

## تغییرات بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی در پاسخ به یک جلسه فعالیت ورزشی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

دکتر الهه طالبی گرکانی، میرهادی حسینی اندارگلی، دکتر رزیتا فتحی، دکتر علی‌رضا صفرزاده

گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، نشانی مکاتبه‌ی نویسندگی مسئول: بابلسر، بلوار شهید ذوالفقاری، میدان ابوعلی سینا، بلوار دانشگاه، پردیس دانشگاه مازندران، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دکتر الهه طالبی گرکانی؛ e-mail: Talebi\_umz@yahoo.com

### چکیده

**مقدمه:** لیپوکالین-۲ آدیپوکلین جدیدی است که به تازگی شناسایی گردیده است. غلظت لیپوکالین-۲ با التهاب خفیف، چاقی، افزایش قند خون و سندرم متابولیک ارتباط مثبت دارد. داده‌های اندکی پیرامون تاثیر فعالیت ورزشی بر غلظت لیپوکالین-۲ وجود دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی بر بیان ژن لیپوکالین-۲ در بافت چربی موش‌های صحرایی دیابتی بود. **مواد و روش‌ها:** ۲۰ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار با میانگین وزن  $160 \pm 5$  گرم پس از القای دیابت به طور تصادفی به ۱ گروه کنترل و ۳ گروه تمرینی تقسیم شدند. گروه‌های تمرین برای یک نوبت با سرعت ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه روی نوارگردان دویدند. حیوانات در گروه‌های مجزا به ترتیب بلافاصله، ۴ ساعت و ۲۴ ساعت پس از فعالیت ورزشی بیهوش شدند و نمونه‌برداری از آنها انجام گرفت. بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی، گلیکوژن کبد و گلوکز پلاسما همراه با پروفایل لیپیدی اندازه‌گیری گردید. یافته‌ها: بیان ژن لیپوکالین-۲ پس از ۴ و ۲۴ ساعت از فعالیت ورزشی به طور معنی‌داری کاهش یافت. سطح کلسترول - HDL و اسیدهای چرب آزاد غیراشباع پلاسمایی بلافاصله پس از فعالیت افزایش و گلیکوژن کبد کاهش معنی‌داری را نشان داد. **نتیجه‌گیری:** کاهش بیان ژن لیپوکالین-۲ پس از یک جلسه فعالیت ورزشی در موش‌های صحرایی دیابتی ممکن است بیان‌گر نقش فعالیت ورزشی در کاهش التهاب ناشی از دیابت باشد. با این وجود، پژوهش‌های بیشتر برای درک ساز و کارهای موثر بر آن ضرورت دارد.

**واژگان کلیدی:** لیپوکالین-۲، NGAL، موش‌های صحرایی دیابتی، فعالیت ورزشی، بیان ژن

دریافت مقاله: ۹۰/۸/۷ - دریافت اصلاحیه: ۹۰/۱۰/۱۰ - پذیرش مقاله: ۹۰/۱۰/۱۱

### مقدمه

لیپوکالین-۲ به مقدار فراوانی در آدیپوسیت‌ها تولید می‌گردد.<sup>۱-۳</sup> بیان و ترشح این پروتئین پس از تبدیل پری-آدیپوسیت به آدیپوسیت بالغ افزایش زیادی دارد و به‌وسیله‌ی بسیاری از تحریک‌های التهابی مانند لیپوپلی-ساکارید و  $\beta$ -1 IL-1 القا می‌گردد.<sup>۴</sup> عامل نسخه‌برداری پیش-التهابی NF- $\kappa$ B بیان لیپوکالین-۲ را از راه پیوند به جایگاه اتصالی در پروموتور آن فعال می‌سازد.<sup>۵,۷</sup> این مورد نشان

لیپوکالین-۲ (لیپوکالین مرتبط با نوتروفیل گلاتیناز<sup>۱</sup>) آدیپوکلینی است که به تازگی شناسایی شده و متعلق به خانواده‌ی بزرگ لیپوکالین‌ها است و به نظر می‌رسد در سوخت و ساز گلوکز و حساسیت انسولینی موثر باشد.<sup>۱</sup>

التهابی مرتبط با دیابت مانند TNF- $\alpha$ ، IL-6 و آدیپونکتین پرداخته‌اند.

بررسی‌های انجام شده پیرامون اثر فعالیت ورزشی بر سطح لیپوکالین بسیار اندک و یافته‌های آن متناقض است. تغییرات این آدیپوکتین در پاسخ به فعالیت ورزشی در آزمودنی‌های دیابتی تاکنون بررسی نشده است. چوی و همکاران مشاهده نمودند پس از ۳ ماه تمرین ترکیبی هوازی و مقاومتی غلظت پلاسمایی لیپوکالین-۲ در زنان چاق تغییر معنی‌داری نداشت.<sup>۱۹</sup> این درحالی است که دمیرچی و همکاران افزایش سطح لیپوکالین-۲ پس از یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی فزاینده در مردان میان‌سال چاق را گزارش نموده‌اند.<sup>۲۰</sup> از این رو، هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر یک جلسه تمرین هوازی بر بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی احشایی در موش‌های صحرایی دیابتی بود.

## مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن  $5 \pm 160$  گرم استفاده شد. این حیوانات در قفس‌های مجزا از جنس پلی‌کربنات در گروه‌های پنج‌تایی و در شرایط کنترل شده محیطی با میانگین دمای  $22 \pm$  درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه‌ی جوندگان نگهداری شدند. پس از آشناسازی با محیط آزمایشگاه و نحوه‌ی دودیدن روی نوارگردان ویژه‌ی جوندگان، به منظور القای دیابت از یک بار تزریق درون صفاقی محلول استرپتوزوتوسین (STZ) حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار و به میزان ۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن، استفاده شد.<sup>۲۱</sup> ۵ روز پس از تزریق، نمونه‌های خونی از شبکه‌ی رترواوربیتال چشم موش‌ها جمع‌آوری و با استفاده از لوله‌های مویینه و روش آنزیمی گلوکز اکسیداز غلظت گلوکز خون اندازه‌گیری شد. ملاک دیابتی بودن، غلظت گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر بود.<sup>۲۲</sup> پس از تایید دیابتی شدن، حیوانات به یک گروه کنترل و ۳ گروه تمرینی (بلافاصله پس از فعالیت، ۴ ساعت پس از فعالیت و ۲۴ ساعت پس از فعالیت) تقسیم شدند. برنامه‌ی فعالیت ورزشی شامل ۴۵ دقیقه دودیدن روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و شیب صفر درجه بود. همچنین، به منظور اجرای مراحل گرم و سرد کردن، حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه در ابتدا و ۵ دقیقه در انتهای پروتکل اصلی با سرعت ۱۰ متر

می‌دهد ممکن است لیپوکالین-۲ در اختلالات متابولیکی همراه با التهاب سیستمی، مانند دیابت ملیتوس دخیل باشد.

دیابت ملیتوس گروهی از بیماری‌های متابولیکی را در بر می‌گیرد که با افزایش قند خون ناشی از کمبود ترشح انسولین، مقاومت انسولینی و یا ترکیبی از هر دو مورد مشخص می‌گردد.<sup>۲۳</sup> شواهد به دست آمده از بررسی‌های بالینی و تجربی نشان می‌دهد التهاب نقش مهمی در پیدایش و پیشرفت دیابت دارد.<sup>۲۴</sup> بافت چربی نه تنها به دلیل تولید سایتوکین‌ها، بلکه به دلیل نفوذ ماکروفاژهای پیش التهابی، منشا التهاب در دیابت نوع ۲ به شمار می‌آید.<sup>۲۵</sup> به عبارتی التهاب سیستمی خفیف<sup>۲۶</sup> از ویژگی‌های بارز دیابت ملیتوس است.<sup>۲۷</sup> مشخص گردیده میانجی‌های التهابی نظیر لیپوکالین-۲ و پروتئین واکنشی C<sup>۲۸</sup> (CRP) در بیماران دیابتی افزایش یافته که با توسعه و پیشرفت مشکلات قلبی - عروقی همراه می‌باشد.<sup>۲۹</sup> البته به تازگی بیان گردیده لیپوکالین-۲ ممکن است اثرات ضدالتهابی داشته باشد، به گونه‌ای که افزایش سطح لیپوکالین-۲ در چاقی و مقاومت به انسولین، سازوکاری حفاظتی علیه التهاب باشد.<sup>۳۰</sup> چنین نقش متناقضی برای IL-6 نیز گزارش شده است.

افزایش بیان لیپوکالین-۲ در بافت چربی بسیاری از الگوهای چاقی حیوانی و انسان‌های چاق نیز گزارش گردیده است.<sup>۳۱-۳۴</sup> این افزایش به وسیله‌ی داروی افزاینده حساسیت انسولینی، روزیگلیتازون، قابل برگشت است.<sup>۳۵</sup> لیپوکالین-۲ در اعمال گوناگونی مانند آپوپتوز و ایمنی ذاتی شرکت داشته و در بافت‌های مختلف، شامل نوتروفیل‌ها، کبد، کلیه، آدیپوسیت‌ها و ماکروفاژها بیان می‌گردد.<sup>۳۶</sup>

تصور بر این است که فعالیت ورزشی به وسیله‌ی کاهش سطح لیپیدهای پلاسمایی و گلوکز خون، کاهش استرس اکسایشی و افزایش حساسیت انسولینی موجب بهبود و تعدیل عوارض ناشی از دیابت می‌گردد.<sup>۳۷</sup> همچنین، فعالیت ورزشی از راه کاهش توده‌ی چربی احشایی و به دنبال آن کاهش رهایی سایتوکین‌های پیش التهابی و ایجاد محیطی ضدالتهابی در کنترل بیمارهای مرتبط با التهاب، نظیر دیابت نقش اساسی دارد.<sup>۳۸</sup> بنابراین، با توجه به نقش فعالیت ورزشی در کاهش و تعدیل التهاب و همچنین، نقش التهاب در پیشرفت دیابت، بسیاری از پژوهش‌ها به بررسی تاثیر روش‌های مختلف فعالیت ورزشی بر سطح شاخص‌های

i- Low-grade systemic inflammation

ii- C Reactive Protein

مواد به دست آمده از PCR روی ژل آگارز الکتروفورز شد و به وسیله‌ی رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید<sup>iii</sup> باندهای آن قابل رویت شدند، و با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری (CT، کداک) کمیت‌دهی گردیدند.

غلظت گلوکز پلاسما با روش آنزیمی-رنگ سنجی با فن-آوری گلوکز اکسیداز، و با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۱/۸٪ و ۵ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر بود. غلظت گلیکوژن کبد با استفاده از کیت رنگ سنجی گلیکوژن (شرکت نان جینگ، چین) با ضریب تغییرات ۴/۵٪ و حساسیت ۰/۰۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

برای سنجش غلظت پلاسمایی کلسترول - HDL و کلسترول از روش آنزیمی-فتومتریک (شرکت پارس آزمون، ایران) و تری‌گلیسرید از روش آنزیمی-رنگ سنجی (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد. غلظت اسیدهای چرب آزاد نیز از روش آنزیمی-رنگ سنجی (Wako chemicals GmbH) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین غلظت کلسترول LDL از روش محاسباتی فریدوالد و همکاران استفاده گردید.<sup>۲۱</sup> ضریب تغییرات برون آزمونی و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب برای کلسترول - HDL، ۲/۲٪ و ۱ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر، کلسترول، ۱/۲٪ و ۳ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر، تری‌گلیسرید، ۲/۴٪ و ۱ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر و NEFA، ۳/۱٪ و ۰/۱ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر بود.

پس از تایید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرنوف، برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه‌ی اختلاف بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده‌اند. محاسبه‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۶ انجام، و سطح معنی‌داری آزمون‌ها  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

القای دیابت در موش‌های صحرائی موجب افزایش سطح پلاسمایی گلوکز گردید. همان‌طور که در جدول ۱ آمده در گروه‌های تمرینی در مقایسه با گروه کنترل، سطح پلاسمایی

در دقیقه دویند که به زمان آن اضافه گردید. بیهوش کردن حیوانات با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) و زایلوزین (۳-۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان) انجام شد. با توجه به زمان‌بندی از پیش تعیین شده، نمونه‌برداری از گروه کنترل و گروه‌های تمرینی صورت گرفت. با برش در ناحیه‌ی شکم و قفسه سینه حدود ۱۰ میلی‌لیتر خون به طور مستقیم از قلب گرفته و در لوله‌های دارای EDTA ریخته شد. برای جداسازی پلاسما نمونه‌های جمع‌آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. نمونه‌برداری چربی احشایی از بخش امتال و کبد از لوب میانی آن انجام شد که پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک در تیوپ‌های عاری از RNAase و DNAase قرار داده و سپس در نیتروژن مایع منجمد گردید. به منظور انجام مراحل بعدی پژوهش، نمونه‌ها به فریزر با دمای -۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد انتقال یافت.

بیان نسبی ژن لیپوکالین-۲ بافت چرب با استفاده از روش نیمه کمی<sup>۱</sup> RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور نمونه‌ی چربی منجمد شده با استفاده از هاون پودر شد و مقدار ۵۰ میلی‌گرم از آن برای جداسازی RNA استفاده شد. تخلیص RNA از روش گوانیدین تیوسیانات انجام شد و mRNA با استفاده از کیت جداسازی mRNA براساس دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده (روچ - آلمان) تخلیص گردید. ۲۰۰ نانوگرم از mRNA برای سنتز اولین رشته‌ی cDNA با استفاده از کیت سنتز (فرمنتاز، آلمان<sup>ii</sup>) به کار رفت. پرایمرهای زیر برای تکثیر cDNA لیپوکالین-۲ و بتا‌اکتین (به عنوان کنترل داخلی) استفاده گردید.

Forward-lipocalin-2:

5'-TGTTCCACCGACCAATG-3'

Reverse-lipocalin-2:

5'-AAAGATGGAGCGGCAGAC-3'

Forward-beta-act:

5'-TTGTAACCAACTGGGACCCCGATATG-3'

Reverse-beta-act:

5'-CGCTCTTGCCGATAGTGATG-3'

i- Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction method

ii-Fermentase, Germany

iii- Ethidium bromide

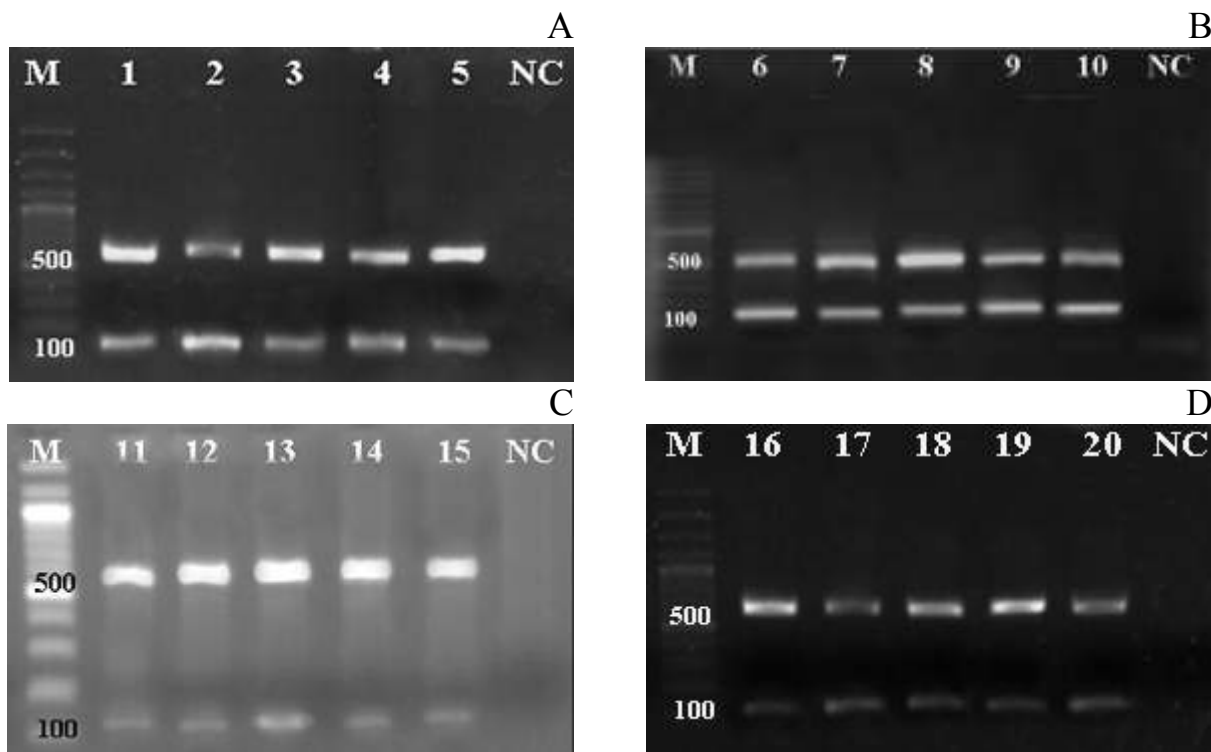
بلافاصله پس از فعالیت در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ( $P=0/034$ ). سطح نسبی پایین‌تر بیان ژن لیپوکالین-۲ در گروه‌های ۴ و ۲۴ ساعت پس از فعالیت در مقایسه با گروه کنترل (به ترتیب  $P=0/001$  و  $P=0/009$ ) و بلافاصله پس از فعالیت (به ترتیب  $P=0/001$  و  $P=0/006$ ) مشاهده شد (جدول ۱). تصاویر ژل الکتروفورز ژن بتا اکتین و لیپوکالین-۲ در شکل ۱ آورده شده است.

گلوکز پایین‌تر ولی غیرمعنی‌دار بود. در گروه بلافاصله پس از فعالیت این تفاوت از نظر آماری به سطح معنی‌داری نزدیک بود ( $P=0/062$ ). اختلاف معنی‌داری در سطح پلاسمایی کلسترول و کلسترول LDL در گروه‌های مختلف مشاهده نشد. با این وجود در گروه بلافاصله پس از فعالیت، سطح تری‌گلیسرید کاهش غیرمعنی‌دار و سطح کلسترول - HDL ( $P=0/011$ ) و NEFA ( $P=0/002$ ) افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. گلیکوژن کبد در گروه

جدول ۱- تغییر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در موش‌های صحرایی دیابتی پس از یک جلسه فعالیت ورزشی\*

متغیر	گروه‌ها			
	کنترل	بلافاصله پس از فعالیت	۴ ساعت پس از فعالیت	۲۴ ساعت پس از فعالیت
گلوکز (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۴۱۲/۰ ± ۲۴/۵	۳۴۰/۸ ± ۳۷/۵	۳۶۰/۴ ± ۶۸/۴	۳۸۲/۰ ± ۷۶/۹
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۲۹/۱ ± ۵/۶	۳۸/۲ ± ۶/۱	۲۸/۰ ± ۳/۲	۲۷/۳ ± ۴/۵
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۷۸/۵ ± ۳/۵	۸۰/۴ ± ۲۳/۶	۸۲/۸ ± ۹/۳	۸۰/۳ ± ۱۶/۲
کلسترول تام (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۱۳۰/۸ ± ۹/۰	۱۳۵/۶ ± ۱۸/۹	۱۳۰/۴ ± ۱۵/۶	۱۲۸/۸ ± ۱۲/۷
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۱۱۵/۸ ± ۴۴/۹	۸۵/۲ ± ۱۱/۹	۹۷/۸ ± ۴۱/۶	۱۰۵/۸ ± ۴۰/۳
اسید چرب استریفه نشده (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر)	۴/۵۷ ± ۱/۲۵	۶/۶۴ ± ۰/۹۸	۴/۴۱ ± ۰/۵۸	۴/۹۶ ± ۰/۵۴
گلیکوژن کبد (میلی‌گرم بر گرم)	۰/۳۰ ± ۰/۰۶	۰/۲۴ ± ۰/۰۳	۰/۲۷ ± ۰/۰۱	۰/۳۱ ± ۰/۰۲
بیان ژن لیپوکالین-۲ به بتا اکتین (درصد)	۷۲/۷ ± ۳۳/۴	۷۴/۸ ± ۳۰/۷	۱۲/۲ ± ۳/۶	۲۴/۵ ± ۱۳/۴

\*مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شده‌اند. † تفاوت آماری در مقایسه با گروه کنترل ( $P<0/05$ ).



شکل ۱. تصاویر ژل الکتروفورز ژن‌های بتا اکتین و لیپوکالین-۲ بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی A: کنترل، B: بلافاصله پس از فعالیت، C: ۴ ساعت پس از فعالیت، D: ۲۴ ساعت پس از فعالیت.

## بحث

براساس بررسی‌های انجام شده، پژوهش حاضر نخستین پژوهشی است که بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی احشایی در پاسخ به یک جلسه فعالیت ورزشی در نمونه‌های دیابتی نشان می‌دهد.

کزاییس و همکاران بیان داشتند یک جلسه فعالیت ورزشی موجب افزایش رهایش سایتوکین‌های پیش‌التهابی، همراه با لکوسیتوز و افزایش غلظت پلاسمایی CRP می‌گردد.<sup>۲۵</sup> این پاسخ پیش‌التهابی به فعالیت ورزشی حاد با افزایش ناگهانی در استرس اکسایشی همراه است که با سازوکارهای سازشی علیه‌ی التهاب دنبال می‌شود.<sup>۱۷</sup> فعالیت ورزشی منظم با کاهش سطح CRP، IL-6 و TNF- $\alpha$  و افزایش سایتوکین‌های ضدالتهابی مانند IL-4 و IL-10 همراه است که بیان‌گر ماهیت ضدالتهابی فعالیت ورزشی می‌باشد.<sup>۲۶-۲۸</sup>

هم‌راستا با یافته‌های کزاییس و همکاران، در پژوهش حاضر افزایش بیان ژن لیپوکالین-۲ در گروه بلافاصله پس از فعالیت، در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که اگرچه از لحاظ آماری معنی‌داری نبود، اما شاید بتواند تا حدودی موید ماهیت التهابی لیپوکالین-۲ باشد. البته این موضوع را باید در نظر داشت که نبود گروه کنترل غیردیابتی از محدودیت‌های پژوهش کنونی است که شاید به همین دلیل یافته‌های آن نتوانست در تبیین یافته‌های به دست آمده موثر باشد.

در پژوهش حاضر به خوبی نشان داده شده افزایش قند خون موجب افزایش استرس اکسایشی گردید که به نوبه‌ی خود منجر به فعال‌سازی NF- $\kappa$ B و در نتیجه افزایش سطح سایتوکین‌های پیش‌التهابی در گردش خون گردید.<sup>۲۹</sup> همچنین، نشان داده شد عامل نسخه‌برداری پیش‌التهابی NF- $\kappa$ B بیان لیپوکالین-۲ را از راه پیوند به جایگاه اتصال در پروموتور آن، فعال می‌سازد.<sup>۵،۷</sup> از سوی دیگر مشاهده گردید فعالیت بدنی موجب کاهش NF- $\kappa$ B می‌گردد.<sup>۲۰</sup> با توجه به موارد عنوان شده این احتمال وجود دارد که کاهش بیان ژن لیپوکالین-۲ در پژوهش حاضر ناشی از کاهش مقدار و فعال‌سازی NF- $\kappa$ B بر اثر فعالیت ورزشی باشد. اگرچه ساز و کار دقیق کاهش بیان ژن لیپوکالین-۲ در بررسی حاضر به درستی مشخص نیست، اما ممکن است نشان‌دهنده‌ی سازوکاری سازشی، و بیان‌گر ماهیت ضدالتهابی فعالیت ورزشی باشد.

سودمندی اثرات فعالیت ورزشی منظم بر شاخص‌های متابولیسمی در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است. با وجود این، داده‌های اندکی در مورد تاثیر آن بر سیستم ایمنی و شاخص‌های التهابی در بیماران دیابتی وجود دارد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تغییرات بیان ژن لیپوکالین-۲ بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی در پاسخ به یک جلسه فعالیت هوازی بود.

همان‌طور که انتظار می‌رفت القای دیابت موجب افزایش سطح گلوکز در پلازما شد. سطح گلوکز، بلافاصله پس از فعالیت ورزشی با کاهش نسبی همراه بود. فعالیت‌های ورزشی از راه سازوکارهای مختلفی می‌توانند موجب بهبود دریافت و مصرف گلوکز خون به هنگام و پس از فعالیت ورزشی شوند. برخی از این سازوکارها عبارتند از افزایش جریان خون عضلانی، افزایش اتصال انسولین به گیرنده‌ی آن، افزایش تغییر و تبدیل<sup>۱</sup> گیرنده‌ی انسولین و افزایش انتقال گلوکز به وسیله‌ی تحریک در جابجایی GLUT4 به سطح سلول عضلانی.<sup>۲۲، ۲۳</sup>

مهم‌ترین یافته‌ی این پژوهش، کاهش بیان ژن لیپوکالین-۲ پس از یک جلسه فعالیت هوازی در موش‌های صحرایی دیابتی است. کاهش معنی‌دار بیان ژن لیپوکالین-۲ در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی، ۴ ساعت پس از فعالیت ورزشی هوازی مشاهده شد، و تا ۲۴ ساعت پس از فعالیت نیز در سطح پایین‌تر از گروه کنترل باقی ماند.

تاثیر فعالیت بدنی و ورزش بر سطح لیپوکالین-۲ تنها در چند پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است. چوی و همکاران پس از ۳ ماه برنامه‌ی تمرین ورزشی تغییر معنی‌داری در سطح در گردش لیپوکالین-۲ زنان چاق مشاهده نکردند.<sup>۱۹</sup> این در حالی است که اسپیروپولوس و همکاران با بررسی ۱۰ دوندگی شرکت‌کننده در مسابقه‌ی فوق ماراتن نشان دادند که سطح در گردش لیپوکالین-۲ بلافاصله پس از فعالیت ورزشی افزایش داشته، و ۴۸ ساعت پس از آن به سطح پایه نزدیک گردید.<sup>۲۴</sup> همچنین، به تازگی دمیرچی و همکاران افزایش سطح لیپوکالین-۲ پلاسمایی را در مردان میان‌سال پس از یک جلسه فعالیت ورزشی درجه‌بندی شده براساس پروتکل بروس<sup>ii</sup> گزارش نمودند.<sup>۲۰</sup> با وجود این،

i- Turnover

ii- Bruce protocol

در کل، یافته‌های پژوهش حاضر حاکی از کاهش بیان ژن لیپوکالین-۲ در بافت چربی احشایی موش‌های صحرایی دیابتی در زمان بازیافت پس از یک جلسه فعالیت ورزشی بود. این یافته ممکن است بیانگر کاهش التهاب ناشی از دیابت پس از فعالیت ورزشی و نقش ضدالتهابی فعالیت ورزشی باشد. همچنین مشاهده شد حتی پس از یک جلسه فعالیت ورزشی می‌توان شروع سازگاری‌های به دست آمده از آن را مشاهده نمود. هرچند به منظور درک بیشتر و دقیق ساز و کارهای موثر بر این تغییرات انجام بررسی‌های بیشتر ضرورت دارد.

از دیگر یافته‌های این پژوهش کاهش معنی‌دار گلیکوژن کبدی بلافاصله پس از فعالیت ورزشی است. همچنین، افزایش غلظت کلسترول - HDL و NEFA نیز بلافاصله پس از فعالیت مشاهده شد. کاهش گلیکوژن کبدی موش‌های صحرایی دیابتی بلافاصله پس از فعالیت ورزشی، همراستا با یافته‌های فریرا و همکاران بود.<sup>۳۱</sup> بررسی‌ها نشان داده‌اند گلیکوژن کبدی در حفظ عملکرد بدنی به هنگام فعالیت ورزشی طولانی مدت اهمیت بسزایی دارد.<sup>۳۲</sup> فعالیت ورزشی موجب سازگاری در سوخت و ساز کبدی شده و موش‌های صحرایی دیابتی را قادر به بازسازی ذخایر گلیکوژنی می‌نماید.<sup>۳۳</sup> چنانچه مشاهده می‌شود در بررسی حاضر سطح گلیکوژن کبدی پس از ۲۴ ساعت به وضعیت پایه بازگشت.

## References

- Kjeldsen L, Bainton DF, Sengeløv H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase- associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood* 1994; 83: 799-807.
- Jessen BA, Stevens GJ. Expression profiling during adipocyte differentiation of 3T3-L1 fibroblasts. *Gene* 2002; 299: 95-100.
- Kratchmarova I, Kalume DE, Blagoev B, Scherer PE, Podtelejnikov AV, Molina H, et al. A proteomic approach for identification of secreted proteins during the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes to adipocytes. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1: 213-22.
- Lin Y, Rajala MW, Berger JP, Moller DE, Barzilai N, Scherer PE. Hyperglycemia- induced production of acute phase reactants in adipose tissue. *J Biol Chem* 2001; 276: 42077-83.
- Cowland JB, Muta T, Borregaard N. IL-1beta-specific up-regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin is controlled by IkappaB-zeta. *J Immunol* 2006; 176: 5559-66.
- Meheus LA, Fransen LM, Raymackers JG, Blockx HA, Van Beeumen JJ, Van Bun SM, et al. Identification by microsequencing of lipopolysaccharide-induced proteins secreted by mouse macrophages. *J Immunol* 1993; 151: 1535-47.
- Shen F, Hu Z, Goswami J, Gaffen SL. Identification of common transcriptional regulatory elements in interleukin-17 target genes. *J Biol Chem* 2006; 281: 24138-48.
- Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Tohoku J Exp Med* 2004; 203: 145-54.
- Belotto MF, Magdalon J, Rodrigues HG, Vinolo MA, Curi R, Pithon-Curi TC, et al. Moderate exercise improves leucocyte function and decreases inflammation in diabetes. *Clin Exp Immunol* 2010; 162: 237-43.
- Esteve E, Ricart W, Fernández-Real JM. Adipocytokines and insulin resistance: the possible role of lipocalin-2, retinol binding protein-4, and adiponectin. *Diabetes Care* 2009; 32: 362-7.
- Alexandraki KI, Piperi C, Ziakas PD, Apostolopoulos NV, Makrilakis K, Syriou V, et al. Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. *J Clin Immunol* 2008; 28: 314-21.
- Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem* 2007; 53: 34-41.
- 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 Endocrinol* 2008; 22: 1416-26.
- van Dam RM, Hu FB. Lipocalins and insulin resistance: etiological role of retinol-binding protein 4 and lipocalin-2? *Clin Chem* 2007; 53: 5-7.
- 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: 2533-40.
- Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Ramírez B, Silva C, Rotellar F, et al. Increased adipose tissue expression of lipocalin-2 in obesity is related to inflammation and matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 activities in humans. *J Mol Med* 2009; 87: 803-13.
- Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovasc Diabetol* 2011; 10: 1-15.
- Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 607-15.
- Choi KM, Kim TN, Yoo HJ, Lee KW, Cho GJ, Hwang TG, et al. Effect of exercise training on A-FABP, lipocalin-2 and RBP4 levels in obese women. *Clin Endocrinol* 2009; 70: 569-74.
- Damirchi A, Rahmani-Nia F, Mehrabani J. Effect of a single bout graded exercise on the cytokines response and insulin resistance index. *Brazilian Journal of Biomotricity* 2011; 5: 132-140.
- Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, Belcher JD, Grinstead GF, Frantz ID Jr. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol in serum: a status report. *Clin Chem* 1992; 38: 150-60.

22. Zinman B, Ruderman N, Campaigne BN, Devlin JT, Schneider SH. Physical activity/exercise and diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26 Suppl 1: S73-7.
23. Manetta J, Brun JF, Maimoun L, Callis A, Préfaut C, Mercier J. Effect of training on the GH/IGF-1 axis during exercise in middle-aged men: Relationship to glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: 929-36.
24. Spiropoulos A, Goussetis E, Margeli A, Premetis E, Skenderi K, Graphakos S, et al. Effect of inflammation induced by prolonged exercise on circulating erythroid progenitors and markers of erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 199-203.
25. Kasapis C, Thompson PD. The effects of physical activity on serum Creactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1563-9.
26. Das UN: Anti-inflammatory nature of exercise. *Nutrition* 2004; 20: 323-6.
27. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010; 20: 608-17.
28. Petersen AM, Pedersen BK: The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 2005; 98: 1154-62.
29. Kajitani N, Shikata K, Nakamura A, Nakatou T, Hiramatsu M, Makino H. Microinflammation is a common risk factor for progression of nephropathy and atherosclerosis in Japanese type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 88: 171-6.
30. da Luz G, Frederico MJ, da Silva S, Vitto MF, Cescosonetto PA, de Pinho RA, et al. Endurance exercise training ameliorates insulin resistance and reticulum stress in adipose and hepatic tissue in obese rats. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111: 2015-23.
31. Ferreira LD, Bräu L, Nikolovski S, Raja G, Palmer TN, Fournier PA. Effect of streptozotocin induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats posthigh-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: 83-91.
32. Murakami T, Shimomura Y, Fujitsuka N, Sokabe M, Okamura K, Sakamoto S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. *J Appl Physiol* 1997; 82: 772-5.
33. Crespilho DM, de Almeida Leme JA, de Mello MA, Luciano E. Effects of physical training on the immune system in diabetic rats. *Int J Diabetes Dev Ctries* 2010.

Original Article

## Changes of Adipose Tissue Lipocalin-2 gene Expression in Response to One Session Exercise in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Talebi-Garakani E, Hoseini-Andargoli M, Fathi R, Safarzade A

Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran

e-mail: Talebi\_umz@yahoo.com

Received: 29/10/2011 Accepted: 01/01/2012

### Abstract

**Introduction:** Lipocalin-2 has recently been identified as a novel adipokine, the concentration of which is positively associated with low grade inflammation, obesity, hyperglycemia and the metabolic syndrome. However, there is limited information available regarding the effect of exercise on Lipocalin-2 levels. The purpose of this study was to investigate the effect of one session exercise on adipose tissue Lipocalin-2 gene expression in diabetic rats. **Materials and Methods:** Twenty male Wister rats ( $160 \pm 5$  g) after diabetic induction were randomly divided into four groups, three exercise and one control. The training groups performed one exercise session on a motor-driven treadmill (45 min, 20 m/min). Animals in each groups were anesthetized immediately, 4h and 24h after exercise, respectively, and sampling was performed to assess adipose tissue Lipocalin-2 a gene expression, liver glycogen concentration, and plasma glucose and lipid profile levels. **Results:** Adipose tissue Lipocalin-2 gene expression decreased 4h and 24h after exercise, whereas plasma HDL and Non-Esterified Fatty Acid levels increased and liver glycogen decreased immediately after exercise. **Conclusion:** The decline of Lipocalin-2 gene expression after exercise may be an indication of the anti-inflammatory effect of exercise in diabetic rats. However further research is necessary in order to understand the mechanisms involved mechanisms

**Keywords:** Lipocalin-2, NGAL ,Diabetic Rats, Exercise, Gene Expression