علوم زیستی ورزشی - پاییز ۱۳۹۸
دورهٔ ۱۱، شمارهٔ ۳، ص: ۲۹۸ – ۲۸۳
تاریخ دریافت : ۰۶ / ۰۶ /۹۶
تاریخ پذیرش : ۲۴ / ۰۸ / ۹۶

اثر چاقی و تمرین استقامتی شدید متعاقب آن بر غلظت آیریزین سرم و بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی و ارتباط این عوامل با تغییرات لپتین در موش‌های نژاد ویستار

مهبانو قادری [۱] – حمید محبی [*۲] – بهرام سلطانی [۳]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران ۲. استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران ۳. دانشیار، گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

چکیده

اطلاعات درباره‌ی غلظت و تنظیم آیریزین تحت شرایط فیزیولوژیکی مختلف، کم است. هجده سر موش، ۱۲ هفته غذای پرچرب و ۶ سر غذای استاندارد (غیرچاق) مصرف کردند. سپس گروه غیرچاق و ۶ سر موش چاق (چاق پایه) کشته و دوازده سر موش باقی‌مانده به گروهای چاق تمرین و چاق کنترل تقسیم شدند. گروه تمرینی ۱۴ هفته، هر هفته ۵ روز با شدت بالا روی نوارگردان دویدند. نمونه‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی گرفته شد. غلظت آیریزین و لپتین سرم در گروه چاق پایه بالاتر از گروه غیرچاق بود ($P\leq۰/۰۵$). تمرین منجربه افزایش آیریزین و کاهش لپتین سرم گردید ($P\leq۰/۰۵$). بیان UCP1 mRNA در گروه چاق پایه کمتر از گروه غیرچاق بود ($P\leq۰/۰۵$). درحالی‌که در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل افزایش داشت ($P\leq۰/۰۵$). ارتباط لپتین و آیریزین در گروه چاق پایه مثبت و گروه تمرینی منفی بود ($P\leq۰/۰۵$). لپتین و UCP1 در گروه چاق پایه ارتباط منفی داشتند ($P\leq۰/۰۵$). علیرغم اینکه چاقی با افزایش لپتین و آیریزین همراه بود، اما بین لپتین و UCP1 یک ارتباط منفی معنی‌دار مشاهده شد. بااین‌حال، تمرین با کاهش لپتین و افزایش آیریزین و UCP1 سبب کاهش وزن موش‌های چاق گردید.

واژه‌های کلیدی

آیریزین، تمرین استقامتی شدید، چاقی، لپتین، UCP1 mRNA .

[*] **نویسندهٔ مسئول : تلفن: ۰۱۳۳۳۶۹۰۶۸۵** Email:mohebbi_h@yahoo.com

مقدمه

عضله‌ی اسکلتی به‌عنوان یک منبع تولید و ترشح مایوکاین‌های مختلف شناخته شده است (۶). بخشی از اثرات مفید تمرینات ورزشی در پیشگیری از بیماری‌های متابولیکی، از طریق تعامل مایوکاین‌ها با بافت‌های بدن مانند، بافت چربی میانجی‌گری می‌شود (۶).

آیریزین مایوکاینی است که تحت تأثیر محرک ورزشی قرار می‌گیرد. با شکست پروتئین غشایی FNDC5[1] عضله‌ی اسکلتی در نتیجه‌ی فعالیت PGC1-α[2]، آیریزین به داخل جریان خون رها می‌شود (۵).آیریزین مستقیماً با بافت چربی سفید ارتباط برقرار می‌کند و با افزایش بیان UCP1[3] منجربه قهوه‌ای شدن و افزایش متابولیسم این بافت و هزینه‌ی انرژی کل بدن می‌شود (۵). چنین عملکرد مثبتی، آیریزین را به هدفی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیکی تبدیل کرده است (۱۷). با وجود این، سطوح بالای آیریزین در حیوانات (۲۱) و افراد چاق (۸،۲۵)، اثرات مفید این مایوکاین را در درمان چاقی به چالش می‌کشد. چنین یافته‌هایی این سؤال را ایجاد می‌کند که اگر آیریزین یک عامل ضد چاقی است، چرا غلظت بالای آن در زمان چاقی باعث افزایش متابولیسم و کاهش وزن نمی‌شود؟ به‌نظر می‌رسد در زمان چاقی سازوکارهایی فعال می‌شوند که عملکرد مثبت آیریزین را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

لپتین به‌عنوان آدیپوکاینی که سطح آن در جریان خون بر اثر چاقی ناشی از غذای پرچرب افزایش می‌یابد (۱۰)، احتمالاً حلقه‌ی گمشده‌ی چنین سناریویی باشد. لپتین می‌تواند بیان تنظیم کننده‌ی بالادست آیریزین (PGC1-α mRNA) را افزایش دهد (۱۹). همچنین، ارتباط مثبتی بین غلظت لپتین پلاسما و بیان FNDC5 mRNA در موش‌های OLETF[4] مشاهده شده است (۲۰). اخیراً، گزارش شده است که القای لپتین منجربه تولید آیریزین در موش‌های ob/ob و وحشی می‌شود (۲۲.) بنابراین، چنین فرضیه‌ای مطرح است که لپتین ممکن است به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی از طریق ترشح آیریزین باعث افزایش هزینه‌ی انرژی و کاهش چربی شود (۳). اما رودریگز و همکاران[5] نشان دادند که با القای همزمان لپتین و آیریزین، لپتین باعث مهار بیان ژن UCP1 ناشی از آیریزین می‌شود (۲۲). یافته‌های این مطالعات حاکی از آن است که لپتین باعث ترشح آیریزین می‌شود، اما از طرفی بیان UCP1 را که برآیند نقش

1. Fibronectin type III domain containing 5
2. Peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α
3. Uncoupling protein 1
4. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty
5. Rodríguez et al

آیریزین است، مهار می‌کند. بنابراین، سؤالی که مطرح می‌شود این است که آیا در زمان چاقی، لپتین یک آیریزین ناکارآمد ارائه می‌دهد و افزایش لپتین ناشی از چاقی منجربه مهار UCP1 mRNA و اختلال در عملکرد آیریزین می‌شود؟

علیرغم اینکه آیریزین در ابتدا به‌عنوان یک مایوکاین حساس به ورزش و مؤثر در افزایش هزینه‌ی انرژی و کاهش وزن شناخته شد و افزایش آن بر اثر تمرین استقامتی در انسان و موش قابل توجه بود (۵)، اما اکثر مطالعات افزایش آیریزین جریان خون را پس از تمرینات استقامتی مشاهده نکردند (۲،۶،۷،۱۶) و اعتقاد بر این است که کاهش وزن ناشی از تمرینات ورزشی، مستقل از آیریزین می‌باشد (۲۳).از جمله متغیرهای تمرینی که پاسخ‌های فیزیولوژیکی به تمرینات ورزشی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، شدت تمرین است (۱۱) که به‌عنوان یک متغیر اثرگذار غالباً مورد توجه پژوهشگران قرار می‌گیرد. در مورد پاسخ آیریزین به شدت فعالیت ورزشی گزارش شده است که یک جلسه فعالیت ورزشی شدید به‌طور قابل توجهی غلظت آیریزین جریان خون را افزایش می‌دهد (۱۲،۲۶). با این حال، در ارتباط با اثر تمرین ورزشی شدید بر غلظت آیریزین سرم به‌ویژه در موش‌های چاق اطلاعات کافی وجود ندارد و توجه ناکافی به چنین موضوعی، ضرورت پژوهش در این زمینه را ایجاب می‌کند. این احتمال وجود دارد که فراخوانی بیشتر تارهای عضلانی و تجمع بیشتر لاکتات و اپی‌نفرین که غالباً تحت تأثیر شدت تمرین هستند و تنظیم‌کننده‌های بالادست آیریزین نیز پاسخ بهتری به آن‌ها می‌دهند (۴)، در پاسخ به تمرین استقامتی شدید، منجربه رهایی بیشتر آیریزین شوند. علاوه بر این، همان‌طور که قبلاً اشاره شد، احتمالاً عوامل دیگری مانند، لپتین (۲۲) مستقل از تمرین ورزشی در تنظیم ترشح آیریزین نقش ایفا کند و بخشی از عدم پاسخ آیریزین به تمرینات ورزشی را توجیه کند. در مجموع، باتوجه به کمبود دانش در زمینه‌ی ارتباط بین لپتین با تغییرات آیریزین سرم و بیان UCP1 mRNA در شرایط چاقی و پس از تمرینات استقامتی، انجام چنین پژوهشی ضروری به‌نظر می‌رسد. بنابراین، هدف مطالعه‌ی حاضر ارزیابی غلظت آیریزین سرم و بیان UCP1 mRNA در شرایط چاقی و پس از تمرین استقامتی شدید متعاقب آن و ارتباط لپتین با این متغیرها می‌باشد.

روش تحقیق

آزمودنی‌ها

تعداد ۲۴ سر موش نر نژاد ویستار (میانگین وزن ۶/۲۹± ۱۵۷/۰۷گرم) از انستیتو سرم‌سازی رازی خریداری و در حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان، در شرایط کنترل شده‌ی محیطی با میانگین دمای ۱± ۲۳ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ در قفس‌های پلی کربنات شفاف نگهداری شدند. پژوهش تجربی حاضر پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان با کد IR.GUMS.REC.1395.389 و با رعایت دستورالعمل حمایت از حیوانات آزمایشگاهی اجرا شد. ابتدا جهت سازگار شدن با محیط جدید، موش‌ها به‌مدت ۲ هفته در گروه‌های ۴ تایی و در حالی که به آب و غذای استاندارد دسترسی آزاد داشتند، نگهداری شدند. پس از دوره‌ی سازگاری، موش‌ها وزن‌کشی شده و بدون توجه به جثه و وضعیت آن‌ها، ۱۸ سر به مدت ۱۲ هفته در شرایط بی‌تحرکی و مصرف غذای پرچرب (۶۰ درصد چربی) قرار گرفتند (۱۰). شش سر نیز به‌عنوان گروه غیرچاق کنترل، غذای استاندارد (۳۵ درصد چربی) مصرف کردند. در پایان ۱۲ هفته، زمانی‌که موش‌ها چاق محسوب شدند (وزن موش‌های دریافت کننده‌ی غذای پرچرب به ۱۰ تا ۲۵ درصد بیشتر از گروه غیرچاق کنترل رسید) (۱۰) پس از همسان‌سازی میانگین وزن موش‌های چاق، به‌طور تصادفی ۶ سر به‌عنوان گروه چاق پایه به همراه گروه غیرچاق کنترل برای اندازه‌گیری‌های پایه کشته شدند. دوازده سر موش چاق باقی‌مانده نیز به‌صورت تصادفی به ۲ گروه چاق تمرین (۶ سر) و چاق کنترل (۶ سر) تقسیم و در دوره‌ی تمرین به‌کار گرفته شدند.

برنامه‌ی تمرینی و تغذیه‌ی موش‌ها

تمرین استقامتی ۵ روز در هفته به مدت ۱۴ هفته روی نوارگردان ۵ کاناله جوندگان (ساخت شرکت دانش سالار ایرانیان- کشور ایران) انجام شد. پس از ۳ روز آشناسازی موش‌ها به دویدن روی نوارگردان، تمرین در هفته‌ی اول به‌مدت ۱۵- ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه اجرا شد. سپس به‌صورت روزانه به مدت و سرعت تمرین اضافه شد تا این‌که در ابتدای هفته‌ی چهارم به شدت مورد نظر یعنی، ۴۹ دقیقه با سرعت ۳۴ متر بر دقیقه (معادل ۸۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) رسید (۹) و تا انتهای هفته‌ی چهاردهم نیز حفظ شد. پروتکل تمرین استقامتی در جدول ۱ نشان داده شده است. شیب دستگاه در تمام دوره‌ی تمرینی صفر بود و از مجموع زمان تمرین ۵ دقیقه‌ی ابتدایی و انتهایی به ترتیب برای گرم

کردن و سرد کردن در نظر گرفته شد. در طی این مدت گروه چاق کنترل بدون هیچ‌گونه تمرینی در قفس نگهداری شدند. موش‌ها هفته‌ای یک‌بار با استفاده از ترازوی وزن‌کشی آزمایشگاهی (مدل H۴۰۰۰-EK، ساخت شرکت AND کشور آمریکا) با دقت ۰/۱ گرم وزن می‌شدند.

جدول ۱. پروتکل تمرین استقامتی

جلسه	۱		۲		۳		۴		۵	
در هفته	سرعت (m/min)	مدت (min)	سرعت (m/min)	مدت (min)	سرعت (m/min)	مدت (min)	سرعت (m/min)	مدت (min)	سرعت (m/min)	مدت (min)
هفته ۱	۱۰	۱۵	۱۰	۱۵	۱۰	۱۵	۱۰	۱۵	۱۰	۱۵
هفته ۲	۱۲	۱۵	۱۴	۱۸	۱۶	۲۲	۱۸	۲۵	۲۰	۲۹
هفته ۳	۲۲	۳۳	۲۵	۳۷	۲۸	۴۱	۳۱	۴۵	۳۳	۴۹
هفته۱۴-۴	۳۴	۴۹	۳۴	۴۹	۳۴	۴۹	۳۴	۴۹	۳۴	۴۹

m/min : متر در دقیقه

موش‌های گروه چاق در دوره‌ی چاق شدن از غذای پرچرب شامل؛ ۶۰ درصد کل انرژی چربی (مشتق شده از روغن سویا)، ۳۰ درصد کربوهیدرات و ۱۰ درصد پروتئین تغذیه می‌کردند (۱) که به سفارش پژوهش‌گر توسط پلت‌سازی انستیتو سرم‌سازی رازی تهیه شده بود. در دوره‌ی تمرین، تمامی موش‌ها غذای استاندارد (۳۵ درصد چربی، ۴۷ درصد کربوهیدرات و ۱۸ درصد پروتئین) (۱) دریافت می‌کردند. دسترسی موش‌ها به آب و غذا در هر دو دوره آزادانه بود.

نمونه‌گیری خونی و بافتی

نمونه‌های خونی و بافتی بعد از دوره‌ی چاق شدن و دوره‌ی تمرینی و پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی گرفته شد. برای از بین بردن اثر حاد تمرین، نمونه‌گیری در انتهای ۱۴ هفته دوره‌ی تمرینی ۴۸ ساعت بعد از آخرین نوبت تمرینی به‌عمل آمد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (۳۰-۵۰ میلی‌گرم) و زایلازین (۵- ۳ میلی‌گرم) بی‌هوش شدند. سپس بلافاصله با برش شکم و قفسه‌ی سینه، خون حیوان به‌طور مستقیم از قلب گرفته شد. نمونه‌های خونی به لوله‌های مخصوص انعقاد منتقل شدند و بعد از ۱۰ دقیقه قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم به‌دست آمده از نمونه استخراج و به میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده انتقال یافت و تا زمان اندازه-گیری در فریزر ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

غلظت آیریزین سرم به روش الایزا و با استفاده از کیت آیریزین (شرکت ZellBio, GmbH ulm، کشور آلمان) و دستگاه الایزا ریدر (دستگاه کارنورجنت- کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییر برون آزمون و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۱۰ درصد و ۰/۰۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود.

برای اندازه‌گیری غلظت لپتین سرم از روش الایزا و کیت لپتین (شرکت ZellBio, GmbH ulm، کشور آلمان) و دستگاه الایزا ریدر (دستگاه کارنورجنت- کشور آلمان) استفاده شد. ضریب تغییر برون آزمون و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۱۰ درصد و ۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود.

چربی زیرپوستی نیز به‌عنوان چربی سفید که بیشترین میزان بیان UCP1 mRNA را دارد از ناحیه‌ی کشاله‌ی ران (۵) پای راست موش جدا شد. نمونه‌ی بافتی با سرم شسته و سپس درون میکروکرایو قرار داده شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردید و تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

بیان ژن UCP1

RNA تام با استفاده از کیت شرکت دنازیست استخراج و کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به وسیله‌ی الکتروفورز و نانودراپ ارزیابی شد. به‌منظور جلوگیری از تکثیر احتمالی مربوط به DNA ژنومی که همراه RNA استخراج می‌شود، نمونه‌های استخراج شده با DNaseI (Thermo Fisher) تیمار شدند. ساخت cDNA با استفاده از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit ساخت شرکت Thermo fisher انجام شد. طراحی پرایمر ژن UCP1 و Act (به‌عنوان ژن خانه گردان) با استفاده از نرم‌افزارهای Primer3 (http://primer3.ut.ee/) و PrimerBLAST انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده‌ی رفتی و معکوس برای ژن UCP1 شامل 5′-GAGGTGGTGAAGGTCAGAATGC-3′ و 5′-GTCGTCCCTTTCCACAGTGTTG-3′ و برای ژن Act 5′-CCAGCCTTCCTTCCTGGGTA-3′ و 5′-GAGCCACCAATCCACACAGA-3′ می‌باشد که به ترتیب موجب تکثیر قطعات ۱۳۱ و ۲۴۶ جفت بازی می‌شوند. صحت سنتز cDNAها از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای ژن GAPDH (موجود در کیت سنتز cDNA) ارزیابی شد. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real time-PCR) با استفاده از دستگاه Bio-Rad CFX96 و کیت GreenHot Master Mix شرکت Bioron انجام شد. هر واکنش Real Time-PCR شامل ۱ میکرولیتر cDNA رقیق شده (نسبت ۱ به ۱۰)، ۰/۳ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۰/۳ میکرومولار، ۶/۲۵ میکرولیتر Master Mix و ۴/۶۵ میکرولیتر آب بود. این واکنش براساس برنامه‌ی حرارتی در قالب ۳ دقیقه واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵

چرخه‌ی اصلی شامل، ۳۰ ثانیه واسرشت سازی در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه اتصال پرایمر در دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه گسترش زنجیره‌ی الگو در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و در پایان گسترش نهایی زنجیره‌ی الگو در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. اختصاصی بودن تکثیر در Real time-PCR با ارزیابی منحنی و پیک ذوب و الکتروفورز ژل آگاروز ارزیابی شد. پس از اینکه چرخه‌ی آستانه‌ی (Ct)[1]مربوط به هر نمونه از دستگاه Real Time PCR به دست آمد، Ct ژن UCP1 هر نمونه از Ct ژن Act همان نمونه کم شد ($\Delta Ct = Ct_{UCP1} - Ct_{Act}$). سپس ΔCt هر نمونه‌ی چاق پایه از ΔCt غیرچاق کنترل ($\Delta\Delta Ct_{\text{نمونه چاق پایه}} = \Delta Ct_{\text{غیرچاق کنترل}} - \Delta Ct_{\text{چاق پایه}}$) و ΔCt هر نمونه‌ی چاق تمرین از ΔCt چاق کنترل کم شد ($\Delta\Delta Ct_{\text{نمونه چاق تمرین}} = \Delta Ct_{\text{چاق تمرین}} - \Delta Ct_{\text{چاق کنترل}}$). در نهایت با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ بیان نسبی ژن UCP1 به دست آمد (۱۴).

تجزیه و تحلیل آماری

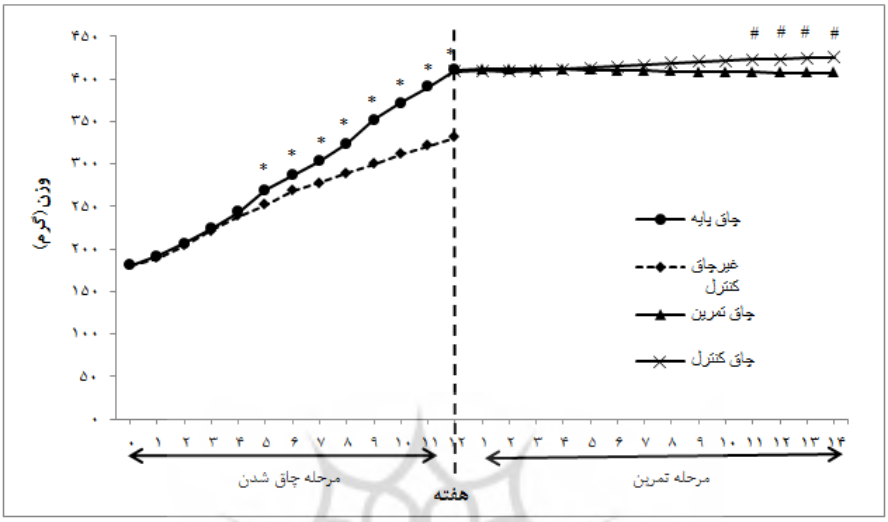
توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف تعیین شد. آزمون تی مستقل برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای مورد پژوهش در بین گروه‌های مختلف به کار گرفته شد. همچنین ارتباط بین متغیرها با استفاده از آزمون ضریب همبستگی پیرسون بررسی گردید. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ و در سطح $P \leq ۰/۰۵$ انجام شد. تمام نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

یافته‌های تحقیق

قبل از شروع مطالعه در میانگین وزن موش‌های مصرف کننده‌ی غذای پرچرب (۱۸۰/۹۶ ±۸/۶۰ gr) و استاندارد (۱۸۰/۶۷ ±۷/۱۷ gr) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، در وزن موش‌هایی که غذای پرچرب مصرف کردند نسبت به موش‌های غیرچاق کنترل از هفته‌ی پنجم افزایش معنی‌داری مشاهده شد. این افزایش وزن در پایان ۱۲ هفته در گروه چاق (۴۱۰/۵۶ ±۹/۵۰ gr) به‌طور میانگین حدود ۱۹ درصد بیشتر از گروه غیرچاق کنترل (۳۳۱/۱۷ ±۱/۴۷ gr) بود (P=۰/۰۰۱). در دوره‌ی تمرین، وزن موش‌ها در گروه چاق تمرین از هفته‌ی یازدهم نسبت به گروه چاق کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد. به‌طوری که درصد کاهش وزن در گروه چاق تمرین

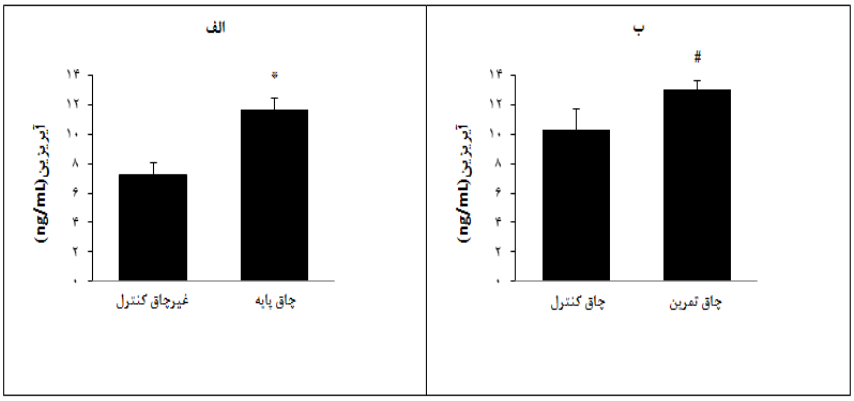
1. Critical threshold

(۴۰۷/۳۳±۶/۸۰ gr) نسبت به گروه چاق کنترل (۴۲۵/۶۷ ±۸/۰۲ gr) در پایان ۱۴ هفته به‌طور میانگین حدود ۴ درصد بود (P=۰/۰۰۲).

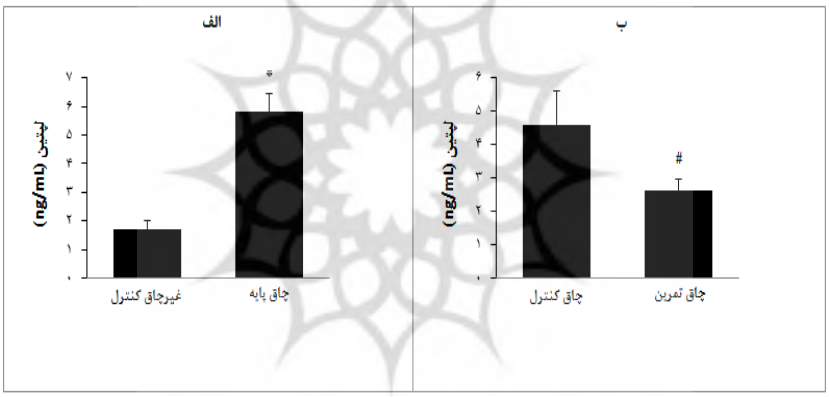


نمودار ۱. تغییرات وزن موش‌ها طی مرحله‌ی چاق شدن و مرحله‌ی تمرین. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه غیرچاق کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه چاق کنترل (P ≤۰/۰۵).

پس از ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب، میانگین غلظت آیریزین (نمودار۲، الف) و لپتین سرم (نمودار ۳، الف) در گروه چاق پایه به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه غیرچاق کنترل بیشتر بود (۱۱/۶۵ ±۰/۷۶ در مقابل ۷/۲۸ ±۰/۸۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای آیریزین، P=۰/۰۰۱، ۵/۸۰±۰/۶۶ در مقابل ۱/۷۳ ±۰/۲۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر برای لپتین، P=۰/۰۰۱). پس از۱۴ هفته تمرین، میانگین غلظت آیریزین سرم در گروه چاق تمرین نسبت به گروه چاق کنترل افزایش معنی‌داری داشت (۱۳/۰۳ ±۰/۵۷ در مقابل ۱/۴۸± ۱۰/۲۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر، P=۰/۰۰۵) (نمودار ۲، ب). اما میانگین غلظت لپتین سرم گروه چاق تمرین در مقایسه با گروه چاق کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود (۲/۶۴ ±۰/۳۴ در مقابل ۴/۵۹ ±۱/۰۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر، P=۰/۰۰۴) (نمودار ۳، ب).

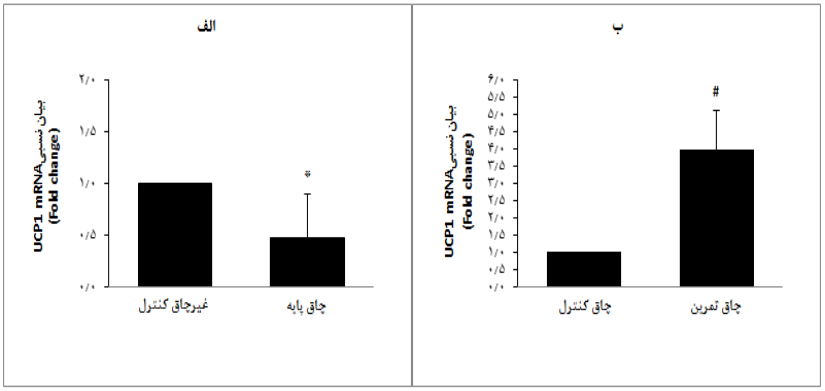


نمودار ۲. میانگین غلظت آیریزین سرم در پایان مرحله‌ی چاق شدن (الف) و مرحله‌ی تمرین (ب) در گروه‌های مختلف. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه غیرچاق کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه چاق کنترل ($P \leq ۰/۰۵$).



نمودار ۳. میانگین غلظت لپتین سرم در پایان مرحله‌ی چاق شدن (الف) و مرحله‌ی تمرین (ب) در گروه‌های مختلف. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه غیرچاق کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه چاق کنترل ($P \leq ۰/۰۵$).

در پایان ۱۲ هفته مرحله‌ی چاق شدن در بیان نسبی UCP1 mRNA بین گروه چاق پایه و غیرچاق کنترل تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۴۵). به‌طوری‌که بیان این ژن در گروه چاق پایه ۲/۳ برابر کمتر از گروه غیرچاق کنترل بود (نمودار ۴، الف). همچنین بیان نسبی UCP1 mRNA پس از ۱۴ هفته تمرین، در گروه چاق تمرین به‌طور معنی‌داری ۳/۵ برابر نسبت به گروه چاق کنترل بیشتر بود (P=۰/۰۰۱) (نمودار ۴، ب).



نمودار ۴. بیان نسبی UCP1 mRNA در پایان مرحله‌ی چاق شدن (الف) و مرحله‌ی تمرین (ب) در گروه‌های مختلف. برای مقایسه‌ی بین گروهی در هر دو مرحله از آزمون تی مستقل استفاده شد. * تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه غیرچاق کنترل، # تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه چاق کنترل ($P \leq ۰/۰۵$).

نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد، در گروه چاق پایه بین آیریزین و لپتین سرم ارتباط مثبت معنی‌دار (P=۰/۰۲۴،r=۰/۸۷۱) و بین لپتین و UCP1 mRNA ارتباط منفی معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۴۰ ،r=-۰/۸۳۲). در گروه چاق تمرین ارتباط بین آیریزین و لپتین سرم یک ارتباط منفی معنی‌دار بود (P=۰/۰۲۳ ،r=-۰/۸۷۳). اما بین لپتین و UCP1 mRNA ارتباطی در این گروه مشاهده نشد. در گروه چاق کنترل نیز بین آیریزین و لپتین سرم ارتباط مثبت معنی‌دار (r=۰/۸۲۴، P=۰/۰۴۴) و بین لپتین و UCP1 mRNA ارتباط منفی معنی‌داری وجود داشت (r=-۰/۸۱۷، P=۰/۰۴۷).

بحث و نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان داد که چاقی ناشی از ۱۲ هفته مصرف غذای پرچرب منجربه افزایش غلظت آیریزین و لپتین سرم و کاهش بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی می‌شود. علاوه بر این، یک ارتباط مثبت معنی‌دار بین آیریزین و لپتین سرم و یک ارتباط منفی معنی‌دار بین لپتین و UCP1 mRNA چربی زیرپوستی مشاهده شد.

در برخی از مطالعات، ارتباط مثبتی بین آیریزین و شاخص توده‌ی بدنی و همچنین افزایش غلظت آیریزین جریان خون در پاسخ به چاقی، گزارش شده است (۸،۲۱،۲۵). نتایج پژوهش حاضر نیز همسو با این مطالعات، حاکی از این است که چاقی فی‌نفسه با افزایش غلظت آیریزین سرم همراه است. علیرغم

اینکه برخی دیگر از مطالعات چنین موضوعی را رد می‌کنند (۱۵،۱۹،۲۰) اما در مطالعه‌ی حاضر با اندازه‌گیری یکی از هورمون‌های بافت چربی به نام لپتین، این مسئله به‌طور ویژه‌تری به چالش کشیده شد.

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که افزایش لپتین با چاقی ممکن است افزایش آیریزین مرتبط با چاقی را میانجی‌گری کند؛ چراکه افزایش لپتین با افزایش معنی‌دار آیریزین همراه بود. همان‌طور که رودریگز و همکاران در زمان القای لپتین با پاسخ افزایشی آیریزین مواجه شدند (۲۲).

علاوه بر این، حدس و گمان‌هایی وجود دارد که لپتین ممکن است رابطه‌ی بین بافت چربی و عضله را میانجی‌گری کند و به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی از طریق تحریک ترشح آیریزین سبب افزایش هزینه‌ی انرژی و کاهش چربی شود (۳). با وجود این، با توجه به یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، اگرچه لپتین ممکن است عاملی برای ترشح آیریزین باشد، اما از طرفی دیگر با افزایش لپتین، کاهش بیان UCP1 mRNA مشاهده شد. پس به‌نظر می‌رسد که نقش لپتین در کاهش وزن مستقل از سازوکار آیریزین-UCP1 mRNA باشد. در واقع، در شرایطی که سطح لپتین بالا است، علیرغم وجود آیریزین، بیانUCP1 mRNA کاهش می‌یابد. پس احتمالاً بدن در شرایط چاقی با یک آیریزین ناکارآمد مواجه است و در نتیجه چاقی همچنان به قوت خود باقی می‌ماند. با این حال، سازوکار کاهش بیان UCP1 mRNA ناشی از افزایش لپتین مرتبط با چاقی می‌تواند موضوع جذابی برای مطالعات آینده باشد.

عدم وجود ارتباط بین چاقی و آیریزین در برخی از مطالعات در مقایسه با مطالعه¬ی حاضر را تا حدودی می‌توان به ترکیب چاقی با سایر وضعیت‌های متابولیکی و تفاوت وزن در گروه چاق و غیرچاق نسبت داد که چنین اختلافاتی ممکن است میزان لپتین و آیریزین را تحت تأثیر قرار دهد. برای مثال، روبرتس و همکاران[1] از موش‌های OLETF که چاق دیابتی هستند (۲۰)، استفاده کرده بودند. در حالی‌که در مطالعه¬ی حاضر از موش‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب و غیردیابتی استفاده شده است. در این راستا می‌توان به این نکته اشاره کرد که دیابت با تنظیم کاهشی عامل بالادست ترشح آیریزین (PGC1-α) (۲۴) و کاهش توده‌ی عضله‌ی اسکلتی (منبع اصلی رهایی آیریزین به گردش خون) همراه است (۱۳). بنابراین، این احتمال وجود دارد که رهایی آیریزین تحت وضعیت‌های متابولیکی مانند دیابت قرار گیرد.

1. Roberts et al

همچنین، تفاوت وزنی در موش‌های گروه چاق و غیرچاق در مطالعه‌ی حاضر نسبت به مطالعه‌ی کوینونز و همکاران[1] بیشتر است (۱۹درصد در مقابل ۱۵ درصد) (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر علاوه بر بررسی تغییرات لپتین، آیریزین و بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی در پاسخ به چاقی، اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی شدید بر این عوامل و تغییرات وزنی نیز ارزیابی شد. نتایج نشان داد، تمرین استقامتی شدید به‌طور قابل توجهی باعث کاهش لپتین، افزایش غلظت آیریزین، افزایش بیان UCP1 mRNA و کاهش وزن در موش‌های چاق شد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که یکی از مکانیسم‌های کاهش وزن ناشی از تمرین ورزشی از طریق کاهش لپتین و افزایش در غلظت آیریزین و بیان UCP1 mRNA میانجی‌گری می‌شود. در واقع، اختلال در بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی و وجود آیریزین ناکارآمدی که در پاسخ به چاقی و احتمالاً ناشی از افزایش لپتین ایجاد شده بود، با کاهش لپتین و افزایش غلظت آیریزین ناشی از تمرین استقامتی شدید بهبود یافت. به بیانی دیگر، تمرین استقامتی به‌عنوان یک متغیر مستقل از طریق کاهش لپتین و افزایش آیریزین سبب تغییر ارتباط بین لپتین و آیریزین سرم و ارتباط منفی معنی‌دار این دو هورمون شد. با این حال، رابطه‌ی بین آیریزین و لپتین در گروه چاق کنترل همواره یک رابطه‌ی مثبت و معنی‌دار باقی ماند.

همچنین نقش متابولیکی آیریزین از طریق افزایش هزینه‌ی انرژی و هموستاز گلوکز مشخص می‌شود (۵). بنابراین، منطقی به‌نظر می‌رسد که سطح آیریزین در نتیجه‌ی تمرینات استقامتی (محرکی برای تقویت ظرفیت اکسایشی و عملکرد میتوکندریایی) افزایش یابد (۱۸). در ارتباط با این موضوع، بوستروم و همکاران[2] در سال ۲۰۱۲ برای نخستین بار نشان دادند که ۳ هفته دویدن موش‌ها روی چرخ گردان منجربه افزایش سطح آیریزین پلاسما و بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی می‌شود، آن‌ها بهبود قابل ملاحظه‌ای در هزینه‌ی انرژی، وزن بدن و مقاومت انسولینی موش‌ها مشاهده کردند (۵). یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نیز مهر تأییدی بر نتایج بوستروم و همکاران می‌زند. با این حال، مطالعاتی نیز وجود دارد که علیرغم مشاهده‌ی کاهش وزن در پاسخ به تمرینات استقامتی، افزایش آیریزین را گزارش نکرده‌اند. برای مثال، سو و همکاران[3] نشان دادند که ۴ هفته دویدن روی نوارگردان با شدت متوسط، مستقل از تغییرات آیریزین باعث کاهش وزن بدن و مقاومت انسولینی در موش‌های اسپراگ داولی می‌شود (۲۳). زارکووسکا

1. Quiñones et al
2. Bostrom et al
3. Seo et al

و همکاران[1] نیز تغییر معنی‌داری را در آیریزین سرم پس از ۶ هفته دویدن موش‌های ویستار روی نوارگردان مشاهده نکردند (۶).

در مطالعه‌ی سوری و همکاران، علیرغم استفاده از تمرین استقامتی با شدت بالا و همچنین دوره‌ی تمرینی طولانی‌تر (۲)، نتایج مطالعه‌ی سو و همکاران و زارکووسکا و همکاران تکرار شد. تفاوت یافته‌های این مطالعات با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر را تا حدودی می‌توان به پروتکل تمرین ورزشی نسبت داد. به‌طوری که در پژوهش حاضر از تمرین استقامتی با شدت بالا در دوره‌ی زمانی طولانی‌تری استفاده شده است. در حالی‌که برخی از مطالعات از تمرینات با شدت متوسط و دوره‌ی زمانی کوتاه‌تری استفاده کرده‌اند (۶،۲۳). نشان داده شده است که تمرین با شدت بالا در مقایسه با شدت پایین منجربه افزایش بیشتری در سطح لاکتات و اپی‌نفرین جریان خون می‌شود و همچنین تخلیه‌ی بیشتر ذخایر انرژی (فسفوکراتین و ATP) را به دنبال دارد؛ این عوامل بر بیان و تنظیم افزایشی بالادست‌های آیریزین اثر می‌گذارند (۴). بنابراین، افزایش آیریزین در مطالعه‌ی حاضر را شاید بتوان به تغییر بیشتر چنین عواملی در پاسخ به تمرین استقامتی شدید نسبت داد. با این حال، در مطالعه‌ی حاضر رابطه‌ی بین تغییرات این عوامل با ترشح آیریزین ارزیابی نشد و بررسی چنین موضوعی برای پژوهش‌های آینده می‌تواند جذاب باشد.

علیرغم اینکه در مطالعه‌ی سوری و همکاران (۲) از تمرین استقامتی با شدت بالا استفاده شده است، اما از ۱۰ هفته تمرین، تنها در ۵ هفته‌ی نهایی، تمرین شدت بالا را اعمال کرده‌اند. در حالی‌که در مطالعه‌ی حاضر از ۱۴ هفته تمرین، ۱۱ هفته‌ی آن به تمرینات با شدت بالا اختصاص داده شده است. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که ترشح آیریزین نیازمند تمرین استقامتی با شدت بالا و دوره‌ی طولانی مدت باشد. با وجود این، ارزیابی اثر تمرین استقامتی با شدت بالا در دوره‌های تمرینی کوتاه مدت و دراز مدت بر تغییرات آیریزین در موش‌های چاق نیازمند پژوهش‌های بیشتری است.

در مطالعه‌ی حاضر، همسو با یافته‌های بوستروم و همکاران (۵) تمرین استقامتی باعث افزایش در بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی شد که احتمالاً بتوان به افزایش آیریزین نسبت داد. با وجود این، نورهیم و همکاران،[2] معتقدند که تغییر افزایشی در بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی، مستقل از آیریزین و تمرین ورزشی است و افزایش بیان UCP1 mRNA پس از ۱۲ هفته تمرین ورزشی را به محرک سرما نسبت داده‌اند، چرا که تمرینات ورزشی در فصل‌های سرد سال اجرا شده بود (۱۶). همان‌طور که

1. Czarkowska et al
2. Norheim et al

قبلاً اشاره شد، در شرایط چاقی بین لپتین و UCP1 mRNA چربی زیرپوستی ارتباط منفی معنی‌داری مشاهده شد. اگرچه تمرین استقامتی نیز با کاهش غلظت لپتین و افزایش بیان UCP1 mRNA یک ارتباط منفی بین این دو عامل ایجاد کرد، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود. با این حال، قبل از رد کردن کامل ارتباط منفی بین لپتین و UCP1 mRNA چربی زیرپوستی بر اثر تمرین ورزشی، پیشنهاد می‌شود که پژوهش‌های آینده چنین موضوعی را مجدداً به چالش بکشند.

در مجموع، مطالعه‌ی حاضر جنبه‌ی دیگری از اثر چاقی و تمرین استقامتی شدید متعاقب آن را بر تغییرات و روابط بین لپتین، آیریزین و UCP1 mRNA چربی زیرپوستی مشخص ساخت. یافته‌های این مطالعه بر این موضوع دلالت دارد که غلظت آیریزین سرم و بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی در موش‌های چاق شده با غذای پرچرب تحت تأثیر افزایش لپتین قرار می‌گیرد. در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که در شرایط چاقی و غلظت بالای لپتین، علیرغم بالا بودن غلظت آیریزین سرم، کاهش در بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی اتفاق می‌افتد که این موضوع می‌تواند دلیلی برای عدم کاهش وزن ناشی از آیریزین بالا در شرایط چاقی باشد. با این حال، ۱۴ هفته تمرین استقامتی با شدت بالا از طریق کاهش لپتین، افزایش غلظت آیریزین و بیان UCP1 mRNA چربی زیرپوستی به‌طور قابل توجهی سبب بهبود این شرایط و کاهش وزن در موش‌های چاق شد.

منابع و مآخذ

1. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Gala K, Sobol M, Paczek L. One session of exercise or endurance training does not influence serum levels of irisin in rats. J Physiol Pharmacol. 2014;65(3):449-54
2. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A , Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature. 2012;481(7382):463
3. Nygaard H, Slettaløkken G, Vegge G, Hollan I, Whist JE, Strand T, et al. Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. PloS one. 2015;10(3):e0121367
4. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Crujeiras AB, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. PloS one. 2013;8(4):e60563
5. Fukushima Y, Kurose S, Shinno H, Cao Thi Thu H, Tamanoi A, Tsutsumi H, et al. Relationships between serum irisin levels and metabolic parameters in Japanese patients with obesity. Obesity science & practice. 2016;2(2):203-9.

6. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity–correlation with body mass index. Peptides. 2013;39:125-30
7. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. Nutrition research reviews. 2010;23(2):270-99
8. Quiñones M, Folgueira C, Sánchez-Rebordelo E, Al-Massadi O. Circulating irisin levels are not regulated by nutritional status, obesity, or leptin levelsin rodents. Mediators of inflammation. 2015;2015
9. Roberts MD, Bayless DS, Company JM, Jenkins NT, Padilla J, Childs TE, et al. Elevated skeletal muscle irisin precursor FNDC5 mRNA in obese OLETF rats. Metabolism. 2013;62(8):1052-6
10. Rodríguez A, Becerril S, Méndez-Giménez L, Ramírez B, Sáinz N, Catalán V, et al. Leptin administration activates irisin-induced myogenesis via nitric oxide-dependent mechanisms, but reduces its effect on subcutaneous fat browning in mice. International Journal of Obesity. 2015;39(3):397
11. Arias-Loste M, Ranchal I, Romero-Gómez M, Crespo J. Irisin, a link among fatty liver disease, physical inactivity and insulin resistance. International journal of molecular sciences. 2014;15(12):23163-78
12. Fain JN, Company JM, Booth FW, Laughlin MH, Padilla J, Jenkins NT, et al. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. Metabolism. 2013;62(10):1503-11
13. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. The FEBS journal. 2014;281(3):739-49
14. Soori R, Ravasi AA, Hazrati Molaee S. [Comparing the Effect of High Intensity Endurance Training and Resistance Training on Irisin Levels and Insulin Resistance in Rats (In Persian)]. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2015;17(3):224-9
15. Seo DY, Kwak HB, Lee SR, Cho YS, Song I-S, Kim N, et al. Effects of aged garlic extract and endurance exercise on skeletal muscle FNDC-5 and circulating irisin in high-fat-diet rat models. Nutrition research and practice. 2014;8(2):177-82
16. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, et al. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2014;99(11):E2154-E61
17. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT , Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. Metabolism. 2012;61(12):1725-38
18. Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita M, Koyama K. High-intensity exercise causes greater irisin response compared with low-intensity exercise under similar energy consumption. The Tohoku journal of experimental medicine. 2014;233(2):135-40

19. Baar K. Nutrition and the adaptation to endurance training. Sports medicine. 2014;44(1):5-12
20. 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):1008-12.
21. Mohebbi H, Hasan nia S, Rohani H, Pirouz nia N, Daliri Joupari M. [Effect of Diet-Induced Obesity and Endurance Training-Induced weight Reduction on Plasma Leptin in C57BL/6 Mice (In Persian)]. Olympic. 2013;21(2):99-112
22. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT metho. methods. 2001;25(4):402-8
23. Mahmoodnia L, Sadoughi M, Ahmadi A, Kafeshani M. Relationship between serum irisin, glycemic indices, and renalfunction in type 2 diabetic patients. Journal of renal injury prevention. 2017;6(2):88
24. Soyal S, Krempler F, Oberkofler H, Patsch W. PGC-1α: a potent transcriptional cofactor involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. Diabetologia. 2006;49(7):1477-88.
25. Lee Y, Kim J-H, Hong Y, Lee S-R, Chang K-T, Hong Y. Prophylactic effects of swimming exercise on autophagy-induced muscle atrophy in diabetic rats. Laboratory animal research. 2012;28(3):171-9
26. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP , Horttanainen M, Pöllänen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? The Journal of physiology. 2013;591(21):5393-400

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی