مقاله پژوهشی

اثر تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در آدیپوسیت‌های موش‌نر چاق

نویسندگان:

علیرضا دل پسند[۱]، مهرداد فتحی*[۱]، سید رضا عطار زاده حسینی[۱]، 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

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.2, Summer 2018

چکیده:

مقدمه: چاقی بر اثر بی تحرکی و مصرف غذای پرکالری پدید می‌آید و حساسیت انسولینی را کاهش می دهد. از این رو، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر مقادیر مختلف تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در آدیپوسیت های موش‌های صحرایی نر چاق بود.

روش کار: ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ با میانگین وزنی ۱۹۰گرم پس از هفده هفته تغذیه با پلت با چربی بالا به شش گروه تمرین ورزشی، ترکیبی۱، ترکیبی۲، ترکیبی۳ ، محدودیت کالری و کنترل چاق دسته‌بندی شدند. سپس ۱۰ درصد از وزن غذای روزانه آن ها کم شد و/یا با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی به مدت ۴۸ تا ۵۵ دقیقه روی تردمیل دویدند. روی گروه تمرین ورزشی، فقط شش روز ورزش، گروه محدودیت‌کالری، فقط شش روز محدودیت‌کالری، گروه ترکیبی۱، دو روز ورزش و چهار روز محدودیت‌کالری، گروه ترکیبی۲ سه روز ورزش و سه روز محدودیت‌کالری و گروه ترکیبی ۳، چهار روز ورزش و دو روز محدودیت‌کالری در هفته به مدت دو ماه اعمال شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی در سطح $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها: بین مقادیر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در گروه ترکیبی۲ با گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۳۳). همچنین بیان ژن mRNA سوبسترای گیرنده انسولین در گروه محدودیت کالری بیشتر از گروه کنترل بود (P=۰/۰۲۴). بین سایر شرایط تفاوت معناداری مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری: ۱۰ درصد تعادل منفی انرژی به شکل محدودیت‌کالری به تنهایی یا دوز معادل آن با ورزش می تواند باعث افزایش بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین شود که زمینه ساز حساسیت انسولینی است.

واژگان کلیدی: چاقی، تمرین ورزشی، محدودیت کالری، سوبسترای گیرنده انسولین ۱، موش صحرایی

Pars J Med Sci 2018;16(2):49-57

مقدمه:

چاقی و تجمع چربی در بافت چربی زیر پوستی و احشایی عوامل خطرزای مهمی در توسعه دیابت، دیس لیپیدمی، کبد چرب و التهاب مزمن است. برای توسعه سبب‌شناسی نوین بر اساس راهبرد جلوگیری و درمان این دسته از بیماری‌ها، درک درستی از سازوکار مولکولی چاقی و اختلال های متابولیکی متعاقب آن ضروری به نظر می‌رسد [۱]. در شرایط چاقی، هورمون های پیش التهابی همچون اینترلوکین-۶ افزایش یافته و در سیگنالینگ انسولین اختلال ایجاد می شود [۲]. زیر واحدهای آلفای گیرنده انسولین در خارج سلول قرار دارد که جایگاه اتصال انسولین هستند [۳]. اتصال لیگاند بین هورمون انسولین و زیر واحد آلفا، اتوفسفریلاسیون اسید آمینه تیروزین سیتوپلاسمی زیر واحدهای بتا را القاء می‌کند. این اتوفسفریلاسیون اتصال پروتئین های سوبسترای سیتوزولی همچون سوبسترای گیرنده انسولین-۱ را تسهیل می‌کند. وقتی فسفریلاسیون اتفاق افتاد، این سوبسترا به عنوان پروتئین الحاقی برای پروتئین‌های واسطه‌ای در سیگنالینگ انسولین رفتار می کند [۵،۴]. با افزایش درصد چربی و بروز چاقی، میزان سوبسترای گیرنده انسولین-۱ فعال تقلیل می یابد. فعالیت ورزشی و محدودیت کالری از زمان های گذشته

* نویسنده مسئول، نشانی: مشهد- میدان آزادی- پردیس دانشگاه، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی.

تلفن تماس: ۰۹۱۵۲۵۷۰۰۵۸ پست الکترونیک:mfathei@um.ac.ir

دریافت:۹۷/۰۱/۱۵ اصلاح: ۹۷/۰۳/۱۲ پذیرش:۹۷/۰۷/۲۱

به طور موفقیت آمیزی در جلوگیری و درمان مقاومت انسولینی و دیابت نوع دو ناشی از چاقی عمل کرده است [۲]. البته در چندین پژوهش، ارتباط بین سوبسترای گیرنده انسولین و ورزش و محدودیت کالری بررسی و نتایج متناقصی ارائه شده است [۳،۶،۷]. کایروان و همکاران [۳] نقش فعالیت ورزشی منظم در تنظیم متابولیسم گلوکز وابسته به انسولین را مورد بررسی قراردادند. نتایج پژوهش آنان نشان داد افرادی که میزان بالاتری از فعالیت بدنی دارند مقادیر بیشتری از سوبسترای گیرنده انسولین-۱ را در سلول‌هایشان در طول هایپرانسولینمیا دارند. همچنین فعال‌سازی PI3 کیناز مستقیماً مربوط به بهبود حداکثر اکسیژن مصرفی و افزایش ذخیره‌سازی گلوکز در افراد فعال است. این نتایج منجر به شناخت بهتر سازوکار بهبود متابولیسم گلوکز ناشی از ورزش می شود. در حدود ۳۱ درصد افزایش در برداشت گلوکز ناشی از فعالیت ورزشی را می توان از فواید آن نسبت به افراد غیرفعال دانست. این داده‌ها با نتایج پژوهش‌های دیگر پژوهشگران که گزارش کردند ۲۰ تا ۳۰ درصد افزایش گلوکز ورودی به سلول ناشی از ازدیاد سوبسترای گیرنده انسولین به دلیل تمرین ورزشی و محدودیت کالری اتفاق می‌افتد، همسو است. کیم و همکاران گزارش کردند که فعالیت ورزشی می تواند گیرنده انسولین، سوبسترای گیرنده انسولین-۱ و MAP کیناز را در پستانداران افزایش دهد. نشان داده شده است که فعال سازی PI3 کیناز و سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در فعال سازی انتقال دهنده گلوکز-۴ در بافت چربی و عضلانی حیاتی است. در مجموع افزایش حساسیت انسولینی مرتبط با فعالیت ورزشی توسط سیکنالینگ انسولین، به ویژه در سطح آبشاری که مولفه های آن سوبسترا گیرنده انسولین و انتقال دهنده گلوکز-۴ هستند، در مرحله پس گیرنده ای انجام می شود [۸]. به علاوه، آگاهی از سازوکارهای احتمالی این بهبودی هنوز ناقص است. براساس نتایج پیشین چنین درک می‌شود که یکی از این سازوکارها افزایش بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ است که می تواند حساسیت انسولینی را افزایش داده و ورود گلوکز به داخل سلول را تسهیل کند [۹]. همچنین نشان داده شده است که فعالیت بدنی و رژیم غذایی بر سیگنالین انسولین در سلول های چربی اثر مثبت دارد [۱۰]. البته به خاطر اندک بودن اطلاعات در دسترس هنوز مشخص نیست سهم ورزش و رژیم غذایی به تنهایی یا توامان با هم به چه میزان است [۱۱]. ا ز این رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مقادیر مختلف تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در آدیپوسیت‌های موش‌های صحرایی نر چاق انجام شد.

روش کار:

پژوهش حاضر از نوع تجربی روی ۵۶ سر موش نر صحرایی بالغ ۸ هفته‌ای از نژاد ویستار به عنوان نمونه آماری پژوهش انجام شد. موش‌های مورد آزمایش در گروه‌های چهارتایی در قفس‌هایی از جنس پلکسی با درب‌های توری و به ابعاد ۲۵×۲۷×۴۳ سانتی‌متر نگه داری شدند. دمای محیط ۳±۲۳ سانتی‌گراد و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵٪ بود. از آن جا که موش‌های آزمایشگاهی به بیماری تنفسی بسیار حساس هستند، از این رو تهویه مناسب برای جلوگیری از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار حیوانات در محل نگه داری بسیار ضروری است. در این پژوهش نیز برای ایجاد تهویه و جریان هوای سالم از دو دستگاه تهویه بدون صدا استفاده شد. موش‌های صحرایی با غذاهای تولیدی مراکز خوراک دام که به صورت پلت می‌باشد تغذیه شدند. همچنین آب مورد نیاز هر حیوان در بطری آب ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات آزمایشگاهی در اختیار آنها قرار داده شد. موش ها ابتدا به دو گروه سالم (n=۸) و چاق (n=۴۸) تقسیم شدند. گروه چاق به مدت ۱۷ هفته تحت رژیم چرب و گروه سالم تحت رژیم استاندارد قرار گرفتند. پس از القاء چاقی، گروه چاق به شش گروه کنترل، تمرین ورزشی، محدودیت کالری، ترکیبی۱، ترکیبی۲، ترکیبی ۳ و سالم تقسیم شدند و به مدت دو ماه تحت تمرین ورزشی، محدودیت کالری و ترکیبی های متفاوتی از آن قرار گرفتند. این پژوهش با نظارت کمیته اخلاق دانشگاه فردوسی با کد شماره ۳/۴۰۳۸۸ اجرا شده است.

ایجاد چاقی

تعداد ۵۶ سر موش ۸ هفته ای با میانگین وزنی۱۹۰گرم به طور تصادفی به دو گروه سالم (۸ سر) و چاق (۴۸ سر) تقسیم شدند. گروه چاق از پلت باچربی 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). تمامی موش ها به مدت ۱۷ هفته به این شیوه تغذیه شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند (جدول ۱).

جدول۱: وزن موش ها طی پروتکل چاقی

	قبل	هفته۶	هفته ۱۱	هفته ۱۷
کنترل چاقی	۱۹۰	۲۴۳	۳۱۱	۳۷۸
تمرین ورزشی	۱۹۶	۲۵۰	۳۰۱	۳۴۳
محدودیت کالری	۱۸۸	۲۴۱	۲۹۶	۳۵۱
ترکیبی۱	۱۹۱	۲۴۰	۲۸۸	۳۶۰
ترکیبی۲	۱۸۵	۲۳۵	۲۹۶	۲۶۵
ترکیبی۳	۱۹۷	۲۴۶	۲۸۸	۳۵۲
گروه سالم	۱۹۱	۲۲۰	۲۵۳	۲۸۶

معیار چاقی:

از معیارهای افتراقی چاقی در موش‌های ویستار شاخص توده بدنی گزارش شده است. شاخص توده بدنی موش های طبیعی بین ۰/۴۵ تا ۰/۶۸ گرم بر مجذور قد است [۱۲] که پس از ۱۷ هفته مقدار آن در گروه چاق به طور معناداری بیشتر از گروه سالم بود (۰/۷۰ گرم برمجذور قد). پس از احراز چاقی، آزمودنی‌ها به گروه تمرین ورزشی، گروه محدودیت کالری، گروه ترکیبی۱، گروه ترکیبی۲، گروه ترکیبی۳ و کنترل چاق تقسیم شدند.

محدودیت کالری:

غذای موش ها قبل از اعمال رژیم به مدت یک هفته زیر نظر قرار گرفت. بدین منظور ابتدا غذای هر قفس وزن شده و به طور آزاد در دسترس موش ها قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت، باقی مانده غذا جمع آوری 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 آن جایی که هدف اعمال ۱۰درصد تعادل منفی انرژی بود، به تناسب ۱۰درصد از وزن غذای روزانه گروه محدودیت کالری (۶ روز در هفته)، گروه ترکیبی۳ (۴روز در هفته)، گروه ترکیبی۲ (۳روز در هفته) و گروه ترکیبی۱ (۲روز در هفته) کاسته شد و به بقیه روزها و گروه تمرین ورزشی ۱۰۰ درصد غذای مورد نیاز داده شد [۱۱].

تمرین ورزشی هوازی:

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 تا۶۰ دقیقه افزایش یافت.

مرحله تثبیت: در این مرحله، موش‌های گروه تمرین ورزشی (۶ روز در هفته) ، گروه ترکیبی۳ (۲ روز در هفته) ، گروه ترکیبی۲ (۳روز در هفته) ، گروه ترکیبی۱ (۴ روز در هفته) به مدت هشت هفته روی نوار گردان با شدت ۷۰–۷۵٪ حداکثر اکسیژن مصرفی (۲۸ متر در دقیقه) و شیب صفر درصد با مدت زمان های متغیر دویدند [۱۱].

برای محاسبه زمان تمرین، ابتدا مقدار کالری غذای کاسته شده بر عدد ۴/۸۶ [۱۳] تقسیم شد تا اکسیژن مصرفی حین تمرین به دست آید و سپس بر مقدار تفاضل اکسیژن مصرفی استراحت (پایه) حین تمرین (به طور متوسط ۲/۴۲ میلی لیتر اکسیژن / ۱۰۰ گرم وزن بدن در هر دقیقه) از مقدار اکسیژن مصرفی در سرعت ۲۸ متر در دقیقه (معادل ۷/۷ میلی لیتر اکسیژن / ۱۰۰ گرم وزن بدن در هر دقیقه) تقسیم و در وزن بدن ضرب شد.

براساس معادلات شپهرد و گولنیک، اکسیژن مصرفی استراحت (پایه) حین تمرین (به طور متوسط ۲/۴۲ میلی لیتر اکسیژن / ۱۰۰ گرم وزن بدن در هر دقیقه) و مقدار اکسیژن مصرفی در سرعت ۲۸ متر در دقیقه (معادل ۷/۷ میلی لیتر اکسیژن / ۱۰۰ گرم وزن بدن /۱دقیقه) بود (۱۴) (RQ=۰/۸۵). مدت زمان هرجلسه دویدن روی تردمیل برای گروه تمرین ورزشی (۵۵ دقیقه)،گروه ترکیبی۳ (۵۰ دقیقه)، گروه ترکیبی۲ (۵۳ دقیقه) و گروه ترکیبی۱ (۴۶ دقیقه) بود.

برنامه تعادل منفی انرژی :

گروه محدودیت کالری: رژیم غذایی هیپوکالریک با ۱۰درصد کاهش از وزن غذای روزانه (۶ روز در هفته)

گروه تمرین ورزشی: تمرین ورزشی با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه به مدت ۵۵ دقیقه معادل ۱۰درصد از کالری دریافتی روزانه (۶ روز در هفته)

گروه ترکیبی ۱: رژیم غذایی هیپوکالریک با ۱۰درصد کاهش از وزن غذای روزانه (۴ روز در هفته) و تمرین ورزشی با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه معادل ۱۰درصد از کالری دریافتی روزانه (۲ روز در هفته)

گروه ترکیبی ۲: رژیم غذایی هیپوکالریک با ۱۰درصد کاهش از وزن غذای روزانه (۳ روز در هفته) و تمرین ورزشی با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه به مدت ۵۳ دقیقه معادل ۱۰درصد از کالری دریافتی روزانه (۳ روز در هفته)

گروه ترکیبی ۳: رژیم غذایی هیپوکالریک با ۱۰درصد کاهش از وزن غذای روزانه (۲ روز در هفته) و تمرین ورزشی با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه به مدت ۴۶ دقیقه معادل ۱۰درصد از کالری دریافتی روزانه (۴ روز در هفته)

روش بی‌هوش کردن آزمودنی‌ها، جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌های خونی

به منظور کنترل اثر زمان، گروه کنترل چاق و کنترل سالم پس از پایان پروتکل، به تناوب و به طور مخلوط از هر گروه ۲ سر موش در یک روز (جمعاً ۸ سر موش) پس از ۱۲–۱۴ 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 (۵۰–۳۰ mg/kg) و زایلازین (۵–۳ mg/kg) بی‌هوش شدند. سپس مقدار ۱۰ میلی لیتر خون مستقیماً از طریق قلب با سرنگ کشیده و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد (۱۵). نمونه های جمع آوری شده فوراً به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۲۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای به دست آمده در اپندورف‌های شماره گذاری شده ریخته و برای اندازه‌گیری بعدی در دمای ۸۰– درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند.

روش اندازه‌گیری متغیرها (Real-time PCR) :

بافت چربی سفید بدون درنگ پس از بیهوش شدن آزمودنی برداشته و به صورت تازه و یخ زده در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد تا زمان اندازه گیری نگهداری شد. مجموع RNA از بافت چربی با استفاده از Tripure طبق دستورالعمل تولید کننده استخراج شد. سپس ۱ میکروگرم RNA برای سنتز cDNA با استفاده از کیت رونویسی معکوس AccuPower® RocketScript استفاده شد.

نمونه های کیفیت cDNA با استفاده از واکنش PCR با تشخیص بیان گلیسرالیدید فسفات دهیدروژناز (GAPDH) تایید شد. واکنش کمی واکنش PCR با استفاده از سیستم real time PCR مدل Real Q SYBR Green reaction mix انجام شد. مخلوط واکنش شامل ترکیب (5µM primers for GAPDH) , (IRS-1 (1X Real Q master mix), بود.

شرایط چرخشی دما بدین صورت برنامه ریزی شده بود: مرحله ابتدایی denaturization برای ۱۰ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد و به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل مرحله adenaturation برای ۱۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتیگراد، مرحله تقویت خنثی سازی برای ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سانتیگراد. داده های فلورسنت در مرحله توسعه گسترش یافت. در نهایت تجزیه و تحلیل منحنی ذوب برای هر واکنش از ۵۵ تا ۹۵ درجه سانتیگراد برای هر تایید خاصیت واکنش انجام شد.

هر نمونه به صورت سه گانه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و GAPDH به عنوان ژن normalizer استفاده شد. تغییرات Fold در بیان ژن با روش دلتا CT محاسبه شد. توالی پرایمر توسط نرم افزار Allele ID طراحی شده است (جدول ۲).

جدول ۲: پرایمرهای استفاده شده برای Real-time PCR

GAPDH-F	GACTCTACCCACGGCAAGTT
GAPDH-R	CTCGCTCCTGGAAGATGGTG
IRS 1-F	GCTGCCAACACAGTGTCTTTT
IRS 1-R	ATTGCTGCCTAAGGGTTGGT

به علاوه برای سنجش کالری مصرفی حین فعالیت ورزشی براساس یافته‌های به دست آمده از مطالعه بدفورد، شپرد و گولنیک در مورد موش‌ها استفاده شد. بدین معنی که به ازای هر۱۰۰گرم وزن بدن در دقیقه ۷/۷ میلی لیتر اکسیژن مصرف می شود و با محاسبه اکسیژن مصرفی و ضرب آن در عدد ۴/۸، میزان کالری مصرفی به دست می آید. همچنین کالری رژیم غذایی با استفاده از محتوای پلت (غذای موش) شرکت بهپرور ایران محاسبه شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات

برای توصیف داده‌ها از شاخص های مرکزی و پراکندگی و برای بررسی نرمال بودن داده از آزمون شاپیروویلک و برای مقایسه و بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه، آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی محاسبه‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS16 در سطح معناداری p<۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها:

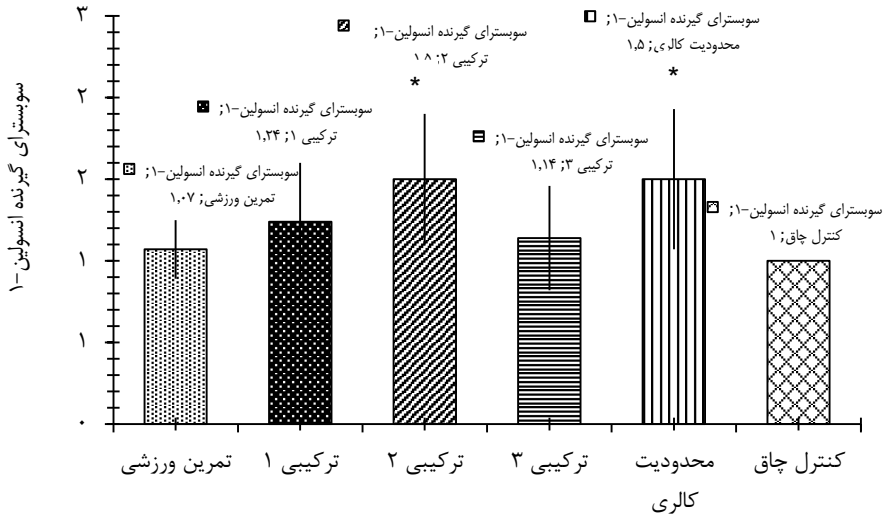
اطلاعات مربوط به هر یک از متغیرهای اندازه گیری شده به صورت میـانگین و انحـراف اسـتاندارد در جدول ۳ آورده شده است. بین مقادیر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در گروه ترکیب۲ با گروه کنترل چاق تفاوت معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۳۳). همچین بیان ژن mRNA سوبسترای گیرنده انسولین در گروه محدودیت کالری بیشتر از گروه کنترل چاق بود (P=۰/۰۲۴). بین سایر شرایط تفاوت معناداری مشاهده نشد (نمودار۱).

بین مقادیر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در گروه ترکیبی۲ با گروه کنترل تفاوت معناداری مشاهده شد (P=۰/۰۳۳). همچنین بیان ژن mRNA سوبسترای گیرنده انسولین در گروه محدودیت کالری بیشتر از گروه کنترل بود (P=۰/۰۲۴). بین سایر شرایط تفاوت معناداری مشاهده نشد (نمودار ۱). بین مقادیر وزن بدن در گروه های محدودیت کالری، گروه ترکیبی ۱، گروه ترکیبی۲ و گروه ترکیبی۳ در مقایسه با گروه سالم همگی با P< ۰/۰۰۱ معنادار بودند (نمودار ۲).

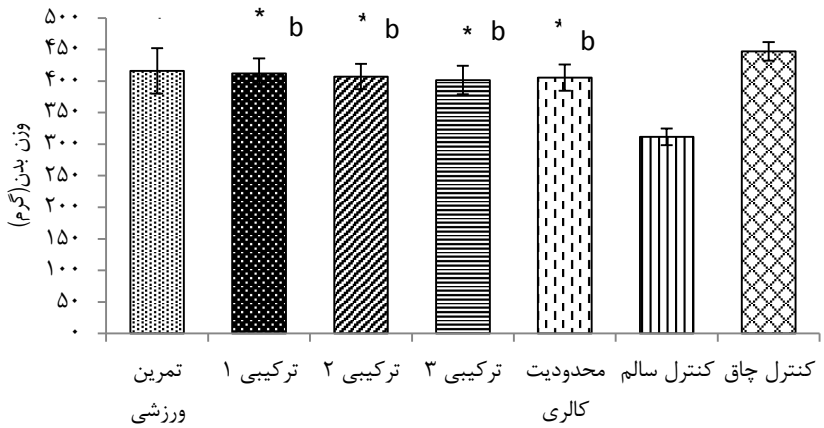
جدول ۳ : میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش (بعد از پروتکل)

گروه / متغیر	کنترل سالم	کنترل چاق	محدودیت کالری	تمرین ورزشی	ترکیبی۱	ترکیبی۲	ترکیبی۳
	X ±SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD	X ± SD
بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین	–	۱/۰۰±۰/۰۰	۱/۵±۰/۴۳*	۱/۰۷±۰/۱۸	۱/۲۴±۰/۳۶	۱/۵±۰/۴۰*	۱/۱۴±۰/۳۲
وزن (گرم)	۳۱۱/۶۲±۱۳/۱۴	۴۴۷/۳۷±۱۴/۷۳	۴۰۵/۵±۲۰/۷۶	۴۱۶/۲۵±۳۶/۲۱	۴۰۱/۶۲±۲۲/۶۷	۴۰۷/۲۵±۱۹/۹۵	۴۱۲/۱۲±۲۴/۰۷

(*) وجود تفاوت معنادار با گروه کنترل چاق



نمودار ۱ : مقایسهٔ تغییرات تمرین ورزشی، محدودیت کالری و سه ترکیب محدودیت کالری و تمرین ورزشی بر سوبسترای گیرنده انسولین -۱ پس از ۸ هفته.
(*) وجود تفاوت معنادار گروه‌ها با گروه چاق



نمودار ۲ : مقایسهٔ تغییرات تمرین ورزشی، محدودیت کالری و سه ترکیب محدودیت کالری و تمرین ورزشی بر مقاومت به انسولین پس از ۸ هفته.
(*) تفاوت معنادار گروه ها با گروه چاق (b) تفاوت معنادار گروه ها با گروه سالم

بحث :

پژوهش‌های گذشته در مورد تاثیرات تعادل منفی انرژی بر سیگنالینگ انسولین در پستانداران بیانگر وجود همبستگی مثبت بین میزان تعادل منفی انرژی و میزان افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین است [۲]. در پژوهش حاضر نشان داده شد بین مقادیر بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در گروه ترکیب۲ با گروه کنترل چاق تفاوت معناداری وجود دارد. این گروه از آزمودنی ها یک روز درمیان مقایر کالریک مساوی از محدودیت و فعالیت ورزشی داشتند. همچنین بیان ژن mRNA سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در گروه محدودیت کالری بیشتر از گروه کنترل چاق بود که به مدت هشت هفته محدودیت کالری ۱۰ درصد به رژیم غذایی آن ها اعمال شده بود. به نظر می‌رسد ترکیب برابر ورزش هوازی و محدودیت کالری با هم و محدودیت کالری به تنهایی با افزایش بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین-۱ در بهبود حساسیت انسولینی نقش دارند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تمرین‌هوازی و استقامتی به همراه رژیم غذایی سبب بهبود حساسیت به انسولین در آزمودنی‌های مبتلا به مقاومت انسولینی می شود که این به همزمانی کاهش وزن و تنظیم مثبت بیان سوبسترای گیرنده انسولین-۱ نسبت داده شده است [۱۷،۱۶]. پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند تمرینات هوازی اگر با رژیم غذایی همراه باشند تغییرات معناداری را در سیگنالینگ انسولین در بافت چربی ایجاد می‌کند که متخصصین فیزیولوژی ورزشی از آن به عنوان سازگاری های محیطی نام می‌برند [۳]. این نوع سازگاری در مقابل سازگاری های مرکزی قرار می گیرد که مربوط به دستگاه هورمونی در افراد است. نشان داده شده است که بهبود مقاومت به انسولین با مقدار ۱۰درصد محدودیت انرژی دریافتی رخ می‌دهد. لارسون می یر و همکاران در سال ۲۰۰۷ به بررسی اثر تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر حساسیت انسولینی و عملکرد سلول های بتا پرداختند. در پژوهش آن ها ۵۶ آزمودنی چاق به چهار گروه ۱۰۰ درصد کنترل انرژی مورد نیاز، ۲۵ درصد محدودیت کالری، ۱۲/۵درصد محدودیت کالری +۱۲/۵درصد تمرین ورزشی تقسیم شدند. آن‌ها این چنین گزارش کردند که رژیم غذایی خود به تنهایی یا به همراه فعالیت بدنی هوازی می‌تواند باعث بهبود حساسیت انسولینی و سیگنالینگ آن و همچنین افزایش عملکرد و ترشح سلول‌های بتا پانکراسی و پروفایل لیپیدی شوند [۱۸] که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مطالعه یوکویاما نیز ۴۰ فرد میان‌سال و مبتلا به دیابت نوع دوم (غیروابسته به انسولین) را به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول تحت محدودیت کالری مشخصی قرار گرفتند، 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 برنامه فعالیت ورزشی شامل ۴۰ دقیقه رکاب زدن روی چرخ کارسنج، ۵ روز در هفته و با شدت ۷۰ درصد حداکثر ضربان قلب نیز پیروی کردند. هم‌چنین این افراد علاوه بر فعالیت فوق روزانه به میزان ۱۰/۰۰۰ گام نیز پیاده‌روی می‌کردند. کل دوره‌ی پژوهش و مداخله‌های فوق برای هر دو گروه سه هفته بود. نتایج نشان داد که شاخص حساسیت انسولینی و HOMA-IR در گروه محدودیت کالری تغییری نداشته، اما در گروه تمرین و تغذیه به طور معناداری بهبود یافته بود 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 کاهش توده چربی رخ داده باشد [۲۰]. نتایج پژوهش کروان و همکاران نشان داد که در ورزشکاران تمرین کرده، یک وهله فعالیت شدید رکاب زنی وامانده ساز مقادیر سوبسترای گیرنده انسولین را تا ۳۰ دقیقه بعد از فعالیت کاهش می‌دهد. شبیه به این روند، سوبسترای گیرنده انسولین-۱ فعال نیز بعد از پنج ساعت پس از پایان فعالیت ورزشی کاهش می یابد [۲۱].

محدودیت کالری و فعالیت ورزشی علاوه بر آن که موجب افزایش برداشت گلوکز می‌شود، کبد را نیز نسبت به انسولین جریان خون حساس‌تر می‌سازد [۲۲]. 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 اتوفسفریلاسیون اسید آمینه تیروزین قسمت سیتوپلاسمی زیر واحدهای بتا می شود و این اتوفسفریلاسیون اتصال پروتئین های سوبسترای سیتوزولی مثل سوبسترای گیرنده انسولین را تسهیل می‌کند. وقتی فسفریلاسیون اتفاق افتاد، این سوبسترا به عنوان پروتئین الحاقی برای پروتئین‌های واسطه عمل انسولین رفتار می کند. همچنین فعالیت ورزشی باعث تحریک انتقال دهنده گلوکز-۴ شده و کار انتقال گلوکز از محیط خارج سلولی به محیط داخل سلولی را فراهم می سازد. این انتقال دهنده تحت تاثیر عمل انسولین از سیتوزول به غشای سلول مهاجرت کرده و عمل جذب گلوکز را انجام می دهد و باعث افزایش حساسیت سلول ها به انسولین می شود [۲].

نتیجه گیری:

در حدود ۱۰درصد تعادل منفی انرژی به شکل محدودیت‌کالری به تنهایی یا مقدار معادل آن با ورزش می تواند باعث افزایش بیان ژن سوبسترای گیرنده انسولین شود که زمینه ساز حساسیت انسولینی است.

تشکر و قدردانی:

از همکاری های جناب آقای دکتر حسین کارگر و خانم سعیده عرفانیان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References:

1. Speakman JR, Mitchell SE. Caloric restriction. Molecular aspects of medicine. 2011;32(3):159-221.
2. 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.
3. Kirwan JP, Del Aguila LF, Hernandez JM, Williamson DL, O'Gorman DJ, Lewis R, et al. Regular exercise enhances insulin activation of IRS-1-associated PI3-kinase in human skeletal muscle. Journal of Applied Physiology. 2000;88(2): 797-803.
4. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, MacDonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. The Journal of physiology. 2008;586(1):151-60.
5. Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzkes N, et al. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. Journal of Clinical Investigation. 2005;115(12):3587.
6. Argentino DP, Dominici FP, Muñoz MC, Al-Regaiey K, Bartke A, Turyn D. Effects of long-term caloric restriction on glucose homeostasis and on the first steps of the insulin signaling system in skeletal muscle of normal and Ames dwarf (Prop1 df/Prop1 df) mice. Experimental gerontology. 2005;40(1):27-35.
7. 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. Medicine and science in sports and exercise. 1999;31(7):998-1004.
8. 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. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1995;210(3):766-73.
9. Carvalho-Filho M, Ropelle E, Pauli R, Cintra D, Tsukumo D, Silveira L, et al. Expression of Concern: Aspirin attenuates insulin resistance in muscle of diet-induced obese rats by inhibiting inducible nitric oxide synthase production and S-nitrosylation of IRβ/IRS-1 and Akt. Diabetologia. 2017:1.-
10. dos Santos JL, de Araujo SS, dos Santos Estevam C, Lima CA, de Oliveira Carvalho CR, Lima FB, et al. Molecular Mechanisms of Muscle Glucose Uptake in Response to Resistance Exercise: A Review. Journal of Exercise Physiology Online. 2017;20(4).
11. 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(1):81-6.
12. Novelli E, Diniz Y, Galhardi C, Ebaid G, Rodrigues H, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. Laboratory animals. 2007;41(1):111-9.

13.Klingshirn LA, Pate RR, Bourque SP, Davis JM, Sargent RG. Effect of iron supplementation on endurance capacity in iron-depleted female runners. Medicine and science in sports and exercise. 1992;24(7):819-24.
14.Shepherd R, Gollnick P. Oxygen uptake of rats at different work intensities. Pfluegers Archiv. 1976;362(3):219-22.
15.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(5):1008.۱۲-
16.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.
17.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(3):355-60.
18.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(6):1337-44.
19.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(7):1756-8.
20.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. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2010;95(2): 911-9.
21.Wojtaszewski JF, Hansen BF, Kiens B, Richter EA. Insulin signaling in human skeletal muscle: time course and effect of exercise. Diabetes. 1997; 46(11):1775-81.
22.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(5):1199-205.

Original Article

The Effects of Exercise and Caloric Restriction on Insulin Receptor Substrate-1 in Obese Male Rat

AliReza Delpasand[1], Mehrdad Fathi[1] , Seyyed Reza Attarzadeh Hosseini[1] , Salma Ahi [2]

Received: 2018.04.04 Revised: 2018.06.02 Accepted: 2018.10.13

1.Department of Physiology of Sport, Faculty of Sport Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Untreated Disease Research Center, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.16, No.2, Summer 2018

Pars J Med Sci 2018;16(2):49-57

Abstract:

Introduction:
Sedentary life style and high calorie foods lead to obesity, hence the aim of the study was to investigate the effects of different doses of exercise and caloric restriction on insulin receptor substrate-1 in obese male rats.

Methods and Materials:
48, eight-week-old male Wistar rats (190 ± 16 g) fed high-fat palate for seventeen weeks. After obesity induction, the obesity group was randomly assigned to one of the six groups: EXE, CR, EXCR1, EXCR2, and EXCR3 as experimental groups and OC as the control group. Then 10% of food intake was reduced. Exercise intensity was adjusted about 70-75% vo2max, 28 m/min for 48 to 55 minute. Negative energy balance was applied through caloric restriction (CR) (6d/w), exercise training (EXE) (6d/w), and 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 month. One way ANOVA and Tukey post-hoc test was applied for data analysis by SPSS version 16 ($p<0.05$).

Results:
IRS-1 mRNA expression was significantly higher in CR in comparison to OC ($p=0.024$). Also, IRS-1 expression significantly increased in EXCR2 comparing to OC ($p=0.033$).

Conclusion:
10% of negative energy balance in forms of caloric restriction per se or in conjunction with exercise can provoke mRNA expression of insulin substrate receptor-1 that may lead to insulin sensitivity improvement.

Keyword: Obesity, Exercise, Caloric Restriction, Insulin Receptor Substrate-1, Rat

* Corresponding author Email: mfathei@um.ac.ir