بین رفتند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر محلول RA2 و در ادامه ۶۰۰ میکرولیتر محلول RA3 به ستون افزوده و در ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعدی ۲۵۰ میکرولیتر محلول RA3 افزوده و در ۱۱۰۰ دور در دقیقه به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ شد. به ستون ۶۰ میکرو لیتر آب RNase free به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ و در ۷۰ درجه

چربی اپیدیدیم انجام شد. دو ساعت بعد نیز چهار سر دیگر از گروه کنترل و چهار سر از گروه تجربی بیهوش و نمونه‌گیری انجام شد. در مرحله سوم، ۲۴ ساعت بعد نیز چهار سر از گروه کنترل و چهار سر از گروه تجربی بیهوش و نمونه‌گیری انجام گردید. در مرحله سوم نیز موش‌ها چهار ساعت ناشتاپی داشتند. خون‌گیری از طریق سوراخ کردن مستقیم قلب و توسط سرنگ انجام شد. بافت چربی اپیدیدیم نیز به سرعت جدا، به میکروتیوب‌های RNAase free و DNAase منتقل و در نیتروژن مایع منجمد گردید.

نمونه‌های خونی در لوله‌های فالکون حاوی EDTA سانتریفیوژ و پلاسمای جدا گردید و به همراه نمونه‌های بافت تا زمان اندازه‌گیری به يخچال -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی
فعالیت لیپوپروتئین لیپاز در بافت چربی با استفاده از LPL روش رنگ‌سنگی آنزیمی، کیت شناسایی Nanjing Jiancheng Bioengineering شرکت ساخت کشور چین اندازه‌گیری شد.

انسولین سرم به روش الایزا نوع sandwich، کیت شرکت Mecrodia ساخت کشور سوئد با درجه حساسیت ۰/۰۷ میکروگرم در لیتر و ضریب تغییرات درون گروهی ۴/۲ درصد اندازه‌گیری شد. گلوکز سرم با استفاده از روش رنگ‌سنگی آنزیمی، کیت گلوکز شرکت پارس آزمون ساخت کشور ایران با درجه حساسیت ۰/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و ضریب تغییرات درون گروهی ۲/۱ درصد اندازه‌گیری شد.

تخلیص mRNA و بررسی بیان ژن به وسیله RT-PCR
به منظور بررسی بیان ژن، واکنش

β -actin-For: 5'-TCC CTG GAG AAG AGC TAC
 β -actin-Rev: 5'-GTA GTT TCG TGG ATG و G-3'
CCA CA-3' می باشد. برای ارزیابی نتایج PCR از الکتروفورز کردن محصول PCR، روی ژل آگارز و آنالیز با نرم افزار UVtech استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی اثر تمرين بر بیان ژن و پروتئین LPL بافتی از آزمون آنالیز واریانس داده های تکراری (Repeated Measures ANOVA)، در سطح ۵ درصد استفاده شد و کلیه عملیات توسط نرم افزار SPSS Inc (USA، Il,Chicago,SPSS Inc) ویرایش ۱۶ انجام گرفت.

یافته ها

یافته های تحقیق در جدول ۱ و شکل های ۱ تا ۲ ارائه شده است. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود، گلوکز $F=0.75$, $P=0.51$ و انسولین $F=2/89$ ($P=0.14$) پلاسمایی در سه زمان بین گروه کنترل و تجربی تفاوت معنی دار نداشت.

نمودار ۱ بیان ژن LPL بافت چربی را بلا فاصله، ۲ ساعت و ۲۴ ساعت پس از تمرين در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل نشان می دهد. همان طور که در این نمودار دیده می شود بیان ژن LPL بافت چربی در هر سه زمان به طور معناداری افزایش یافت (به ترتیب $F=14/98$, $P=0.01$, $F=3/97$ و $P=0.01$ و $F=2/48$, $P=0.001$). همچنین در شکل ۱ نتایج ژل الکتروفورز نشان داده شده است.

سانتی گراد نگه داری شد. میزان کمی RNA استخراج شده با قرائت جذب نوری (OD) آن، در ۲۶۰ نانومتر در بیوفوتومتر مشخص گردید. به منظور ساخت cDNA در یک لوله فاقد RNase، ۱۰۰ تا ۴۰۰ نانو گرم از RNA توتال اضافه شد و ۰/۵ میکرو گرم از پرایمر الیگو dT به آن اضافه گردید.

حجم نهایی توسط آب مقطر فاقد RNase به ۱۱ میکرولیتر رسید. مجموعه در ۷۰ درجه سانتی گراد، به مدت پنج دقیقه انکوبه گردید و سپس بلا فاصله روی یخ، سرد شد. بافر RT (۵X)، به حجم ۴ میکرولیتر، dNTPmix(10mM) به میزان ۲ (RNasin) Ribonuclease inhibitor میکرولیتر، ۲۰ واحد اضافه شد و با آب مقطر فاقد RNase به حجم نهایی ۱۹ میکرولیتر رسانده و به مدت پنج دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. سپس ۲۰۰ واحد آنزیم ترانس کریپتاز معکوس (M-Mul-V) اضافه و به مدت یک ساعت در ۴۲ درجه انکوبه شد. در مرحله بعدی ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه قرار گرفت، که سبب غیرفعال شدن آنزیم گردید.

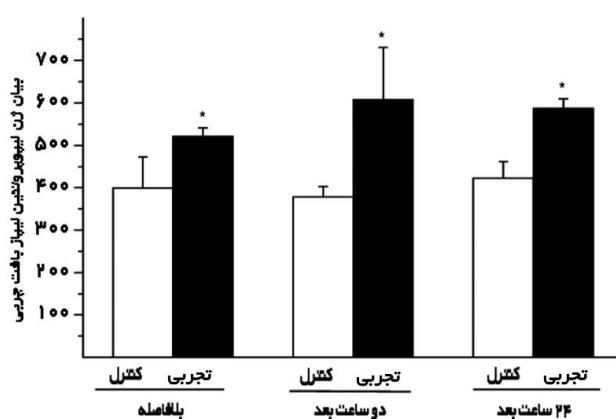
سپس بلا فاصله به ظرف یخ منتقل شد. محصول cDNA در ۷۰ درجه ذخیره گردید. با استفاده از نمونه cDNA های تهیه شده در بالا، طبق پروتکل زیر PCR صورت گرفت. در این روند از بتاکتین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد و به صورت جداگانه، برای هر نمونه، یک واکنش PCR تیز با پرایمرهای بتاکتین صورت گرفت.

پرایمرهای ژن بتا اکین شامل: LPL: TTGTAGGGCATCTGAGAGCGAG
LPLF: GCACGAGCGCTCCATCCAT و TC می باشد.

پرایمرهای ژن بتا اکین شامل

جدول ۱) میانگین و انحراف معیار متغیرها بر حسب گروه‌ها و زمان‌های مختلف

متغیر	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی	کنترل	تجربی
LPL بافت چربی (U/mg)	۰/۴۸±۰/۲۹	۰/۵۹±۰/۰۰۴	۰/۴۸±۰/۱۷	۰/۹۶±۰/۲۸	۰/۴۸±۰/۰۰۴	۰/۳۴±۰/۰۲۰	۰/۴۸±۰/۰۰۴	۰/۳۴±۰/۰۲۰
LPL mRNA بافت چربی	۴۲۲/۱۶±۳۹/۷۷	۳۷۸/۴۷ ±۲۴/۰۸	۳۹۸/۹۰±۷۳/۷۰	۵۲۱/۱۷±۱۹/۶۴	۵۸۷/۸۹±۲۱/۶۳	۶۰۸/۹۶±۱۲۲/۰۲	۵۲۱/۱۷±۱۹/۶۴	۵۸۷/۸۹±۲۱/۶۳
انسولین (μg/l)	۳/۲۷±۱/۱۹	۲/۵۹±۰/۹۹	۲/۲۱±۰/۲۱	کنترل	۲/۲۲±۰/۸۳	۱/۶۲±۰/۳۷	۱/۷۲±۰/۴۵	تجربی
گلوک (mg/dl)	۸۶/۲۵±۷/۲۲	۹۵/۷۵±۲۲/۶۹	۱۰/۶۲±۰/۴۲	کنترل	۱۰/۴/۲۵±۷/۲۲	۸/۷۵±۱۰/۳۴	۹/۴/۷۵±۱۸/۹۹	تجربی
* تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و تجربی ($P<0.05$).								

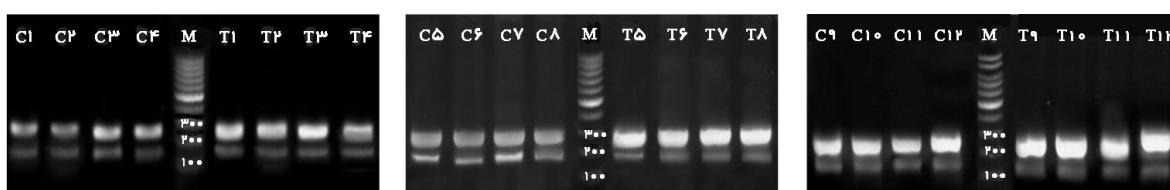


نمودار ۱) بیان ژن LPL بافت چربی در زمان‌های مختلف به صورت نمودار ستونی نشان داده است..

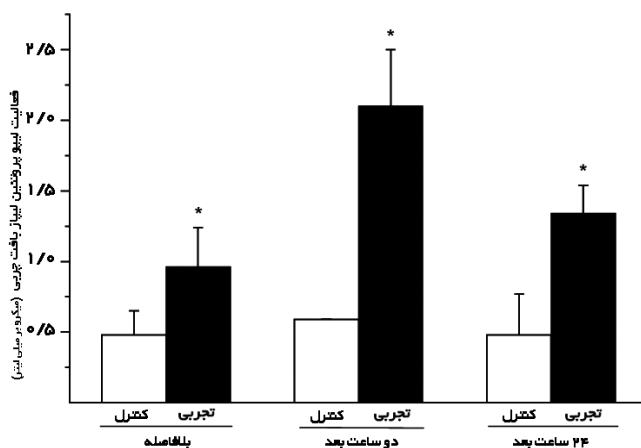
* تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و تجربی ($P<0.05$).

در هر سه مرحله (بلافاصله، ۲ و ۲۴ ساعت پس از تمرین) افزایش معنی دار فعالیت LPL مشاهده شد (به ترتیب $F=۲/۰۶$, $P=۰/۰۲$ و $F=۳/۰۵$, $P=۰/۰۱$ و $F=۲/۰۵$, $P=۰/۰۰۳$). (P=۰/۰۰۰۳, F=۰/۷۲۹)

نمودار ۲ فعالیت LPL در بافت چربی را نشان می دهد. همان‌طور که مشاهده می شود الگوی تغییرات فعالیت LPL از الگوی بیان ژن آن آن تعییت می کند به طوری که افزایش در هر سه مرحله دیده می شود و



شکل ۱) تابع الکتروفورز ژل آگاروز RT-PCR برای بررسی تغییرات بیان ژن LPL را نشان می دهد. بیان این ژن در مقایسه با بیان یک ژن کنترل داخلی (باتاکتین) سنجیده شده است. حرف C روی باندها نشان دهنده گروه کنترل و حروف T نشان دهنده گروه تجربی می باشد. بلافاصله بعد از تمرین باندها به ترتیب از چپ به راست C1 تا C4 نمونه موش های تمرین کرده، ۲ ساعت بعد همین طور C5 تا T4 گروه کنترل و C6 تا T8 گروه تجربی و ۲۴ ساعت بعد نیز C9 تا T12 گروه کنترل و C10 تا T12 گروه تجربی می باشد. M مارکر وزن مولکولی می باشد. وزن باندهای مهم مارکر در شکل نشان داده شده است.



نمودار ۲) تغییرات فعالیت LPL بافت چربی در گروه کنترل و تجربی در سه زمان مختلف نشان می‌دهد. همان‌طوری که دیده می‌شود فعالیت LPL بافت چربی در گروه تمرين در هر سه زمان افزایش معنی‌داری یافته است. ^{*}تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و تجربی ($P<0.05$)

بحث

بافت چربی به سطح گروه کنترل برگشت. در تحقیقات آنان تغییرات ناشی از تمرين در فعالیت LPL با کاهش‌هایی در mRNA LPL مطابقت داشت. آنان علت کاهش فعالیت LPL بافت چربی را کاهش غلظت انسولین ناشی از تمرين، افزایش سطح کاتکولامین‌ها در طی ورزش شدید و میانجی‌گری cAMP تحقیق ما افزایش معنادار فعالیت LPL در بافت چربی مشاهده شد و یافته‌های تحقیق ما در تناقض با یافته‌های لادو و همکاران می‌باشد که کاهش معنادار فعالیت LPL بافت چربی را گزارش کردند.

در عین حال اگر چه ما غلظت کاتکولامین‌ها را اندازه‌گیری نکردیم اما به نظر می‌رسد با توجه به تغییر فعالیت LPL، تغییرات غلظت کاتکولامین‌ها آنقدر نبوده که بتواند تغییرات مورد انتظار را در فعالیت LPL ایجاد کند یا عوامل افزایش دهنده بر عوامل کاهش دهنده غلبه کرده‌اند. ضمناً تفاوت در نوع برنامه تمرينی (تمرين شنا در مقابل تمرين دویدن روی تردمیل) نیز می‌تواند از جمله دلایل تناقض در یافته‌ها باشد. هم‌راستا با تحقیق حاضر پرالت (Perreault) و

LPL به عنوان عامل محدودکننده سرعت و میزان انتقال لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسرید (شامل شیلومیکرون‌ها) به درون بافت شناخته شده است.

فعالیت LPL ممکن است گرایش به چاقی را پیش‌بینی کند، لذا شناخت تنظیم کننده‌های آن اهمیت قابل ملاحظه‌ای دارد. احتمال دارد که تغییرات در فعالیت LPL از راههای مختلف از جمله فعالیت بدنی، در هدایت چربی‌های غذایی برای ذخیره‌سازی در بافت‌ها اثر بگذارد (۱۲). تحقیقات کمی در این زمینه انجام شده است. لذا مطالعه حاضر به همین دلیل طراحی و اجرا گردید. نتایج مطالعه حاضر نشان داد بالافاصله، ۲ و ۲۴ ساعت پس از یک جلسه تمرين دویدن روی تردمیل بیان ژن و فعالیت LPL در بافت چربی افزایش می‌یابد.

به نظر می‌رسد تاکنون فقط یک تحقیق مشابه تحقیق حاضر انجام شده باشد (۱۰). در آن مطالعه، لادو (Ladu) و همکاران نشان دادند دو ساعت تمرين شنا در موش‌ها فعالیت LPL را در بافت چربی ۴۳ درصد کاهش داد، و ۲۴ ساعت پس از تمرين فعالیت LPL

را توجیه کند.

و بالاخره در مطالعه سیپ (Seip) و همکاران نشان داده شد که ۵ تا ۱۳ روز تمرین متناوب در مردان بزرگسال باعث تغییری در بیان ژن و فعالیت LPL بافت چربی نشد که با نتایج مطالعه ما متفاوت می‌باشد (۸). در این تحقیق محققین دلایل روشی برای نتایج به دست آمده را ندادند.

در تحقیق لادو و همکاران به وجود رابطه همبستگی بین LPL mRNA و LPL نیز اشاره شد و همبستگی بالایی بین فعالیت LPL و LPL mRNA در بافت چربی ($r=0.97$) گزارش شد. همبستگی مشاهده شده بین LPL و LPL mRNA در مطالعه ما نیز بالا بود، به طوری که بلافارسله پس از تمرین $r=0.72$ و دو و ۲۴ ساعت پس از تمرین در بافت چربی $r=0.92$ بود و تغییرات در فعالیت LPL با تغییرات در LPL mRNA کاملاً هم خوانی داشت که بخشی از این همسویی در مطالعه سیپ و همکاران در عضله اسکلتی نیز گزارش شد، از این رو شاید بتوان تصور کرد که عوامل دخیل در ایجاد تغییرات LPL mRNA به گونه‌ای در تغییر فعالیت LPL اثرگذار باشند (۹ و ۱۶).

همان‌طوری که اشاره شد نتایج تحقیقات در زمینه اثر تمرینات کوتاه مدت بر بیان ژن و فعالیت LPL در بافت چربی پراکنده و متناقض است. این خود لزوم تحقیقات بیشتر در این زمینه را روشن می‌سازد تا دلایل و مکانیسم‌های این فرایند بیشتر شناخته شود. افزایش بیان ژن و فعالیت LPL بافت چربی در مطالعه حاضر نشان می‌دهد حتی تا ۲۴ ساعت متعاقب یک جلسه تمرین طولانی مدت، متابولیسم چربی‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. افزایش LPL بافت

همکاران نیز افزایش فعالیت LPL در اثر ورزش را گزارش کردند. آزمودنی‌های تحقیق آنان شامل ۱۰ زن و ۱۰ مرد بودند که تمرین با ۸۵ درصد آستانه لاكتات دوچرخه کارسنج انجام دادند. سه تا چهار ساعت پس از تمرین فعالیت LPL بافت چربی در مردان افزایش و در زنان تمایل به کاهش را نشان داد (۱۲). در این مطالعه عنوان شد که در کنار عوامل مختلف تنظیم کننده فعالیت LPL، انسولین به عنوان یکی از تنظیم کننده‌های آن شناخته شده است. انسولین نقش مهمی در متابولیسم گلوکز و چربی در طی دوره پس از تمرین ایفا می‌کند. گفته می‌شود حداقل بخشی از اثر انسولین بر متابولیسم چربی از طریق اثرات آن بر فعالیت LPL میانجی‌گری می‌شود (۱۲).

در تحقیق حاضر احتمالاً با توجه به کاهش کم انسولین، انسولین نتوانسته است تأثیر معناداری در کاهش LPL در بافت چربی داشته باشد.

در مطالعه‌ای دیگر، پائولین (Paulin) و همکاران کاهش معنادار فعالیت LPL بافت چربی را بلافارسله بعد از یک ساعت تمرین دویden روی تردمیل با سرعت ۲۲ متر بر دقیقه، در موش‌های صحرایی نز گزارش کردند. آن‌ها این کاهش را به افزایش فعالیت اعصاب سمپاتیک و ترشح کاتکولامین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها نسبت دادند (۱۱).

در تحقیق حاضر غلظت گلوکوکورتیکوئیدها اندازه‌گیری نشد، اما با توجه به اینکه کورتیزول باعث افزایش فعالیت LPL mRNA و LPL در بافت چربی می‌شود (۱۵) و پروتکل تمرین در تحقیق حاضر یک جلسه تمرین شدید طولانی مدت بوده، ممکن است کورتیزول افزایش یافته باشد که می‌تواند LPL mRNA و LPL فعالیت در افزایش

سپاس و قدردانی

از گروه بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران جهت همکاری و بهویژه از سرکار خانم دکتر فاطمه رهبری زاده جهت کمک در انجام آزمایشات بیوشیمیابی و RT-PCR و آقای دکتر مهدی جباری نویابی جهت مشاوره آماری قدردانی می‌گردد.

References:

- 1.Bouassida A, Chamari K, Zaouali M, et al. Review on leptin and adiponectin responses and adaptations to acute and chronic exercise. Br J Sports Med 2008; 44: 620-30.
- 2.Izadi M, Zarifian A, Eghdami A, et al. Relationship between cardiovascular risk factors and blood adiponectin in diabetic males. ISMJ 2012; 15: 101-8.
- 3.Mead JR, Iravine SA, Ramji DP. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. J Mol Med 2002; 80: 753-69.
- 4.Hamilton MT, Etienne J, McClure WC, et al. Role of local contractile activity and muscle fiber type on LPL regulation during exercise. Am J Physiol 1998; 275: E1016-22.
- 5.Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. J Endocrine Rev 2000; 21: 697-738.
- 6.Goldberg IJ, Eckel RH, Abumard NA. Regulation of fatty acid uptake into tissue: lipoprotein lipase and CD36-mediated pathways. J lipid Res 2009; 50: S86-90.
- 7.Chen J, Simopoulos AP, Pavlou KN, et al. Aerobic exercise, gene expression and chronic diseases. World Rev Nutr Diet 2001; 89: 108-117.
- 8.Seip RL, Angelo TJ, Semen CF. Exercise induces human lipoprotein lipase gene expression in skeletal muscle but not adipose tissue. Am J Physiol Endocrinol Metab 1995; 268: E229- 36.
- 9.Ong JM, Simsolo RB, Saghizadeh M, et al. Effects of exercise training and feeding on lipoprotein lipase gene expression in adipose tissue, heart, and skeletal muscle of the rat. Metabolism 1995; 44: 1596-605.
- 10.Ladu MJ, Kapsas H, Palmer WK. Regulation of lipoprotein lipase in muscle and adipose tissue during exercise. J Appl Physiol 1991; 71: 404-9.
- 11.Paulin A, Lalonde J, and Deshaies Y. Beta-adrenergic blockade and lipoprotein lipase activity in rat tissues after acute exercise. Am J Physiol 1991; 261: R891-7.
- 12.Pereault L, Lavelle JM, Kittelson JM, et al. Gender differences in lipoprotein lipase activity after acute exercise. Obesity Res 2004; 12: 241-9.
- 13.Atanassova P, Delchev S, Georgieva K, et al. Lipoprotein lipase enzyme histochemical activity in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle of the rat after submaximal exercise training. Proceedings of the Balkan Scientific Conference of biology. 2005 May. 19-21. Plovdiv, Bulgaria: p. 263-8.
- 14.Zhang JQ, Smith B, Langdon MM, et al. Effect of exercise training on lipoprotein lipase activity in patients with hypertriglyceridemia. J Med Sci Sport Exerc 2001; 33: 214-9.
- 15.Oller do Nascimento CM, Ribeiro EB, Oyama LM. Metabolism and secretory function of white adipose tissue: effect of dietary fat. An Acad Bras Cienc 2009; 81: 453-66.
- 16.Seip RL, Mair K, Cole TG, et al. Induction of human skeletal muscle lipoprotein lipase gene expression by short-term exercise in transient. Am J Physiol 1997; 272: E255-61.

چربی پس از ورزش بدن معنی است که تری‌گلیسریدهای بیشتری از جریان خون برداشت شده و جهت ذخیره‌سازی به بافت چربی منتقل می‌شود. بنابراین ادامه تمرینات برای مدت بیشتر احتمالاً می‌تواند تأثیر سودمندتری بر متابولیسم چربی از طریق فعالیت بیشتر LPL داشته باشد.

Original Article

The effect of acute exercise on adipose tissue LPL gene expression and LPL activity in rats

**M.Khademosharie¹, SAR Hosseini-Kakhk^{1*}, MR. Hamedinia¹,
T.Amiri Parsa¹**

¹Department of exercise physiology, School of Physical Education, Hakim Sabzevar University, Khorasan- Razavi, IRAN

(Received 16 Agu, 2011 Accepted 27 Nov, 2011)

Abstract

Background: Lipoprotein lipase (LPL) is a key enzyme in lipid metabolism, and has important role for uptake of lipoproteins from plasma. The effect of acute exercise on adipose tissue LPL is not yet elucidated. The purpose of this study was to evaluate the response of adipose tissue LPL activity and its mRNA to acute exercise in male Wistar rats.

Material and Methods: Twenty four male Wistar rats (weight: 388 ± 31 g) randomly divided into 2 groups: control (n=12) and trained (n=12). The exercised rats ran on treadmill for 120 minutes (18 m/min). After anesthetizing and killing the rats, blood and epididymal fat pad samples were taken at 0, 2, and 24 h after exercise. Semi-quantitative RT-PCR was used to measure LPL mRNA level in adipose tissue. Data were analyzed with using repeated measurement ANOVA. The alpha level was established at $P<0.05$.

Results: The results showed that adipose tissue LPL mRNA significantly increased immediately ($F=14.98$, $P=0.01$), 2 ($F=3.97$, $P=0.01$), and 24 ($F=2.48$, $P=0.001$) hours after exercise in comparison with control. Also, LPL activity in adipose tissue significantly increased immediately ($F=2.06$, $P=0.02$), 2 ($F=3.05$, $P=0.001$), and 24 ($F=0.729$, $P=0.003$) hours after exercise.

Conclusion: Elevation of adipose tissue LPL activity following acute exercise means up to 24 after exercise plasma triglyceride reduced and deposited in adipose tissue. These confirmed the positive effect of even one session of exercise on lipid metabolism.

○

Keywords: Endurance exercise, lipoprotein lipase (LPL), Wistar rat, adipose tissue.

*Address for correspondence: Department of exercise physiology, School of Physical Education, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, IRAN; E-mail: sa.hosseini@hsu.ac.ir

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>