علوم زیستی ورزشی - زمستان ۱۳۹۶
دورۀ۹، شمارۀ ۴، ص: ۵۱۴ – ۵۰۱
تاریخ دریافت : ۲۴ / ۰۵ /۹۶
تاریخ پذیرش : ۲۴ / ۱۰ / ۹۶

اثر تمرین هوازی و محدودیت کالری بر سطوح پروتئین ناقل گلوکز و دی آسیل گلسیرول درون‌عضلانی موش‌های صحرایی نر چاق

ابوذر جوربنیان [۱] – حمید محبی*[۲]

۱.دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدۀ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، ایران ۲.دکتری تخصصی، استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکدۀ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، ایران

چکیده

مقاومت به انسولین ناشی از مصرف مواد غذایی پرچرب، با متابولیت‌های چربی درون‌عضلانی ارتباط دارد. هدف از مطالعۀ حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی، محدودیت رژیم غذایی و ترکیب آنها بر مقاومت به انسولین از طریق تغییرات دی آسیل گلسیرول درون‌عضلانی در موش‌های صحرایی نر چاق بود. از ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن ۱۹۴/۵±۱۲/۶ گرم به‌عنوان نمونه استفاده شد. ۴۸ سر موش به مدت ۱۸ هفته رژیم غذایی پرچرب مصرف کردند و به ۸ سر موش غذای نرمال داده شد. سپس، موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب، به گروه‌های کنترل، تمرین هوازی، محدودیت رژیم غذایی و ترکیبی (تمرین هوازی و محدودیت رژیم غذایی) تقسیم شدند. گروه تمرین هوازی به مدت ۱۰ هفته و با شدت ۲۸ متر بر دقیقه دویدند. گروه محدودیت رژیم غذایی ۲۵ درصد از غذای مصرفی‌شان کاسته شد و گروه ترکیبی، به‌صورت یک روز در میان تحت تمرین هوازی و محدودیت رژیم غذایی قرار گرفتند. نتایج مطالعۀ حاضر نشان داد که وزن موش‌ها پس از ۱۸ هفته مصرف رژیم غذایی پرچرب افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین، تفاوت معناداری بین سطوح دی آسیل گلیسرول عضله و سطوح سرمی انسولین، گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین گروه‌های تمرین هوازی، محدودیت کالری و ترکیبی با گروه غذای پرچرب وجود دارد ($P<۰/۰۵$). سطوح PKC-θ در گروه‌های تعادل منفی انرژی کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) و تفاوت معناداری بین سطوح GLUT4 گروه‌های تمرین هوازی و ترکیبی در مقایسه با گروه غذای پرچرب، مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که روش‌های تعادل منفی انرژی حتی همراه با مصرف غذای پرچرب می‌تواند سبب کاهش دی آسیل گلیسرول عضلۀ اسکلتی شود که تا حد زیادی با بهبود مقاومت به انسولین همسوست.

واژه‌های کلیدی

پروتئین ناقل گلوکز، تعادل منفی انرژی، تمرین هوازی، چاقی، محدودیت کالری.

---

* نویسندۀ مسئول : تلفن:۰۹۱۱۱۳۶۱۴۲۹ Email:mohebbi_h@yahoo.com

مقدمه

رشد سریع اختلالات مرتبط با بیماری‌های متابولیک ناشی از چاقی شامل دیابت نوع دو به نگرانی جدی در بین جوامع بشری تبدیل شده است (۲۵). روند افزایشی شیوع عوارض مرتبط با دیابت نشان می‌دهد که در حال حاضر درمان‌های پزشکی برای کنترل آن کافی نیست و استفاده از درمان‌های مکمل مانند رژیم غذایی و تمرینات ورزشی می‌تواند اثربخش باشد (۲۹).

انتقال گلوکز به عضلات اسکلتی فرایند مهمی در کنترل قند خون به‌شمار می‌رود. عضلات حدود ۸۵ درصد گلوکز را از طریق وابستگی به انسولین جذب می‌کنند و انتقال گلوکز، مرحلهٔ محدودکنندهٔ متابولیسم گلوکز محسوب می‌شود (۱۱). بیشترین جذب گلوکز خون در حضور انسولین، بر اثر فراخوان پروتئین ناقل گلوکز[1] (GLUT4) است. براساس نتایج مطالعات انسولین و ورزش از مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی به جذب گلوکز منجر می‌شوند (۳). انسولین از طریق پیام‌رسانی سوبسترای گیرندهٔ انسولین[2] اثرگذاری می‌کند، درصورتی‌که انقباض عضلانی ناشی از تمرینات ورزشی، علاوه‌بر مسیر ذکرشده، با افزایش کلسیم و AMPK[3] نیز می‌تواند مقادیر GLUT4 را افزایش دهد (۳۷). در تأیید این مطلب، در مطالعه‌ای که اثر انسولین بر جذب گلوکز را از طریق بلوکه کردن فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز[4]، مهار کردند، کاهشی در جذب گلوکز ناشی از فعالیت ورزشی صورت نگرفت (۳۸). برخلاف مطالعات مربوط به تغییرات GLUT4 در اثر تمرینات ورزشی، اغلب مطالعات عدم افزایش GLUT4 ناشی از محدودیت کالری را ارائه دادند (۱۶، ۱). برای مثال، کارتی و همکاران، محدودیت رژیم غذایی ۴۰ درصدی را به مدت ۱۳۵ روز به موش‌ها اعمال کردند و تغییری در GLUT4 مشاهده نکردند (۵). با این حال، در اثر محدودیت کالری بهبود مقاومت به انسولین را گزارش کردند. به‌نظر می‌رسد که این بهبود بر اثر افزایش فسفوریلاسیون Akt[5] و سپس انتقال GLUT4 به غشای سلول و در نهایت جذب گلوکز باشد. در مقابل، مطالعه‌ای افزایش مقدار GLUT4 را با اعمال ۳۰ درصد محدودیت رژیم غذایی، نشان داد (۲).

براساس نتایج مطالعات اخیر مقاومت به انسولین رابطهٔ زیادی با افزایش محتوای چربی درون‌عضلانی دارد (۱۹). گزارش شده است که در افراد چاق و دیابتی نوع دو، تجمع متابولیت‌های

1. Glucose Transporter Type 4
2. Insulin receptor substrates
3. AMP-activated protein kinase
4. Phosphatidylinositol 3-Kinase
5. Protein Kinase B

چربی، بیشتر از افراد لاغر و سالم است (۸)؛ هرچند گزارش‌ها در این زمینه متناقض است (۳۲ ، ۱۹). به‌نظر می‌رسد که افزایش فراورده‌های متابولیکی چربی درون‌سلولی مانند DAG[1] و سرامیدها به مهار حساسیت به انسولین منجر می‌شوند (۲۲). در این زمینه، نشان داده شد که تزریق ذرات چربی همراه با هپارین به موش‌ها و انسان، به افزایش اسید چرب پلاسما و مقاومت به انسولین پس از ۴ تا ۶ ساعت منجر می‌شود (۱۷).

به‌طور کلی، محدودیت کالری به مقداری که سوء تغذیه ایجاد نکند (۳۵ تا ۴۰ درصد غذای مصرفی)، سازگاری‌های مختلفی را به‌همراه دارد و با کاهش چربی‌های نواحی احشایی و با اثر کمتر بر چربی‌های درون‌عضلانی به کاهش مقاومت به انسولین منجر می‌شود (۲۶ ،۶). از طرف دیگر، فعالیت ورزشی نیز همواره به‌عنوان یکی از راهکارهای کاهش وزن و بهبود مقاومت به انسولین مدنظر محققان قرار گرفته است. هرچند گزارش شده است که عدم تعادل بین فرایندهای تولید و مصرف چربی بر اثر تمرینات ورزشی، ممکن است به افزایش غلظت متابولیت‌های اسید چرب از جمله DAG منجر شود و خود افزایش مقاومت به انسولین را به‌همراه داشته باشد (۶). گمان می‌رود که تمرینات ورزشی به تعادل سوخت‌وسازی درون‌عضلانی و بهبود مقاومت به انسولین می‌انجامد (۱۴). با وجود این، سازوکارهای تنظیم‌کنندهٔ ناشی از تمرینات ورزشی به‌طور واضح مشخص نیست.

با توجه به تناقضات موجود دربارهٔ تغییرات GLUT4 و DAG درون‌عضلانی در اثر تمرینات هوازی و محدودیت کالری و همچنین مطالعات اندک در دسترس در این زمینه، مطالعهٔ حاضر به‌منظور بررسی اثر روش‌های تعادل منفی انرژی، برای بهبود مقاومت به انسولین از طریق تغییرات چربی درون‌عضلانی انجام گرفته است.

روش‌شناسی پژوهش

نمونهٔ آماری

آزمودنی‌های پژوهش حاضر ۵۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت‌هفته‌ای با میانگین وزن ۱۲/۶±۱۹۴/۵ گرم بودند. موش‌ها در گروه‌های چهارتایی و در قفس‌های مجزا از جنس پلی‌کربنات شفاف و در شرایط محیطی کنترل‌شده (دمای ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت ۵ ±۶۰ و چرخهٔ

1. Diacylglycerol

روشنایی- تاریکی معکوس ۱۲:۱۲ ساعت) و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژهٔ موش‌های صحرایی نگهداری شدند.

پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، به ۴۸ موش غذای پرچرب، حاوی کالری و چربی بیشتری در مقایسه با غذای استاندارد (کالری غذا؛ ۴/۸۴ در مقابل ۳/۸۶ کیلوکالری بر گرم و درصد انرژی غذا از چربی ۳۹ درصد ۳/۲ درصد) داده شد. موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب پس از ۱۸ هفته به گروه‌های غذای پرچرب (۸ سر)، محدودیت رژیم غذایی (۸ سر)، تمرین هوازی (۸ سر) و محدودیت رژیم غذایی به‌همراه تمرین هوازی (۸ سر) تقسیم شدند.

پروتکل محدودیت رژیم غذایی

پیش از اعمال محدودیت کالری، غذای موش‌ها به مدت ۱۴ روز زیر نظر گرفته شد تا مقدار دریافتی هر گروه مشخص شود، سپس به مدت ۱۰ هفته تحت مداخلهٔ غذایی قرار گرفتند. براساس پروتکل تحقیق در دورهٔ تعادل منفی انرژی، ۲۵ درصد از میانگین انرژی دریافتی روزانه محدود شد، بنابراین به‌تناسب ۲۵ درصد از وزن غذای روزانهٔ گروه محدودیت رژیم غذایی و گروه ترکیبی محدودیت کالری و تمرین هوازی (در روزهای محدودیت کالری) کاسته شد و به بقیهٔ گروه‌ها ۱۰۰ درصد غذای مورد نیاز داده شد (۴۰).

پروتکل تمرین هوازی

ابتدا موش‌های گروه تمرین، یک هفته با سرعت ۱۲-۱۰ متر بر دقیقه و به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و بر روی نوار گردان راه رفتند. سپس مرحلهٔ اضافه‌بار، به مدت دو هفته اجرا شد. در این مرحله موش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه روی نوار گردان راه رفتند و به‌تدریج در طول مدت دو هفته، شدت تمرین افزایش یافت تا به میزان نهایی تعیین‌شده (۲۸ متر بر دقیقه) معادل با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی رسید. در نهایت، موش‌ها به مدت ۷ هفته روی نوار گردان به مدت زمانی‌که براساس انرژی مصرفی تعیین شده بود، با سرعت ۲۸ متر بر دقیقه دویدند (جدول ۱). برنامهٔ تمرین هوازی برای گروه ورزش پنج بار در هفته و گروه ترکیبی به‌صورت یک روز در میان بود (۱۵).

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی

مراحل	هفته	میانگین مدت زمان تمرین (دقیقه)	سرعت (متر بر دقیقه)
آشنایی با نوار گردان	۱	۱۰ تا ۱۵	۱۰ تا ۱۲
اضافه‌بار	۲	۱۵	۱۲
ثبیت	۷	۷۵	۲۸

Comment [Mj1]:

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری متغیرهای خونی و بافتی

نمونه‌گیری خونی و بافتی در هفته‌های ۱۸ و ۲۸ بعد از ناشتایی شبانه انجام گرفت. به‌منظور حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌گیری از گروه تمرین هوازی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین در آزمایشگاه بافت‌شناسی علوم پزشکی دانشگاه گیلان صورت گرفت. ابتدا موش‌ها با تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ - ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و خون‌گیری از ورید اجوف فوقانی صورت گرفت. نمونه‌های خونی به لوله‌های آزمایش مخصوص انعقاد منتقل شدند و پس از ۲۰ دقیقه قرار گرفتن در انکوباتور (دمای ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. برای کسب اطمینان از کیفیت سرم، بار دیگر نمونه‌ها در اپندورف-های شماره‌گذاری‌شده قرار گرفتند و در میکروسانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ ثانیه سانتریفیوژ شدند. سرم خالص‌شده در اپندروف‌های مشخص قرار داده شد و برای انجام مراحل بعدی تحقیق به فریزر ۷۰- درجهٔ سانتی‌گراد انتقال یافت.

غلظت انسولین سرم به روش الایزا (۱۵) و با استفاده از کیت (کیت انسولین مخصوص رت‌ها، ساخت سوئد) اندازه‌گیری شد. دامنهٔ اندازه‌گیری، ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب ۱- ۰/۰۲، ۵/۶ درصد و ۰/۰۲ میکروگرم بر لیتر برای انسولین بود. گلوکز با روش آنزیمی-رنگ‌سنجی با فناوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به‌ترتیب ۱/۸٪ و ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA- IR) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۳):

$$\mathbf{HOMA-IR} = \left(\textbf{میلی مول بر لیتر}\right) \textbf{غلظت گلوکز} \times \left(\textbf{میلی واحد بر لیتر}\right) \textbf{غلظت انسولین} \div \mathbf{22.5}$$

پس از تشریح، عضلهٔ نعلی موش‌ها با تیغ جراحی جدا شد و پس از شست‌وشو با آب دیونیزه در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس در دمای ۷۰- درجه نگهداری شد. پس از هموژناسیون بافت، غلظت پروتئین GLUT4 عضلهٔ نعلی به روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص موش‌های صحرایی (کوزابایو بایوتک[1]، ووهان[2]، ساخت چین)، اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه گیری به‌ترتیب ۴/۹ درصد و ۰/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. سطوح DAG با استفاده از روش رنگ‌نگاری گازی اندازه‌گیری شد (۳۴). سطوح PKC-θ نیز با استفاده از آنتی‌بادی anti-PKC-θ و با روش کمی‌لومی‌نسانس[3] اندازه‌گیری شد (۳۹).

تحلیل آماری

به‌منظور اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای تجزیه‌وتحلیل آماری و مقایسهٔ بین گروه‌ها از آزمون‌های t مستقل، تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبه‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۱۹ انجام گرفت و سطح معناداری آزمون‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب، وزن حیوانات (۲۰/۸±۳۹۰/۴ گرم) در مقایسه با قبل از رژیم غذایی (۱۲/۶±۱۹۴/۵ گرم)، و در مقایسه با گروه غذای نرمال هفتهٔ هجدهم (۱۵/۶±۳۲۰/۱ گرم)، تفاوت معناداری یافت (P<۰/۰۵). همچنین، تنها در گروه محدودیت کالری، کاهشی ۸/۲ درصدی در وزن موش‌ها مشاهده شد (P<۰/۰۵).

متغیرهای سرمی و بافتی موش‌ها پس از هجده هفته مصرف مواد غذایی پرچرب در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، بین سطوح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین گروه غذای پرچرب و گروه غذای نرمال، تفاوت معناداری وجود دارد (P <۰/۰۵). بدین معنی که مصرف مواد غذایی پرچرب به افزایش گلوکز، انسولین و همچنین مقاومت به انسولین منجر شد. مقادیر DAG و فعالیت PKC-θ درون‌عضلانی نیز در گروه غذای پرچرب، بیشتر از گروه غذای نرمال است (P<۰/۰۵). همچنین مقادیر GLUT4 در گروه غذای پرچرب، به‌طور معناداری کمتر از غذای نرمال بود (P<۰/۰۵).

1. Cusabio Biotech
2. Wuhan
3. Chemiluminescence

جدول ۲. مقادیر متغیرهای سرمی و بافتی موش‌های صحرایی پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب (میانگین±انحراف استاندارد)

	غذای نرمال (۸ سر)	غذای پرچرب (۸ سر)
وزن (گرم)	۳۲۰/۱±۱۵/۶	۳۹۰/۴±۲۰/۸ *
گلوکز (میلی‌مول بر لیتر)	۱۰/۵±۱/۶	۱۴/۸±۱/۷ *
انسولین (پیکوکول بر لیتر)	۶۰/۳۳±۹/۲۲	۸۸/۹۴±۱۳/۹۷ *
شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۱/۳۷±۰/۲۲	۲/۳۵±۰/۵۴ *
DAG (میکرومول بر میلی‌گرم عضله)	۲۵۷/۴۸±۱۸/۹۱	۲۱۴۰۳±۲۲۷۷/۴ *
PKC-θ (واحد قراردادی)	۶۹/۶۶±۱/۷۴	۷۶/۸۱±۱/۷۱ *
GLUT4 (نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین)	۰/۵۹±۰/۰۲	۰/۳۹±۰/۰۱ *

* نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در مقایسه با غذای نرمال (P<۰/۰۵)

نتایج مربوط به ادامهٔ پروتکل مصرف مواد غذایی پرچرب و همچنین اعمال محدودیت رژیم غذایی، تمرین هوازی و ترکیبی پس از ۱۰ هفته در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، گلوکز سرمی در گروه‌های تمرین هوازی، محدودیت رژیم غذایی و ترکیبی در مقایسه با هفتهٔ هجدهم، به‌ترتیب ۵۰، ۴۱ و ۵۹ درصد کاهش یافت (P<۰/۰۱). انسولین و شاخص مقاومت به انسولین نیز در هر سه گروه در مقایسه با گروه رژیم غذایی پرچرب کاهش معناداری نشان دادند (P<۰/۰۵).

مقادیر DAG و PKC-θ گروه‌های تعادل منفی انرژی نسبت به گروه غذای پرچرب کاهش یافت (P<۰/۰۵)، ولی افزایش مقادیر GLUT4، تنها در گروه‌های تمرین هوازی و ترکیبی نسبت به غذای پرچرب مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۳. مقادیر متغیرهای سرمی و بافتی موش‌های صحرایی در هفتهٔ بیست‌وهشتم (میانگین±انحراف استاندارد)

	غذای نرمال (۸ سر)	غذای پرچرب (۸ سر)	محدودیت رژیم غذایی (۸ سر)	تمرین هوازی (۸ سر)	ترکیبی (۸ سر)
وزن بدن (گرم)	۳۶۹/۲±۱۵/۲	# ۴۳۸/۱±۲۳/۵	* ۳۶۹/۶±۱۲/۷	۴۱۳/۸±۲۰/۱	*۴۱۹/۲±۲۴/۵
گلوکز (میلی-مول بر لیتر)	۱۲/۳±۱/۴	# ۱۵/۶ ±۲/۵	* ۸/۳۱±۲/۰۷	* ۷/۳±۱/۸۵	* ۶/۲۵±۱/۳۱
انسولین (پیکومول بر - لیتر)	۸۷/۸±۲۱/۴۶	# ۱۰۲/۸۷±۱۵/۹۵	* ۴۰/۵۸±۴/۳۱	* ۳۶/۶۸±۱۰/۲۳	۷۵/۶۹±۵/۸۸ *
شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۱/۸۱±۰/۵۷	# ۲/۹۳±۰/۶۶	*۰/۸۵±۰/۱۱	*۰/۷۵±۰/۲۴	*۱/۴۷±۰/۱۴
DAG (میکرومول بر میلی‌گرم عضله خشک)	۲۶۹/۶۴±۱۷/۴	# ۲۴۱۴۱/۸±۱۵۵۸/۹	*۱۸۷۹۱/۱±۱۱۶۴/۴	*۱۷۶۶۳/۸±۷۱۰/۲۹	*۱۷۴۸۷/۲±۲
PKC-θ (واحد قراردادی)	۷۰/۲۳±۱/۷۴	# ۷۹/۳۶±۰/۷۱	* ۶۹/۳۶±۱/۱۸	* ۶۹/۱۷±۱/۵۶	* ۶۸/۷۳±۱/۶۱
GLUT4 (نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین)	۰/۶۰±۰/۰۴	# ۰/۳۶±۰/۰۲	۰/۳۷±۰/۰۲	* ۰/۶۰±۰/۰۳	*۰/۵۹±۰/۰۳

* نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب ($P\leq ۰/۰۵$)

نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای نرمال ($P\leq ۰/۰۵$)

بحث

مقاومت به انسولین از شاخص‌ها و نشانه‌های بیماری دیابت نوع دو است که از مسیرهای مختلفی از جمله کاهش فسفریلاسیون IRS1 و افزایش چربی درون‌عضلانی ایجاد می‌شود (۲۵). در این زمینه، مطالعهٔ حاضر با هدف بررسی اثر تمرین هوازی، محدودیت کالری و ترکیب آنها بر مقاومت به انسولین از طریق تغییرات DAG انجام گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که پس از مصرف غذای پرچرب، مقاومت

به انسولین در موش‌ها افزایش یافت که این مقدار، با انجام پروتکل‌های تعادل منفی انرژی به حالت طبیعی بازگشت. این بخش از نتایج با نتایج مطالعات لوسیانو و همکاران (۲۰۰۲) (۲۳)، ویلیز و همکاران (۱۹۹۸) (۳۶) همسوست. هرچند با نتایج هان و همکاران (۱۸) تناقض دارد. در مطالعهٔ هان و همکاران، سن موش‌ها ۲۵ ماه و در مطالعهٔ حاضر پس از اتمام پروتکل ۹ ماه، بوده است. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که اثر تمرین در تعامل با سن بر روی مقاومت به انسولین متفاوت است (۱۲). آنها نشان داده بودند که در اثر تمرین بهبود مقاومت به انسولین در نمونه‌های جوان رخ داده است، درحالی‌که در موش‌های پیر این بهبود از لحاظ آماری معنادار نبود. به‌نظر می‌رسد که تفاوت سن موش‌ها، از جمله دلایل این تناقض باشد (۱۲).

چاقی و دیابت نوع دو با کاهش پیام‌رسانی انسولین، کاهش انتقال GLUT4 ناشی از تحریک انسولین و کاهش انتقال گلوکز با وجود GLUT4 کافی همراه است. مکانیسم‌های بهبود مقاومت به انسولین ناشی از اثرگذاری تمرینات ورزشی و محدودیت کالری متفاوت است (۳۱، ۲۸). نتایج مطالعات گذشته نشان دادند که تمرین ورزشی ممکن است از طریق جبران این مشکلات به بهبود مقاومت به انسولین منجر شود، درحالی‌که محدودیت کالری اثر خود را به‌طور مستقیم با فعال‌سازی پروتئین‌های مرتبط با بهبود مقاومت به انسولین، اعمال می‌کند (۲۸،۴). برای مثال محدودیت کالری با افزایش فسفوریلاسیون Akt در عضلات، به انتقال GLUT4 موجود در عضله به غشای سلول منجر می‌شود و جذب گلوکز را افزایش می‌دهد (۲۴، ۱۰). از طرفی، تمرین ورزشی با افزایش مقادیر GLUT4 سبب جذب بیشتر گلوکز می‌شود و از این طریق مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد (۷، ۶). همسو با نتایج مطالعهٔ حاضر مطالعات نشان دادند که GLUT4 پس از اعمال محدودیت کالری تغییری نمی‌کند و تمرین ورزشی موجب مقادیر GLUT4 می‌شود (۱۶، ۱). هرچند

آرگینتینو[1] و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که ۳۰ درصد محدودیت کالری به مدت چهارده ماه، سبب افزایش مقادیر GLUT4 می‌شود. احتمالاً از دلایل تناقض بین این نتایج می‌توان به نژاد آزمودنی‌ها اشاره کرد، چراکه در مطالعهٔ آنها از موش[2] و در مطالعهٔ حاضر از نژاد ویستار به‌عنوان آزمودنی استفاده شد (۲).

1. Argentino
2. Mice

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که رژیم غذایی پرچرب به افزایش محتوای DAG درون‌سلولی منجر می‌شود. رندل[1] و همکاران (۱۹۶۳) گزارش کردند که افزایش چربی در دسترس، سبب بروز مقاومت به انسولین می‌شود که بر پایهٔ افزایش مقدار چربی پلاسما در افراد دیابتی بود (۲۷). افزایش مصرف چربی، به افزایش چربی درون‌سلولی منجر می‌شود. افزایش چربی درون‌سلولی سبب افزایش DAG می‌شود که خود با افزایش مقدار PKC سبب مهار پیام‌رسانی انسولین می‌شود؛ از بیان پروتئین GLUT4 جلوگیری می‌کند و به‌طور غیرمستقیم مقاومت به انسولین را سبب می‌شود (۲۲). مطالعات اخیر ایزومر PKC-θ را مسئول اصلی این نقص دانسته‌اند (۳۴، ۳۳). PKC-θ با مهار فسفریله شدن PI3K و IRS1، از پیام‌رسانی گلوکز جلوگیری می‌کند که در نتیجه GLUT4 نمی‌تواند برای جذب گلوکز به غشای سلول انتقال یابد (۳۵). مطالعهٔ حاضر همسو با مطالعات انجام‌گرفته نشان داد که PKC در اثر تمرینات ورزشی یا محدودیت کالری، کاهش می‌یابد (۳۴). تمرینات ورزشی و محدودیت کالری با کاهش DAG به مهار PKC منجر می‌شود و از این طریق آثار مخرب افزایش چربی درون‌سلولی به مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد. با توجه به مطالعات گذشته، به‌نظر می‌رسد که ترکیب تمرین ورزشی و محدودیت کالری، تأثیرات توأمانی بر متغیرهای تحقیق حاضر داشته باشد که نتایج این مطالعه همسو با مطالعهٔ جانسن و همکاران (۲۰۰۲) (۲۰)، خلاف این فرضیه را نشان داد. در مطالعهٔ کاکس[2] و همکاران (۲۰۰۴)، ترکیب تمرین هوازی و محدودیت کالری، ۶۷ درصد بهبود در مقاومت به انسولین را نشان داد، درصورتی‌که که تمرین هوازی ۱۱ درصد و محدودیت کالری ۲۸ درصد را به‌تنهایی به خود اختصاص داده بودند (۹). از جمله دلایل تجمیع نیافتن اثرات تمرین هوازی و محدودیت کالری در مطالعهٔ حاضر نسبت به مطالعهٔ کاکس، احتمالاً می‌توان به آزمودنی‌ها و نحوهٔ محدودیت رژیم غذایی آنها اشاره کرد. آزمودنی‌های مطالعهٔ آنها انسان بود و محدودیت کالری به‌صورت ۱۰۰۰ کیلوکالری و در تمام هفته اعمال می‌شد، ولی در مطالعهٔ حاضر، محدودیت رژیم غذایی به‌صورت یک روز در میان بود و ایامی که موش‌ها تمرین هوازی اجرا می‌کردند، محدودیت رژیم غذایی نداشتند.

براساس نتایج مطالعات کاهش وزن سبب بهبود مقاومت به انسولین می‌شود (۲۶). به‌نظر می‌رسد که کاهش وزن همراه با تودهٔ چربی در افراد چاق، سبب کاهش چربی درون‌سلولی از جمله DAG شود که خود به کاهش مقاومت به انسولین منجر می‌شود (۳۰). نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که تنها

1. Randle
2. Cox

محدودیت کالری سبب کاهش وزن موش‌ها شده است و دو گروه تمرین هوازی و ترکیبی نتوانستند وزن را کاهش دهند. همسو با نتایج حاضر، سام جو و همکاران (۳۰) گزارش کردند که تمرین ورزشی حتی بدون کاهش وزن می‌تواند سبب بهبود مقاومت به انسولین شود (۲۱). به‌نظر می‌رسد که کاهش مقادیر DAG و همچنین افزایش ساخت گلیکوژن درون‌عضلانی از جمله دلایل این اتفاق باشد. هرچند براساس مطالعات انجام‌گرفته، اغلب کاهش وزن ناشی از محدودیت کالری از تودهٔ چربی احشایی است (۲۵).

به‌طور کلی، اگرچه سطوح GLUT4 تنها با تمرین ورزشی افزایش یافت، با وجود این همهٔ روش‌های تعادل منفی انرژی این مطالعه، به بهبود مقاومت به انسولین منجر شدند.

منابع و مآخذ

1. Argentino, D. P., Dominici, F. P., Munoz, M.C., Al-Regaiey, K., Bartke, A., & Turyn, D. 2005. 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 (Prop1df/Prop1df) mice. Exp Gerontol, 40, 27-35.
2. Argentino, D. P., Dominici, F.P., Al-Regaiey, K., Bonkowski, M.S., Bartke, A., & Turyn, D. 2005. Effects of long-term caloric restriction on early steps of the insulin-signaling system in mouse skeletal muscle. J Gerontol A Biol Sci Med Sci ,60, 28-34.
3. Augustin, R. 2010. The protein family of glucose transport facilitators: It's not only about glucose after all. IUBMB Life, 62, 315-33.
4. Balage, M., Grizard, J., Manin, M. 1990. Effect of calorie restriction on skeletal muscle and liver insulin binding in growing rat. Horm Metab Res, 22, 207-214.
5. Cartee, G. D. 2008. Exercise and calorie restriction use different mechanisms to improve insulin sensitivity. In: Hawley JA and Zierath JR, ed. Physical Activity and Type 2 Diabetes. Champaign, IL: Human Kinetics, 119-134.
6. Cartee, G.D., E.W. Kietzke, and C. Briggs-Tung. 1994. Adaptation of muscle glucose transport with caloric restriction in adult, middle-aged, and old rats. Am J Physiol 266:R1443-7.
7. Chibalin, A. V., Yu, M., Ryder, J. W., Song, X. M., Galuska, D., Krook, A., Wallberg-Henriksson, H., & Zierath, J. R. 2000. Exercise-induced changes in expression and activity of proteins involved in insulin signal transduction in skeletal muscle: Differential effects on insulin-receptor substrates 1 and 2. Proc Natl Acad Sci USA, 97, 38-43.
8. Coen, P. M., Dubé, J. J., Amati, F., Stefanovic-Racic, M., Ferrell, R. E., Toledo, F. G., & Goodpaster, B. H. 2010. Insulin resistance is associated with higher intramyocellular triglycerides in type I but not type II myocytes concomitant with higher ceramide content. Diabetes, 59, 80-88.

9. Cox, K.L., Burke, V., Morton, A. R., Beilin, L. J., & Puddey, I.B. 2004. Independent and additive effects of energy restriction and exercise on glucose and insulin concentrations in sedentary overweight men. Am J Clin Nutr, 80, 308-16.
10. Davidson, R. T., Arias, E. B., & Cartee, G.D. 2002. Calorie restriction increases muscle insulin action but not IRS-1-, IRS-2-, or phosphotyrosine-PI 3-kinase. Am J Physiol Endocrinol Metab, 282, 270-6.
11. De Fronzo, R. A., Jacot, E., Jequier, E., Maeder, E., Wahren, J., & Felber, J. P. 1981. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. Diabetes, 30, 1000-7.
12. Escrivá, F., Gavete, M. L., Fermín, Y., Pérez, C., Gallardo, N., Alvarez, C., Andrés, A., Ros, M., Carrascosa, J. M. 2007. Effect of age and moderate food restriction on insulin sensitivity in Wistar rats: role of adiposity. J Endocrinol, 194, 131-41.
13. Friedewald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge, Clinical chemistry. 18(6), 499-502.
14. Frosig, C., Rose, A. J., Treebak, J. T., Kiens, B., Richter, E. A., & Wojtaszewski, J. F. 2007. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. Diabetes, 56, 2093-2102.
15. Garekani, E. T., Mohebbi, H., Kraemer, R. R., and Fathi, R. 2011. Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. Peptides, 32, 1008-12.
16. Gazdag, A. C., Sullivan, S., Kemnitz, J. W., & Cartee, G.D. 2000. Effect of long-term caloric restriction on GLUT4, phosphatidylinositol-3 kinase p85 subunit, and insulin receptor substrate-1 protein levels in rhesus monkey skeletal muscle. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 55, 44-8.
17. Griffin, M. E., Marcucci, M. J., Cline, G. W., Bell, K., Barucci, N., Lee, D., Goodyear, L. J., Kraegen, E. W., White, M. F., & Shulman, G. I. 1999. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. Diabetes, 48, 1270-1274.
18. Han, D.H., Hansen, P. A., Chen, M. M., & Holloszy, J. O. 1998. DHEA treatment reduces fat accumulation and protects against insulin resistance in male rats. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 53, 19-24.
19. Hoeg, L.D., Sjoberg, K. A., Jeppesen, J., Jensen, T. E., Frosig, C., Birk, J. B., Bisiani, B., Hiscock, N., Pilegaard, H., et al. 2011. Lipid-induced insulin resistance affects women less than men and is not accompanied by inflammation or impaired proximal insulin signaling. Diabetes, 60, 64-73.
20. Janssen, I., Fortier, A., Hudson, R., & Ross, R. 2002. Effects of an energy-restrictive diet with or without exercise on abdominal fat, intermuscular fat, and metabolic risk factors in obese women. Diabetes Care, 25, 431-8.

21. Johnson, N. A., Sachinwalla, T., Walton, D. W., Smith, K., Armstrong, A., et al. 2009. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. Hepatology, 50, 1105-12.
22. Jornayvaz, F. R., & Shulman, G. I. 2012. Diacylglycerol activation of protein kinase Cε and hepatic insulin resistance. Cell Metab, 15, 574-584.
23. Luciano, E., Carneiro, E. M., Carvalho, C. R., Carvalheira, J. B., Peres, S. B., Reis, M. A., Saad, M. J., Boschero, A. C., & Velloso, L. A. 2002. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. Eur J Endocrinol, 147, 149-57.
24. McCurdy, C. E, Davidson, R. T, Cartee, G. D. 2003. Brief calorie restriction increases Akt2 phosphorylation in insulin-stimulated rat skeletal muscle. Am J Physiol Endocrinol Metab, 285, 693-700.
25. Muoio, D. M., & Newgard, C. B. 2008. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. Nat Rev Mol Cell Biol, 9, 193-205.
26. Murphy, J. C., McDaniel, J. L., Mora, K., Villareal, D. T., Fontana, L., et al. 2012. Preferential reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. J Appl Physiol, 112, 79-85
27. Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., Newsholme, E. A. 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet, 1, 785-9.
28. Rogério, A. L., Paulino, E. C., Brum, P. C., Andreotti, S., Lima, F. B., & Negrão, C.E. 2015. Exercise training and caloric restriction reduce adiposity index and hepatic lipids in obese rats, Immunoendocrinology, 2, 1053.
29. Salehi, I., Mohammadi, M., Farajnia, S., Ghadiri Soufi, F., Badalzadeh, R., & Vatankhah, A. M. 2007. Effect of regular swimming on oxidative stress and atherogenic index in blood of diabetic male rats. Sci J Hamdan Uni Med Sci, 14, 29-35. [Farsi]
30. Samjoo, I. A., Safdar, A., Hamadeh, M. J., Raha, S., & Tarnopolsky, M. A. 2013. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. Nutr Diabetes, 3:88
31. Sharma, N., Arias, E. B., Bhat, A. D., Sequea, D. A., Ho, S., Croff, K. K., et al. 2011. Mechanisms for increased insulin-stimulated Akt phosphorylation and glucose uptake in fast- and slow-twitch skeletal muscles of calorie-restricted rats. American journal of physiology Endocrinology and metabolism, 300, 966-978.
32. Skovbro, M., Baranowski, M., Skov-Jensen, C., Flint, A., Dela, F., Gorski, J & Helge JW. 2008. Human skeletal muscle ceramide content is not a major factor in muscle insulin sensitivity. Diabetologia, 51, 1253-60.
33. Szendroedi. J., Yoshimura, T., Phielix, E., Koliaki, C., Marcucci, M., Zhang, D., Jelenik, T., Müller, J. 2014. Role of diacylglycerol activation of PKCθ in lipid-induced muscle insulin resistance in humans. Proc Natl Acad Sci USA, 111, 9597-9602.

34. Timmers, S., De Vogel-van den Bosch, J., Hesselink, M. K., Van Beurden, D., Schaart, G., Ferraz, M.J., Losen, M., et al. 2011. Paradoxical increase in TAG and DAG content parallel the insulin sensitizing effect of unilateral DGAT1 overexpression in rat skeletal muscle. PLoS One, 6, 14503.
35. Viviane Z. R., & Eduardo, J. F. 2011. Review Article- Inflammatory Concepts of Obesity. international Journal of Inflammation, 29, 415-430.
36. Willis, P. E., Chadan, S. G., Baracos, V., & Parkhouse, W. S. 1998. Restoration of insulin-like growth factor I action in skeletal muscle of old mice. Am J Physiol, 275, 525-30.
37. Wright, D. C., Hucker, K. A., Holloszy, J. O., & Han, D. H. 2004. Ca^{2+} and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. Diabetes, 53, 330-5.
38. Yeh, J. I., Gulve, E. A., Rameh, L., & Birnbaum, M. J. 1995. The effects of wortmannin on rat skeletal muscle. Dissociation of signaling pathways for insulin- and contraction-activated hexose transport. J Biol Chem, 270, 2107-11.
39. Chunli, Y., Chen, Y., Cline, G. W., Zhang, D., Zong, H., Wang, Y., Bergeron, R., Kim, J. K., Cushman, S. W., Cooney, G. J., Atcheson, B., White, M. F, et al. 2002. Mechanism by Which Fatty Acids Inhibit Insulin Activation of Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1)-associated Phosphatidylinositol 3-Kinase Activity in Muscle, J Biol Chem, 277, 50230-36.
40. Yamashita, A. S., Lira, F. S., Rosa, J. C., Paulino, E. C., Brum, P. C.,Negrão, C. E., et al. 2010. Depot-specific modulation of adipokine levels in rat adipose tissue by diet-induced obesity: The effect of aerobic training and energy restriction, Cytokine. 52(3), 168-74.