Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2014; 17(86): 1-10

Effect of eight weeks of endurance training on brain lactate uptake of diabetic rats during hypoglycemia state

Aveseh M[1], Nikooie R[2*], Sheibani V[1]

1- Neuroscience Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2- Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport science, Shahid Bahonar University of kerman, Kerman, Iran

Received: 6 May 2014, Accepted: 11 Jun 2014

Abstract

Background: Considering to the frequency of occurrence of hypoglycemia in diabetes, alternative substrates for glucose play an important role in maintaining brain metabolism. The aim of the present study was to investigate the long-term effects of endurance training on brain lactate uptake during hypoglycemia in type 1 diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, seventy-two male *Wistar* rats were equally divided into four groups: Control, Trained, Diabetic control and Diabetic trained. Diabetes was induced by intraperitoneally injection of streptozotocin. After 8 weeks of endurance training, Hypoglycemia was induced by an intraperitoneally injection of insulin. One-half hours after hypoglycemia, lactate (4mmol/kg) was injected intraperitoneally into animals. Animals were killed at intervals of 10, 20, and 30 min after injection, plasma and brain concentration of lactate and glucose were measured.

Results: A significant difference was found for plasma lactate concentration at intervals 20 ($p < 0.05$) and 30 ($p < 0.05$) between healthy groups and also between diabetic groups ($p < 0.05$). Thirty minutes after injection, significant increase in brain lactate concentration was found between control and trained ($p < 0.05$) and control diabetic and diabetic trained ($p < 0.05$). Brain/plasma ratio of lactate had a similar pattern with brain lactate concentration. Increase in brain lactate concentration had no effect on decreased level of brain glucose concentration.

Conclusion: Endurance training can increase the brain lactate uptake of diabetic rats during hypoglycemia.

Keywords: Brain lactate, Diabetes Mellitus Type I, Endurance training, Hypoglycemia

*Corresponding Author:
Address: Department of exercise physiology, Faculty of physical education and sport science, Shahid Bahonar University of kerman, Kerman, Iran
Email: r_nikooie@uk.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 17، شماره 5 (شماره پیاپی 86)، مرداد 1393، 10-1

بررسی تأثیر 8 هفته تمرین استقامتی بر برداشت لاکتات مغزی رت های دیابتی در شرایط هایپوگلیسمی

ملیحه آوسه[1]، روح الله نیکویی[2*]، وحید شیبانی[3]

1 - پژوهشکده نورو فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
2 - استادیار،گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
3- استاد، پژوهشکده نورو فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: 93/2/16 تاریخ پذیرش: 93/3/21

چکیده

زمینه و هدف: به دلیل تکرر وقوع هیپوگلیسمی در شرایط دیابت، سوبستراهای جایگزین گلوکز نقش مهمی در حفظ متابولیسم مغزی در این بیماری دارند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر بلند مدت تمرین استقامتی بر برداشت مغزی لاکتات در شرایط هیپوگلیسمی در رت‌های دیابتی نوع 1 بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی 72 رت نر نژاد ویستار به طور مساوی در چهار گروه کنترل، تمرینی سالم، کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی تقسیم شدند. دیابت از طریق ترکیب تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین ایجاد شد. پس از اعمال 8 هفته تمرین استقامتی، هیپوگلیسمی با تزریق درون صفاقی انسولین ایجاد گردید. یک و نیم ساعت بعد از ایجاد هیپوگلیسمی، رت‌ها تزریق درون صفاقی لاکتات (4 میلی‌مول بر گیلوگرم وزن بدن) را تجربه کردند. سپس حیوانات در فواصل 10، 20 و 30 دقیقه بعد از تزریق لاکتات کشته و غلظت لاکتات و گلوکز در مغز و پلاسما اندازه‌گیری شد.

یافته ها: اختلاف معنی‌دار در غلظت لاکتات پلاسما در دقیقه 20 ($p<0/05$) و 30 ($p<0/05$) بین گروه‌های سالم و در دقیقه 30 ($p<0/05$) بین گروه‌های دیابتی دیده شد. 30 دقیقه بعد از تزریق، افزایش معنی‌دار در غلظت لاکتات مغز بین کنترل و تمرینی سالم ($p<0/05$) و کنترل و تمرینی دیابتی ($p<0/05$) دیده شد. نسبت لاکتات مغز/ پلاسما نتیجه مشابه با غلظت لاکتات مغز داشت. افزایش غلظت لاکتات مغز تاثیری بر سطوح کاهش یافته گلوکز مغز نداشت.

نتیجه گیری: تمرین استقامتی می‌تواند برداشت مغزی لاکتات رت‌های دیابتی را در شرایط هیپوگلیسمی افزایش دهد.

واژگان کلیدی: لاکتات مغزی، دیابت نوع1، تمرین استقامتی، هایپوگلیسمی

[*] **نویسنده مسئول:** کرمان، بلوار 22 بهمن، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی
Email: r_nikooie@uk.ac.i

مقدمه

دیابت نوع 1 بیماری است که در آن به دلیل فقدان ترشح انسولین به وسیله سلول‌های بتای پانکراس افزایش در غلظت قند خون دیده می‌شود(1). تزریق خارجی انسولین عملی است که بیماران مبتلا به دیابت نوع 1 به منظور جبران فقدان ترشح طبیعی انسولین انجام می‌دهند تا به برداشت بافتی گلوکز کمک نمایند. علیرغم موثر بودن این روش درمانی، تزریق انسولین این بیماران را در معرض وقوع هایپوگلیسمی (hypoglycemia)قرار می‌دهد به طوری که این افراد به طور میانگین دو بار در هفته علائم هایپوگلیسمی را نشان می‌دهند(2). این اتفاق با روند طولانی شدن بیماری نیز افزایش می‌یابد و روند آن شدیدتر می‌گردد که عوارض زیادی با خود به همراه دارد.

گلوکز سوبسترایی ضروری برای متابولیسم مغز است که اعمال مربوط به فراهمی انرژی نقل و انتقالات سیناپسی، واکنش‌های ردوکس سلولی و دیگر اعمال مهم مغز را انجام می‌دهد(3). به دلیل این که متابولیسم مغزی به طور انحصاری به گلوکز وابسته است، هایپوگلیسمی مکرر تهدید بزرگی برای آسیب مغزی(4) و هم‌چنین آسیب دندریت‌های هیپوکمپ می‌باشد(5). با وجود اهمیت ویژه گلوکز در متابولیسم مغزی، تحت شرایط خاصی از جمله گرسنگی‌های طولانی مدت(6)، تمرین(۸،۷) و در طول دوره تکامل پس زایی(9) مغز توانایی استفاده از دیگر سوبستراهای انرژی از قبیل کتون بادی‌ها و لاکتات خون جهت حفظ نیازهای انرژی خود را داراست. در شرایط دیابت نیز به دلیل کاهش قند خون در دوره‌های هایپوگلیسمی، نقش کتون بادی‌ها و مونوکربوکسیلیک اسیدها از قبیل استون و لاکتات خون در تأمین انرژی مغز افزایش می‌یابد(۱۱،۱۰). در مطالعات مشاهده شده که غلظت لاکتات مغز در زمان هایپوگلیسمی در بیماران دیابتی نسبت به افراد سالم افزایش 5 برابری داشته است(12). هم‌چنین در مطالعات انسانی تزریق لاکتات قبل از اعمال هایپوگلیسمی سبب بازیابی متابولیسم مغزی(13) و بهبود عملکرد شناختی(13) افراد گردیده و نتایج مطالعات طیف سنجی مغناطیسی نشان می‌دهد که لاکتات خون با حفظ تداوم چرخه تری کربوکسیلیک اسید بیش از 30 درصد انرژی مغز را در حین هایپوگلیسمی تامین می‌نماید(14). مصرف لاکتات مغز برای تولید انرژی بستگی به برداشت لاکتات از جریان خون است، فرایندی که هم به شکل انتشار ساده و هم تسهیل شده به واسطه مونوکربوکسیلیک ترانسپورترها (Monocarboxylic Transporters-MCTs) انجام می‌شود(11). این عمل انتقال وابسته به غلظت لاکتات در خون است و زمانی انجام می‌پذیرد که غلظت لاکتات در خون از غلظت آن در مغز بیشتر باشد. بنابراین هر عاملی که بتواند سبب افزایش غلظت‌های خونی لاکتات شود، می‌تواند برداشت مغزی این سوبسترا را دستخوش تغییر نماید. انجام فعالیت بدنی از دیر باز با تغییرات شدید لاکتات خون و تغییر در سوبسترای مصرفی همراه بوده است(7، 15، 16). در زمان تمرین به دلیل این که لاکتات خون شریانی افزایش می‌یابد، سوبسترای مصرفی مغز به سمت لاکتات شیفت پیدا می‌کند(7، 8). هم‌چنین بیان انتقال دهنده‌های لاکتات در بافت‌های مختلف از قبیل عضله اسکلتی و قلبی تحت تاثیر تمرین قرار می‌گیرد. لذا این احتمال وجود دارد که انجام مکرر جلسات تمرینی بتواند برداشت مغزی لاکتات را بهبود دهد. با این وجود، تحقیقی در جهت بررسی این موضوع که آیا تمرین استقامتی بر ظرفیت برداشت مغزی لاکتات در شرایط هایپوگلیسمی در دیابت نوع 1 نقش دارد یا خیر؛ صورت نگرفته است. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر بلند مدت تمرین استقامتی بر برداشت مغزی لاکتات در شرایط هایپوگلیسمی در رت‌های دیابتی نوع 1 بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بود که با روش پس آزمون با گروه کنترل انجام گردید. در این مطالعه تعداد 72 رت نر نژاد ویستار در سن 6 هفتگی از مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان تهیه و در شرایط دمایی 3±22 درجه سانتی‌گراد تحت چرخه 12:12ساعت تاریکی – روشنایی نگهداری و با غذای مخصوص رت و آب تغذیه شدند. بعد

از گذشت 2 هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن مطلوب)، رت‌ها بر اساس وزن بدن در چهار گروه 18 تایی کنترل سالم(C) ، تمرینی سالم (T)، کنترل دیابتی(DC) و تمرینی دیابتی(TD) تقسیم شدند. تعداد 5 رت از گروه‌های دیابتی در طی تحقیق (بعد از القای دیابت) مردند. در پایان از هر گروه 15 رت، 3 رت برای اندازه‌گیری‌های پایه و 12 رت برای هایپوگلیسمی کوتاه مدت ناشی از انسولین (Insulin-Induced hypoglycaemia-IIH) و تست تزریق لاکتات استفاده شدند. تاییدیه اخلاقی برای انجام پروتکل تجربی با شماره کد اخلاق کا/ع/22-91 از کمیته اخلاقی مراقبت از حیوانات در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان گرفته شد. کلیه مراحل انجام تحقیق در مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان و به مدت 12 ماه به انجام رسید.

جهت ایجاد دیابت از روش تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin)به میزان 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم در بافر سیترات 0/1 مولار (PH= 4/5) بعد از 6 ساعت ناشتایی در دو گروه دیابتی استفاده شد(17). 48 ساعت بعد از تزریق دارو، نمونه خونی از چشم حیوان جمع‌آوری و جدا سازی سرم در 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه درg 3000 انجام و غلظت گلوکز با روش آنزیماتیک گلوکز اکسیداز با کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری گردید. غلظت گلوکز بالاتر از 180 میلی‌گرم بر دسی لیتر به عنوان دیابت تعریف(17) و رت‌های واجد شرایط وارد تحقیق شدند.

پروتکل تمرینی شامل دویدن روی تردمیل به مدت 8 هفته، 5 روز در هفته با زمان نهایی 60 دقیقه بود. در 5 روز اول گروه‌های TD و T با دویدن روی تردمیل در سرعت‌های پایین (20- 15 متر در دقیقه) به مدت 15-20 دقیقه در روز آشنا شدند. سپس به طور تدریجی در طول 8 هفته سرعت و مسافت دویدن افزایش یافت تا در نهایت در دو هفته آخر به سرعت 30 متر بر دقیقه و مدت 60 دقیقه رسید. گروه‌های کنترل به طور غیر فعال در قفس‌های خود ماندند.

48 ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، 12 رت از هر گروه برای هایپوگلیسمی کوتاه مدت ناشی از انسولین انتخاب شدند. هایپوگلیسمی با تزریق درون صفاقی انسولین (10 واحد انسولین در هر کیلوگرم وزن بدن) ایجاد گردید(18). بعد از گذشت یک و نیم ساعت که حیوانات نشانه‌های هایپوگلیسمی را نشان دادند، از هر گروه 3 حیوان با قطع کردن سر کشته و سر به طور مستقیم در نیتروژن مایع منجمد گردید. غلظت لاکتات و گلوکز مغز این حیوانات به عنوان مقادیر پایه قبل از تزریق درون صفاقی لاکتات استفاده گردید. ضمن این که نمونه خونی برای تعیین لاکتات پلاسما و غلظت گلوکز مستقیماً از رگ‌های گردن در زمان قطع سر در لوله‌های هپارینی جمع‌آوری شد. نسبت لاکتات مغز / پلاسما برای تعیین نفوذپذیری سد خونی مغزی به لاکتات در موش سالم و دیابتی مورد استفاده قرار گرفت(19). 9 رت باقی مانده از هر گروه تزریق درون صفاقی لاکتات را یک و نیم ساعت بعد از ایجاد هایپوگلیسمی به شرح زیر تجربه کردند.

ابتدا محلول 0/33 مولار از (+)L- اسید لاکتیک از محلول لاکتیک اسید 30 درصد (سیگما- آمریکا) تحت شرایط استریلیزه تهیه گردید. pH محلول با اضافه کردن سود 10 نرمال به 7/2 رسانده شد. یک و نیم ساعت بعد از ایجاد هایپوگلیسمی با انسولین به حیوانات لاکتات (4 میلی مول بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی تزریق شد. سپس حیوانات با قطع سر در فواصل 10، 20و 30 دقیقه بعد از تزریق (3 حیوان در هر زمان) مطابق دستورالعمل بالا کشته شده و بافت و نمونه‌های خونی مورد نظر جمع‌آوری شدند.

خون جمع‌آوری شده از رگ‌های گردن در زمان قربانی کردن (0/2 میلی‌لیتر) بلافاصله به نسبت 1 به 20 با محلول 0/5 مولار پرکلریک اسید مخلوط، در g 1500 به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و محلول رویی جدا گردید و جهت تجزیه و تحلیل بعدی در 80 – درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت تهیه هموژن مغزی ابتدا قشر مغز در دمای صفر درجه از سر استخراج و با روش هاون کوبی در نیتروژن مایع پودر گردید. پودر

حاصله به نسبت 1 به 8 به مدت 10 دقیقه در محلول پرکلریک اسید 6 درصد سرد انکوبه شدند و سپس در g 1500 به مدت 10 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد(20). سوپرناتانت حاصله جمع‌آوری و سپس غلظت لاکتات با کیت اندازه‌گیری لاکتات (شرکت Biovision) طبق دستورالعمل کارخانه سازنده کیت برای هر دوی بافت و نمونه‌های پلاسما اندازه‌گیری شد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری، در بخش آمار توصیفی از شاخص‌های پراکندگی انحراف معیار، میانگین و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها ازآزمون کلوموگروف –اسمیرنف استفاده شد. هم‌چنین همسان بودن واریانس‌ها با آزمون Leven سنجیده شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین متغیرها از آزمون آماری آنووا یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمامی مقایسات برابر $\alpha = 0/05$ انتخاب شد. کلیه محاسبات با نرم افزار آماری SPSS نسخه 18 انجام شد.

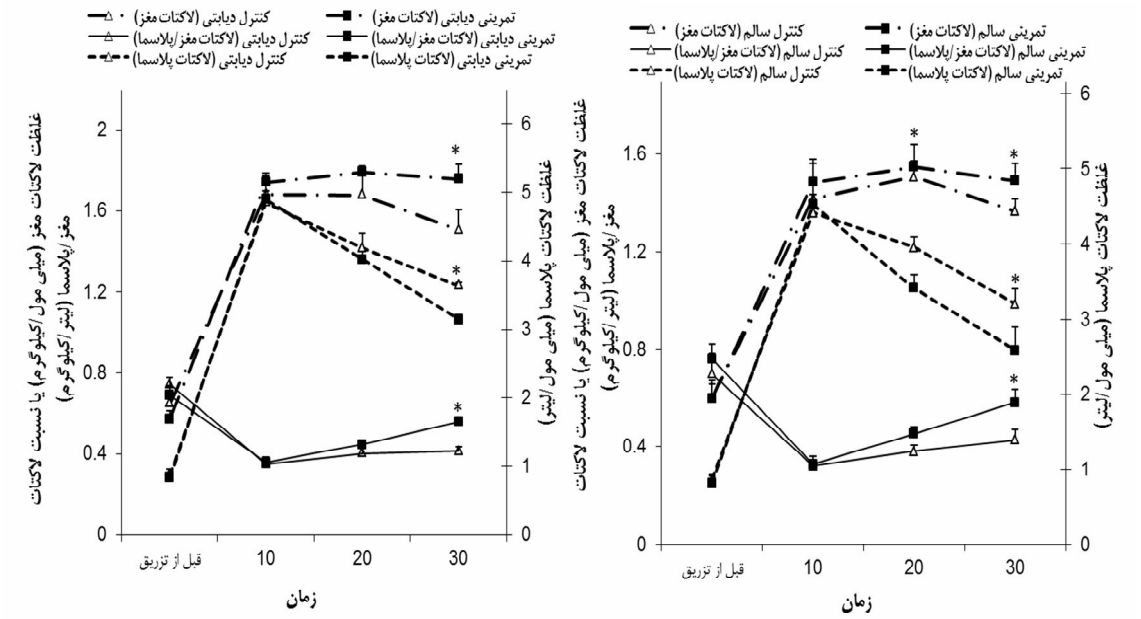
یافته‌ها

مقادیر استراحتی غلظت لاکتات و گلوکز پلاسمای گروه‌های تحقیق قبل از تزریق انسولین در جدول 1 گزارش شده است. در مقایسه با حیوانات سالم، درگروه‌های دیابتی مقادیر استراحتی غلظت لاکتات و گلوکز پلاسما به طور معنی‌دار بالاتر بود($p0/05 >$). غلظت لاکتات مغز و پلاسما و نسبت لاکتات مغز/پلاسما در حیوانات هایپوگلیسمی قبل از تزریق درون صفاقی لاکتات و در فواصل زمانی پس از تزریق در نمودار 1 نشان داده شده است. یک و نیم ساعت بعد از تزریق انسولین غلظت لاکتات پلاسما در رت‌های سالم (تقریباً 58 درصد) و در رت‌های دیابتی (تقریباً 70 درصد) نسبت به مقادیر استراحتی کاهش داشت. در عین حال، هر 4 گروه مقادیر مشابهی از غلظت لاکتات پلاسما قبل از تزریق لاکتات را نشان دادند(جدول 1). تزریق لاکتات، غلظت لاکتات پلاسما را در تمام گروه‌ها به مقدار 4/9 - 4/4 میلی‌مول بر لیتر افزایش داد (جدول 1). تفاوت معنی‌داری در غلظت لاکتات پلاسما 10 دقیقه بعد از تزریق بین گروه‌های تحقیق یافت نشد، اما در دقیقه 20 ($p0/05 >$) و دقیقه 30 ($p0/05 >$) بعد از تزریق تفاوت بین گروه‌های کنترل و تمرینی سالم معنی‌دار شد. تفاوت بین گروه‌های کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی تنها در 30 دقیقه($p0/05 >$) بعد از تزریق معنی‌دار شد.

جدول 1. مقادیر استراحتی غلظت لاکتات و گلوکز پلاسمای در گروههای مختلف تحقیق

	کنترل سالم (n=12)	تمرینی سالم (n=12)	کنترل دیابتی (n = 12)	تمرین دیابتی (n = 12)
لاکتات پلاسما (میلی مول در لیتر)	2/09±0/15	1/95±0/3	2/93±0/28	2/84±0/37
گلوکز پلاسما (میلی مول در لیتر)	5/43±0/21	5/33±0/27	12/5±0/99	11/28±0/95

داده ها میانگین ± انحراف معیار هستند



نمودار 1. نمودار غلظت لاکتات مغز، پلاسما و نسبت لاکتات مغز/پلاسما را قبل از تزریق درون صفاقی لاکتات (4 میلی مول/ کیلوگرم) و فواصل زمانی 10، 20 و 30 دقیقه بعد از تزریق را نشان می دهد. داده ها میانگین ± انحراف معیار 3 راس از هر گروه در هر زمان می باشند. مقایسات مربوط به هر متغیر به طور جداگانه در زمان های 10، 20 و 30 بین گروه های تحقیق انجام شده است (* اختلاف معنی دار بین گروهها، P <0/ 05)

10 دقیقه بعد از تزریق لاکتات، غلظت لاکتات مغز نسبت به مقادیر آن قبل از تزریق در گروه کنترل سالم (2/36 برابر)، تمرینی سالم (2/48 برابر)، کنترل دیابتی (2/54 برابر)، تمرینی دیابتی (3/04 برابر) افزایش یافت و هیچ تفاوت معنی‌داری بین 4 گروه یافت نشد. 30 دقیقه بعد از تزریق، تفاوت معنی‌داری بین دو گروه کنترل سالم و تمرینی سالم (p0/05 >) و هم‌چنین کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی (p0/05 >) یافت شد(نمودار 1).

نمودار 1 نسبت لاکتات پلاسما/ مغز قبل و در فواصل زمانی بعد از تزریق لاکتات در گروه‌های تحقیق را نشان می‌دهد. افت شدیدی در نسبت غلظت لاکتات مغز/پلاسما پس از تزریق لاکتات در تمام گروه‌ها وجود داشت. تفاوت معنی‌داری دو گروه کنترل سالم و تمرینی سالم (p0/05 >) و هم‌چنین کنترل دیابتی و تمرینی دیابتی (p0/05 >) در زمان 30 دقیقه بعد از تزریق لاکتات یافت شد.

جدول 2 غلظت گلوکز مغز و پلاسما در رت‌های هایپوگلیسمی شده قبل و بعد از تزریق لاکتات را نشان می‌دهد. یک و نیم ساعت بعد از تزریق انسولین، غلظت گلوکز پلاسما در رت‌های سالم (62 درصد) و در رت های دیابتی (81 درصد) نسبت به مقادیر پایه(جدول 1)کاهش یافت. مقادیر غلظت گلوکز پلاسما نسبت به مقادیر قبل از تزریق در تمام گروه‌ها و در هیچ زمانی تغییرات معنی‌داری نداشت. با این حال کاهش غیر معنی‌دار در غلظت گلوکز خون پلاسما 20 دقیقه بعد از تزریق لاکتات در گروه‌های کنترل سالم و تمرینی سالم یافت شد.

جدول 2. غلظت گلوکز پلاسما و مغز قبل از تزریق درون صفاقی لاکتات و در فواصل زمانی 10، 20 و 30 دقیقه بعد از تزریق

متغیر	گروهها	قبل از تزریق	بعد از تزریق (دقیقه)		
			10	20	30
گلوکز پلاسما (میلی مول در لیتر)	کنترل سالم	0/3±2/12	0/28±2/29	0/22±1/97	0/19±2/03
	تمرینی سالم	0/22±2/07	0/27±2/23	0/23±2/03	0/22±1/99
	کنترل دیابتی	0/3±2/17	0/27±2/36	0/25±2/31	0/27±2/34
	تمرینی دیابتی	0/2±2/1	0/25±2/31	0/16±2/34	0/33±2/23
گلوکز مغز (میلی مول در کیلوگرم)	کنترل سالم	0/004±0/07	0/015±0/10	/015 *±0/12	0/02*±0/14
	تمرینی سالم	0/008±0/07	0/017±0/12	0/03*±0/15	0/01*±0/19
	کنترل دیابتی	0/008±0/072	0/007±0/098	0/025±0/11	0/02±0/11
	تمرینی دیابتی	0/01±0/071	0/01±0/10	0/02±0/11	0/02±0/12

داده ها میانگین ± انحراف معیار 3 راس از هر گروه در هر زمان می باشند.

* اختلاف معنی دار با مقادیر قبل از تزریق درون صفاقی لاکتات، P <0 /05

تزریق لاکتات باعث افزایش غلظت گلوکز مغز در تمامی گروه‌ها شد. در هر دو گروه C و T مقادیر غلظت گلوکز مغز در فواصل زمانی 20 (p<0/01) و 30 (p<0/01) نسبت به مقادیر قبل از تزریق به طور معنی‌داری بالاتر بود اما مقادیر مطلق در مقایسه با مقادیر استراحت هنوز بسیار پایین بود (تقریباً 14 درصد در گروه‌های سالم و 10 درصد در گروه‌های دیابتی). هیچ تغییر معنی‌داری در حیوانات دیابتی یافت نشد.

بحث

در مطالعه حاضر تأثیر طولانی مدت تمرین استقامتی بر برداشت لاکتات مغز تحت شرایط هایپوگلیسمی در رت‌های دیابتی نوع 1بررسی گردید. مهم‌ترین یافته این تحقیق این بود که تمرین استقامتی برداشت لاکتات مغز در طی هایپوگلیسمی را افزایش می‌دهد. این نتیجه تاکنون در مطالعات قبلی گزارش نگردیده است. در مطالعه حاضر به منظور ایجاد هایپوگلیسمی از تزریق درون صفاقی انسولین استفاده گردید. مقادیر گلوکز پلاسمای ثبت شده در یک و نیم ساعت بعد از تزریق انسولین به همراه علایم هایپوگلیسمی (کما، رخوت، ..)که حیوانات دراین زمان نشان می‌دادند موئد این نکته است که هایپوگلیسمی در این تحقیق به درستی اعمال گردیده است. مطالعات پیشین نیز از این روش ایجاد هیپوگلیسمی استفاده نموده‌اند(14، 18).

به منظور بررسی اثر تمرین بر برداشت مغزی لاکتات گروه‌های تحقیق تزریق درون صفاقی لاکتات به میزان 4 میلی‌مول در کیلوگرم وزن بدن را در شرایط هایپوگلیسمی تجربه کردند. انتخاب این مقدار لاکتات به این جهت بود که غلظت لاکتات خون به همان مقداری که حیوانات در طی تمرین تجربه می‌کردند، افزایش یابد. مقادیر مشاهده شده این متغیر در زمان 10 دقیقه بعد از تزریق تقریباً معادل با غلظت‌های پلاسمایی لاکتات در حین تمرین استقامتی است که معمولا بین 3–5 میلی‌مول در لیتر نوسان دارد. اگر چه مقادیر استراحتی غلظت لاکتات پلاسما به طور معنی‌داری در گروه‌های دیابتی نسبت به حیوانات سالم بالاتر بود، با این حال، غلظت لاکتات پلاسما قبل از تزریق لاکتات در چهار گروه تقریباً یکسان بود. به دلیل این که غلظت مشاهده در این زمان (0/83~) تقریباً مشابه با مقدار k_mمربوط به MCT2 (0/74 Mm-0/1) ، پایین‌ترین k_mبرای MCTs) برای برداشت لاکتات بود(21)، این احتمال وجود دارد که لاکتات پلاسما تقریباً به طورکامل توسط مصرف کننده‌های لاکتات از قبیل کبد، مغز و قلب در طی هایپوگلیسمی مصرف شده باشد. لاکتات افزایش یافته پلاسما در اثر تزریق درون صفاقی این سوبسترا، از دقیقه 20 به بعد در تمامی گروه‌ها شروع به پاکسازی نمود. فرایند پاکسازی لاکتات پلاسما با افزایش مقادیر مغزی این سوبسترا در تمامی گروه‌ها همراه بود که برداشت مغزی آن را گوشزد می‌نماید. به علاوه برداشت مغزی در هر دو گروه

تمرینی نسبت به گروه‌های همتای خود بالاتر بود که اثرات مفید تمرین استقامتی بر افزایش برداشت مغزی لاکتات در شرایط هایپوگلیسمی را نشان می‌دهد. به علاوه دو نکته مهم باید در اینجا مورد توجه قرار گیرد: اول این که سطوح لاکتات مغز در حیوانات دیابتی در 10، 20 و 30 دقیقه پس از تزریق لاکتات تغییر معنی‌دار نداشت پس احتمالاً همه لاکتات برداشته شده در این فواصل زمانی باید توسط مغز متابولیزه شده باشد. هر چند که ما متابولیسم مغزی لاکتات را در این تحقیق مطالعه نکردیم، لیکن در حمایت از این ادعا در مطالعات پیشین دیده شده است که لاکتات در طی هایپوگلیسمی شدید می‌تواند در مغز به سرعت متابولیزه شود(13، 14، 19). دوم این که از آنجا که سطوح لاکتات پلاسما در دقیقه 20 در مقایسه با دقیقه 10 پایین‌تر بود، فقدان کاهش در سطوح لاکتات مغز از 10 تا 20 دقیقه به معنی این است که حرکت لاکتات به داخل مغز (توسط هر دو فرایند انتشار ساده و تسهیل شده) دارای ظرفیتی مشخص است که در یک سطح معینی از غلظت لاکتات خون (بالاتر از Mm 3/6 ~در مطالعه حاضر) به حالت اشباع در می‌آید. در حمایت از این موضوع، زمانی که غلظت لاکتات خون به کمتر از این مقدار در دقیقه 30 کاهش یافت، گروه‌های تمرینی سالم و دیابتی سطوح بالایی از غلظت لاکتات مغز و هم‌چنین نسبت لاکتات مغز/پلاسما بیشتری را به ترتیب در مقایسه با گروه‌های کنترل سالم و دیابتی نشان دادند. این یافته برای اولین بار در مطالعه حاضر گزارش شده به این معنی است که برداشت لاکتات مغز فاکتوری تمرین پذیر است اما تغییرات ناشی از تمرین در برداشت لاکتات مغز در سطوح پایین‌تر غلظت لاکتات خون، تأثیر بیشتری دارد. در کنار این نتایج بایستی این موضوع را هم در نظر داشت که بخشی از مقادیر لاکتات مغزی می‌تواند ناشی از مصرف بی‌هوازی گلوکز توسط مغز باشد که منجر به تولید لاکتات در مغز می‌شود. چنانچه در تحقیق حاضر از لاکتات نشان دار شده و طیف سنجی مغناطیسی استفاده می‌شد، این محدودیت تحقیق هم قابل حذف بود. با وجود این که این مهم در تحقیق حاضر عملی نشد لیکن در دسترس نبودن گلوکز کافی (به دلیل شرایط هایپوگلیسمی) جهت اکسیداسیون در مغز می‌تواند این محدودیت را کم رنگ‌تر نماید.

در حیوانات سالم سطوح گلوکز پلاسما 20 دقیقه بعد از تزریق لاکتات کاهش غیرمعنی‌دار داشت. به دلیل این که رت‌های دیابتی کاهش مشابه را نشان ندادند و سطوح پایه انسولین پلاسما در آنها بسیار کمتر از گروه سالم بود، این یافته امکان تحریک ترشح انسولین توسط سطوح افزایش یافته لاکتات خون را پیشنهاد می‌کند(22)که می‌تواند با تحریک برداشت بافتی گلوکز، کاهش مختصر مشاهده شده در حیوانات سالم را تفسیر نماید. افزایش زیاد غلظت گلوکز مغز بعد از تزریق لاکتات (تقریباً دو برابر) به احتمال زیاد به دلیل کاهش اکسیداسیون گلوکز مغز است. متاسفانه ما شواهدی برای اثبات این ادعا نداریم اما دیگر تحقیقات نشان داده‌اند که لاکتات می‌تواند جایگزین گلوکز به عنوان سوخت مغز تحت شرایط هایپوگلیسمی باشد(14، 19، 23). با این وجود مشاهده تمامی تغییرات مبنی بر افزایش برداشت مغزی لاکتات، حتی بعد از گذشت 30 دقیقه از تزریق، غلظت گلوکز در مغز بسیار پایین بود و به مقادیر استراحتی بازنگشت. این نتیجه حاوی این نکته است که در شرایط هایپوگلیسمی لاکتات می‌تواند به عنوان سوختی جایگزین در متابولیسم مغز عمل نماید و اثری بر متابولیسم مغزی گلوکز ندارد.

نتیجه گیری

به طور خلاصه نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برداشت مغزی لاکتات فاکتوری تمرین پذیر است و تمرین استقامتی می‌تواند برداشت مغزی لاکتات را در حین هایپوگلیسمی افزایش دهد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر، حاصل طرح تحقیقاتی از پژوهشکده مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان می باشد، نویسندگان بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از

پژوهشکده مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان به جهت حمایت مالی و فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی ابراز می‌دارند.

منابع

1. Van Belle TL, Coppieters KT, Von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. Physiological reviews. 2011;91(1):79-118.
2. McCrimmon RJ, Sherwin RS. Hypoglycemia in type 1 diabetes. Diabetes. 2010;59(10):2333-9.
3. Dienel GA. Brain lactate metabolism: the discoveries and the controversies. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2011;32(7):1107-38.
4. Languren G, Montiel T, Julio-Amilpas A, Massieu L. Neuronal damage and cognitive impairment associated with hypoglycemia: An integrated view. Neurochemistry international. 2013; 63(4):331-43.
5. Won SJ, Yoo BH, Kauppinen TM, Choi BY, Kim JH, Jang BG, et al. Recurrent/moderate hypoglycemia induces hippocampal dendritic injury, microglial activation, and cognitive impairment in diabetic rats. J Neuroinflammation. 2012;9(182):2094-9.
6. Hasselbalch SG, Knudsen GM, Jakobsen J, Hageman LP, Holm S, Paulson OB. Brain metabolism during short-term starvation in humans. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 1994;14(1):125-31.
7. Overgaard M, Rasmussen P, Bohm AM, Seifert T, Brassard P, Zaar M, et al. Hypoxia and exercise provoke both lactate release and lactate oxidation by the human brain. The FASEB Journal. 2012;26(7):3012-20.
8. Van Hall G, Strømstad M, Rasmussen P, Jans Ø, Zaar M, Gam C, et al. Blood lactate is an important energy source for the human brain. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2009;29(6):1121-9.
9. Vannucci SJ, Simpson IA. Developmental switch in brain nutrient transporter expression in the rat. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2003; 285(5): E1127-E34.
10. Hawkins RA, Mans AM, Davis DW. Regional ketone body utilization by rat brain in starvation and diabetes. Am J Physiol. 1986; 250(2 Pt 1):E169-E78.
11. Mason GF, Petersen KF, Lebon V, Rothman DL, Shulman GI. Increased brain monocarboxylic acid transport and utilization in type 1 diabetes. Diabetes. 2006;55(4):929-34.
12. Henderson GC. The Diabetic Brain During Hypoglycemia In the Midst of Plenty of Lactate. Diabetes. 2013;62(9):3024-6.
13. Maran A, Crepaldi C, Trupiani S, Lucca T, Jori E, Macdonald I, et al. Brain function rescue effect of lactate following hypoglycaemia is not an adaptation process in both normal and type I diabetic subjects. Diabetologia. 2000;43(6):733-41.
14. Herzog RI, Jiang L, Herman P, Zhao C, Sanganahalli BG, Mason GF, et al. Lactate preserves neuronal metabolism and function following antecedent recurrent hypoglycemia. The Journal of clinical investigation. 2013; 123(5):1988-98.
15. Yamada H, Iwaki Y, Kitaoka R, Fujitani M, Shibakusa T, Fujikawa T, et al. Blood Lactate Functions as a Signal for Enhancing Fatty Acid Metabolism during Exercise via TGF-β in the Brain. Journal of nutritional science and vitaminology. 2012;58(2):88-95.
16. Quistorff B, Secher NH, Van Lieshout JJ. Lactate fuels the human brain during exercise. The FASEB Journal. 2008;22(10):3443-9.
17. Enoki T, Yoshida Y, Hatta H, Bonen A. Exercise training alleviates MCT1 and MCT4 reductions in heart and skeletal muscles of STZ-induced diabetic rats. Journal of Applied Physiology. 2003;94(6):2433-8.
18. Oliveira-Yamashita F, Garcia RF, Felisberto-Junior AM, Curi R, Bazotte RB. Evidence that L-glutamine is better than L-alanine as gluconeogenic substrate in perfused liver of weaned fasted rats submitted to short-term insulin-induced hypoglycaemia. Cell biochemistry and function. 2009;27(1):30-4.
19. Thurston JH, Hauhart RE, Schiro JA. Lactate reverses insulin-induced hypoglycemic stupor in suckling-weanling mice: biochemical correlates in blood, liver, and brain. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 1983; 3(4): 498-506.

20. Gutmann I, Wahlefeld A. L-(+)-Lactate determination with lactate dehydrogenase and NAD. Methods of enzymatic analysis. 1974; 3: 1464-8.
21. Halestrap AP. The monocarboxylate transporter family—structure and functional characterization. IUBMB life. 2012;64(1):1-9.
22. Ribes G, Blayac J, Valette G, Loubatières-Mariani M. Evidence for a role of exogenous or endogenous hyperlactatemia in insulin secretion in the dog. Journal de physiologie. 1978; 75(8): 881-6.
23. Miller AL, Kiney CA, Staton DM. Effects of lactate on glucose metabolism of developing rat brain. Developmental Brain Research. 1984; 14(1):33-40.