



The effects of interval and continuous training on PLIN3 and PLIN5 of expression visceral fat in obese male Wistar rats

Karim Azali Alamdari^{1*}, Mousa Khalafi²

1. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Faculty of Education and Psychology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.
2. PhD of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Guilan, Iran.

Abstract

Background and Aim: There is not enough information on the effect of exercise training types on perilipins (PLINs) as important regulators of adipose storage and lipolysis. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of high intensity interval training (HIIT) and moderate intensity continuous training (MICT) on PLIN3 and PLIN5 protein expression of visceral fat in obese male Wistar rats. **Materials and Methods:** Firstly, the rats were divided into two groups as standard diet (CD) and high fat diet (HFD) and after induction of obesity (with 10 weeks of high fat diet); next, the obese rats were divided into three groups as obese control (OC), MICT and HIIT groups. The HIIT group performed their training protocols including 10 bouts of 4-minute running bouts at 85-90% of VO_{2max} with 2-minute active rest intervals per session, and MICT group also were performed continuous running sessions at 65-70% of VO_{2max} protocols for 12 weeks, five days/week on a rat treadmill, in accordance with the progressive overload principle. The running distance were equalized between two protocols. The Western blot were used to measure the visceral fat PLIN3 and PLIN5 protein expression level. Independent samples t- test, one-way analysis of variance and Tukey tests were applied for extraction of results at the $p \leq 0.05$ level. **Results:** The PLIN5 and PLIN3 levels were higher ($p=0.008$) and lower ($p=0.001$) respectively in the HFD group as compare to CD group. On the other hand, PLIN3 level was higher after both HIIT and MICT group compared to OC ($p=0.001$ and $p=0.04$ respectively), while there was no differences between two training groups ($p=0.90$). Moreover, PLIN5 level had no significant differences between OC and HIIT or MICT ($p=0.08$ and $p=0.45$ respectively) groups. **Conclusion:** It seems that both HIIT and MICT may play important roles in lipid droplet metabolism through regulation of PLIN3 expression level in diet induced obesity; while no significant difference was observed between the impact of them.

keywords: Exercise training, Perilipin, Obesity.

Cite this article:

Azali Alamdari, K., & Khalafi, M. (2021). The effects of interval and continuous training on PLIN3 and PLIN5 of visceral fat in obese male Wistar rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 9(18), 24-34.

*Corresponding Author, Address: Faculty of Education and Psychology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Maragheh Road, Tabriz, Iran;

Email: k.azali@azaruniv.ac.ir

 <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.2863.1517>



تاثیر تمرینات ورزشی تناوبی و تداومی بر بیان پروتئین‌های PLIN3 و PLIN5 چربی احشایی رت‌های نر چاق نژاد ویستار

کریم آزاللی علمداری^{۱*}، موسی خلفی^۲

۱. دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.
۲. دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: اطلاعات محدودی در زمینه آثار نوع تمرینات ورزشی بر پری لیپین‌ها (PLINs) به عنوان تنظیم کننده‌های مهم ذخیره و لیپولیز بافت چربی وجود دارد. از این‌رو، هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) و تداومی با شدت متوسط (MICT) بر بیان پروتئینی PLIN3 و PLIN5 چربی احشایی رت‌های نر چاق نژاد ویستار بود. **روش تحقیق:** ابتدا رت‌ها به دو گروه رژیم غذایی استاندارد (CD) و رژیم غذایی پرچرب (HFD) تفکیک شده و پس از القا چاقی (با ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب)، به ۳ گروه کنترل چاق (OC)، تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) تقسیم شدند. پروتکل تمرین HIIT شامل ۱۰ مرحله فعالیت ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max} و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای؛ و پروتکل تمرین MICT با شدت معادل ۶۵ تا ۷۰ درصد VO_{2max} ؛ هر دو به مدت ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته، با رعایت اصل اضافه بار بر روی نوارگردان اجرا گردیدند. مسافت طی شده به منظور همسان سازی هر دو پروتکل یکسان در نظر گرفته شد. مقادیر پروتئینی PLIN3 و PLIN5 چربی احشایی به روش وسترن بلات اندازه‌گیری شدند. از آزمون t مستقل، تحلیل واریانس یک‌سویه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی داری $p < 0.05$ برای استخراج نتایج استفاده شد. **یافته‌ها:** در گروه HFD، مقدار PLIN5 بیشتر ($p = 0.008$) و مقدار PLIN3 کمتر ($p = 0.001$) از گروه CD بود. از طرف دیگر، پس از اجرای هر دو پروتکل HIIT و MICT، مقدار PLIN3 نسبت به گروه OC (به ترتیب با $p = 0.001$ و $p = 0.004$) بیشتر شد؛ در حالی که تفاوت معنی‌داری بین دو پروتکل تمرینی وجود نداشت ($p = 0.90$). از طرف دیگر، PLIN5 در هر دو گروه تمرینی HIIT و MICT، تفاوت معنی‌داری با گروه OC (به ترتیب با $p = 0.08$ و $p = 0.45$) نداشت. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد در شرایط چاقی ناشی از رژیم غذایی هر دو نوع تمرین ورزشی HIIT و MICT به واسطه تنظیم PLIN3 نقش موثری در متابولیسم قطرات چربی ایفا می‌کنند، ولی تفاوتی از لحاظ مقدار اثرگذاری دو نوع پروتکل تمرینی مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین ورزشی، پری لیپین؛ چاقی.

مقدمه

بافت چربی، ارگانی فعال در تنظیم هوموستاز انرژی می‌باشد و دریافت انرژی زیاد به ویژه از رژیم غذایی پرچرب^۱ (HFD)، منجر به افزایش تعداد و اندازه سلول‌های چربی (یا هر دوی آن‌ها) به ویژه در بافت چربی احشایی می‌شود (کانون^۲، ۲۰۰۴). بنابراین، تنظیم متابولیسم چربی می‌تواند نقش موثری در کنترل متابولیسم کل بدن، تنظیم وزن و بهبود چاقی داشته باشد. یک مفهوم نسبتاً جدید در تنظیم متابولیسم چربی بدن، پری لیپین‌ها^۳ (PLINs) هستند که به عنوان خانواده‌ای از پروتئین‌های مرتبط با قطرات چربی شناخته شده‌اند (ایتابه^۴ و دیگران، ۲۰۱۷). PLINs پروتئین‌های فسفریله شده موجود در سطح قطرات چربی در سلول‌های چربی، سلول‌های تولیدکننده استروئید، سلول‌های کبدی، قلب و عضلات اسکلتی هستند (اسومی و کوراموتو^۵، ۲۰۱۶) که پنج عضو آن‌ها از PLIN1 تا PLIN5 با بیان بافتی متفاوت در هر دو حالت سالم و بیماری شناسایی شده است (ایتابه و دیگران، ۲۰۱۷). از بین این پروتئین‌ها، PLIN5 مهم‌ترین نقش را در سنتز و تجزیه قطرات چربی^۶ ایفا می‌کند (سزتا لیرد و کیمیل^۷، ۲۰۱۴؛ براساملی^۸، ۲۰۰۷). PLIN5 در بافت‌های اکسیداتیو مانند کبد، قلب، بافت چربی قهوه‌ای و عضلات اسکلتی؛ بیان می‌شوند (دالن^۹ و دیگران، ۲۰۰۷). مطالعات بوسما^{۱۰} و دیگران (۲۰۱۳) نشان داده است که بیان بیش از حد PLIN5 در عضلات اسکلتی موش، باعث افزایش محتوای تری‌گلیسرید درون عضلانی^{۱۱} (IMTG) می‌شود که با نتایج سایر مطالعات مبنی بر این که PLIN5 به عنوان یک محدودکننده لیپولیتیک برای محافظت از قطرات چربی در برابر فعالیت هیدرولیتی لیپازهای سلولی^{۱۲} عمل می‌کند (وانگ^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۵؛ پولاک^{۱۴} و دیگران، ۲۰۱۳)؛ همخوانی دارد. جالب توجه است که PLIN5 در تماس موضعی با میتوکندری می‌باشد (بوسما و دیگران، ۲۰۱۲) و پیشنهاد شده است که استفاده از اسیدهای چرب را افزایش می‌دهد (وانگ و دیگران، ۲۰۱۱).

اندامک‌های مختلف داخل سلولی دخالت داشت (راموس^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۴). این در حالی است که به طور خاص، نشان داده شده است که PLIN3 در آدیپوسیت‌ها از طریق تعامل با سطوح شبکه اندوپلاسمی و قطرات چربی به سنتز اسید چرب کمک می‌کند (اسکینر^{۱۶} و دیگران، ۲۰۰۹). بر اساس مطالعات قبلی، PLIN3 در زمان تحریک کاتکولامین‌ها^{۱۷} و همچنین پس از انقباض عضلانی، در قطرات چربی قرار دارد (پراتس^{۱۸} و دیگران، ۲۰۰۶) و منجر به تسهیل اکسیداسیون چربی می‌شود (سونی^{۱۹} و دیگران، ۲۰۰۹؛ الونگ^{۲۰} و دیگران، ۲۰۱۱).

در مورد تاثیر تمرینات ورزشی بر مقادیر PLINs بافت چربی به عنوان شاخص جدید و تنظیم‌کننده لیپولیز، مطالعات بسیار محدودی وجود دارد. مطالعات قبلی تعامل بین PLIN3 و PLIN5 را با سایر مولکول‌های تنظیم‌کننده لیپولیز در حالت استراحت بررسی کرده و تعامل معنی‌داری پس از انقباض بدست نیامده است (ماک فرسون^{۲۱} و دیگران، ۲۰۱۳). با این حال، گزارش شده است که به دنبال تمرین استقامتی، محتوای پروتئین PLIN3 عضله اسکلتی و میتوکندری افزایش می‌یابد. همچنین گزارش شده که در عضلات اسکلتی، محتوای پروتئین PLIN3 و PLIN5 عضلات پس از تمرین استقامتی افزایش می‌یابد (شفرد^{۲۲} و دیگران، ۲۰۱۳؛ لوجه^{۲۳} و دیگران، ۲۰۱۳). شواهد موجود دال بر آن است که PLINs و به طور خاص PLIN5، ممکن است در طول انقباض عضلانی در میتوکندری نقش مهمی داشته باشند که احتمالاً ناشی از تعامل بین قطرات چربی و میتوکندری در طول لیپولیز می‌باشد. در ارتباط با PLIN3 در بافت چربی اطلاعات محدودی وجود دارد، اما در بافت چربی زیر پوستی زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک^{۲۴}، PLIN3 تنها پروتئین از خانواده PLINs بوده که به تمرین استقامتی پاسخ داده است (کاوینگتون^{۲۵} و دیگران، ۲۰۱۵). آنچه تاکنون ناشناخته باقی مانده این است که پروتئین‌های PLIN3 و PLIN5 بافت چربی احشایی، به عنوان شاخص جدید تنظیم‌کننده لیپولیز، به تمرینات ورزشی چه پاسخی می‌دهند؟

در سال‌های اخیر، تمرین تناوبی با شدت بالا^{۲۶} (HIIT) به عنوان روش تمرینی کارآمد مورد توجه قرار گرفته است. گزارش مطالعات قبلی نشان می‌دهند که HIIT

- | | | | |
|----------------------|---|--------------------|--------------------------------------|
| 1. High fat diet | 8. Brasaemle | 15. Ramos | 22. Shepherd |
| 2. Cannon | 9. Dalen | 16. Skinner | 23. Louche |
| 3. Perilipins | 10. Bosma | 17. Catecholamines | 24. Poly cystic ovary syndrome |
| 4. Itabe | 11. Intramyocellular triacylglycerol | 18. Prats | 25. Covington |
| 5. Osumi & Kuramoto | 12. Cellular lipase hydrolytic activity | 19. Soni | 26. High intensity interval training |
| 6. Lipid droplet | 13. Wang | 20. Ellong | |
| 7. Sztalryd & Kimmel | 14. Pollak | 21. MacPherson | |

تمرینی بر روی نوارگردان با شیب ۱۵ درجه پرداختند (مشابه با پروتکل هافستاد^۶ و دیگران، ۲۰۱۳). پروتکل HIIT شامل اجرای ۱۰ وهله فعالیت ورزشی ۴ دقیقه‌ای با شدت ۸۵-۸۰ درصد VO_{2max} و دوره‌های استراحتی ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۰ درصد VO_{2max} بود. پروتکل HIIT به صورت پیش رونده اجرا شد، به طوری که سرعت نوارگردان تا انتهای هفته دهم افزایش یافت و در ۲ هفته پایانی؛ حفظ گردید. بر این اساس، سرعت نوارگردان در هفته اول از ۱۷ متر بر دقیقه شروع و در هفته پایانی به ۲۶ متر بر دقیقه رسید. از طرف دیگر، پروتکل MICT مشابه HIIT به مدت ۱۲ هفته و ۵ جلسه در هر هفته اجرا شد؛ اما شدت تمرین ۶۵ تا ۷۰ درصد VO_{2max} بود. مسافت طی شده با پروتکل HIIT همسان گردید و به صورت پیش رونده سرعت نوارگردان تا هفته دهم افزایش و دو هفته پایانی ثابت باقی ماند. برای همسان سازی میانگین مسافت طی شده، همانند مسافت طی شده در جریان طی ۱۰ وهله HIIT، هر جلسه MICT نیز مسافتی مشابه (به صورت متناظر) در نظر گرفته شد. بر این اساس، سرعت نوارگردان در پروتکل MICT، در هفته اول، از ۱۲ متر بر دقیقه شروع و در هفته پایانی به ۱۶ متر بر دقیقه رسید. لازم به ذکر است که ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن در ابتدا و انتهای تمرینات ورزشی اعمال شد (هافستاد و دیگران، ۲۰۱۳).

اندازه‌گیری مقادیر پروتئینی PLINs: به منظور اندازه‌گیری مقادیر پروتئینی PLIN5 و PLIN3، بافت برداری از چربی احشایی در دو مرحله و پس از ناشتایی شبانه صورت گرفت. نمونه برداری مرحله اول پس از ۱۰ هفته مصرف رژیم‌های HFD و CD و نمونه برداری مرحله دوم ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه انجام شد. برای این منظور، رت‌ها با ترکیبی از داروی کتامین-زایلازین^۸ بیهوش شدند، سپس نمونه چربی احشایی آن‌ها برداشته شد و پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک، به کرایوتیوب‌های کدگذاری شده منتقل و برای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای منفی ۸۰ درجه نگهداری شدند. در مطالعه حاضر، برای سنجش مقادیر پروتئینی PLIN5 و PLIN3 چربی احشایی، از روش وسترن بلات^۹ استفاده شد. برای استخراج پروتئین‌های بافت چربی احشایی از بافر RIPA^{۱۰} حاوی ۰/۰۵ میلی مولار بافر تریس^{۱۱} (PH برابر ۸)، ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، ۰/۰۱ درصد EGTA^{۱۲}، یک درصد SDS^{۱۳} به اضافه ۰/۱

منجر به سازگاری‌های متابولیکی همچون بهبود اکسیژن مصرفی، بیوزنز میتوکندریایی^۱ و اکسیداسیون چربی، مشابه با تمرینات تناوبی با شدت متوسط^۲ (MICT) و تمرینات استقامتی می‌شود (آستوراین و اسپورت^۳، ۲۰۱۸؛ چاونل^۴ و دیگران، ۲۰۱۷). با این حال، در ارتباط با آثار انواع تمرینات ورزشی (HIIT در برابر MICT) بر PLINs، پیشینه تحقیق محدود تا حدودی ناهمسو است (شفرد و دیگران، ۲۰۱۳؛ مقدمی^۵ و دیگران، ۲۰۱۸). بر این اساس، در مطالعه حاضر تاثیر دو نوع تمرین HIIT و MICT بر مقادیر پروتئینی PLIN5 و PLIN3 چربی احشایی رت‌های نر چاق نژاد ویستار^۶ مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

ویژگی‌های نمونه آماری: مطالعه حاضر به روش تجربی با طرح پس آزمون به همراه گروه کنترل بود. برای این منظور ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار ۶ هفته‌ای (محدوده وزنی ۱۲۰±۲۰ گرم) از مرکز تحقیقات پاستور کرج (ایران) خریداری شدند. پس از انتقال حیوانات به آزمایشگاه جوندگان، تمامی رت‌ها در شرایط دمایی ۲۵±۲ درجه سانتی گراد، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۵۰ درصد در قفس‌های ۴ تایی نگهداری شدند. در طول این مدت دسترسی به آب و غذا به صورت آزاد بود. پس از ۲ هفته سازگاری با محیط جدید، رت‌ها به دو گروه رژیم غذایی پرچرب (HFD، ۳۲ سر) و رژیم غذایی استاندارد (CD، ۸ سر) تقسیم شدند. پس از ۱۰ هفته مصرف رژیم‌های غذایی، ۸ سر رت گروه CD و ۸ سر رت از گروه HFD به منظور بررسی اثر چاقی کشته شدند. در ادامه، رت‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب به طور تصادفی به ۳ گروه MICT، HIIT و کنترل چاق (OC) تقسیم گردیدند.

رژیم‌های غذایی: رژیم غذایی پرچرب مورد استفاده در مطالعه حاضر شامل ۶۰ درصد چربی، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین، و رژیم غذایی استاندارد شامل ۱۰ درصد چربی، ۷۰ درصد کربوهیدرات و ۲۰ درصد پروتئین بود. رژیم غذایی پرچرب که مشتق شده از چربی حیوانی بود، به سفارش پژوهشگران مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات سرم سازی ساخته شد.

پروتکل‌های تمرین: رت‌های گروه‌های HIIT و MICT به مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هر هفته به اجرای پروتکل

1. Mitochondrial biogenesis

2. Moderate intensity continuous training

3. Astorino & Schubert

4. Chavanelle

5. Moghadami

6. Wistar

7. Hafstad

8. Ketamine-Xylazine

9. Western Blot

10. Radioimmunoprecipitation assay buffer (RIPA buffer)

11. Tris buffer

12. Ethylene glycol-bis(β-aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA)

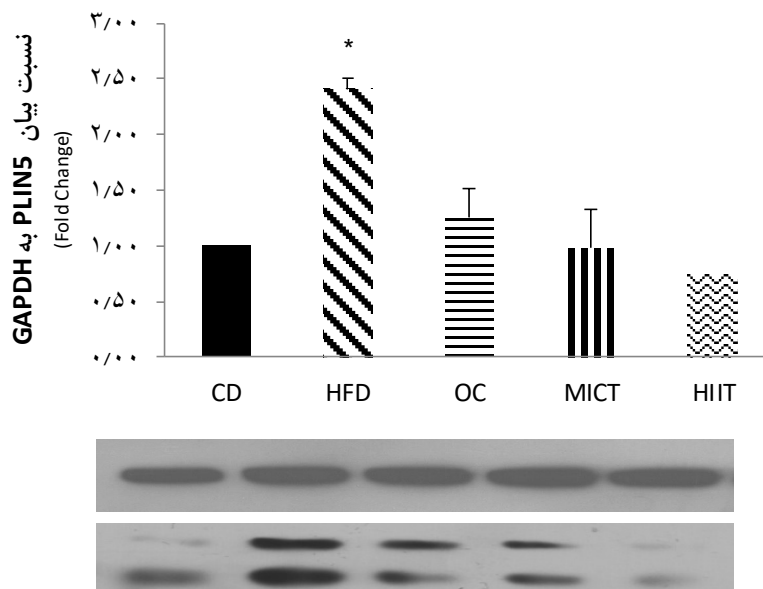
13. Sodium dodecyl sulfate

آزمون‌های t مستقل، تحلیل واریانس یک سویه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی^۸ بهره برداری گردید. کلیه محاسبات آماری توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون t مستقل نشان داد که القا چاقی با رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش معنی‌دار PLIN5 ($p = 0.008$ و $t = 4.28$) و کاهش معنی‌دار PLIN3 ($p = 0.001$ و $t = 16.23$) نسبت به گروه رژیم غذایی استاندارد می‌شود. نتایج آزمون ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحقیق (مرحله دوم: مربوط به سه گروه سمت راست شکل‌ها) در مورد پروتئین PLIN5 وجود ندارد ($p = 0.10$ و $F = 2.63$ ؛ به گونه‌ای که بر اساس نتایج آزمون توکی، کاهش PLIN5 در هر دو گروه HIIT ($p = 0.08$) و MICT ($p = 0.45$) از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. با این حال، تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تحقیق (مرحله دوم) وجود دارد ($p = 0.001$ و $F = 12.66$). بر اساس نتایج آزمون توکی، هر دو پروتکل HIIT ($p = 0.001$) و MICT ($p = 0.04$) منجر به افزایش معنی‌دار PLIN3 نسبت به گروه OC شدند؛ در حالی که تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرینی وجود نداشت ($p < 0.05$).

درصد آنتی پروتئاز کوکتیل^۱ (ROCHE) استفاده گردید. به این ترتیب که ۱۰۰ میلی گرم بافت در ۵۰۰ میکرولیتر بافر حاوی آنتی پروتئاز توسط یک هموژنایزر دستی هموژن شد. نیم ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند و سپس در یک سانتریفیوژ یخچال‌دار (با مشخصات bo, sw14rfroil) با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه و ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع رویی جمع‌آوری شده و غلظت پروتئین آن با کیت تعیین‌کننده پروتئین (Bio-Rad) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه پروتئین‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل پلی آکرلامید^۲ جدا شدند و به غشای نیترو سلولز^۳ منتقل گردیدند. غشا به مدت یک ساعت در مخلوط TBST 20 Tween^۴ مسدود شد و در آنتی‌بادی اولیه (۱:۵۰۰) انکوبه گردید. انکوباسیون در آنتی‌بادی ثانویه روز بعد به مدت یک ساعت در دمای اتاق در چهار درصد TBST انجام شد. پروتئین‌ها با یک واکنش شیمیایی لومینسانس (ECL) و چگالی ستون‌ها با نرم افزار Image J اندازه‌گیری شده و بر حسب مقدار بیان GAPDH^۵ نرمال شدند. آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه شرکت سانتا کروز^۶ مورد استفاده قرار گرفتند. روش آماری: پس از جمع‌آوری داده‌های تحقیق، طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک^۷ بررسی شد. سپس به منظور مقایسه بین گروه‌های تحقیق از



شکل ۱. مقایسه بیان پروتئین PLIN5 بین گروه‌های شرکت‌کننده در تحقیق؛ CD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، OC: گروه کنترل چاق، MICT: گروه تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: گروه تمرین تناوبی با شدت بالا. *نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه CD در سطح $p < 0.05$.

1. Protease inhibitor cocktail

2. Polyacrylamide

3. Nitrocellulose

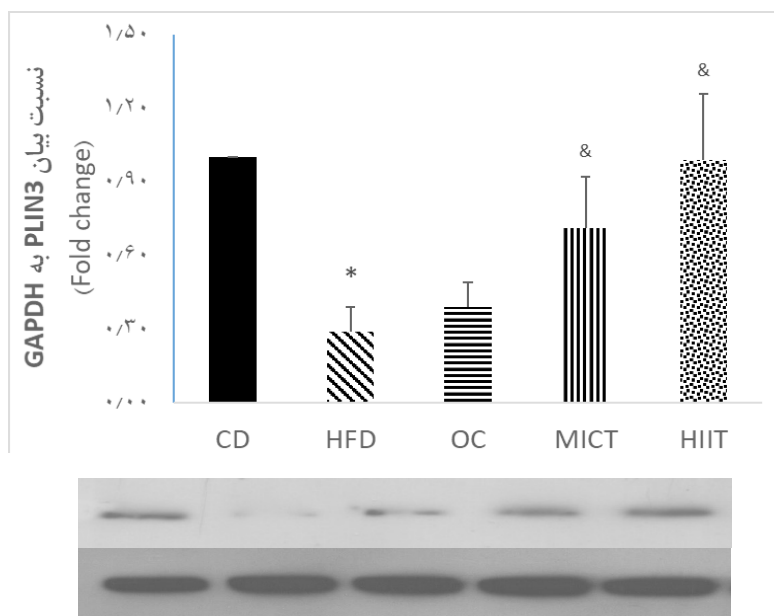
4. TBST is a mixture of tris-buffered saline (TBS) and Polysorbate 20 (also known as Tween 20)

5. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase

6. Santa Cruz

7. Shapiro-Wilk

8. Tukey



شکل ۲. تغییرات بیان پروتئینی PLIN3 : CD: رژیم غذایی استاندارد، HFD: رژیم غذایی پرچرب، OC: کنترل چاق، MICT: تمرین تداومی با شدت متوسط، HIIT: تمرین تناوبی با شدت بالا. * نشانه تفاوت معنی دار گروه CD ($p < 0.05$), & نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه OC در سطح $p < 0.05$.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که القاء چاقی با رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش قابل توجه PLIN5 و کاهش قابل توجه PLIN3 در بافت چربی احشایی می‌شود. در مقابل، مهم‌ترین یافته مطالعه حاضر این بود که هر دو پروتکل HIIT و MICT منجر به افزایش قابل توجه PLIN3 چربی احشایی می‌شوند. همچنین، علی‌رغم کاهش مقادیر پروتئینی PLIN5 پس از هر دو پروتکل HIIT و MICT؛ این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، اخیراً کو^۱ و دیگران (۲۰۱۹) گزارش کرده‌اند که مقادیر پروتئین PLIN5 به دنبال HFD به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. اگرچه دلیل افزایش PLIN5 از یافته‌های مطالعه حاضر قابل استنباط نیست؛ از آنجا که القاء چاقی با HFD منجر به افزایش قطرات چربی و توده چربی می‌شود؛ می‌توان این افزایش را ناشی از تجمع قطرات چربی دانست. در همین راستا، ۸ هفته تمرین استقامتی منجر به تنظیم افزایشی مقادیر پروتئینی PLIN3 عضله اسکلتی در افراد چاق شده است؛ این در حالی بود که سطوح mRNA این متغیر تغییر معنی‌داری نکرد (لوچه و دیگران، ۲۰۱۳). علاوه بر این،

غفاری و دیگران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی شدید منجر به افزایش معنی‌دار PLIN3 عضله اسکلتی در رت‌های دیابتی می‌شود. کاوینگتون و دیگران (۲۰۱۵) نیز گزارش نموده‌اند که ۱۶ هفته تمرین ورزشی منجر به افزایش قابل توجه PLIN3 بافت چربی در زنان مبتلا به سندرم پلی کیستیک می‌شود. علاوه بر این‌ها، شفرد و دیگران (۲۰۱۷) اظهار داشته‌اند که هر دو پروتکل MICT و تناوبی سرعتی با افزایش مقادیر پروتئینی PLIN3 عضله اسکلتی در تارهای عضلانی نوع یک و دو همراه است. بنابراین، بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر و شواهد موجود (کاوینگتون دیگران، ۲۰۱۵؛ غفاری و دیگران، ۲۰۱۹؛ لوچه و دیگران، ۲۰۱۳؛ شفرد و دیگران، ۲۰۱۷) می‌توان گفت تمرین ورزشی ممکن است مستقل از نوع بافت، منجر به افزایش PLIN3 شود. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که PLIN3، کوچک‌ترین قطرات چربی در سلول‌های بافت چربی را می‌پوشاند (وولینس^۲ و دیگران، ۲۰۰۵) و از سویی نیز بیان PLIN3 ممکن است به کاهش اندازه قطرات چربی مربوط باشد (گجلستاد^۳ و دیگران، ۲۰۱۲). همچنین، مداخلات رژیم غذایی نشان داده‌اند که در افراد مبتلا به سندرم متابولیک، مصرف رژیم غذایی

1. Ko
2. Wolins
3. Gjelstad

ناهمسوی مطالعه حاضر و مطالعات قبلی (غفاری و دیگران، ۲۰۱۹؛ لوچه و دیگران، ۲۰۱۳؛ شفرود و دیگران، ۲۰۱۳) ممکن است به واسطه تفاوت در منبع اندازه‌گیری PLIN5 باشد. پیش از این مطالعات انسانی و حیوانی گزارش کرده‌اند که در عضله اسکلتی، بیان PLIN5 با محتوای IMTG همبستگی مثبت دارد و بیان این پروتئین متناسب با محتوای IMTG در افراد لاغر و سالم تغییر می‌کند (پترس^۴ و دیگران، ۲۰۱۲؛ آماتی^۵ و دیگران، ۲۰۱۱؛ مینارد^۶ و دیگران، ۲۰۰۹). از سوی دیگر، به خوبی نشان داده شده است که تمرین ورزشی می‌تواند منجر به افزایش IMTG شود (راموس^۷ و دیگران، ۲۰۱۵؛ شاو^۸ و دیگران، ۲۰۱۲). همچنین، گزارش شده است که SIT و MICT، هر دو می‌توانند منجر به افزایش تعداد قطرات چربی در تعامل با میتوکندری بافت عضله اسکلتی شوند؛ تغییری که همسو با افزایش بیان PLIN5 رخ می‌دهد (شفرود و دیگران، ۲۰۱۷). بنابراین، افزایش PLIN5 عضله اسکلتی در مطالعات قبلی ممکن است به واسطه افزایش قطرات چربی و همچنین IMTG در نتیجه سازگاری به تمرین ورزشی باشد. PLIN5 عمدتاً در بافت‌های اکسیداتیو مانند عضلات قلبی و اسکلتی بیان می‌شود و ممکن است ذخیره چربی‌ها و تجزیه چربی در این بافت‌ها را کنترل کند (کوراموتو^۹ و دیگران، ۲۰۱۲). با این حال تاثیر تمرین ورزشی بر بافت چربی کمتر شناخته شده است. در همین راستا کوینگتون و دیگران (۲۰۱۳) گزارش کرده‌اند که ۱۶ هفته تمرین ورزشی اثراتی بر PLIN5 بافت چربی زنان مبتلا به سندرم پلی کیستیک ندارد (کوینگتون و دیگران، ۲۰۱۳). در مطالعه مقدماتی و دیگران (۲۰۱۸) نیز هر دو پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا و متوسط، منجر به کاهش معنی‌دار PLIN5 بافت چربی احشایی در رت‌های دیابتی نوع ۲ شده است. از این رو به نظر می‌رسد که سازگاری PLIN5 پس از تمرینات ورزشی، بستگی به نوع بافت (بافت چربی در برابر عضله اسکلتی) دارد. علاوه بر این، ممکن است فعالیت PLIN5 تنها وابسته به مقادیر پروتئینی تام آن نباشد. در واقع، ممکن است تمرین ورزشی منجر به افزایش فسفوریلاسیون این پروتئین شود؛ روندی که در مطالعه حاضر مورد بررسی قرار نگرفته است. کوو و دیگران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند

پرچرب سبب کاهش PLIN3 می‌شود. مطالعه حاضر نیز یافته مشابهی را ارائه داد مبنی بر این که القاء چاقی با HFD، منجر به افزایش PLIN3 می‌شود. علی‌رغم این که در مطالعات حاضر اندازه قطرات چربی بررسی نشد، بر مبنای یافته‌های پیشین (رینانکوسکی^۱ -توئیکا^۱، ۲۰۱۴؛ کوینگتون و دیگران، ۲۰۱۷) می‌توان حدس زد که HFD منجر به افزایش اندازه قطرات چربی و تمرینات ورزشی منجر به کاهش آن‌ها شده است. بنابراین، کاهش PLIN3 با رژیم غذایی پرچرب و افزایش این پروتئین پس از انجام تمرین ورزشی از این فرضیه حمایت می‌کند که اندازه قطرات چربی نقش موثری در تنظیم PLIN3 چربی احشایی دارد. همچنین، افزایش PLIN3 با تمرینات ورزشی می‌تواند منعکس‌کننده کاهش ذخیره انرژی و کوچک شدن قطرات چربی باشد. علاوه بر این، گزارش شده است که بیان PLIN3 به طور مثبت با فعالیت پروتئین کیناز فعال شونده با AMP^۲ (AMPK) تنظیم می‌شود (کلینرت^۳ و دیگران، ۲۰۱۶). از سوی دیگر، تمرین ورزشی محرک مناسبی برای افزایش فعالیت AMPK می‌باشد (هو و دیگران، ۲۰۱۴؛ لیو و دیگران، ۲۰۱۵). اگرچه در مطالعه حاضر مقادیر AMPK بافت چربی احشایی اندازه‌گیری نشده است، این امکان وجود دارد که هر دو پروتکل HIIT و MICT منجر به افزایش فسفوریلاسیون AMPK و به دنبال افزایش PLIN3 شده باشند. یافته دیگر تحقیق حاضر این بود که هر دو پروتکل HIIT و MICT منجر به کاهش غیر معنی‌دار PLIN5 چربی احشایی شدند. در همین رابطه، لوچه و دیگران (۲۰۱۳) گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی منجر به افزایش PLIN5 عضله اسکلتی می‌شود؛ این در حالی بود که سطوح mRNA این شاخص تغییرات معنی‌داری نکرد. علاوه بر این، شفرود و دیگران (۲۰۱۳) گزارش نموده‌اند که هم تمرین استقامتی و هم تناوبی سرعتی، منجر به افزایش قابل توجه بیان PLIN5 عضله اسکلتی می‌شوند؛ یافته‌ای که با یافته‌های مطالعه حاضر همسو نیست. به علاوه، غفاری و دیگران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی شدید منجر به افزایش معنی‌دار PLIN5 عضله اسکلتی در رت‌های دیابتی می‌شوند؛ در حالی که تمرین استقامتی با شدت کم، تاثیر معنی‌داری بر این شاخص ندارد. نتایج

1. Rinnankoski-Tuikka
2. AMP-activated protein kinase
3. Kleinert

4. Peters
5. Amati
6. Minnaard

7. Ramos
8. Shaw
9. Kuramoto

که شاید به تعداد کم موش‌ها مربوط باشد. با وجود این، انجام مطالعات بیشتر و اندازه‌گیری دقیق قطرات چربی پس از تمرینات ورزشی می‌تواند درک روشن‌تری از این موضوع فراهم نماید.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله هیچ تضاد منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از یک طرح پژوهشی مصوب در دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به شماره ۲۱۸/د/۲۶۰۷۷ خاتمه یافته در تاریخ ۹۹/۰۱/۲۷ می‌باشد. اندازه‌گیری متغیرهای آزمایشگاهی تحقیق حاضر با همکاری خانم دکتر پوران کریمی از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است و بدین وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از ایشان اعلام می‌داریم.

که تمرین ورزشی با افزایش مقادیر فسفوریله PLIN5 و همچنین نسبت p-PLIN به PLIN5 در رت‌های چاق همراه است. بنابراین، به نظر می‌رسد تنظیم PLIN5 بافت چربی به نوع بافت و نحوه فعال‌سازی آن (مقادیر تام یا فسفوریله) بستگی دارد؛ فرضیه‌ای که نیازمند بررسی‌های بیشتری می‌باشد.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم محدودیت‌های پژوهش حاضر از جمله تعداد کم موش‌ها در گروه‌ها، عدم اندازه‌گیری مقادیر فسفوریله PLIN3 و PLIN5 و همچنین عوامل بالا دستی تنظیم‌کننده بیان این دو پروتئین؛ می‌توان گفت که چاقی ناشی از رژیم پرچرب سبب کاهش بیان پروتئین PLIN3 و افزایش بیان پروتئین PLIN5 چربی احشایی موش‌ها می‌شود و هر دو نوع تمرین ورزشی تناوبی و تداومی ممکن است به واسطه تنظیم PLIN3 نقش موثری در متابولیسم قطرات چربی داشته باشند. تغییرات بیان PLIN5 در گروه HIIT خیلی به سطح معنی‌داری نزدیک بود

منابع

- Amati, F., Dubé, J. J., Alvarez-Carnero, E., Edreira, M. M., Chomentowski, P., Coen, P. M., . . . & Toledo, F. G. (2011). Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance: another paradox in endurance-trained athletes? *Diabetes*, 60(10), 2588-2597.
- Astorino, T. A., & Schubert, M. M. (2018). Changes in fat oxidation in response to various regimes of high intensity interval training (HIIT). *European Journal of Applied Physiology*, 118(1), 51-63.
- Bosma, M., Minnaard, R., Sparks, L. M., Schaart, G., Losen, M., de Baets, M. H., . . . & Schrauwen, P. (2012). The lipid droplet coat protein perilipin 5 also localizes to muscle mitochondria. *Histochemistry and Cell Biology*, 137(2), 205-216.
- Bosma, M., Sparks, L., Hooiveld, G., Jorgensen, J., Houten, S., Schrauwen, P., . . . & Hesselink, M. (2013). Overexpression of PLIN5 in skeletal muscle promotes oxidative gene expression and intramyocellular lipid content without compromising insulin sensitivity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1831(4), 844-852.
- Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., . . . & Long, J. Z. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 481(7382), 463-468.
- Brasaemle, D. L. (2007). Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. *Journal of Lipid Research*, 48(12), 2547-2559.
- Cannon, B. (2004). Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*, 84(1), 277-359.

- Chavanelle, V., Boisseau, N., Otero, Y. F., Combaret, L., Dardevet, D., Montaurier, C., . . . & Sirvent, P. (2017). Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific Reports*, 7(1), 204.
- Covington, J. D., Bajpeyi, S., Moro, C., Tchoukalova, Y. D., Ebenezer, P. J., Burk, D. H., . . . & Redman, L. M. (2015). Potential effects of aerobic exercise on the expression of perilipin 3 in the adipose tissue of women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *European Journal of Endocrinology*, 172(1), 47-58.
- Covington, J. D., Johannsen, D. L., Coen, P. M., Burk, D. H., Obanda, D. N., Ebenezer, P. J., . . . & Bajpeyi, S. (2017). Intramyocellular lipid droplet size rather than total lipid content is related to insulin sensitivity after 8 weeks of overfeeding. *Obesity*, 25(12), 2079-2087.
- Dalen, K. T., Dahl, T., Holter, E., Arntsen, B., Londos, C., Sztalryd, C., & Nebb, H. I. (2007). LSDP5 is a PAT protein specifically expressed in fatty acid oxidizing tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771(2), 210-227.
- Elong, E. N., Soni, K. G., Bui, Q.-T., Sougrat, R., Golinelli-Cohen, M. P., & Jackson, C. L. (2011). Interaction between the triglyceride lipase ATGL and the Arf1 activator GBF1. *PloS One*, 6(7), e21889.
- Ghafari, M., Faramarzi, M., Banitalebi, E. (2018). Compar two different endurance training intensities on perilipin 3 protein expression in skeletal muscle, serum glucose levels and insulin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Diabetes and Metabolism*, 17(4), 198-205. [Persian]
- Gjelstad, I., Haugen, F., Gulseth, H., Norheim, F., Jans, A., Bakke, S., . . . & Blaak, E. (2012). Expression of perilipins in human skeletal muscle in vitro and in vivo in relation to diet, exercise and energy balance. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 118(1), 22-30.
- Hafstad, A. D., Lund, J., Hadler-Olsen, E., Höper, A. C., Larsen, T. S., & Aasum, E. (2013). High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*, 62(7), 2287-2294.
- Huh, J. Y., Mougios, V., Kabasakalis, A., Fatouros, I., Siopi, A., Douroudos, I. I., . . . & Mantzoros, C. S. (2014). Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(11), E2154-E2161.
- Itabe, H., Yamaguchi, T., Nimura, S., & Sasabe, N. (2017). Perilipins: a diversity of intracellular lipid droplet proteins. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 83-91.
- Kleinert, M., Parker, B. L., Chaudhuri, R., Fazakerley, D. J., Serup, A., Thomas, K. C., . . . & Richter, E. A. (2016). mTORC2 and AMPK differentially regulate muscle triglyceride content via Perilipin 3. *Molecular Metabolism*, 5 (8):646-655.
- Ko, K., Woo, J., Bae, J. Y., Roh, H. T., Lee, Y. H., & Shin, K. O. (2018). Exercise training improves intramuscular triglyceride lipolysis sensitivity in high-fat diet induced obese mice. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 81-9.
- Kuramoto, K., Okamura, T., Yamaguchi, T., Nakamura, T. Y., Wakabayashi, S., Morinaga, H., . . . & Usuda, N. (2012). Perilipin 5, a lipid droplet-binding protein, protects heart from oxidative burden by sequestering fatty acid from excessive oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 287(28), 23852-23863.

- Liu, X., Niu, Y., Yuan, H., Huang, J., & Fu, L. (2015). AMPK binds to Sestrins and mediates the effect of exercise to increase insulin-sensitivity through autophagy. *Metabolism*, 64(6), 665-68.
- Louche, K., Badin, P.-M., Montastier, E., Laurens, C., Bourlier, V., de Glisezinski, I., . . . & Moro, C. (2013). Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(12), 4863-4871.
- MacPherson, R. E., Ramos, S. V., Vandenboom, R., Roy, B. D., & Peters, S. J. (2013). Skeletal muscle PLIN proteins, ATGL and CGI-58, interactions at rest and following stimulated contraction. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 304(8), R644-R650.
- Minnaard, R., Schrauwen, P., Schaart, G., Jorgensen, J. A., Lenaers, E., Mensink, M., & Hesselink, M. K. (2009). Adipocyte differentiation-related protein and OXPAT in rat and human skeletal muscle: involvement in lipid accumulation and type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(10), 4077-4085.
- Moghadami, K., Mohebbi, H., Khalafi, M., Akbari, A., Faridnia, M., & Tabari, E. (2018). The effect of interval training intensity on protein levels of ATGL and Perilipin 5 in visceral adipose tissue of type 2 diabetic male rats. *International Journal of Applied Exercise Physiology*, 7(4), 62-70.
- Osumi, T., & Kuramoto, K. (2016). Heart lipid droplets and lipid droplet-binding proteins: Biochemistry, physiology, and pathology. *Experimental Cell Research*, 340(2), 198-204.
- Peters, S. J., Samjoo, I. A., Devries, M. C., Stevic, I., Robertshaw, H. A., & Tarnopolsky, M. A. (2012). Perilipin family (PLIN) proteins in human skeletal muscle: the effect of sex, obesity, and endurance training. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 37(4), 724-735.
- Pollak, N. M., Schweiger, M., Jaeger, D., Kolb, D., Kumari, M., Schreiber, R., . . . & Heier, C. (2013). Cardiac-specific overexpression of perilipin 5 provokes severe cardiac steatosis via the formation of a lipolytic barrier. *Journal of Lipid Research*, 54(4), 1092-1102.
- Prats, C., Donsmark, M., Qvortrup, K., Londos, C., Sztalryd, C., Holm, C., . . . & Ploug, T. (2006). Decrease in intramuscular lipid droplets and translocation of HSL in response to muscle contraction and epinephrine. *Journal of Lipid Research*, 47(11), 2392-2399.
- Ramos, S., Turnbull, P., MacPherson, R., LeBlanc, P., Ward, W., & Peters, S. (2015). Changes in mitochondrial perilipin 3 and perilipin 5 protein content in rat skeletal muscle following endurance training and acute stimulated contraction. *Experimental Physiology*, 100(4), 450-462.
- Ramos, S. V., MacPherson, R. E., Turnbull, P. C., Bott, K. N., LeBlanc, P., Ward, W. E., & Peters, S. J. (2014). Higher PLIN5 but not PLIN3 content in isolated skeletal muscle mitochondria following acute in vivo contraction in rat hindlimb. *Physiological Reports*, 2(10):e12154.
- Rinnankoski-Tuikka, R., Hulmi, J. J., Torvinen, S., Silvennoinen, M., Lehti, M., Kivelä, R., . . . & Kainulainen, H. (2014). Lipid droplet-associated proteins in high-fat fed mice with the effects of voluntary running and diet change. *Metabolism*, 63(8), 1031-104.
- Shaw, C. S., Shepherd, S. O., Wagenmakers, A. J., Hansen, D., Dendale, P., & van Loon, L. J. (2012). Prolonged exercise training increases intramuscular lipid content and perilipin 2 expression in type I muscle fibers of patients with type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 303(9), E1158-1165.

- Shepherd, S. O., Cocks, M., Meikle, P. J., Mellett, N. A., Ranasinghe, A. M., Barker, T. A., . . . & Shaw, C. S. (2017). Lipid droplet remodelling and reduced muscle ceramides following sprint interval and moderate-intensity continuous exercise training in obese males. *International Journal of Obesity*, 41(12), 1745-1754.
- Shepherd, S. O., Cocks, M., Tipton, K., Ranasinghe, A. M., Barker, T. A., Burniston, J. G., . . . & Shaw, C. S. (2013). Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. *The Journal of Physiology*, 591(3), 657-675.
- Skinner, J. R., Shew, T. M., Schwartz, D. M., Tzekov, A., Lepus, C. M., Abumrad, N. A., & Wolins, N. E. (2009). Diacylglycerol enrichment of endoplasmic reticulum or lipid droplets recruits perilipin 3/TIP47 during lipid storage and mobilization. *Journal of Biological Chemistry*, 284(45), 30941-30948.
- Soni, K. G., Mardones, G. A., Sougrat, R., Smirnova, E., Jackson, C. L., & Bonifacino, J. S. (2009). Coatomer-dependent protein delivery to lipid droplets. *Journal of Cell Science*, 122(11), 1834-1841.
- Stallknecht, B., Vinten, J., Ploug, T., & Galbo, H. (1991). Increased activities of mitochondrial enzymes in white adipose tissue in trained rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 261(3), E410-E414.
- Sutherland, L. N., Bomhof, M. R., Capozzi, L. C., Basaraba, S. A., & Wright, D. C. (2009). Exercise and adrenaline increase PGC-1 α mRNA expression in rat adipose tissue. *The Journal of physiology*, 587(7), 1607-1617.
- Sztalryd, C., & Kimmel, A. R. (2014). Perilipins: lipid droplet coat proteins adapted for tissue-specific energy storage and utilization, and lipid cytoprotection. *Biochimie*, 96, 96-101.
- Trevellin, E., Scorzeto, M., Olivieri, M., Granzotto, M., Valerio, A., Tedesco, L., . . . & Reggiani, C. (2014). Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms. *Diabetes*, 63(8), 2800-2811.
- Wang, C., Zhao, Y., Gao, X., Li, L., Yuan, Y., Liu, F., . . . & Zhang, X. (2015). Perilipin 5 improves hepatic lipotoxicity by inhibiting lipolysis. *Hepatology*, 61(3), 870-882.
- Wang, H., Sreenivasan, U., Hu, H., Saladino, A., Polster, B. M., Lund, L. M., . . . & Sztalryd, C. (2011). Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria. *Journal of Lipid Research*, 52(12), 2159-2168.
- Wolins, N. E., Quaynor, B. K., Skinner, J. R., Schoenfish, M. J., Tzekov, A., & Bickel, P. E. (2005). S3-12, Adipophilin, and TIP47 package lipid in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 280(19), 19146-19155.