

اثر ۸ هفته تمرین استقامتی و مهار کننده نیتریک اکساید بر آپلین بافت چربی در رت های نر سالمند

فاطمه فانی^۱، آسیه عباسی دلویی^{۲*}، احمد عبدی^۳

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: آپلین توسط بافت چربی ترشح می شود و نقش مهمی در فرآیندهای التهابی ایفا می کند و به نظر می رسد به عنوان یک سایتوکاین ضدالتهابی عمل می کند. هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثر هشت هفته تمرین استقامتی و مهار کننده نیتریک اکساید بر آپلین بافت چربی، گلوکز و انسولین در موش های صحرایی نر سالمند بود. **روش تحقیق:** به همین منظور ۲۴ سر رت نر با نژاد ویستار ۲۲ ماهه از انستیتو رازی خریداری و به مرکز تحقیقات منتقل شدند که به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین، مهارکننده و مهارکننده-تمرین تقسیم شدند. دوره تمرینی به مدت ۸ هفته اجرا شد که هر هفته ۵ روز و شدت تمرین ۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. گروه مهارکننده-تمرین همراه با دوره ۸ هفته ای تمرینات، به صورت محلول با آب آشامیدنی به مقدار ۰/۷۵ میلی گرم/ میلی لیتر (معادل ۱۰۰ میلی گرم به ازای هرکیلوگرم وزن موش ها در روز) L-NAME دریافت کردند. گروه مهارکننده طی دوره تنها مکمل دریافت نمودند. تمامی رت ها ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ۲۴ ساعت ناشتایی کشته و نمونه های بافت چربی جمع آوری گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون توکی در سطح معنی داری $p < 0/05$ انجام شد. **یافته ها:** نتایج نشان داد ۸ هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی دار سطح آپلین در بافت چربی رت های نر سالمند شد ($p=0/001$). با این وجود، تغییری در سطوح گلوکز ($p=0/15$) و انسولین ($p=0/83$) پس از دوره تمرینات استقامتی در گروه ها مشاهده نشد. **نتیجه گیری:** به نظر می رسد تمرین استقامتی می تواند سطح آپلین بافت چربی را مستقل از انسولین و گلوکز افزایش دهد. بنابراین احتمالاً تمرین استقامتی بتواند در کنترل وضعیت التهابی آزمودنی های سالمند نقش داشته باشد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، مهار کننده نیتریک اکساید، آپلین بافت چربی، موش های صحرایی نر سالمند.

مقدمه

به NO اتفاق می افتد و در واقع، این آپلین است که روند گشاد شدن عروق را سبب می شود (کادوگلو^{۱۱} و دیگران، ۲۰۱۲). پپتیدهای آپلین باعث گشادشدگی وابسته به اندوتلیوم به وسیله تحریک رهایش NO می شوند این اثر را می توان تقریباً به طور کامل در حضور مهار کننده NO سنتاز اندوتلیال (eNOS)^{۱۲} مشاهده نمود. نیترو ال آرژنین متیل استر (L-NAME)^{۱۳} نشان می دهد که ممکن است آپلین گشادشدگی را از طریق اثر فعال شدن مسیر eNOS اعمال می کنند (اشلی^{۱۴} و دیگران، ۲۰۰۶). فعالیت ورزشی می تواند روی ترشح آدیپوکین ها تأثیرگذار باشد (هیدا و دیگران، ۲۰۰۵). با این وجود، مطالعات با هدف تأثیر برنامه های تمرینی بر سطوح آپلین پلاسما محدود هستند و این مطالعات اغلب بر روی گونه های حیوانی جوان و بالغ محدود شده اند. محبی و دیگران در مطالعه ای نشان دادند سطوح آپلین پلاسما، انسولین خون و شاخص مقاومت به انسولین پس از ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط کاهش معنی داری یافت (محبی و دیگران، ۲۰۱۴). با وجود این، امینی لاری و دیگران در مطالعه ای پس از ۱۲ هفته تمرین هوازی افزایش معنی داری در سطح پلاسمایی آپلین و کاهش معنی داری را در سطح گلوکز نشان دادند (امینی لاری و دیگران، ۲۰۱۴). همچنین در تحقیق ژانگ و دیگران تمرین شنا در موش ها نشان داد در مقایسه با موش های کم تحرک، آپلین در بافت های قلبی-عروقی، در پلاسما، قلب و آئورت افزایش یافت (ژانگ و دیگران، ۲۰۰۶). ما و دیگران نیز نشان دادند غلظت بالاتر آپلین در مردان با افزایش خطر ابتلا به دیابت در آنها مرتبط بود، اما این ارتباط در زنان مشاهده نشد (ما و دیگران، ۲۰۱۴). تأثیر آپلین بر جذب گلوکز در موش مقاوم در برابر انسولین سالم و چاق را مورد بررسی قرار گرفته و بیان شده که آپلین می تواند هدف امیدوار کننده در مدیریت مقاومت به انسولین باشد. همچنین در چندین تحقیق به بررسی سطوح آپلین پلاسما و سرم پرداخته شده است (بسی پاتین^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۴؛ فیوجی^{۱۶} و دیگران، ۲۰۱۵؛ کادوگلو و دیگران، ۲۰۱۲).

بافت چربی یکی از ارگان های اصلی درون ریز می باشد که عوامل مختلفی (آدیپوکاین ها) را که بر روی حساسیت انسولینی و تعادل انرژی تأثیرگذار هستند، تولید می کند (روزن و اسپیلمن^۱، ۲۰۰۶). افزایش بیش از حد بافت چربی در افراد چاق موجب ایجاد تغییراتی در سطوح آدیپوکاین هایی می شود که نقش اصلی را در تعدیل اختلالات مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع ۲ یا بیماری های قلبی-عروقی دارند (ملینار^۲ و دیگران، ۲۰۰۷). به تازگی نشان داده شده که سلول های چربی، آپلین^۳ - یک پپتید فعال زیستی - را سنتز و ترشح می کنند (بوچر^۴ و دیگران، ۲۰۰۵).

برخی تحقیقات ارتباط روشنی بین سوخت و ساز انرژی و اعمال محیطی آپلین نشان داده اند (درای^۵ و دیگران، ۲۰۰۸؛ فریر^۶ و دیگران، ۲۰۰۹). تحت شرایط طبیعی ارتباط مثبتی بین آپلین پلاسما و سطوح انسولین در طی انتقال از حالت گرسنگی به سیری مشاهده شده است (بوچر و دیگران، ۲۰۰۵؛ سوریگر^۷ و دیگران، ۲۰۰۹). تحت شرایط پاتوفیزیولوژیکی، به نظر می رسد سیستم آپلین و گیرنده آن از حالت تنظیمی خارج می شود، با این حال تعدادی از محققان دریافته اند سطوح آپلین پلاسما در آزمودنی های انسانی و موش در شرایط چاقی، دیابت و مقاومت انسولین افزایش می یابد (درای و دیگران، ۲۰۰۸؛ سوریگر و دیگران، ۲۰۰۹)، مطالعات دیگر نشان دادند که سطح آپلین در بیماران دیابت نوع ۲ کاهش می یابد (اردم^۸ و دیگران، ۲۰۰۸). به طور گسترده ای ثابت شده که کاهش نیتریک اکسید (NO)^۹ زیستی به گسترش و پیشرفت بیماری های مختلف منتهی می شود. همچنین اثر تحریکی نیتریک اکسید بر روی مصرف و جذب گلوکز در عضله اسکلتی موش گزارش شده است (هیگاک^{۱۰} و دیگران، ۲۰۰۱). اگرچه نقش نیتریک اکسید در تنظیم وزن بدن و مقاومت انسولینی عنوان شده است، اما اثر مزمن آن بر روی چاقی و مقاومت انسولینی ناشی از رژیم غذای پرچرب ناشناخته باقی مانده است.

همچنین تأثیرات آپلین فعال در قلب از طریق ساز و کار وابسته

1. Rosen & Spiegelman
2. Mlinar
3. Apelin
4. Boucher
5. Dray
6. Frier

7. Soriquer
8. Erdem
9. Nitric oxide
10. Higaki
11. Kadoglou
12. Nitric oxide Synthase inhibitor

13. Nitro-L Arginine Methyl Ester
14. Ashley
15. Besse-Patin
16. Fujie

در مرحله آشنایی (هفته اول)، موش‌ها هر روز به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان ویژه جوندگان راه رفتند. در مرحله اضافه بار (هفته دوم تا چهارم)، موش‌ها ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه راه رفتند و به تدریج در مدت ۳ هفته شدت و مدت فعالیت افزایش یافت تا به میزان نهایی یعنی سرعت نوارگردان به ۲۸ متر بر دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه فعالیت تعیین شده برای هر گروه رسید. در مرحله حفظ یا تثبیت، هفته پنجم تا هشتم موش‌ها به مدت ۴ هفته با شدت تعیین شده ۲۸ متر بر دقیقه (معادل ۸۰-۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و به مدت ۶۰ دقیقه روی نوارگردان دویدند، که در تمامی مراحل فوق شیب نوارگردان صفر درجه بود. ضمناً از مجموع زمان فعالیت، ۵ دقیقه برای گرم کردن، و ۵ دقیقه برای سرد کردن رت‌ها با سرعت ۷ متر بر دقیقه در نظر گرفته شد (نایتو و دیگران، ۲۰۰۱). گروه‌های L-NAME و تمرین مهارکننده L-NAME روزانه L-NAME را به صورت محلول با آب آشامیدنی به مقدار ۰/۷۵ میلی گرم بر میلی لیتر (معادل ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن رت‌ها در روز) دریافت کردند.

نمونه‌گیری خونی و آنالیز آزمایشگاهی: رت‌ها ۷۲ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین، در حالی که سیر بودند (۴ ساعت قبل از کشته شدن غذا از قفس برداشته، اما به آب دسترسی داشتند) با تزریق داخل صفاقی ماده بیهوشی ترکیبی از کتامین^۱ (۵۰-۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین^۲ (۵-۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و کشته شدند. بلافاصله پس از برداشت بافت چربی احشایی، بافت چربی جدا شده پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های عاری از RNAase و DNAase قرار داده شد و بافت‌های مورد نظر بلافاصله در نیتروژن مایع (دمای ۱۹۶- درجه) منجمد شد و ضمن انتقال به آزمایشگاه در دمای ۸۰- درجه تا زمان اجرای پروتکل آزمایشگاهی مورد نظر نگهداری شدند. برای جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی، نمونه‌گیری از ساعت ۸ آغاز و ۱۱:۳۰ به اتمام می‌رسید.

با توجه به اهمیت آپلین به عنوان عامل احتمالی در پیشگیری و یا هشدار دهنده بیماری‌ها، فرآیندهای متابولیکی و عملکردهای دستگاه‌های مختلف بدن، محدود بودن تعداد تحقیقات و نتایج متناقض تحقیقات انجام شده در این زمینه، تحقیق حاضر به دنبال پاسخ به این سوال است که هشت هفته تمرین استقامتی و مهارکننده نیتریک اکساید بر آپلین بافت چربی، گلوکز و انسولین در موش‌های صحرایی نر سالمند چه تأثیری دارد؟

روش تحقیق

در این پژوهش ۲۴ سر رت نر با نژاد ویستار ۲۲ ماهه از انستیتو رازی خریداری و به مرکز تحقیقات منتقل شد. حیوانات پس از ورود به محیط تحقیق و آشنایی با محیط جدید و نحوه فعالیت روی نوارگردان، به صورت تصادفی به ۴ گروه اصلی کنترل، تمرین، مهارکننده L-NAME و تمرین-مهارکننده L-NAME تقسیم شدند. حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق در طی دوره آشنایی با محیط جدید و آشنایی با نوارگردان و همچنین دوره اجرای پروتکل در قالب گروه‌های ۶ سر رت در قفس‌های پلی کربنات شفاف با ابعاد ۱۵ × ۱۵ × ۳۰ سانتی متر ساخت شرکت رازی راد و در دمای محیطی با ۲۲±۴/۱ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵±۴ درصد نگهداری شدند. غذای آزمودنی‌های این پژوهش، تولید شرکت خوراک دام پارس بود. در تمام مراحل تحقیق، آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در اختیار آن‌ها قرار داده شد. تمامی مراحل نگهداری و کشتار موش‌ها براساس کمیته اخلاقی حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. از آنجا که موش‌های آزمایشگاهی به بیماری‌های تنفسی بسیار حساس هستند، از این رو تهویه مناسب برای جلوگیری از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات در محل نگهداری قرار داده شد.

برنامه تمرینی آزمودنی‌ها: موش‌ها در گروه تجربی به مدت ۸ هفته، هر هفته ۵ روز تمرین کردند. کل دوره تمرین به سه مرحله آشنایی، اضافه بار و حفظ یا تثبیت شدت کار تقسیم شد.

آماري و مقایسه بین گروه ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه استفاده گردید و متعاقب آن از آزمون توکی استفاده گردید. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ انجام شد و سطح معنی داری آزمون ها $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد بین انسولین گروه ها اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$ ، $F=6/214$ ، F_{3}).

روش اندازه گیری: شاخص های مورد نظر (آپلین بافت چربی، انسولین و گلوکز پلاسما) در آزمایشگاه تخصصی به وسیله کیت آپلین مدل کریستال دی بیوتچ ساخت کشور چین و با حساسیت ۵/۹ نانوگرم بر لیتر به روش الایزا، غلظت انسولین پلاسما با کیت الایزا مدل مرکودیا ساخت کشور سوئد ویژه رت با حساسیت ۰/۱۵ میکروگرم بر لیتر و ضریب تغییرات ۵/۳ درصد و به روش الایزا ساندویچی و کیت گلوکز مدل پارس آزمون (ساخت ایران) به روش فوتومتریک اندازه گیری شدند.

روش های آماری: از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف برای تعیین طبیعی بودن داده ها استفاده شد. سپس جهت تجزیه و تحلیل

جدول ۱. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به انسولین در گروه های آزمودنی

متغیر	مجموع مجدورات	درجات آزادی	میانگین مجدورات	نسبت F	p
انسولین (نانوگرم بر میلی لیتر)	بین گروه ها	۳	۵۱۳/۹۳	۰/۲۹	۰/۸۳
	درون گروه	۱۶	۱۷۶۸/۳۷		
	مجموع	۱۹			

همچنین، نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد بین گلوکز گروه ها اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0/05$ و $F=6/214$ ، F_{3}).

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به گلوکز در گروه های آزمودنی

متغیر	مجموع مجدورات	درجات آزادی	میانگین مجدورات	نسبت F	p
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	بین گروه ها	۳	۴۹۵/۰۶	۱/۹۸	۰/۱۵
	درون گروه	۱۶	۲۴۹/۶۶		
	مجموع	۱۹			

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد بین آپلین بافت چربی گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود دارد ($P > 0/05$ ، $F = 6/214$ ، $F_{3, 16} = 0/05$).

جدول ۳. نتایج آزمون تحلیل واریانس مربوط به آپلین بافت چربی در گروه‌های آزمودنی

متغیر	مجموع مجذورات	درجات آزادی	میانگین مجذورات	نسبت F	p
آپلین بافت چربی (پیکو گرم / میلی لیتر)	بین گروه‌ها	۳	۵۱۳۷۶/۲۰	۷/۱۵	* ۰/۰۰۰۱
	درون گروه	۸/۶۰	۷۱۷۹/۴۰		
	مجموع	۱۹	۲۶۸۹۹۹		

* نشانه تفاوت معنی دار در سطح $p < 0/05$.

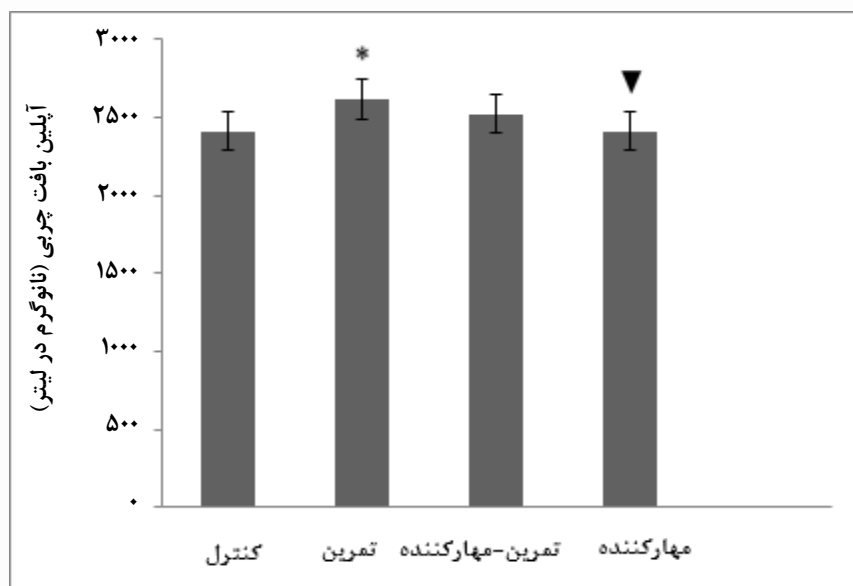
جدول ۴. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای تغییرات آپلین بافت چربی در گروه‌های مختلف

گروه	گروه	اختلاف میانگین	p
کنترل	تمرین	-۲۱۰	* ۰/۰۰۶
	تمرین - LNAM	-۱۱۳/۶۰	۰/۱۸
	LNAM	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰
تمرین	تمرین - LNAM	۹۶/۴۰	۰/۳۱
	LNAM	۲۱۰	* ۰/۰۰۶
تمرین - LNAM	LNAM	۱۱۳/۶۰	۰/۱۸

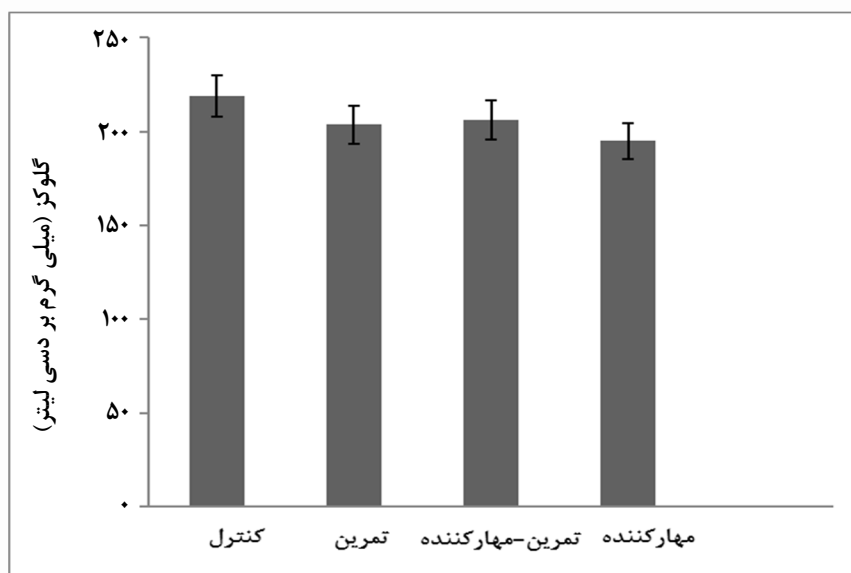
* نشانه تفاوت معنی دار در سطح $p < 0/05$.

نتایج نشان داد بین سطوح گلوکز گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p = 0/15$) (شکل ۲). همچنین، بین سطوح انسولین گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p = 0/83$) (شکل ۳). هرچند میانگین وزن گروه‌های تجربی در پایان مطالعه کاهش یافت، اما معنی دار نشد ($p = 0/07$).

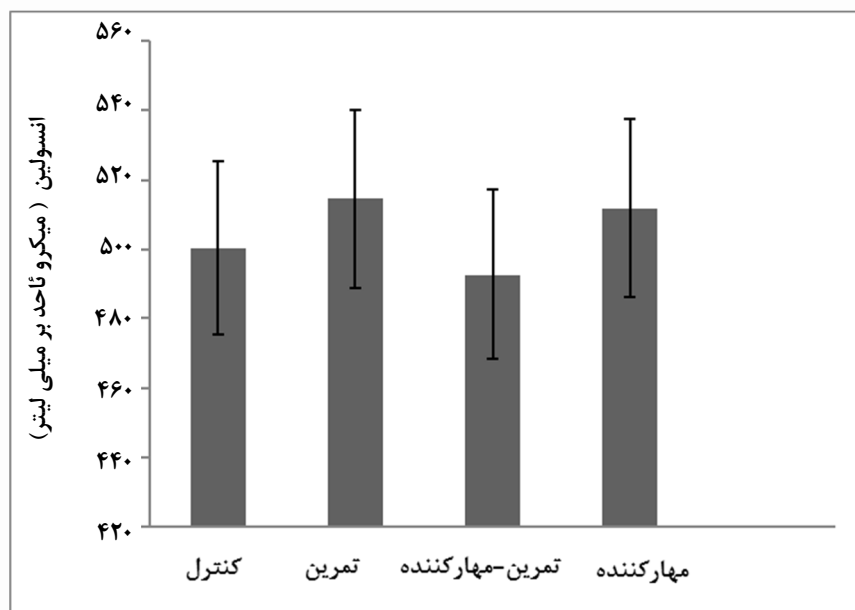
نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد بین دو گروه کنترل با تمرین و گروه تمرین با LNAM اختلاف معنی داری وجود داشته و بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد. نتایج تحقیق نشان داد که بین آپلین بافت چربی گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود دارد ($p = 0/0001$) (شکل ۱). با وجود این،



شکل ۱. تغییرات سطح آپلین بافت چربی در گروه های مختلف. *نشانه تفاوت با گروه کنترل؛ ▼ نشانه تفاوت با گروه تمرین در سطح $p < 0.05$.



شکل ۲. تغییرات سطح گلوکز در گروه های مختلف



شکل ۳. تغییرات سطح انسولین در گروه‌های مختلف

بحث

آپلین ترشح انسولین به واسطه تحریک گلوکز را در جزایر لانگرهانس مهار می‌کند (سورده^۵ و دیگران، ۲۰۰۵)، که نشان می‌دهد ارتباطی با هموستاز گلوکز وجود دارد. اخیراً در مطالعه‌ای روی موش‌ها نشان داده شده است که دوره درمانی ۱۴ روزه به وسیله آپلین، سوخت و ساز بافت چربی را تنظیم می‌کند (هیگاک^۶ و دیگران، ۲۰۰۷) و بیان پروتئین‌های جفت نشده را برای تعیین نقش آپلین در سوخت و ساز انرژی افزایش می‌دهد. کاوالو و دیگران (۲۰۱۲) در تحقیقی عنوان داشتند تغییر هموستاز گلوکز با افزایش سطوح سرمی آپلین در بیماران با دیابت نوع ۲ مرتبط می‌باشد، به طوری که افراد با دیابت نوع ۲ سطوح آپلین بالاتری در مقایسه با هم‌تایان خود در گروه کنترل و یا افراد با دیابت نوع ۱ دارند. با وجود این، نتایج مطالعه حاضر با نتایج تحقیقات سعیدی و دیگران (۲۰۱۴)، امینی لاری و دیگران (۲۰۱۴) و ژانگ^۷ و دیگران (۲۰۰۶) هم‌سو نمی‌باشد.

نتایج تحقیق نشان داد که بین آپلین بافت چربی گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود دارد. به طوری که بین دو گروه کنترل با تمرین و گروه تمرین با LNAME اختلاف معنی داری وجود داشت و بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود نداشت. مطالعات مختلف به نقش ترکیبی آپلین در سوخت و ساز انرژی اشاره دارند. تزریق مرکزی آپلین نشان داده شده است که دریافت غذا در موش را کاهش می‌دهد، اما اثرات متضاد و مخالف این موضوع نیز گزارش شده است (واله^۱ و دیگران، ۲۰۰۸؛ کارپن^۲ و دیگران، ۲۰۰۷). در این تحقیقات نشان داده شد که سطوح سرمی آپلین با وضعیت تغذیه و هم‌زمان با سطوح انسولین پلاسما در موش و انسان مرتبط می‌باشد (بوچر و دیگران، ۲۰۰۵؛ کاستان^۳ و دیگران، ۲۰۰۸). علاوه بر این، سطوح پلاسمایی آپلین در آزمودنی‌های های چاق (هینونن^۴ و دیگران، ۲۰۰۵) و آزمودنی‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ همانند موش‌های چاق دچار هیپرانسولینمی افزایش یافت (بوچر و دیگران، ۲۰۰۵). در موش،

- | | |
|-------------|------------|
| 1. Valle | 5. Sorhede |
| 2. Carpen | 6. Higaki |
| 3. Castan | 7. Zhang |
| 4. Heinonen | |

آپلین به طور غیرمستقیم با مهار لیپولیز حساس به هورمون و کاهش رهایش اسیدهای چرب آزاد به گردش خون موجب کاهش مقاومت به انسولین می شود (کادوگلو و دیگران، ۲۰۱۲). با این وجود، مکانیسم های دقیق چگونگی تاثیر تمرین ورزشی بر سطح آپلین مشخص نیست، ولی فعال سازی AMPK می تواند ارتباط اصلی بین حساسیت به انسولین میانجی شده با فعالیت ورزشی و تغییرات آپلین را فراهم سازد (ژو و دیگران، ۲۰۱۱). تنظیم افزایشی AMPK ناشی از فعالیت ورزشی تأثیر خود را از طریق اجزای انتهایی آبشار سیگنالی انسولین (مسیر سیگنالی Akt/AS160/GLUT4) اعمال می کند (هاولی و لیزارد^۵، ۲۰۰۸). امینی لاری و دیگران افزایش معنی داری در سطح پلاسمایی آپلین و کاهش معنی داری در سطح گلوکز پس از دوازده هفته تمرینات هوازی مشاهده کردند (امینی لاری و دیگران، ۲۰۱۴). درای و دیگران نیز در تحقیقی به بررسی تنظیم آپلین و گیرنده آن در بافت چربی و عضله اسکلتی در افراد و موش های مبتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند. در موش های چاق بیان ژن آپلین و گیرنده آن در بافت چربی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. این اطلاعات نشان می دهد که بیان ژن آپلین و گیرنده آن در موش انسان به شیوه وابسته به بافت و مطابق با شدت مقاومت به انسولینی تنظیم می شود (درای و دیگران، ۲۰۱۰). در تحقیق حاضر نیز بعد از هشت هفته فعالیت ورزشی استقامتی و سازگاری های ناشی از آن احتمالاً بافت چربی بیشتر درگیر فعالیت ورزشی شده و در نتیجه این موضوع باعث می شود سطوح آپلین بافت چربی افزایش یابد.

همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد که مهارکننده نیتریک اکساید موجب عدم افزایش سطوح آپلین بافت چربی در گروه مهارکننده نیتریک اکساید شد؛ همچنین مهارکننده نیتریک اکساید در گروه ترکیبی (تمرین + مهارکننده) در مقایسه با گروه تمرین افزایش کمتری را در سطوح آپلین بافت چربی ایجاد کرد که نشان دهنده تاثیر مهارکننده نیتریک اکساید می باشد. نتایج دوپارث و دیگران نشان داد که تزریق آپلین در موش های ناشتا کنترل گلوکز را از طریق مکانیسم وابسته به نیتریک اکساید بهبود می بخشد.

به طوری که در مطالعه حاضر، تفاوت معنی داری در سطوح گلوکز و انسولین بین گروه های مورد مطالعه مشاهده نشد. به عبارتی، هشت هفته تمرین هوازی سطوح گلوکز و انسولین خون را دستخوش تغییر معنی داری نکرد. عدم همسویی یافته های مطالعه حاضر با مطالعات پیشین را شاید بتوان به عدم کاهش وزن رت های مورد مطالعه در این مطالعه نسبت داد. چرا که برنامه تمرینی با کاهش معنی دار وزن بدن همراه نبود. در این راستا برخی محققان به این نکته اشاره نموده اند که تنها آن دسته از برنامه های تمرینی که با کاهش معنی دار وزن بدن همراه باشد به بهبود سایتوکاین های التهابی یا ضد التهابی یا به عبارتی بهبود نیمرخ التهابی منجر می شوند (شوا^۱ و دیگران، ۲۰۰۸؛ وارادی^۲ و دیگران، ۲۰۰۹). برخی دیگر از محققان نیز با اشاره بر این موارد که آپلین سطوح مقاومت به انسولین در افراد چاق را متأثر می کند، مصرف گلوکز را تحریک و ترشح انسولین را مهار می کند و همچنین به تنظیم منفی لیپولیز ناشی از کاتکولامین ها منجر می شود، از اهمیت این آدیپوکاین در پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین حمایت نموده اند (ژو^۳ و دیگران، ۲۰۱۱). همچنین در مطالعه ای سطوح پایه بالاتر آپلین پلازما در زنان نسبت به مردان گزارش شده است (ما و دیگران، ۲۰۱۴). این محققان افزایش غلظت آپلین را از عوامل موثر در شیوع و افزایش شدت دیابت نوع ۲ گزارش نموده اند. از دیگر مکانیسم هایی که بر سطوح آپلین پلازما تاثیر گذار هستند می توان به سن، سابقه خانودگی دیابت، سطوح هموگلوبین گلیکوزیله، شاخص توده بدن، فشار خون بالا و مقاومت انسولین اشاره نمود (ما و دیگران، ۲۰۱۴).

به طور کلی، غلظت آپلین به طور مستقیم با گلوکز خون ناشتا، شاخص توده بدنی، سن و تشخیص دیابت مرتبط می باشد (کوالو^۴ و دیگران، ۲۰۱۲). آپلین با یک بازخورد منفی ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز از سلول های بتای پانکراس را کاهش می دهد (سورده و دیگران، ۲۰۰۵). مکانیسم های سیگنالی آپلین جهت تنظیم حساسیت به انسولین به این صورت است که آپلین مستقیماً گلوکز مصرفی را از طریق مسیر AMPK و نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیال eNOS افزایش می دهد یا این که

1. Sheu
2. Varady
3. Xu

4. Cavallo
5. Hawley & Lessard

پرفشارخونی و یا هیپرگلیسمی می شود. بازدارنده NOS جریان خون به عضلات اسکلتی را کاهش می دهد و موجب اختلال در دفع گلوکز به واسطه انسولین در طی شرایط هیپرانسولینمی در داخل بدن می شود (بارون^۲ و دیگران، ۱۹۹۵).

نتیجه گیری: به نظر می رسد فعالیت استقامتی می تواند سطح آپلین بافت چربی را مستقل از انسولین و گلوکز افزایش دهد. بنابراین احتمالاً تمرین استقامتی بتواند به کنترل وضعیت التهابی ورزشکاران سالمند کمک نماید. یکی از محدودیت های تحقیق حاضر استفاده از حجم نمونه های اندک می باشد بنابراین احتمالاً بتوان با استفاده از جامعه آماری بزرگ تر به تبیین بهتر نتایج پرداخت. همچنین، با توجه به نقش مهم آپلین در بافت های مختلف بدن و تاثیر آن بر وضعیت التهابی، می توان در بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد چاق مورد بررسی قرار گیرد. با این وجود، رابطه مهم بین ورزش و آپلین به وضوح نیاز به توضیح بیشتری دارد.

قدردانی و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی می باشد، لذا نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از این واحد دانشگاهی و آزمودنی های این تحقیق اعلام می دارند.

این نتیجه زمانی قوت گرفت که در موش های با مهارکننده نیتریک اکساید (موش های تحت درمان تزریقی L-NAME) مورد بررسی قرار گرفت. موش های ناشتا با درصد چربی بالا در شرایط کمبود نیتریک اکساید توسط هیپوتالاموس، پاسخ کندی را به تزریق آپلین نشان دادند. تزریق مرکزی دوز بالای آپلین در موش های طبیعی ناشتا هیپرانسولینمی، هیپرگلیسمی، عدم تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین را تحریک می کند (دوپارث^۱ و دیگران، ۲۰۱۱). همچنین، انسداد مزمن سنتز نیتریک اکساید، بافت چربی را کاهش می دهد و مقاومت به انسولین را در موش های چاق بهبود می بخشد. بر پایه این اطلاعات نتیجه گرفته شد که انسداد طولانی مدت نیتریک اکساید توسط L-NAME، چاقی و عدم تحمل گلوکز را بهبود می بخشد، با کاهش التهاب بافت چربی و بهبود مسیرهای سیگنالی انسولین در عضله اسکلتی همراه می شود که پیشنهاد می کند نیتریک اکساید درون زا نقش تعدیل کننده در پیشرفت مقاومت انسولینی ناشی از چاقی ایفا می کند. بخشی از مکانیسمی که در آن انسولین انتقال گلوکز را در داخل بدن افزایش می دهد شامل افزایش جریان خون و رهایی گلوکز به سمت عضلات است، فرآیندی که توسط ترشح نیتریک اکساید از اندوتلیوم ایجاد می شود. تزریق حاد مهار کننده NOS نیترو ال-آرژنین متیل استر (L-NAME) منجر به پیشرفت محسوس مقاومت به انسولین،

منابع

- Aminilari, Z., Daryanoosh, F., Kooshki Jahromi, M., & Mohamadi, M. (2014). The effect of 12 weeks aerobic exercise on the apelin, omentin and glucose in obese older women with diabetes type 2. *Arak Medical University Journal*, 17(85), 1-10. [Persian]
- Ashley, E., Chun, H. J., & Quertermous, T. (2006). Opposing cardiovascular roles for the angiotensin and apelin signaling pathways. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 41(5), 778-81.
- Balon, T. W., & Nadler, J. L. (1997). Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 82(1), 359-363.
- Baron, A. D., Zhu, J. S., Marshall, S., Irsula, O., Brechtel, G., & Keech, C. (1995). Insulin resistance after hypertension induced by the nitric oxide synthesis inhibitor L-NMMA in rats. *Endocrinology and Metabolism*, 269(4), 709-715.
- Besse-Patin, A., Montastier, E., Vinel, C., Castan-Laurell, I., Louche, K., Dray, C., Daviaud, D., Mir, L., Marques, M. A., Thalamas, C., Valet, P., Langin, D., Moro, C., & Viguerie, N. (2014). Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *International Journal of Obesity*, 38(5), 707-13.
- Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigné, C., Mazzucotelli, A., Castan-Laurell, I., Tack, I., Knibiehler, B., Carpené, C., Audigier, Y., Saulnier-Blache, J. S., & Valet, P. (2005). Apelin, a newly identified adipocyte up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*, 146(4), 1764-71.

- Carpéné, C., Dray, C., Attané, C., Valet, P., Portillo, M. P., Churruca, I., Milagro, F. I., & Castan-Laurel, I. (2007). Expanding role for the apelin/APJ system in physiopathology. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *63*(4), 358-373.
- Castan-Laurel, I., Vitkova, M., Daviaud, D., Dray, C., Kováčiková, M., Kovacova, Z., Hejnova, J., Stich, V., & Valet, P. (2008). Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *European Journal of Endocrinology*, *158*(6), 905-910.
- Cavallo, M. G., Sentinelli, F., Barchetta, I., Costantino, C., Incani, M., Perra, L., Capoccia, D., Romeo, S., Cossu, E., Leonetti, F., Agati, L., & Baroni, M. G. (2012). Altered glucose homeostasis is associated with increased serum apelin levels in type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*, *7*(12), 512-36.
- Dray, C., Debard, C., Jager, J., Disse, E., Daviaud, D., Martin, P., Attané, C., Wanecq, E., Guigné, C., Bost, F., Tanti, J. F., Laville, M., Vidal, H., Valet, P., & Castan-Laurel, I. (2010). Apelin and APJ regulation in adipose tissue and skeletal muscle of type 2 diabetic mice and humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *298*(6), 1161-1169.
- Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buléon, M., Cani, P. D., Attané, C., Guigné, C., Carpéné, C., Burcelin, R., Castan-Laurel, I., & Valet, P. (2008). Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metabolism*, *8*(5), 437-445.
- Duparc, T., Colom, A., Cani, P. D., Massaly, N., Rastrelli, S., Drougard, A., Le Gonidec, S., Moulédous, L., Frances, B., Leclercq, I., Llorens-Cortes, C., Pospisilik, J. A., Delzenne, N. M., Valet, P., Castan-Laurel, I., & Knauf, C. (2011). Central apelin controls glucose homeostasis via a nitric oxide-dependent pathway in mice. *Antioxidants & Redox Signaling*, *15*(6), 1477-96.
- Erdem, G., Dogru, T., Tasci, I., Sonmez, A., & Tapan, S. (2008). Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, *116*(5)289-292.
- Frier, B. C., Williams, D. B., & Wright, D. C. (2009). The effects of apelin treatment on skeletal muscle mitochondrial content. *American Journal of Physiology-Regulatory*, *297*(6), 1761-1768.
- Fujie, S. h., Koji, S., Miyamoto, M. E., Hasegawa, N., Fujita, S., Sanada, K., Hamaoka, T., & Iemitsu, M. (2014). Reduction of arterial Stiffness by Exercise Training Is Associated with Increasing Plasma Apelin Level in Middle-Aged and Older Adults. *PLoS One*, *9*(4), 935-45.
- Hawley, J. A., & Lessard, S. J. (2008). Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiologica*, *192*(1), 127-135.
- Heinonen, M., Purhonen, A. K., Miettinen, P., Pääkkönen, M., Pirinen, E., Alhava, E., Akerman, K., & Herzig, K. H. (2005). Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regulatory peptides*, *130*(1), 7-13.
- Hida, K., Wada, J., Eguchi, J., Zhang, H., Baba, M., Seida, A., Hashimoto, I., Okada, T., Yasuhara, A., Nakatsuka, A., Shikata, K., Hourai, S., Futami, J., Watanabe, E., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., Akagi, S., Makino, H., & Kanwar, Y. S. (2005). Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin sensitizing adipocytokine in obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(30), 10610-15.
- Higaki, Y., Hirshman, M. F., Fujii, N., & Goodyear, L. J. (2001). Nitric oxide increases glucose uptake through a mechanism that is distinct from the insulin and contraction pathways in rat skeletal muscle. *Diabetes*, *50*(6), 241-247.
- Higuchi, K., Masaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Katsuragi, I., Tanaka, K., Kakuma, T., & Yoshimatsu, H. (2007). Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology*, *148*(6), 2690-2697.

- Ishida, J., Hashimoto, T., Hashimoto, Y., Nishiwaki, S., Iguchi, T., Harada, S., Sugaya, T., Matsuzaki, H., Yamamoto, R., Shiota, N., Okunishi, H., Kihara, M., Umemura, S., Sugiyama, F., Yagami, K., Kasuya, Y., Mochizuki, N., & Fukamizu, A. (2004). Regulatory Roles for APJ, A Seven transmembrane Receptor Related to Angiotensin-type 1 Receptor in Blood Pressure in Vivo. *The Journal of Biological Chemistry*, *279*(25), 26274-79.
- Kadoglou, N. P., Vrabas, I. S., Kapelouzou, A., Lampropoulos, S., Sailer, N., Kostakis, A., Liapis, C. D., & Angelopoulou, N. (2012). The impact of aerobic exercise training on novel adipokines, apelin and ghrelin, in patients with type 2 diabetes. *International Medical Journal of Experimental and Clinical*, *18*(5), 290-295.
- Ma, W. Y., Yu, T. Y., Wei, J. N., Chi, S. H., Hung, C. S., Lin, M. S., Liao, Y. J., Pei, D., Su, C. C., Lu, K. C., Liu, P. H., Lin, C. H., Chuang, L. M., Kao, H. L., Lin, J. W., Chuang, Y. J., & Li, H. Y. (2014). Plasma apelin: A novel biomarker for predicting diabetes. *Clinica Chimica Acta*, *435*(5), 18-23.
- Mlinar, B., Marc, J., Janez, A., & Pfeifer, M. (2007). Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clinica Chimica Acta*, *375*(1), 20-35.
- Mohebbi, H., Rhmaninia, F., Hedayati Emami, M. H., & Saidi Ziabari, T. (2014). Effects of 8-week moderate-intensity aerobic training on levels of plasma apelin and insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Physiology of Sport Journal*, *5*(20), 115-128. [Persian]
- Naito, H., Powers, S. K., Demirel, H. A., & Aoki, J. (2001). Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *33*(5), 729- 34.
- Rosen, E. D., & Spiegelman, B. M. (2006). Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, *444* (7121), 847-853.
- Saeidi Ziabari, T., Mohebbi, H., Rahmani nia, F., & Hedayati, M.H. (2014). Effects of 8-week moderate-intensity aerobic training on levels of plasma apelin and insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Journal of Sport Physiology*, *5*(20), 115-128. [Persian]
- Sheu, W. H., Chang, T. M., Lee W.J, Ou, H. C., Wu, C. M., Tseng, L. N., Lang, H. F, Wu, C. S., Wan, C. J., & Lee, I. T. (2008). Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. *Obesity*, *16*(5), 1033-8.
- Sorhede, W. M., Magnusson, C., & Ahrén, B. (2005). The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regulatory Peptides*, *131*(1), 12-17.
- Soriguer, F., Garrido-Sanchez, L., Garcia-Serrano, S., Garcia- Almeida, J. M., Tinahones, F. J., & Garcia-Fuentes, E. (2009). Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obesity Surgery*, *19*(11), 1574-1580.
- Valle, A., Hoggard, N., Adams, A. C., Roca, P., & Speakman, J. R. (2008). Chronic Central Administration of Apelin-13 Over 10 Days Increases Food Intake, Body Weight, Locomotor Activity and Body Temperature in C57BL/6 Mice. *Journal of Neuro endocrinology*, *20*(1), 79-84.
- Varady, K. A., Tussing, L., Bhutani, S., & Braunschweig, C. L. (2009). Degree of weight loss required to improve adipokine concentrations and decrease fat cell size in severely obese women. *Metabolism*, *58*(8), 1096-101.
- Xu, S., Tsao, P. S., & Yue, P. (2011). Apelin and insulin resistance: another arrow for the quiver? *Journal of Diabetes*, *3*(3), 225-231.
- Zhang, J., Ren, C. X., Qi, Y. F., Lou, L. X., Chen, L., Zhang, L. K., Wang, X., & Tang, C. (2006). Exercise training promotes expression of apelin and APJ of cardiovascular tissues in spontaneously hypertensive rats. *Life Sciences*, *79*(12), 1153-9.

Abstract**The effect of 8 weeks of endurance training and nitric oxide on Apelin in adipose tissue in elderly male's rats****Fatemeh Fani^{1*}, Asieh Abbassi Daloui², Ahmad Abdi³**

1. MS.c in Exercise Physiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Assistant Professor, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3. Assistant Professor, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

Background and Aim: Apelin that is secreted by adipose tissue plays an important role in the inflammation process and it seems could be considered as an anti-inflammatory cytokines. The aim of this study was to determine the effect of 8 weeks of endurance training and L-NAME on Apelin in adipose tissue, glucose and insulin in elderly male's rats. **Materials and Methods:** For this purpose, 24 vistar elderly rats with average 22 months old purchased from Razi Institute and transferred to Research Center, they randomly divided into four groups as: control, training, L-NAME, training and L-NAME. Training protocol performed for 8 weeks and 5 days a week with 75-80 VO_{2max} . Inhibitor-training Group with 8-week training period, were given the solution to the drinking water 0.75 mg / ml (100 mg kg mice per day) L-NAME. Inhibitors Group during the period received only supplement. All rats were killed 72 hours after the final training session and after 24 hours of fasting adipose tissue samples were collected and kept in -80 Celsius degree. Also, Data was analyzed with One way ANOVA and Tucky in $p < 0.05$. **Results:** The results showed that the eight weeks of endurance exercise significantly increased the level of apelin in adipose tissue of older male rats ($p=0.0001$). However, no changes was observed in the levels of glucose ($p=0.157$) and insulin ($p=0.832$) after endurance training in groups. **Conclusion:** It seems that endurance training can increase the levels of apelin in adipose tissue independently of insulin and glucose. So probably endurance training could have a role in control inflammatory condition in elderly subjects.

Keywords: Endurance training, L-NAME, Apelin in adipose tissue, Elderly male rats.

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, vol. 4, no. 8, Fall & Winter 2016/2017

Received: Jul 21 , 2015

Accepted: Jan 10, 2016

* Corresponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Islamic Azad University of Ayatollah Amoli, Amol, Mzandran;
E-mail: abbasi.daloui@gmail.com

DOI: 10.22077/jpsbs.2017.455