

اثر ترکیب‌های ایزوکالریک تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر حساسیت انسولینی موش‌های صحرایی نر چاق

علیرضا دل پسند^۱، دکتر مهرداد فتحی^۱، دکتر سید رضا عطار زاده حسینی^۱، دکتر سلما آهی^۲

۱) گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی علوم ورزشی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (۲) مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دکتر مهرداد فتحی: e-mail: m.fathei@um.ac.ir

چکیده

مقدمه: چاقی به دنبال بی‌حرکی و مصرف غذای پرکالری پدید می‌آید و حساسیت انسولینی را کاهش می‌دهد؛ لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر ترکیب‌های ایزوکالری، تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر حساسیت انسولینی موش‌های چاق بود. **مواد و روش‌ها:** ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزنی ۱۹۰ گرم به طور تصادفی به دو گروه سالم (۸ سر) و چاق (۴۸ سر) تقسیم شدند. گروه چاق و سالم از غذای خشک فشرده با چربی بالا و استاندارد تغذیه کردند و پس از هفته هفت به شش گروه تمرین ورزشی، ترکیبی ۱، ترکیبی ۲، ترکیبی ۳ و محدودیت کالری دسته‌بندی شدند. سپس ۱۰ درصد از وزن غذای روزانه کاسته شد و/یا با شدت ۷۵-۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۴۸ تا ۵۵ دقیقه بر روی تردمیل دویدند. برنامه ورزش و محدودیت کالری هفتگی برای گروه تمرین ورزشی (شش روز ورزش، صفر روز محدودیت کالری)، گروه محدودیت کالری (صفر روز ورزش، شش روز محدودیت کالری)، گروه ترکیبی ۱ (۲ روز ورزش، ۴ روز محدودیت کالری)، گروه ترکیبی ۲ (۳ روز ورزش، ۳ روز محدودیت کالری) و گروه ترکیبی ۳ (۴ روز ورزش، ۲ روز محدودیت کالری) به مدت دو ماه اعمال شد. از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی در سطح $P \leq 0/05$ استفاده شد. یافته‌ها: بین مقادیر گلوکز خون ناشتا در گروه تمرین ورزشی، محدودیت کالری، ترکیبی ۱، ترکیبی ۲ و ترکیبی ۳ با گروه شاهد چاق کاهش معنی‌دار وجود داشت (به ترتیب $P=0/005$ ، $P=0/001$ ، $P=0/044$ ، $P=0/002$ و $P=0/011$). بین مقادیر انسولین در گروه محدودیت کالری با گروه شاهد نیز کاهش معنی‌دار مشاهده شد ($P=0/039$). بین مقادیر حساسیت انسولینی در گروه شاهد چاق با گروه شاهد سالم افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($P=0/011$). نتیجه‌گیری: ۱۰ درصد تعادل منفی انرژی به شکل تمرین ورزشی، محدودیت کالری و سه ترکیب هر دو می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار گلوکز افزایش یافته‌ی ناشی از چاقی بشود، اما اثر معنی‌داری در بهبود حساسیت انسولینی ندارد.

واژگان کلیدی: تعادل منفی انرژی، حساسیت انسولینی، ترکیبی ورزش و رژیم

دریافت مقاله: ۹۶/۸/۲۹ - دریافت اصلاحیه: ۹۶/۱۰/۲۲ - پذیرش مقاله: ۹۶/۱۱/۳

مقدمه

مانند آسیای شرقی (هند و چین) در طی چند دهه اخیر خطری جدی و هشداردهنده است. در حال حاضر، بیش از ۲۰۰ میلیون نفر در دنیا به این بیماری مبتلا هستند که تا سال ۲۰۲۵ میلادی به رقم ۳۱۰ میلیون نفر می‌رسد.^{۱،۲} تعادل منفی انرژی دارای تأثیرات زیادی، از جمله کاهش خطر ابتلا به سرطان، اختلالات مخرب دستگاه عصبی، بیماری‌های خود ایمنی، قلبی عروقی و دیابت نوع دو است.^۱

بی‌حرکی و کاهش فعالیت ورزشی، افزایش مصرف غذاهای پرکالری همراه با عوامل روانی، ژنتیکی، اقتصادی و اجتماعی از دلایل بروز دیابت و چاقی تلقی می‌شوند.^{۱،۲} چاقی و دیابت نوع دوم مهم‌ترین اختلالات متابولیکی درون‌ریز هستند که شیوع روزافزون آن در نواحی پر جمعیت جهان

به چه میزان است.^{۵۹} بنابراین، در پژوهش حاضر اثر ترکیب‌های ایزوکالری، تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر حساسیت انسولینی موش‌های نژاد ویستار چاق بررسی شد.

مواد روش‌ها

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های نر صحرایی بالغ ۸ هفته‌ای با نژاد ویستار تشکیل دادند که توسط شرکت پرشیا، تکثیر و پرورش یافته بودند. تعداد ۵۶ سر موش صحرایی بالغ که هیچ تحقیقی روی آن‌ها یا والدین‌شان صورت نگرفته بود، نمونه‌ی آماری پژوهش حاضر را تشکیل دادند. موش‌های مورد آزمایش در گروه‌های ۴ تایی، به ابعاد $25 \times 27 \times 43$ سانتی‌متر، نگهداری شدند. دمای محیط $22 \pm 2^\circ\text{C}$ سانتی‌گراد، چرخه‌ی روشنایی و تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ درصد بود. در محل نگهداری حیوانات جامد متراکم ۲ دستگاه تهویه‌ی بدون صدا استفاده شد. موش‌های صحرایی با غذاهای تولیدی مراکز خوراک دام که به صورت غذای خشک فشرده بود، تغذیه شدند. همچنین، آب مورد نیاز برای مصرف هر حیوان در بطری آب ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آن‌ها قرار داده شد. موش‌ها ابتدا به دو گروه سالم ($n=8$) و چاق ($n=48$) تقسیم شدند. گروه چاقی به مدت ۱۷ هفته تحت رژیم چرب و گروه سالم تحت رژیم استاندارد قرار گرفتند. پس از القای چاقی، گروه چاق به شش گروه شاهد، تمرین ورزشی، محدودیت کالری، ترکیبی ۱، ترکیبی ۲ و ترکیبی ۳ تقسیم شدند و به مدت دو ماه تحت تمرین ورزشی، محدودیت کالری و ترکیبی‌های متفاوت آن قرار گرفتند. (کد کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی: ۳/۴۰۳۸۸)

ایجاد چاقی

۵۶ موش ۸ هفته‌ای با میانگین وزنی ۱۹۰ گرم به طور تصادفی به دو گروه سالم (۸ سر) و چاق (۴۸ سر) تقسیم شدند. گروه چاق از غذای خشک فشرده با چربی بالا که شامل کالری و چربی بیشتری نسبت به غذای استاندارد بود تغذیه کردند (انرژی ۴/۸ در برابر ۳/۹ کیلوکالری در گرم و چربی ۳۹ در برابر ۳/۵ درصد) (جدول ۱). تمامی موش‌ها به مدت ۱۷ هفته به این شیوه تغذیه شدند و در تمامی طول این مرحله از پژوهش دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

اطلاعات گذشته در مورد تأثیرات تعادل منفی انرژی بر متابولیسم گلوکز پیشنهاد می‌کند که رابطه‌ای خطی بین میزان تعادل منفی انرژی و میزان افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین وجود دارد.^{۶۰} فعالیت ورزشی و رژیم غذایی کم کالری از روش‌های اعمال تعادل منفی انرژی هستند که بر عوامل موثر بر کنترل وزن، کاهش چربی و حساسیت به انسولین تأثیر می‌گذارند.^{۶۱،۶۲} در این راستا، محققین نتایج گوناگونی گزارش کرده‌اند. اسپیکمن و همکارانش گزارش کردند که اعمال محدودیت کالری به تنهایی موجب شد تا مقاومت انسولینی موش‌هایی که رژیم پرچرب مصرف کرده بودند و دچار چاقی شده بودند، ۵۳ درصد بهبود یابد.^{۶۳} لارسون می‌یر و همکارانش^۱ به بررسی اثر محدودیت کالری و تمرین ورزشی بر حساسیت انسولینی و عملکرد سلول‌های بتا پرداختند. پنجاه و شش فرد چاق به گروه‌های شاهد (۱۰۰ درصد انرژی مورد نیاز)، به همراه ۲۵ درصد محدودیت کالری، ۱۲/۵ درصد محدودیت کالری به علاوه ۱۲/۵ درصد تمرین ورزشی تقسیم شدند. آن‌ها چنین نتیجه گرفتند که رژیم غذایی به تنهایی یا به همراه فعالیت ورزشی می‌تواند باعث بهبود حساسیت انسولینی، بهبود عملکرد سلول‌های بتا و پروفایل لیپیدی شود.^{۶۴} در افراد مبتلا به چاقی و دیابت نوع دوم نشان داده شده است که حساسیت انسولینی، نسبت به افراد سالم، پایین‌تر است. بنابراین، اگر فعالیت ورزشی و رژیم غذایی در کاهش غلظت گلوکز و انسولین پلاسما اثربخش باشد، می‌تواند موجب بهبود مقاومت به انسولین گردد و به عنوان روشی مقرون به صرفه در پیشگیری از چاقی و مقاومت انسولینی مورد توجه قرار گیرد. با این حال، دانش ما در این زمینه ناقص است و هنوز پاسخ این هورمون‌ها به روش‌های تعادل منفی انرژی هنوز در آزمودنی‌های چاق در حاله‌ای از ابهام قرار دارد.

از یک سو، بیشتر تمرکز پژوهش‌های پیشین در زمینه‌ی بررسی یکی از اشکال تعادل منفی انرژی (رژیم یا فعالیت ورزشی) بوده است و تحقیقات اندکی به بررسی مقادیر مختلفی از هر دو روش پرداخته‌اند و در پروتکل‌های پیشین سهم فعالیت ورزشی و رژیم غذایی برابر (۵۰/۵۰) بوده و به ندرت از روش‌های هم کالری یا ایزوکالری رژیم و ورزش استفاده شده است.^{۱۸} از سویی دیگر، هنوز روشن نیست سهم رژیم غذایی و ورزش برای افزایش حساسیت انسولینی

جدول ۱ - محتوای غذای پرچرب و استاندارد

محتویات	استاندارد (درصد)	پرچرب (درصد)
پروتئین	۲۰	۱۸
چربی	۳/۵	۳۹
کربوهیدرات	۲۵	۲۰
فیبر	۱۴/۵	۲
خاکستر	۱۰	۱
کلسیم	۱	۱
فسفر	۰/۷	۰/۷
نمک	۰/۵	۰/۵
رطوبت	۱۰	۵
لیزین	۱/۱۵	۱/۱۵
متیونین	۰/۳۳	۰/۳۳
متیونین+سیستئین	۰/۶۳	۰/۶۳
ترئونین+تریئوفان	۰/۹۵	۰/۹۵
مواد دیگر	۱۱	۱۰
انرژی کیلوکالری در گرم	۳/۹	۴/۸

معیار چاقی

از معیارهای افتراقی چاقی در موش‌های ویستار، نمایه‌ی توده‌ی بدنی گزارش شده است. نمایه‌ی توده‌ی بدنی موش‌های طبیعی بین ۰/۴۵ تا ۰/۶۸ گرم تقسیم بر مجذور قد است^۱ که پس از ۱۷ هفته مقدار آن در گروه چاق پژوهش حاضر به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بود (۰/۷۰). گرم تقسیم بر مجذور قد). پس از احراز چاقی آزمودنی‌ها، به گروه تمرین ورزشی، محدودیت کالری، ترکیبی ۱، ترکیبی ۲ و، ترکیبی ۳ و کنترل چاق تقسیم شدند.

محدودیت کالری

غذای موش‌ها پیش از اعمال رژیم به مدت یک هفته زیر نظر گرفته شد. بدین منظور ابتدا غذا به طور جداگانه برای هر قفس وزن شده و به طور آزاد در دسترس موش‌ها قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، باقی مانده غذا جمع‌آوری و وزن شد و از مقدار اولیه کاسته شد تا میزان دریافتی هر گروه مشخص شود و سپس به مدت ۸ هفته تحت مداخله غذایی قرار گرفتند. از آنجایی که هدف اعمال ۱۰ درصد تعادل منفی انرژی بود، به تناسب ۱۰ درصد از وزن غذای روزانه گروه محدودیت کالری (۶ روز در هفته)، ترکیبی ۳ (۴ روز در هفته)، ترکیبی ۲ (۳ روز در هفته) و ترکیبی ۱ (۲ روز در هفته) کاسته شد و به بقیه روزها و گروه تمرین ورزشی ۱۰۰ درصد غذای مورد نیاز داده شد.^۱

تمرین ورزشی هوازی

تنظیم سرعت نوارگردان (تردمیل)

برای تنظیم تغییرات احتمالی سرعت نوار گردان به دلیل انتقال و جابجایی نوار گردان ویژه جوندگان به محیط آزمایشگاه، ابتدا تسمه نوار گردان با متر اندازه‌گیری شد و سپس نقطه‌ای از آن به عنوان معیار مشخص شد. آن‌گاه، مدت زمان سپری‌شده برای یک دور کامل تسمه نوار گردان در فرمول سرعت قرار داده شد و نتیجه با مانیتور الکتریکی دستگاه مطابقت داده شد. سرعت مورد نظر ۱/۶۸ کیلومتر در ساعت معادل ۲۸ متر در دقیقه بود (Rat/Mice Mouse Treadmill, China).

برنامه‌ی تمرین ورزشی

مرحله آشنایی با نوار گردان: در این مرحله آزمودنی‌ها هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوار گردان راه رفتند.

مرحله اضافه بار: در این مرحله موش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه روی نوار گردان راه رفته و به تدریج شدت فعالیت افزایش یافت تا به میزان نهایی تعیین شده برای آزمودنی‌ها (۲۸ متر در دقیقه) رسید و زمان فعالیت نیز تا ۶۰ دقیقه افزایش یافت.

مرحله تثبیت: در این مرحله، موش‌های گروه تمرین ورزشی (۶ روز در هفته)، ترکیبی ۳ (۲ روز در هفته)،

ترکیبی ۲ (۳ روز در هفته) و ترکیبی ۱ (۴ روز در هفته) به مدت ۸ هفته بر روی نوار گردان با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۲۸ متر در دقیقه) و شیب صفر درصد با مدت‌های متغیر دویند.^۱

برای محاسبه‌ی زمان تمرین، ابتدا مقدار کالری غذای کاسته شده، بر عدد $4/86$ (RQ) تقسیم شد تا اکسیژن مصرفی حین تمرین به دست آید و سپس بر مقدار تفاضل اکسیژن مصرفی استراحت (پایه) حین تمرین (به طور متوسط $2/42$ میلی‌لیتر اکسیژن/۱۰۰ گرم وزن بدن/دقیقه) از مقدار اکسیژن مصرفی در سرعت ۲۸ متر در دقیقه (معادل $7/7$ میلی‌لیتر اکسیژن/۱۰۰ گرم وزن بدن/دقیقه) تقسیم شد و مقدار به دست آمده در وزن بدن ضرب شد.

براساس معادلات شپهرد و گولنیک^۱، اکسیژن مصرفی استراحت (پایه) حین تمرین (به طور متوسط $2/42$ میلی‌لیتر اکسیژن/۱۰۰ گرم وزن بدن/دقیقه) و مقدار اکسیژن مصرفی در سرعت ۲۸ متر در دقیقه (معادل $7/7$ میلی‌لیتر اکسیژن/۱۰۰ گرم وزن بدن/دقیقه) بود^{۱۱} ($RQ=0/85$). مدت هر جلسه دویدن روی تردمیل برای گروه تمرین ورزشی (۵۵ دقیقه)، ترکیبی ۳ (۵۰ دقیقه)، ترکیبی ۲ (۵۳ دقیقه) و گروه ترکیبی ۱ (۴۶ دقیقه) بود.

برنامه‌ی تعادل منفی انرژی

جدول ۲ - برنامه‌ی هفتگی محدودیت کالری و/یا تمرین ورزشی

گروه	گروه تمرین ورزشی	ترکیبی ۱	ترکیبی ۲	ترکیبی ۳	محدودیت کالری
تمرین ورزشی	محدودیت کالری	تمرین ورزشی	محدودیت کالری	تمرین ورزشی	محدودیت کالری
سهام ورزش و محدودیت %	۱۰۰	۷۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
روز در هفته	۶	۴	۲	۳	۶
شنبه	✓	×	✓	×	×
یک شنبه	✓	×	✓	×	×
دوشنبه	✓	×	✓	×	×
سه شنبه	✓	×	✓	×	×
چهارشنبه	✓	×	✓	×	×
پنج شنبه	✓	×	✓	×	×
جمعه	×	×	×	×	×

روش بی‌هوش کردن آزمودنی‌ها، جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌های خونی

به منظور کنترل اثر زمان، گروه شاهد چاق و سالم پس از پایان پروتکل، به تناوب و به طور مخلوط از هر گروه ۲

سر موش در یک روز (جمعا ۱۰ سر موش) پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی و به منظور از بین بردن اثر حاد تمرین، ۳۲ ساعت پس از آخرین نوبت تمرینی، با تزریق داخل صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و

آزمون تحلیل واریانس یک طرفهⁱⁱⁱ، آزمون تعقیبی توکی^{iv} و برای بررسی اثر زمان بین گروه‌های شاهد سالم و چاق از t مستقل استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد. اطلاعات مربوط به هر یک از متغیرهای اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر به صورت میانگین و انحراف معیار در جدول ۳ آمده است.

از معیارهای افتراقی چاقی در موش‌های ویستار، نمایه‌ی توده‌ی بدنی گزارش شده است.^{۱۴} نمایه‌ی توده‌ی بدنی موش‌های نرمال بین ۰/۴۵ تا ۰/۶۸ گرم بر مجذور قد بود که پس از ۱۷ هفته مقدار آن در گروه چاق ($BMI^v=0/88$) به طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم ($BMI=0/56$) شد. با توجه به مقدار t مستقل محاسبه شده تفاوت نمایه‌ی توده‌ی بدنی بین دو گروه چاق و سالم تفاوت معنی‌داری داشت ($P=0/004$).

آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بین مقادیر گلوکز خون ناشتا در گروه تمرین ورزشی با گروه شاهد چاق کاهش معنی‌داری وجود دارد ($P=0/005$). همچنین مقادیر گلوکز گروه محدودیت کالری نسبت به گروه شاهد چاق به طور معنی‌داری کمتر بود ($P=0/001$). مقایسه‌ی سه گروه ترکیبی ۱، ترکیبی ۲ و ترکیبی ۳ با گروه شاهد چاق نیز تفاوت معنی‌داری را نشان داد (به ترتیب $P=0/044$ ، $P=0/002$ و $P=0/011$). به علاوه، مقادیر گلوکز خون ناشتا در گروه چاق نیز به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد سالم بود ($P=0/043$) و بین سایر شرایط تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. سطوح پلاسمایی انسولین گروه محدودیت کالری به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد چاق بود ($P=0/039$). به علاوه، مقادیر انسولین پلازما در گروه چاق افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد سالم داشت ($P=0/011$) و بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بین مقادیر حساسیت انسولینی در گروه شاهد چاق و سالم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ($P=0/002$). بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

زیلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند؛ سپس به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون به طور مستقیم از طریق قلب با سرنگ کشیده و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد.^{۱۲} نمونه‌های جمع‌آوری شده بلافاصله به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۲۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای به دست آمده در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده، ریخته و جهت اندازه‌گیری بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش اندازه‌گیری متغیرها

اندازه‌گیری گلوکز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۵۰ نانومتر انجام شد. میزان انسولین پلازما به روش الایزا^{۱۵} و با استفاده از کیت (Shanghai crystal day biotech, china) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات برون آزمون و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۴/۱ درصد و ۰/۰۵ میلی‌واحد در لیتر بود. برای اندازه‌گیری شاخص حساسیت به انسولین از روش QUICKIⁱⁱ استفاده شد.^{۱۳} در این روش مقدار گلوکز و انسولین در حالت ناشتا اندازه‌گیری و در فرمول زیر قرار داده می‌شود. این شاخص با مطالعه کلمپ گلوکز حدود ۰/۷۸ همبستگی دارد.

$$+ \text{گلوکز (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)} \log \text{QUICKI} = \frac{1}{\log (\text{میلی‌واحد در میلی‌لیتر انسولین})}$$

برای سنجش کالری مصرفی حین فعالیت ورزشی، از یافته‌های به دست آمده از مطالعه بدفورد، شپرد و گولنیک^{۱۱} در مورد موش‌ها استفاده شد؛ بدین معنی که، به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن در دقیقه ۷/۷ میلی‌لیتر اکسیژن مصرف می‌شود و با محاسبه اکسیژن مصرفی و ضرب آن به عدد ۴/۸ میزان کالری مصرفی به دست می‌آید. همچنین کالری رژیم غذایی با استفاده از محتوای غذای خشک فشرده (غذای موش) که از شرکت بهپرور (ایران) به دست آمد، محاسبه شد.

روش تحلیل آماری داده‌ها

برای توصیف داده‌ها از شاخص توصیفی مرکزی و پراکندگی و برای مقایسه و بررسی تفاوت بین گروه‌ها از

iii -One-way ANOVA

iv -Tukey post hoc

v- Body mass index

i -ELISA

ii -Quantitative insulin-sensitivity check index

جدول ۳ - میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش (بعد از پروتکل)

متغیر/گروه	شاهد سالم	شاهد چاق	محدودیت کالری	تمرین ورزشی	ترکیبی ۱	ترکیبی ۲	ترکیبی ۳
گلوکز (میلی مول در لیتر)	۸/۱۵±۲/۲۶°	۱۲/۲۲±۳/۷۱	۶/۳۸±۲/۵۵°	۷/۱۲±۲/۰۸°	۸/۰۷±۲/۲۶°	۶/۵۹±۱/۶۴°	۷/۴۳±۲/۳۱°
انسولین (پیکوگرم در میلی لیتر)	۵۴/۲۲±۱۴/۶۵°	۹۶/۸۱±۱۵/۴۴	۶۹/۳۲±۱۹/۲۶°	۷۷/۴۱±۱۲/۵۴	۸۲/۹۸±۱۱/۰۷	۷۰/۵۱±۲۱/۶۱	۸۷/۸۵±۲۲/۳۹
حساسیت انسولینی	۰/۹۷±۰/۱۱°	۰/۷۹±۰/۰۴	۰/۹۴±۰/۱۱	۰/۸۵±۰/۰۵	۰/۸۳±۰/۰۳	۰/۹۳±۰/۱۱	۰/۸۳±۰/۰۷

* تفاوت معنی دار با گروه شاهد چاق. اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار هستند.

بحث

یافته‌های مطالعات گذشته در مورد تأثیرات تعادل منفی انرژی بر متابولیسم گلوکز در پستانداران پیشنهاد می‌کند که همبستگی مثبتی بین میزان تعادل منفی انرژی و میزان افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین وجود دارد.^۴ در پژوهش حاضر نشان داده شد که مقادیر گلوکز خون ناشتا در گروه تمرین ورزشی، محدودیت کالری و سه گروه ترکیبی ۱، ترکیبی ۲، ترکیبی ۳ در مقایسه با گروه کنترل چاق، کاهش معنی‌داری یافته است. به علاوه مقادیر گلوکز ناشتا در گروه چاق نیز به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد سالم بود که نشان‌دهنده‌ی هایپرگلیسمی ناشی از چاقی آزمودنی‌ها در گروه شاهد بود. بین مقادیر انسولین در گروه محدودیت کالری و ترکیبی ۲ با گروه شاهد چاق کاهش معنی‌داری وجود داشت. بین مقادیر حساسیت انسولینی در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد چاق هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بین مقادیر حساسیت انسولینی در گروه شاهد چاق و سالم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. به نظر می‌رسد ترکیبی برابر از ورزش و محدودیت کالری با کاهش دادن سطح گلوکز پلاسما در بهبود متابولیسم گلوکز و حساسیت انسولینی موثر است.^{۱۰} نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهند که تمرین هوازی و استقامتی به همراه رژیم غذایی سبب بهبود حساسیت به انسولین در آزمودنی‌های مبتلا به مقاومت انسولینی می‌شود، که این اثر به هم‌زمانی کاهش وزن و تنظیم مثبت بیان پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز GLUT4 به عضله اسکلتی نسبت داده شده است.^{۲،۱۶} همچنین نشان داده شده است که تمرین ورزشی با شدت متوسط در بهبود برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با بیماری‌های متابولیک و دارای اضافه وزن موثر است. از جمله‌ی این آثار می‌توان به افزایش حساسیت به انسولین اشاره کرد.^{۱۷} مطالعات گذشته نشان می‌دهد، تمرین‌ها اگر با رژیم غذایی همراه باشند، تغییرات مهمی را در عضلات اسکلتی

ایجاد می‌کنند که متخصصین فیزیولوژی ورزشی از آن به عنوان سازگاری‌های محیطی نام می‌برند.^{۱۴} این نوع سازگاری در مقابل سازگاری‌های مرکزی قرار می‌گیرد که مربوط به دستگاه هورمونی در افراد است. به علاوه، بیشتر سازگاری‌های محیطی به تغییرات آنزیمی در سلول‌های عضلانی مربوط می‌شود. سازوکار ملکولی و سازگاری‌های آنزیمی به فعال شدن پروتئینی به نام پروتئین کیناز فعال کننده ۵-آدنوزین مونوفسفات AMPK^۱ نسبت داده می‌شود. این پروتئین از جمله سازوکارهای پیشنهادی برای افزایش ورود گلوکز به داخل سلول‌ها به خصوص سلول‌های عضلانی در حین فعالیت ورزشی است.^{۷،۱۸} نشان داده شده است که با مقدار ۱۵ درصد محدودیت انرژی دریافتی، بهبود مقاومت به انسولین رخ می‌دهد. لارسون می‌یر و همکارانش^{۱۱} به تعیین اثر محدودیت کالری و فعالیت ورزشی حساسیت انسولینی و عملکرد سلول‌های بتا پرداختند. بدین ترتیب ۵۶ فرد چاق به گروه‌های شاهد (۱۰۰ درصد انرژی مورد نیاز)، ۲۵ درصد محدودیت کالری، ۱۲/۵ درصد محدودیت کالری+۱۲/۵ درصد تمرین ورزشی تقسیم‌بندی شدند. در پایان چنین نتیجه گرفتند که محدودیت کالری به تنهایی یا به همراه فعالیت ورزشی می‌تواند باعث بهبود عملکرد سلول‌های بتا و پروفایل لیپیدی شوند.^{۱۰} اما در مقابل در مطالعه‌ی حاضر محدودیت کالری با و بدون تمرین ورزشی اثر معنی‌داری را بر حساسیت انسولینی موش‌های چاق ایجاد نکرد. در مطالعه‌ی یوکویاما، ۴۰ فرد میان‌سال و مبتلا به دیابت نوع دوم (غیروابسته به انسولین) به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول دارای محدودیت کالری بودند، به گونه‌ای که میزان انرژی دریافتی این گروه ۳۰-۲۵ کیلوکالری برای هر کیلوگرم از وزن ایده‌آل آن‌ها بود. گروه دوم، علاوه بر محدودیت کالری از یک برنامه‌ی فعالیت ورزشی شامل ۴۰

i -Adenosine mono-phosphate kinase

ii -Larsson-Meyer et al

دقیقه رکاب زدن روی چرخ کارسنج، ۵ روز در هفته و با شدت ۷۰ درصد حداکثر ضربان قلب نیز پیروی می‌کردند. همچنین این افراد علاوه بر فعالیت فوق، روزانه به میزان ۱۰۰۰۰ گام نیز پیاده‌روی می‌کردند. کل دوره‌ی تحقیق و اجرای مداخله‌های فوق برای هر دو گروه سه هفته بود. نتایج نشان داد که شاخص حساسیت انسولینی و HOMA-IR در گروه تغذیه تغییری نداشت، اما در گروه تمرین و تغذیه به طور معنی‌داری بهبود یافت که ناشی از کاهش غلظت گلوکز خون و انسولین پلاسمایی بود.^{۱۹} محققان پیشنهاد کردند که نقش ورزش و محدودیت کالری در چگونگی عملکرد انسولین زمانی روی می‌دهد که بهبود حساسیت انسولینی به واسطه-ی کاهش توده‌ی چربی رخ داده باشد.^{۲۰}

تحقیقات اخیر گزارش کرده‌اند که انرژی دریافتی، و نه رژیم چربی یا چاقی، در تنظیم بیان ژن و سطوح آدیپونکتین نقش اساسی دارد.^{۱۰} محدودیت کالری ۴۰ درصد برای ۲۴ هفته باعث افزایش بیان ژن آدیپونکتین در چربی بیضه‌ای و سطوح پروتئینی آن در هر دو گروه موش‌های با رژیم چرب و بدون چرب شد. محدودیت کالری به طور معنی‌داری حتی در موش‌هایی که ژن چاقی به آن‌ها القا شده بود (Ob/Ob) نیز باعث افزایش بیان ژن آدیپونکتین شد. اگرچه که این اثر در موش‌های دارای PPAR α ناقص نیز مشاهده شد. تمرین ورزشی باعث فعال‌سازی گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروگزینوم [PPAR] می‌شود که یک عامل تنظیم‌کننده متابولیسم گلوکز و چربی است. همچنین فعالیت بدنی به همراه رژیم هیپوکالریک می‌تواند سطوح گلوکوکورتیکوئیدها، پرولاکتین، هورمون رشد و کاتکولامین را از طریق گیرنده بتا تحت تاثیر قرار دهد.^{۲۱،۲۲} طالبی و همکارانش در تحقیقی اعلام کردند که فعالیت ورزشی با شدت بالا و متوسط باعث افزایش غلظت آدیپونکتین می‌شود که با کاهش غلظت گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولینی همراه است.^{۱۲} همچنین مشاهده شده است که حذف ژن چاقی در موش‌های هموزیگوت^۱ تا سن ۳۰ هفته‌گی تغییری در مقاومت انسولینی یا تحمل گلوکز ایجاد نکرد. اما هنگامی که موش‌ها به مدت ۲ هفته با یک محدودیت کالری پر کربوهیدرات و پر چرب تغذیه شدند، مقاومت انسولینی و عدم تحمل گلوکز در آن‌ها یافت شد. به نظر می‌رسد که کمبود فعالیت بدنی و تعادل مثبت انرژی، اختلالات متابولیکی را به دنبال دارد که ممکن

است تظاهر پیدا کرده و یا تا زمانی که رژیم غذای غیر سالم استفاده نشود، آشکار نشود. از سوی دیگر نشان داده شده است که تعادل منفی انرژی، متابولیسم گلوکز و حساسیت انسولینی را افزایش می‌دهد. البته چنین اثر مشابهی در غیاب انسولین نیز دیده شده است.^{۲۰،۲۳} محدودیت کالری و فعالیت ورزشی، علاوه بر آن که موجب افزایش برداشت گلوکز می‌شود، کبد را نیز نسبت به انسولین جریان خون حساس‌تر می‌سازد.^{۱۰} افزایش حساسیت انسولینی کبد تولید گلوکز را در این اندام مهار می‌کند و از این طریق نیز موجب کاهش سطح گلوکز پلاسما می‌شود. فعالیت ورزشی موجب بهبود اتصال لیگاند و اتوفسفیریلایسیون اسید آمینه تیروزین قسمت سیتوپلاسمی زیر واحدهای بتا می‌شود و این اتوفسفیریلایسیون اتصال پروتئین‌های سوبسترای سیتوزولی مثل سوبسترای گیرنده انسولین را تسهیل می‌کند. وقتی فسفریلایسیون اتفاق افتاد، این سوبسترا به عنوان پروتئین الحاقی برای پروتئین‌های واسطه‌ی عمل انسولین رفتار می‌کند. همچنین فعالیت ورزشی باعث تحریک انتقال‌دهنده گلوکز-۴ شده و کار انتقال گلوکز از محیط خارج سلولی به محیط داخل سلولی را فراهم می‌سازد. این انتقال‌دهنده تحت تاثیر عمل انسولین از سیتوزول به غشای سلول مهاجرت کرده و عمل جذب گلوکز را انجام می‌دهد و باعث افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین می‌شود.^۹

در این پژوهش نشان داده شد که تمامی پنج روش تعادل منفی انرژی (تمرین ورزشی، محدودیت کالری و سه ترکیبی محدودیت کالری و تمرین ورزشی ۱، ۲ و ۳ باعث کاهش معنی‌دار گلوکز افزایش یافته ناشی از مقاومت انسولینی در چاقی شدند. ۱۰ درصد تعادل منفی انرژی به شکل تمرین-ورزشی، محدودیت کالری و سه ترکیب آن می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار گلوکز افزایش یافته ناشی از چاقی بشود اما اثر معنی‌داری در بهبود حساسیت انسولینی ندارد.

سپاسگزاری: صمیمانه از کمک‌های دکتر حسین کارگر و خانم سعیده عرفانیان تشکر و قدردانی می‌شود. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- Jashni HK, Mohebbi H, Delpasand A, Jahromy HK. Caloric restriction and exercise training, combined, not solely improve total plasma adiponectin and glucose homeostasis in streptozocin-induced diabetic rats. *Sport Sciences for Health* 2014; 11: 81-6.
- Pautz C, Wilson B, Jackson K, Selsby J, Barerro C, Merali S, et al. editors. Exercise or Reduced-Calorie Diet Attenuates Overnutrition-Induced GLUT4 Carbonylations in Adipose Tissue. *International Journal of Exercise Science: Conference Proceedings*; 2017.
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595-9.
- Speakman JR, Mitchell SE. Caloric restriction. *Mol Aspects Med* 2011; 32: 159-221.
- Larson-Meyer DE, Heilbronn LK, Redman LM, Newcomer BR, Frisard MI, Anton S, et al. Effect of calorie restriction with or without exercise on insulin sensitivity, β -cell function, fat cell size, and ectopic lipid in overweight subjects. *Diabetes Care* 2006; 29: 1337-44.
- Zhu M, de Cabo R, Anson RM, Ingram DK, Lane MA. Caloric restriction modulates insulin receptor signaling in liver and skeletal muscle of rat. *Nutrition* 2005; 21: 378-88.
- Lee S, Bacha F, Hannon T, Kuk JL, Boesch C, Arslanian S. Effects of aerobic versus resistance exercise without caloric restriction on abdominal fat, intrahepatic lipid, and insulin sensitivity in obese adolescent boys a randomized, controlled trial. *Diabetes* 2012; 61: 2787-95.
- Gillis L, Kennedy L, Gillis A, Bar-Or O. Relationship between juvenile obesity, dietary energy and fat intake and physical activity. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity* 2002; 26: 458.
- Mul JD, Stanford KI, Hirshman MF, Goodyear LJ. Chapter Two-Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism. *Progress in molecular biology and translational Science* 2015; 135: 17-37.
- Novelli E, Diniz Y, Galhardi C, Ebaid G, Rodrigues H, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 2007; 41: 111-9.
- Shepherd R, Gollnick PD. Oxygen uptake of rats at different work intensities. *Pfluegers Arch* 1976; 362: 219-22.
- Garekani ET, Mohebbi H, Kraemer RR, Fathi R. Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. *Peptides* 2011; 32: 1008-12.
- Fathi M, Delpasand A, Nastaran M. Serum chemerin and insulin sensitivity alterations due to exercise training below and above lactate thresholds in streptozocin-induced diabetic rats. *Sport Sciences for Health* 2015; 11: 211-5.
- Saidei P, Rahmaninia F, Mohammad Ghasemi F. Interaction of Long Term Calorie Restriction and Aerobic Training Programs on Serum and Tissue Concentrations of Adiponectin in Male Obese Rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2015; 17: 325-34.[Farsi]
- Blumenthal JA, Babyak MA, Sherwood A, Craighead L, Lin P-H, Johnson J, et al. Effects of the dietary approaches to stop hypertension diet alone and in combination with exercise and caloric restriction on insulin sensitivity and lipids. *Hypertension* 2010; 55: 1199-205.
- Higashida K, Tabata I, Higuchi M, Terada S. Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise and nutritional stimuli. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine* 2013; 2: 355-60.
- Kim Y, Inoue T, Nakajima R, Nakae K, Tamura T, Tokuyama K, et al. Effects of endurance training of gene expression on insulin signal transduction pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 210: 766-73.
- Koval JA, Maezono K, Patti ME, Pendergrass M, DeFRONZO RA, Mandarino LJ. Effects of exercise and insulin on insulin signaling proteins in human skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31: 998-1004.
- Yokoyama H, Emoto M, Araki T, Fujiwara S, Motoyama K, Morioka T, et al. Effect of aerobic exercise on plasma adiponectin levels and insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1756-8.
- Christiansen T, Paulsen SK, Bruun JM, Ploug T, Pedersen SB, Richelsen B. Diet-induced weight loss and exercise alone and in combination enhance the expression of adiponectin receptors in adipose tissue and skeletal muscle, but only diet-induced weight loss enhanced circulating adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 911-9.
- Choi JH, Banks AS, Estall JL, Kajimura S, Boström P, Laznik D, et al. Anti-diabetic drugs inhibit obesity-linked phosphorylation of PPAR [ggr] by Cdk5. *Nature* 2010; 466: 451-6.
- Espeland MA, Glick HA, Bertoni A, Brancati FL, Bray GA, Clark JM, et al. Impact of an intensive lifestyle intervention on use and cost of medical services among overweight and obese adults with type 2 diabetes: the action for health in diabetes. *Diabetes Care* 2014; 37: 2548-56.
- Cox JH, Cortright IN, Dohm GL, Houmard JA. Effect of aging on response to exercise training in humans: skeletal muscle GLUT-4 and insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 2010; 86: 2019-25.

Original Article

The Effects of Iso-caloric Combinations of Exercise and Caloric Restriction on Insulin Sensitivity of Obese Male Rats

Delpasand A¹, Fathi M¹, Attarzadeh Hosseini SR¹, Ahi S²

¹Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran. ²Research Center for Non-communicable Diseases, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, I.R. Iran

e-mail: m.fathei@um.ac.ir

Received: 20/11/2017 Accepted: 23/01/2018

Abstract

Introduction: The aim of this study was to investigate the effects of iso-caloric combinations of exercise and caloric restriction on insulin sensitivity of obese male rats. **Materials and Methods:** Fifty-six, eight-week-old male Wistar rats (190 ± 16 g) were primarily divided into the obesity ($n=48$) and healthy groups ($n=8$) and were fed high-fat and standard palate for seventeen weeks respectively. After obesity induction, the obesity group was randomly assigned to one of six groups, i.e. EXE, CR, EXCR1, EXCR2, and EXCR3 as experimental groups and OC as the control group following which 15% of food intake was reduced. Their exercise intensity was about 70-75% vo_{2max} , 28 m/min for 48 to 55 minutes. Negative energy balance was applied through caloric restriction (CR) (6d/w); exercise training (EXE) (6d/w), in three combinations: EXCR1 (2d/w exercise + 4d/w CR, EXCR2 (3d/w exercise + 3d/w CR) and EXCR3 (4d/w exercise + 2d/w CR) for two months. One way ANOVA and Tukey post-hoc were applied for data analysis by SPSS version 16 ($p < 0.05$). **Results:** Serum glucose levels of EXE, CR, EXCR1, EXCR2 and EXCR3 significantly decreased compared to the OC group. Plasma CR and EXCR3 insulin were significantly decreased, in comparison to OC insulin level. Compared to OC, insulin sensitivity was significantly elevated in CR and EXCR2. **Conclusion:** It is concluded that exercise and caloric restriction, both per se and in different combinations reduced obesity elevated induced serum glucose. However caloric restriction and EXCR2 and caloric restriction lead to significant increase in insulin sensitivity. It is recommended to consider equal doses of exercise and caloric restriction which may improve insulin sensitivity.

Keywords: Negative energy balance, Insulin sensitivity, Exercise and regimen combination