

## Research Paper

**Pathomorphological Changes of Macrophage and Adipose Tissue Change and Negative Energy Balance Methods in Unsaturated-High-Fat-Fed Male Obese Rats of Mesenteric and Retroperitoneal Areas to Food Content<sup>1</sup>****P. Saidie<sup>1</sup>, H. Mohebbi<sup>2</sup>, A. Jorbonian<sup>3</sup>**

1. University of Guilan, Faculty of Sport Sciences (Corresponding Author)  
2,3. University of Guilan, Faculty of Sport Sciences

Received: 2019/12/27

Accepted: 2020/06/22

**Abstract**

**Objectives:** The aim of present study was to investigate the effect of 10-weeks of 4 energy restriction methods on histologic changes of adipose tissue and macrophage infiltration as well as glycemic indices in unsaturated-high-fat-fed obese male rats.

**Methods & Materials:** Blood and tissue samples were collected from 72 wistar male rats (weight 195±5g, age 8 weeks) at 1<sup>st</sup>, 18<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> weeks after overnight fasting. After first sampling, remaining 64 rats were randomly divided into two groups of control (n=16) and high-fat-diet (UHFd)(n=48). UHFd group was randomly divided into food content change (SD), exercise training (EX), combination (CR+EX) and unsaturated-high-fat-diet (UHFd) subgroups after 18 weeks. Ex group ran for 10 weeks (5d/wks.) with intensity equivalent to 70-75% of Vo<sub>2</sub>max. CR was implemented reducing 25% of energy intake and SD group used a change from UHFd to a standard diet. Histologic changes of retroperitoneal and mesenteric regions as well as macrophage infiltration were assessed after tissue passage, H&E staining and high-resolution microscopic picturing.

**Results:** The results of this study indicated that in comparison to UHFd, all experimental groups showed a significant difference in all glycemic indices and lipid profile variables (but HDL) as well as adipocyte size of studied adipocyte tissues (P < 0/05).

**Conclusions:** Therefore, it seems that regardless of the intervention type, energy intake manipulation methods possibly due to the reduction of adipocyte size had not change in macrophage infiltration to cause improvement in metabolic profiles.

1. Email: payam.saidie@gmail.com

2. Email: h\_mohebbi@yahoo.com

3. Email: jorbonian\_a@yahoo.com



---

**Keywords:** Adipose Tissue, Calorie Restriction, Macrophages, Metabolic Indices, Aerobic Training.

---

### Extended Abstract

#### Background and Purpose

Obesity is an increasing health problem that has reached epidemic proportions globally (1, 2). Long-term consumption of a high-fat diet (HFD) and a sedentary life style are significant contributors to fat deposition and associated weight gain complications. The obese state is accompanied by changes in both morphology and function of white adipose tissue (WAT)(3, 4). Therefore, the aim of present study was to investigate the effect of 10-weeks of 4 different energy restriction methods on histologic changes of white adipose tissue of retroperitoneal and mesenteric fat depots as well as macrophage infiltration to aforementioned fat depots in UHFD obese male wistar rats. Also, glycemic indices and lipid profiles were analyzed to evaluate any possible correlation between fat content morphology with studied variables.

#### Materials and Methods

72 wistar male rats (weight  $195\pm 5$ g, age 8 weeks) were studied in the current study. All rats was housed in polycarbonate cages (4 per cage) in controlled environment (temperature  $22\pm 2$  centigrade and humidity  $60\pm 5$  %). All rats had access to ad libitum food and water before the experiment for two weeks in order to get used to the lab environment. Blood and tissue samples were collected at the 1st, 18th and 28th weeks after overnight fasting (12–15 h) under terminally anesthetized conditions. To minimize the effect of acute exercise, all sample collections were carried out 24 h after the last training session. After first sampling, the remaining 64 rats were randomly divided into control (n=16) and unsaturated high-fat diet (UHFD)(n=48). UHFD contained more calories and fat percent compared to control diet (Cal 4.84 vs 3.86, fat percent 39% vs 3.2%). After 18 weeks UHFD was group randomly divided into standard food content (SD), exercise training (EX), combination (CR+EX) and UHFD subgroups. Ex group ran for 10 weeks (5d/wks.). With intensity equivalent to 70-75% of  $VO_2$ max which was running at 28 m/min. Training time progressively increased from first to fourth week to reach 90 min/session. CR was implemented reducing 25% of energy intake and SD group used a change from UHFD to a standard diet. Histologic changes of retroperitoneal and mesenteric regions as well as macrophage infiltration were assessed after tissue passage, H&E staining and high-resolution microscopic (Olympus microscope with 400X) picturing. All pictures were captured in 5-8 microscopic fields with at least 50 adipocytes. The



photos were analyzed using a computer-assisting image analyzer (Liposoft, V.1.2.1) with sensitivity of  $1 \mu\text{m}^2$ . Serum samples were obtained after 20min clotting at 22 Celsius and centrifuging at 4000 RPM for 15min. Samples were then transferred to a -70 Celsius fridge for further analysis. Statistics were calculated using the IBM SPSS Statistics software package version 25.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Normality of statistical distribution was confirmed with Kolmogorov-Smirnov test. One-way ANOVA with posthoc Tukey adjustment was applied to examine differences among groups. The t-student test was used to assess differences between obese and leans group. The association between variables was calculated with a Pearson correlation coefficient test. Data are presented as mean  $\pm$  standard error and the 95% confidence interval is used for determination of significance in statistical analyses.

## Findings

### Weight Changes

To validate the effect of UHFD on weight gain and energy homeostasis, REAT and MEAT cell size, values of serum biochemical measurements and body weight were determined in lean and UHFD sedentary rats, 18 weeks after the beginning of the treatment. Compared to lean group, UHFD rats showed significant increase in body weight  $\sim 7.6\%$  ( $248.2 \pm 16.5$  vs.  $267.2 \pm 13.4$ ) at 8th week ( $P < 0.05$ ). UHFD rats showed significant increase in body weight (19%), RPAT and MEAT adipocyte size (45.6% and 63%, respectively), RPAT, serum concentrations of Insulin, triglyceride, glucose and HOMA-IR (47.4, 32.9, 28.7 and 71.5%, respectively), when compared with lean. Despite considerably decreased body weight after 10 weeks of energy intervention including change of diet (UHFD to SD) (5%), aerobic exercise (5.9%) and combination (4.4), the differences were not significant compared to UHFD. However, calorie restriction group weight significantly decreased (8.2%) ( $P < 0.05$ ).

### Serologic Changes

Significant decrease in all glycolytic indices of energy intervention groups compared to UHFD were observed in 28<sup>th</sup> week ( $P < 0.05$ ) as well as TG, Cho and LDL-c. While only aerobic training and combination groups -c showed a significant decrease of HDL compared to UHFD ( $P < 0.05$ ).

### Histomorphologic Changes

Mesenteric adipocyte size of UHFD group were significantly higher than experimental groups at 28<sup>th</sup> week ( $P < 0.05$ ), and aerobic training group showed the highest mesenteric adipocyte size reduction (58.8%) compared to UHFD, which also showed significant differences compared to other energy intervention



groups ( $P < 0.05$ ). EX, CR, combination and SD groups respectively showed highest to lowest decrease in adipocyte size of mesenteric fat depot.

Besides, retroperitoneal adipocyte size of UHFD group was also significantly higher than all energy intervention groups at 28<sup>th</sup> week ( $P < 0.05$ ). Combination, CR, EX and SD groups respectively showed the highest to the lowest decrease in adipocyte size of mesenteric fat depot.

### Macrophage Infiltration

Tukey post-hoc test showed that EX compared to UHFD had significantly higher macrophage infiltration ( $p < 0.01$ ). According to table 1, all glycolytic variables as well as all lipid profile variables except LDL-c, significantly correlated with adipocyte size of studied depots ( $P < 0.05$ ).

In retroperitoneal depot, no significant correlation were observed between adipocyte size and macrophage infiltration in studied groups, while in mesenteric depot, the correlation was significant in only Ex group ( $P < 0.05$ ).

**Table 1- Correlation of biochemical variables with adipocyte size of studied depots**

Variable	Retroperitoneal adipocyte size	Mesenteric adipocyte size
Glucose	** 0.40	** 0.55
Insulin	** 0.46	** 0.59
HOMA-IR	** 0.52	** 0.68
Cholesterol	* 0.27	** 0.44
Tri-glyceride	** 0.49	** 0.50
HDL-c	** -0.31	* -0.29
LDL-c	0.15	* 0.31

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$

### Conclusion

The results of this study indicated that despite using unsaturated fat (32.4% of UHFD energy content), long-term consumption of UHFD (18 and 28 Wks.). Possibly due to more energy content compared to the standard diet (4.84 Vs. 3.86 Cal/gr) and significant weight gain, all experimental groups showed a significant difference in all glycemic indices and lipid profile variables (but HDL) ( $P < 0/05$ ). The complications in glycemic indices in UHFD were accompanied with increase of adipocyte size of studied adipocyte tissues ( $p < 0.05$ ). These WAT depots were chosen because of their location in the central cavity and also because most of the studies in literature point out the importance of these adipose depots in the etiology of insulin linked complications and other health problems (5-7). These findings were aligned with other studies which



used saturated fat diets. However, our results were in contrast with studies that used an unsaturated fat diet which is possibly due to their short-term HFD consumption while current study rats were under a 7-month UHFD (8). This finding is important considering that 90% of world population are using canola oil (canola oil was used as an unsaturated portion of fat in current study). Results of this study can be approved considering the recent report of Nguyen (9) that neither fat percent nor the ratio of unsaturated vs. saturated in four used diets had a significant effect on the diet induced obesity. It seems that regardless of the intervention type, energy intake intervention methods (EX, CR, SD, combination) possibly due to the reduction of adipocyte size had not the change in macrophage infiltration cause improvement in most metabolic profile variables.

### **Article Message**

The results of the present study showed that calorie restriction and exercise, even accompanied by consuming high-fat foods, lead to a reduction in the adipocyte size and improvement in metabolic disorders. In this regard, we speculate that the number of consumed calories affects more profoundly than the consumed fat type metabolic disorders.

### **Ethical Considerations**

#### **Compliance with Research Ethical Guidelines**

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

#### **Funding**

This study received no funding from public, commercial, or nonprofit organizations.

#### **Authors' Contributions**

All authors have participated in designing, implementing and writing all parts of the present study.

#### **Conflicts of interest**

The authors declared no conflict of interest

#### **Acknowledgement**

The authors would like to appreciate the colleagues of the Research Center and the Rodent Laboratory of the Faculty of Physical Education and Sports Sciences at the University of Guilan, the experts of the Laboratory of the Endocrine Center in Tehran, and the colleagues of the Histology Center at the Guilan School of Medical Sciences.



## References

1. Li X, Zhao Y, Chen C, Yang L, Lee H-h, Wang Z, et al. Critical Role of Matrix Metalloproteinase 14 in Adipose Tissue Remodeling during Obesity. *Molecular and Cellular Biology*. 2020;40(8):e00564-19.
2. Keramat SA, Alam K, Gow J, & Biddle SJ. Obesity, long-term health problems, and workplace satisfaction: a longitudinal study of Australian workers. *Journal of Community Health*. 2020;45(2):288-300.
3. Allister-Price C, Craig CM, Spielman D, Cushman SS, & McLaughlin TL. Metabolic markers, regional adiposity, and adipose cell size: relationship to insulin resistance in African-American as compared with Caucasian women. *International Journal of Obesity*. 2019;43(6):1164-73.
4. Lee MJ, Wu Y, & Fried SK. Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Molecular Aspects of Medicine*. 2013;34(1):1-11.
5. Andersson DP, Eriksson Hogling D, Thorell A, Toft E, Qvisth V, Naslund E, et al. Changes in subcutaneous fat cell volume and insulin sensitivity after weight loss. *Diabetes Care*. 2014;37(7):1831-6.
6. Mundi MS, Karpyak MV, Koutsari C, Votruba SB, O'Brien PC, & Jensen MD. Body fat distribution, adipocyte size, and metabolic characteristics of nondiabetic adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(1):67-73.
7. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *The British Journal of Nutrition*. 2004;92(3):347-55.
8. Tam J, Godlewski G, Earley BJ, Zhou L, Jourdan T, Szanda G, et al. Role of adiponectin in the metabolic effects of cannabinoid type 1 receptor blockade in mice with diet-induced obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2014;306(4): E457-E68.
9. Nguyen S, Shao D, Tomasi LC, Braun A, de Mattos ABM, Choi YS, et al. The Effects of Fatty Acid Composition on Cardiac Hypertrophy and Function in Mouse Models of Diet-Induced Obesity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2017.



## تغییرات پاتومورفولوژی ماکروفاژ و بافت چربی نواحی مزنتریک و رتروپریتونئال به تغییر محتوای رژیم غذایی و سه روش ایزوکالریک تعادل منفی انرژی در موش‌های صحرایی چاق تحت رژیم غذایی پر چرب غیراشباع

پیام سعیدی<sup>۱</sup>، حمید محبی<sup>۲</sup>، ابودر جوربنیان<sup>۳</sup>

۱. استادیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه گیلان، رشت، ایران (نویسنده مسئول)

۲. استاد فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳. استادیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۲

### چکیده

**اهداف:** مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه چهار روش محدودیت-کالری به مدت ۱۰ هفته بر تغییرات هیستولوژیک بافت چربی و نفوذ ماکروفاژی و همچنین متغیرهای سرمی چربی و شاخص‌های گلیسمیک در موش‌های صحرایی نر چاق انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** نمونه برداری خونی و بافتی از ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن  $195 \pm 5$  گرم، سن هشت هفته) پس از ناشتایی شبانه در هفته‌های اول، هجدهم و بیست و هشتم صورت گرفت. پس از نمونه برداری پایه، ۶۴ سر موش باقیمانده به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل (CO) (۱۶ سر) و رژیم غذایی پرچرب غیراشباع (UHFD) (۴۸ سر) تقسیم شدند. پس از ۱۸ هفته، گروه UHFD به زیرگروه‌های تغییر محتوای رژیم غذایی (SD)، فعالیت ورزشی (EX)، محدودیت کالری (CR)، ترکیبی (CR+EX) و رژیم پرچرب (UHFD) تقسیم شد. گروه ورزشی به مدت ۱۰ هفته (پنج جلسه در هفته)، تمرین هوازی با شدت معادل  $75-70\% \text{ Vo}_2\text{max}$  درصد انجام داد. CR با کاهش ۲۵ درصد از کالری جیره دریافتی اعمال شد و گروه SD تحت تغییر جیره غذایی از رژیم پرچرب غیراشباع به غذای استاندارد قرار گرفت. تغییرات هیستولوژیک بافت چربی نواحی رتروپریتونئال و مزنتریک به همراه میزان نفوذ ماکروفاژی به نواحی مذکور، پس از پاساژ بافتی، رنگ آمیزی H & E و عکس برداری میکروسکوپی با رزولوشن زیاد، ارزیابی شد.

1. Email: saidie-p@guilan.ac.ir,

2. Email: mohebbi\_h@yahoo.com

3. Email: jorbonian.a@guilan.ac.ir



**یافته ها:** نتایج نشان داد که تمام شاخص‌های گلیسمیک و لیپیدی (به جز HDL) و همچنین مساحت آدیپوسیت‌های نواحی مطالعه‌شده در گروه‌های مداخله در مقایسه با UHFD تفاوت معناداری را نشان دادند ( $P < 0.05$ );

**نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد روش‌های مداخله انرژی صرف‌نظر از نوع مداخله انجام‌شده، احتمالاً به‌واسطه کاهش سطح آدیپوسیت و نه به‌دلیل تغییر نفوذ ماکروفاژی می‌توانند بهبود متغیرهای متابولیک به همراه داشته باشند.

**واژگان کلیدی:** بافت چربی، محدودیت کالری، ماکروفاژ، شاخص‌های متابولیک، تمرینات هوازی.

## مقدمه

وضعیت چاقی با عوارض متعدد نامطلوب متابولیک همراه است. از جمله این موارد می‌توان به التهاب مزمن سیستمی، تغییرات مورفولوژیک بافت چربی و همچنین بیماری‌های متابولیک مانند دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیسم چربی اشاره کرد. مقاومت به انسولین یکی از اختلالات متابولیک جدی ناشی از چاقی محسوب می‌شود که با التهاب مزمن سیستمیک و کارایی‌نداشتن عملکرد انسولین در عضلات اسکلتی، کبد و آدیپوسیت‌ها همراه است (۱). درمقابل، تعادل منفی انرژی به‌عنوان اهرم بهبود سلامت عمومی مطرح است و فواید زیادی مانند بهبود متابولیسم دارد. برای سالیان متمادی، پژوهشگران ارائه برنامه‌های کنترل وزن شامل تغییر رفتار تغذیه و توصیه‌های تغذیه‌ای و ورزشی را پیشنهاد داده‌اند. با وجود استراتژی‌های غذایی و ورزشی گوناگون، روند افزایش وزن جهانی همچنان سیر صعودی طی می‌کند. عوامل گوناگونی در چاقی و اضافه‌وزن دخیل هستند که می‌توانند دلیل پاسخ‌های مختلف به استراتژی‌های درمانی یا سلامتی باشند. ارزیابی این عوامل پیچیده است و به ملاحظات بالینی ویژه‌ای نیازمند است؛ به‌عنوان مثال، روش‌های تعادل منفی انرژی، روند جهانی افزایش وزن و عواقب آن را کاملاً متوقف نکرده است، اما در مجموع مطالعات نشان داده‌اند که روش‌های محدودیت کالری از جمله فعالیت ورزشی نقش مهمی در پیشگیری از چاقی و اضافه‌وزن ایفا می‌کنند.

صرف‌نظر از آثار قلبی-عروقی و متابولیک مفید ورزش یا محدودیت کالری که حتی در غیاب کاهش وزن نیز روی می‌دهد، بسیاری از اقشار جامعه با هدف کاهش یا ثبات وزن به ورزش یا رژیم‌های غذایی روی می‌آورند. این رویکرد لزوم بررسی دقیق آثار روش‌های تعادل منفی انرژی را آشکارتر می‌کند. براساس پژوهش‌های حیوانی، روش‌های تعادل منفی انرژی، بهبود علائم سندرم متابولیک





مانند افزایش حساسیت به انسولین را به دنبال دارد که این عمل را از طریق مکانیسم‌های سلولی مختلف انجام می‌دهد. یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها، تغییر مورفولوژی آدیپوسیت‌هاست که با تغییر میزان فراخوانی واسطه‌های التهابی مانند ماکروفاژها همراه است. با توجه به پیشرفت تکنیک‌های آزمایشگاهی اخیر می‌توان ابهامات گذشته درباره کیفیت و چگونگی تغییرات هیستولوژیک آدیپوسیت‌ها را مشخص کرد. بافت چربی در نواحی مختلف از نظر محتوا و عملکرد متمایز است؛ بنابراین عملکرد متفاوتی بروز می‌دهد. شناسایی تغییرات هیستولوژیک بافت چربی نواحی مختلف در کنار بررسی نفوذ ماکروفاژی به آن (به‌عنوان شاخص التهاب) می‌تواند به درک بهتر ما از مکانیسم‌های سلولی درگیر در مقاومت به انسولین و تغییر پروفایل لیپیدی کمک کند.

در پیوستار روش‌های تعادل منفی انرژی، فعالیت ورزشی هوازی یکی از راهبردی‌ترین روش‌های اعمال تعادل منفی انرژی محسوب می‌شود که موجب افزایش هزینه‌کرد انرژی و بهبود کیفیت زندگی می‌شود (۲). درواقع، فعالیت بدنی و ورزش در بلندمدت از طریق کاهش توده چربی احشایی و متعاقب آن کاهش رهایش سایتوکین‌های پیش‌التهابی و ایجاد محیطی ضدالتهابی، در کنترل بیماری‌های مرتبط با التهاب نظیر دیابت نقش دارد (۳). تأثیر فعالیت بدنی بر سطوح لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها نیز در مطالعات بسیاری مدنظر قرار گرفته است، اما با بررسی پیشینه پژوهش‌های موجود مشخص می‌شود اغلب تمرینات هوازی مدنظر پژوهشگران، به‌دلیل محدودیت عملکردی در آزمودنی‌های چاق از شدت و مدت کم برخوردار هستند و توجهی کم به تأثیر تمرین هوازی با شدت‌های بیشتر در افراد چاق شده است (۴)؛ بنابراین استفاده از پروتکل تمرینی با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (معادل با ۲۸ متر در دقیقه) برای موش‌های صحرایی چاق نیز از دیگر قوت‌های پژوهش حاضر محسوب می‌شود.

پژوهش‌هایی که در این راستا انجام شدند، اثر روش‌های مداخله‌ای تعادل منفی انرژی بر پروفایل لیپیدی یا مقاومت به انسولین را بررسی کرده‌اند. اخیراً نیز مطالعات انگشت‌شماری اثر برخی از روش‌های تعادل منفی بر پاتومورفولوژی آدیپوسیت در نواحی مختلف که کارکردهای متفاوتی را بروز می‌دهند، ارزیابی شده‌اند؛ بنابراین یکی از اهداف این پژوهش، بررسی میزان اثربخشی هر یک از چهار روش تعادل منفی انرژی است. همچنین با توجه به اینکه چاقی با مقاومت به انسولین همبستگی زیاد دارد، نمی‌توان از تغییرات مورفولوژیک بافت چربی چشم‌پوشی کرد؛ زیرا افزایش اندازه آدیپوسیت‌ها و به‌تبع آن، افزایش میانجی‌های التهابی گزارش شده است. در صورت وجود ارتباط بین متغیرهای متابولیسم قند و چربی با شاخص‌های هیستولوژیک ارزیابی‌شده، کیفیت و نوع



ارتباط و همچنین اینکه کدامیک از مؤلفه‌های مورفولوژی آدیپوسیت‌ها ارتباط احتمالی بیشتری با مقاومت به انسولین دارند، مشخص نیست. از طرفی پژوهشگران مطالعه حاضر قصد دارند وضعیت نفوذ ماکروفاژها (با توجه به ماهیت التهابی بودن آن‌ها)، اندازه و تعداد آدیپوسیت‌ها و ارتباط آن‌ها با مقاومت به انسولین را ارزیابی کنند.

بدون تردید، بررسی هیستولوژی آدیپوسیت‌ها از نواحی مختلف و ارتباط احتمالی مؤلفه‌های آن با نفوذ ماکروفاژی می‌تواند در درک بیشتر ماهیت مقاومت به انسولین به‌عنوان بیماری مزمن التهابی نقش شایان توجهی داشته باشد. علاوه بر این، تغییر محتوای رژیم غذایی به‌عنوان یکی از راهکارهای جدید با عنوان رفتاردرمانی چاقی مطرح شده است که مطالعات کمی به آن پرداخته‌اند. محتوای رژیم غذایی نیز عامل اثرگذار مهمی بر تعادل التهابی-ضدالتهابی بدن محسوب می‌شود. پیشرفت علم تغذیه، رویکرد جهانی مصرف چربی‌های اشباع را به سمت چربی غیراشباع گیاهی سوق داده است. روغن کانولا یکی از پرمصرف‌ترین روغن‌های گیاهی خوراکی است (۵)؛ با این حال براساس جست‌وجوهای انجام‌شده، همچنان جهت و میزان اثرگذاری حجم زیاد چربی غیراشباع بر متابولیسم بدن، بی‌پاسخ مانده است و بیشتر پژوهش‌ها اثر مصرف غذاهای پرچرب اشباع‌شده بر متابولیسم بدن و اختلالات مرتبط را هدف قرار داده‌اند. براساس گزارش‌های موجود، رژیم‌های غذایی حاوی چربی‌های غیراشباع مانند رژیم‌های مدیترانه‌ای، فرایند التهاب سیستمی و اختلالات متابولیک ناشی از چاقی را معکوس می‌کنند (۶، ۵). با توجه به تناقض موجود درباره مصرف چربی و التهاب مزمن سیستمی و مطالعاتی که از روغن‌های گیاهی استفاده کرده‌اند (۸، ۷)، به نظر می‌رسد محتوای رژیم استفاده‌شده (درصد چربی اشباع و غیراشباع) و میزان کالری واحد غذایی از مواردی هستند که باید در تفسیر نتایج مدنظر قرار گیرند؛ بنابراین در این پژوهش برای پاسخ به این سؤال از رژیم غذایی با محتوای زیاد چربی غیراشباع کانولا استفاده کردیم. با توجه به اینکه بیشتر مطالعات در دسترس از غذای پرچرب با محتوای چربی اشباع برای چاق کردن جوندگان استفاده کرده‌اند، از قوت‌های پژوهش حاضر می‌توان به بررسی سازگاری متغیرهای مطالعه‌شده در پاسخ به غذای پرچرب با محتوای انرژی ۳۹/۱ درصد از چربی (۳۲/۴ درصد انرژی از چربی غیراشباع و ۶/۷ انرژی از چربی اشباع) در مقابل غذای استاندارد (۳/۲ درصد انرژی از چربی اشباع) اشاره کرد؛ بنابراین در پژوهش حاضر بررسی اثر بخشی و دلایل اثربخشی احتمالی این روش در کنار روش‌های معمول تعادل منفی انرژی (محدودیت کالری، فعالیت ورزشی یا ترکیب دو روش) مدنظر قرار گرفت. براساس اطلاعات نویسندگان پژوهش حاضر، تاکنون کاهش وزن احتمالی و تغییرات مورفولوژیک آدیپوسیت‌ها در اثر تغییر محتوای رژیم غذایی در مقایسه با سایر روش‌های محدودیت کالری با



تأکید بر نفوذ ماکروفاژی و شناسایی تغییرات هیستولوژیک بافت چربی نواحی مختلف بررسی نشده است؛ بنابراین به دلیل انجام شدن پژوهش‌های اندک یا غیرجامع در زمینه تعادل منفی انرژی، هنوز ابهام‌های زیادی برای بررسی وجود دارد.

در نهایت، با در نظر گرفتن سه ویژگی کمتر بررسی شده در مطالعات شامل تغییر محتوای رژیم غذایی، تمرین آزمودنی‌های چاق با شدت متوسط، بررسی هیستولوژیک بافت چربی، نرخ نفوذ ماکروفاژها به آدیپوسیت و رژیم پرچرب غیراشباع، هدف این پژوهش، بررسی تأثیر ۱۰ هفته مداخله محدودیت غذایی و تغییر محتوای رژیم غذایی بر نفوذ ماکروفاژی به آدیپوسیت نواحی رتروپریتونال و مزنتریک و همچنین سطوح سرمی متغیرهای پروفایل لیپیدی و شاخص‌های گلیسمیک در موش-های صحرایی نر چاق تحت رژیم غذایی پرچرب غیراشباع بود.

### روش پژوهش

تعداد ۷۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (میانگین وزن  $12/5 \pm 193/8$  گرم، سن هشت هفته) آزمودنی‌های پژوهش حاضر را تشکیل دادند. موش‌ها در قفس‌های مجزا از جنس پلی‌کربنات در گروه‌های چهارتایی و در شرایط کنترل شده محیطی (دما  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $5 \pm 60$  و چرخه روشنایی-تاریکی معکوس ۱۲:۱۲ ساعت) با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش‌ها نگهداری شدند. پژوهش حاضر با استفاده از مجموع نه گروه قربانی به صورت زیر انجام شد (شکل شماره یک):

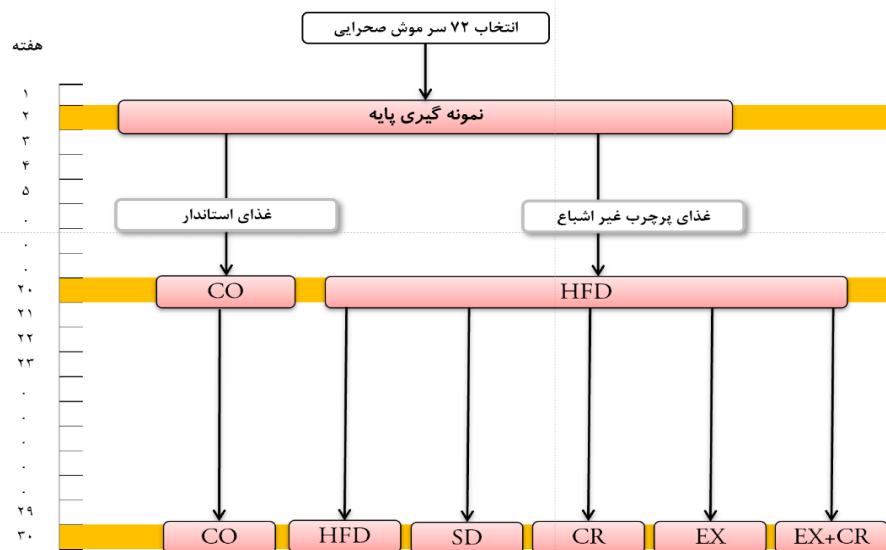
الف- موش‌های صحرایی در دو هفته اول اجازه دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند تا به محیط آزمایشگاه عادت کنند. در پایان هفته دوم، هشت سر موش برای اندازه‌گیری‌های پایه کشته شدند؛

ب- تعداد ۶۴ سر موش دیگر به صورت تصادفی به گروه‌های کنترل (۱۶ سر) و غذای پرچرب (۴۸ سر) تقسیم شدند و به مدت چهار ماه و نیم (۱۸ هفته) در شرایط بی‌حرکی به ترتیب تحت رژیم غذایی طبیعی و پرچرب قرار گرفتند. غذای پرچرب حاوی کالری و چربی بیشتری در مقایسه با غذای استاندارد بود (کالری غذا:  $4/84$  در مقابل  $3/86$  کیلوکالری و درصد انرژی غذا از چربی ۳۹ درصد در مقابل ۳/۲ درصد). در انتهای هفته بیستم، ۱۶ سر موش (هشت سر غذای استاندارد و هشت سر غذای پرچرب) برای اندازه‌گیری متغیرها قربانی شدند؛

ج- تعداد ۴۰ سر باقیمانده به صورت تصادفی در پنج گروه (هشت سر در هر گروه) شامل غذای پرچرب، کنترل (غذای طبیعی)، فعالیت ورزشی، محدودیت کالری و تغییر رژیم غذایی (از پرچرب



به طبیعی) به کار گرفته شدند. موش‌های گروه فعالیت ورزشی، در ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه با شیب صفر درجه روی نوارگردان راه رفتند و به تدریج به مدت دو هفته شدت فعالیت افزایش یافت تا به شدت متوسط معادل با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (۲۸ متر بر دقیقه) رسید (۹). زمان فعالیت گروه تمرین نیز به صورت پلکانی افزایش یافت تا در هفته چهارم به ۹۰ دقیقه رسید. در مرحله تثبیت، موش‌های گروه تمرین هوازی، پنج بار در هفته به مدت ۱۰ هفته روی نوارگردان با شیب صفر درجه دویدند. به منظور حذف استرس محیطی احتمالی و خروج حیوانات از وضعیت بی‌حرکی مطلق، گروه کنترل و غذای پرچرب به مدت پنج دقیقه در هفته با سرعت ۱۲ متر بر ثانیه با شیب صفر درجه دویدند (۱۰). تمام مراحل اجرایی و نگهداری حیوانات به تأیید کمیته نگهداری و اخلاقیات دانشگاه رسید. برای اعمال محدودیت کالری، ۲۵ درصد از میانگین انرژی دریافتی روزانه (براساس وزن غذا) برای گروه محدودیت کالری از جیره غذایی حیوانات حذف شد. برنامه گروه تغییر رژیم غذایی، دسترسی آزاد به غذا با تغییر محتوای غذایی از رژیم ۳۹ درصد به ۳/۲ درصد چربی بود. در پایان هفته سی‌ام، موش‌های باقیمانده برای اندازه‌گیری متغیرهای پژوهش قربانی شدند. در شکل شماره یک طرح اجرایی پژوهش ارائه شده است.



شکل ۱- طرح اجرایی پژوهش

CO: کنترل، HFD: غذای پرچرب غیر اشباع، SD: رژیم غذایی استاندارد، CR: محدودیت کالری، EX: تمرین هوازی، EX+CR: ترکیبی



**Figure 1- Research plan**

**CO: Control, HFD: Unsaturated fatty diet, SD: Standard diet, CR: Calorie restriction, EX: Aerobic training, EX + CR: Combined**

شیوه گردآوری اطلاعات به این صورت بود که نمونه‌گیری خونی و بافتی در هفته‌های اول، هجدهم و بیست و هشتم بعد از ناشتایی شبانه انجام شد. برای حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌گیری از گروه تمرین هوازی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین انجام شد. ابتدا موش‌ها با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (سه تا پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و خون‌گیری (پنج میلی‌لیتر) از ورید اجوف فوقانی صورت گرفت. نمونه‌ها در لوله‌های شماره ۱۴ مخصوص لخته‌شدن ریخته شدند و بعد از ۲۰ دقیقه قرارگرفتن در انکوباتور با دمای ۲۲ درجه به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جداشده در اپندروفهای کدگذاری‌شده ریخته شد و برای انجام دادن مراحل بعدی پژوهش به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. غلظت انسولین سرم به روش الیزا و با استفاده از کیت (Ultrasensitive Rat Insulin, ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sweden) اندازه‌گیری شد. دامنه اندازه‌گیری، ضرایب تغییرات برون‌سنجی و درون‌سنجی روش اندازه‌گیری به ترتیب 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 پارس‌آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد. ضرایب برون‌سنجی و درون‌سنجی روش اندازه‌گیری به ترتیب ۱/۸ درصد و ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. همچنین HDL-C و کلسترول با روش آنزیمی فتومتریک و تری‌گلیسیرید به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون سنجیده شد. سطوح LDL-C نیز با استفاده از معادله فریدوالد<sup>۱</sup> و همکاران (۱۱) -فرمول زیر- محاسبه شد:

$$LDL = TC - HDL - TG/5.0 \text{ (mg/dL)}$$

ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب برای HDL-C، دو درصد و یک میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، کلسترول ۱/۲ درصد و سه میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، تری‌گلیسیرید ۲/۲ درصد و یک میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$HOMA-IR = \frac{22}{5} \times \text{غلظت انسولین (mU/L)} \times \text{غلظت گلوکز (mMol/L)}$$

## 1. Friedewald



با توجه به اهمیت متابولیسم چربی در نواحی مزنتریک و رتروپریتونال (۱۲)، نمونه‌های بافت چربی از نواحی مذکور به دست آمدند. نمونه‌های بافتی برای مطالعات هیستولوژیک (اندازه‌گیری مساحت و تعداد آدیپوسیت و مطالعه ساختار بافت‌شناسی)، به مدت پنج روز در محلول فرمالین ۱۰ درصد غوطه‌ور و فیکس شدند. نمونه‌ها پس از پاساژ قالب‌گیری شدند و توسط میکروتوم دوار برش‌های دومیکرونی تهیه شدند. به دلیل حساسیت بافت چربی تیغه‌های میکروتوم، پس از برش هر چهار نمونه تعویض شدند. از نمونه‌های برش، در حمام آب گرم، لام تهیه شد و پس از تثبیت و پارافین زدایی در اتوکلاو، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین شدند. به منظور ارزیابی تغییرات اندازه و تعداد آدیپوسیت‌ها در توده چربی نواحی مختلف، از سیستم تحلیل مورفومتريک کامپیوتری نرم‌افزار لپوسافت (V.1.2.1) استفاده شد. تشخیص و شمارش ماکروفاژ در هر زمینه میکروسکوپی توسط یک فرد مجرب در رشته هیستولوژی با استفاده از دوربین المپیوس مخصوص تصویربرداری بافت انجام شد. در هر توده چربی، پنج تا هشت فیلد میکروسکوپی و حداقل ۵۰ سلول چربی ارزیابی و محاسبه شد.

برای توصیف متغیرها از روش‌های آمار توصیفی و برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف<sup>۱</sup> استفاده شد. برای مقایسه و بررسی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه با آزمون تعقیبی توکی<sup>۲</sup> و همچنین آزمون تی مستقل استفاده شد. رابطه‌های بین متغیرهای مطالعه شده نیز با استفاده از آزمون همبستگی پیرسون بررسی شد. میزان آلفا کوچک‌تر یا مساوی با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده در محیط نرم‌افزار اسپاس اس<sup>۳</sup> نسخه ۲۵ و ترسیم نمودارها در محیط اکسل نسخه ۲۰۱۹ انجام شد.

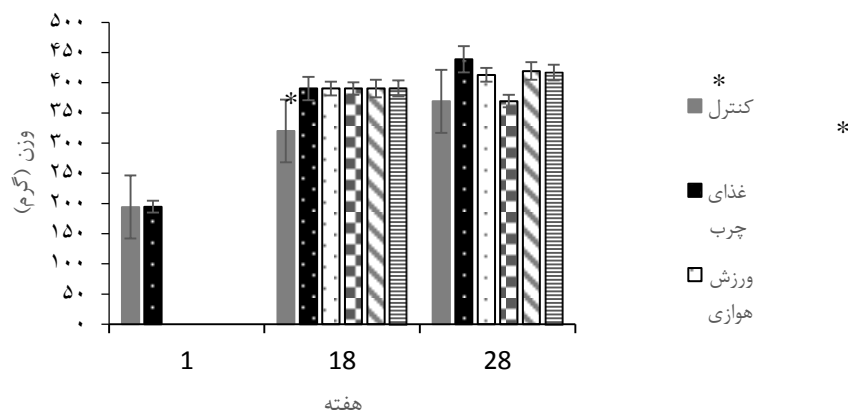
## نتایج

تغییرات وزنی: پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب غیراشباع، وزن حیوانات در گروه رژیم غذایی پرچرب غیراشباع (۴/۷ ± ۳۹۰/۱۲) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۲ ± ۳۲۱/۱۴) در هفته نظیر با ۱۹ درصد افزایش، تفاوت معناداری را نشان داد (P < 0.05). به همین ترتیب، پس از ۲۸ هفته مصرف غذای پرچرب غیراشباع، تفاوت معنادار بین دو گروه غذای پرچرب و کنترل (۱۴/۹ ± ۳۶۹/۳ در مقابل ۸/۹ ± ۴۳۸/۷) با ۱۵ درصد وزن بیشتر، همچنان حفظ شد (P < 0.01). ده هفته

1. Kolmogorov-Smirnov Test
2. Tukey
3. SPSS



مداخله تعادل انرژی شامل روش‌های تغییر محتوای غذا، تمرین هوازی و ترکیبی (تمرین هوازی و محدودیت کالری) در مقایسه با گروه غذای پرچرب، به‌رغم کاهش چشمگیر به‌ترتیب ۵، ۵/۹ و ۴/۴ درصدی (۴۱۶/۹ ± ۵/۵، ۴۱۳/۱ ± ۸/۳ و ۴۱۹/۴ ± ۸/۷ در مقابل ۴۳۸/۷ ± ۸/۹) تفاوت معناداری ایجاد نکرد؛ با این حال، ۱۰ هفته محدودیت کالری با ۸/۲ درصد کاهش وزن در مقایسه با گروه غذای پرچرب (۳۶۹/۱۳ ± ۶/۱ در مقابل ۴۳۸/۷ ± ۸/۹) تفاوت معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ).



شکل ۲- تغییرات وزن موش‌های صحرائی

\*: تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب در هفته‌های نظیر ( $P \leq 0.05$ )

Figure 2 – Weight changes in rats

\*: Significant difference compared to paired weeks ( $P < 0.05$ )

متغیرهای سرمی: جدول شماره یک، اثر ۱۸ هفته غذای پرچرب غیر اشباع بر متغیرهای سرمی اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد. سطوح سرمی گلوکز، انسولین و HOMA-IR در هفته هجدهم بین گروه‌های کنترل و غذای پرچرب تفاوت معناداری را نشان دادند ( $P < 0.01$ ). پس از مصرف ۱۸ هفته غذای پرچرب غیر اشباع، مطابق انتظار، مقادیر تری‌گلیسیرید و کلسترول تام پلاسمایی در گروه غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل به‌صورت معناداری بیشتر بود ( $P < 0.05$ )؛ با این حال، سطوح بالاتر HDL-C و سطوح پایین‌تر LDL-C در گروه غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل به سطح معنادار نرسیدند ( $P > 0.05$ ).



جدول شماره دو، اثر ۱۰ هفته مداخله انرژتیک بر متغیرهای سرمی اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد. در هفته بیست و هشتم کاهش معنادار در تمام اندکس‌های قند خون در گروه‌های مورد مداخله انرژتی در مقایسه با گروه غذای پرچرب غیراشباع مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). از متغیرهای پروفایل لیپیدی سطوح سرمی تر گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین کم‌چگال در هفته بیست و هشتم بین گروه‌های مداخله انرژتیک با گروه تحت رژیم غذای پرچرب، تفاوت معناداری را نشان دادند ( $P < 0.05$ )؛ با این حال تفاوت معنادار در سطوح لیپوپروتئین با چگالی بالا تنها در گروه‌های تمرین هوازی و ترکیبی در مقایسه با گروه غذای پرچرب غیراشباع مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۱- اثر ۱۸ هفته غذای پرچرب غیراشباع بر متغیرهای سرمی در موش‌های صحرائی

**Table 1- The effect of 18 weeks of unsaturated high fat diet on serum variables in rats**

هفته هجدهم 18 <sup>th</sup> week		هفته اول First week		
غذای پرچرب High-fat food	کنترل Control	کنترل Control		
22.26±1.6	† 18.98±1.6	10.99±0.4		گلوکز Glucose (mmol/L)
88.94±13.97	† 60.33±9.22	29.6±6.55		انسولین Insulin (Pmol/L)
2.35±0.51	† 1.37±0.21	0.61±0.13		HOMA-IR
27.3±4	† 29.2±2.2	30.2±0.9		تری‌گلیسرید Triglyceride (mg/dL)
111.2±4.7	83.16±8.7	52.11±0.3		کلسترول تام Total Cholesterol (mg/dL)
31.47±9.82	28.47±9.9	33.6±5.9		(mg/dL) LDL
81.11±1.9	74.6±5.1	74.7±0.8		(mg/dL) HDL

mmol/L: میلی مول بر لیتر، Pmol/L: پیکومول بر لیتر، mg/dL: میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا.

LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین، †: تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب ( $P \leq 0.05$ )

mmol / L: Mmol per liter, Pmol / L: Picomol per liter, mg / dL: Milligrams per deciliter, HDL: High-density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, †: Significant difference compared to high fat diet ( $P < 0.05$ )





جدول ۲- اثر مداخله‌های تعادل انرژی بر متغیرهای سرمی در موش‌های صحرایی

Table 2- The effect of energy balance interventions on serum variables in rats

هفته بیست و هشتم 28 <sup>th</sup> Week						
تغییر محتوای غذایی Change of food content	ترکیبی Combined	تمرین هوازی Aerobic exercise	محدودیت کالری Calorie restriction	غذای پرچرب High fat diet	کنترل Control	
†9.15±0.9	†9.71±1.2	†14.82±1.7	†15.76±1.9	23.09±2.3	20.76±1.3	گلوکز Glucose (mmol/L)
†74.8±6.8	†75.5±6.8	†36.10±6.2	†40.4±5.3	102.15±87.9	87.21±8.4	انسولین Insulin (Pmol/L)
†1.96±0.27	†1.47±0.14	0.75±0.24 †	†0.85±0.11	2.93±0.66	2.11±0.57	HOMA-IR
70.13±7.4 †	†73.15±1.1	†71.13±3.7	†57.16±5.2	101.20±6.6	72.19±9.1	تری‌گلیسرید Triglyceride (mg/dL)
78.11±2.3	76.9±1.1	68.13±1.5	74.8±6.8	88.8±2.2	80.6±38.1	کلسترول نام Total Cholesterol (mg/dL)
27±4.2	28±3.6	28.3±4.1	27.2±2.4	25.7±3.5	28.25±4.9	LDL (mg/dL)
35.9±8.5	33.5±9.9	25.47±8.7	35.87±7.9	42.17±8.9	37.55±9.3	HDL (mg/dL)

mmol/L: میلی مول بر لیتر، Pmol/L: پیکومول بر لیتر، mg/dL: میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا،

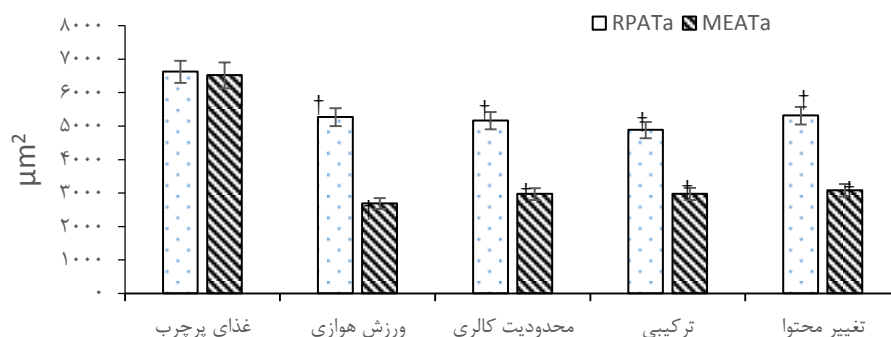
LDL: لیپوپروتئین با چگالی پایین، †: تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب ( $P \leq 0.05$ )

mmol / L: Mmol per liter, Pmol / L: Picomol per liter, mg / dL: Milligrams per deciliter, HDL: High-density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein, †: Significant difference compared to high fat diet ( $P < 0.05$ )



**تغییرات هیستومورفومتری:** مساحت سلول‌های چربی ناحیه مزنتریک در هفته بیست و هشتم در گروه غذای پرچرب غیراشباع، به‌طور معناداری بیش از سایر گروه‌های مداخله بود ( $P < 0.05$ ). میانگین سطح سلول چربی ناحیه مزنتریک در گروه تمرین ورزشی با بیشترین کاهش (۵۸/۸ درصد) در مقایسه با گروه غذای پرچرب غیراشباع ( $230/42 \pm 38$  /  $2684/ \pm 276/85$  در مقابل  $6515/50$ )، تفاوت معناداری را با سایر گروه‌های مداخله انرژی نشان داد ( $P < 0.05$ )؛ این در حالی بود که گروه‌های ورزش هوازی، محدودیت کالری، ترکیبی و تغییر رژیم غذایی، به‌ترتیب بیشترین تا کمترین کاهش میانگین سطح در سلول چربی ناحیه مزنتریک را به خود اختصاص دادند.

مساحت سلول‌های چربی ناحیه رتروپریتونال نیز در هفته بیست و هشتم در گروه غذای پرچرب غیراشباع، به‌طور معناداری بیش از سایر گروه‌های مداخله بود ( $P < 0.05$ ). بین گروه‌های مداخله انرژی نیز تفاوت‌های معنادار مشاهده شد ( $P < 0.05$ )؛ به این صورت که بین گروه ترکیبی با سه گروه دیگر و محدودیت کالری با تغییر رژیم غذایی، تفاوت‌های معنادار مشاهده شد ( $P < 0.05$ )؛ این در حالی بود که گروه‌های ترکیبی، محدودیت کالری، ورزش هوازی و تغییر رژیم غذایی، به‌ترتیب بیشترین تا کمترین کاهش میانگین سطح در سلول چربی ناحیه رتروپریتونال را به خود اختصاص دادند.



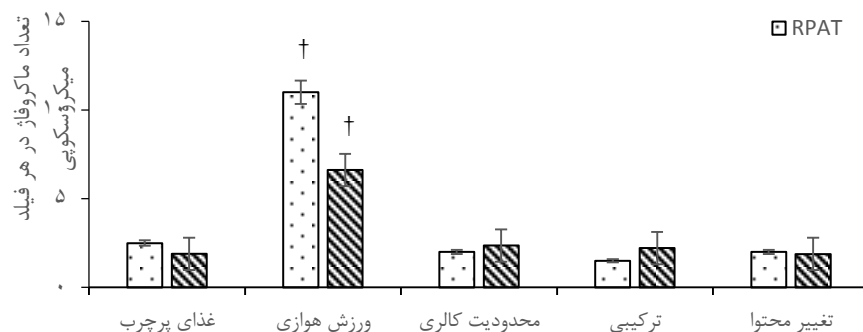
شکل ۳- مساحت آدیپوسیت نواحی مزنتریک و رتروپریتونال

µm<sup>2</sup>: میکرومتر مربع، RPATa: سطح مقطع سلول چربی ناحیه رتروپریتونال، MEATa: سطح مقطع سلول چربی ناحیه مزنتریک، †: تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب در گروه‌های نظیر ( $P \leq 0.05$ )

Figure 3 - Adipocyte area of the mesenteric and retroperitoneal areas



$\mu\text{m}^2$ : Micrometers square, RPATa: Retroperitoneal adipocyte tissue area, MEATa: Mesenteric adipocyte tissue area, †: Significant difference compared to high-fat diet in groups ( $P < 0.05$ )



شکل ۴- نفوذ ماکروفاژی به نواحی مزنتریک و رتروپریتونئال

RPATa: چربی ناحیه رتروپریتونئال، MEAT: چربی ناحیه مزنتریک، †: تفاوت معنادار در مقایسه با گروه غذای پرچرب در گروه‌های نظیر ( $P \leq 0.05$ )

#### Figure 4- macrophage infiltration to the mesenteric and retroperitoneal areas

RPATa: Retroperitoneal adipose tissue area, MEATa: Mesenteric adipose tissue area, †: Significant difference compared to high-fat diet in groups ( $P < 0.05$ )

در هفته بیست و هشتم، گروه غذای پرچرب در تعداد ماکروفاژهای ناحیه مزنتریک و رتروپریتونئال با گروه ورزش هوازی تفاوت معناداری را نشان داد ( $P < 0.01$ ).

پس از بررسی نتایج آزمون تعقیبی توکی مشخص شد که بین نفوذ ماکروفاژی در بافت چربی ناحیه احشایی گروه تمرین هوازی با غذای پرچرب، تفاوت معنادار وجود داشت ( $P < 0.01$ ). نتایج آزمون تعقیبی توکی درباره نفوذ ماکروفاژی به بافت رتروپریتونئال نیز تنها تفاوت معنادار بین تمرین هوازی با گروه غذای پرچرب را نشان داد ( $P < 0.01$ ) و سایر پروتکل‌های محدودیت کالری، ترکیبی یا تغییر محتوای رژیم غذایی، تفاوت معناداری را ایجاد نکردند ( $P > 0.05$ ).



جدول ۳- همبستگی متغیرهای بیوشیمیایی با اندازه آدیپوسیت بافت‌های چربی مزنتریک و رتروپریتونئال در موش‌های صحرائی

Table 3- Correlation of biochemical variables with adipocyte size of mesenteric and retroperitoneal adipose tissues in rats

اندازه آدیپوسیت بافت چربی مزنتریک Adipocyte size of mesenteric adipose tissue	اندازه آدیپوسیت بافت چربی رتروپریتونئال Adipocyte size of retroperitoneal adipose tissue	متغیر Variable
0.55 **	0.40 **	گلوکز Glucose (mmol/L)
0.59 **	0.46 **	انسولین Insulin (Pmol/L)
0.68 **	0.52 **	HOMA-IR
0.44 **	0.27 *	تری‌گلیسیرید Triglyceride (mg/dL)
0.50 **	0.49 **	کلسترول تام Total cholesterol (mg/dL)
-0.29 *	-0.31 **	(mg/dL) LDL
0.31 *	0.15	(mg/dL) HDL

\*: معناداری در سطح  $P < 0.05$ , \*\*: معناداری در سطح  $P < 0.01$

\*: Significance at the level of  $P < 0.05$ , \*\*: Significance at the level of  $P < 0.01$

براساس نتایج جدول شماره سه، تمام متغیرهای متابولیک قندی با اندازه آدیپوسیت نواحی مطالعه‌شده ارتباط معنادار داشتند ( $P < 0.05$ ). همچنین تمام متغیرهای متابولیک پروفایل لیپیدی



به جز LDL با آدیپوسیت ناحیه رتروپریتونئال، با اندازه آدیپوسیت نواحی نظیر مطالعه شده ارتباط معناداری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۴- ارتباط بین اندازه آدیپوسیت و نفوذ ماکروفاژی در آدیپوسیت‌های ناحیه نظیر

Table 4- Relationship between adipocyte size and macrophage infiltration in adipocytes in peer area

متغیر Variable	اندازه آدیپوسیت رتروپریتونئال Retroperitoneal adipocyte size		اندازه آدیپوسیت مزنتریک Mesenteric adipocyte size		گروه Group
نفوذ ماکروفاژی Macrophage infiltration	Sig: 0.15	r: 0.29	Sig: 0.95	r: 0.01	کنترل Control
	Sig: 0.15	r: -0.38	Sig: 0.13	r: -0.40	غذای پرچرب High fat diet
	Sig: 0.5	r: -0.28	Sig: 0.02*	r: 0.79	تمرین هوازی Aerobic exercise
	Sig: 0.36	r: 0.38	Sig: 0.59	r: 0.22	محدودیت کالری Calorie restriction
	Sig: 0.36	r: 0.37	Sig: 0.24	r: 0.47	ترکیبی Combined
	Sig: 0.44	r: 0.31	Sig: 0.09	r: 0.5	تغییر محتوای غذایی Change of food content

\*: معناداری در سطح  $P < 0.05$

\*: Significance at the level of  $P < 0.05$

براساس نتایج جدول شماره چهار، بین اندازه آدیپوسیت و نفوذ ماکروفاژی در بافت چربی ناحیه رتروپریتونئال در هیچ‌یک از گروه‌های مطالعه شده ارتباط معنادار وجود نداشت؛ این در حالی بود که اندازه آدیپوسیت و نفوذ ماکروفاژی در بافت چربی ناحیه مزنتریک در گروه تمرین هوازی ارتباط معناداری را نشان داد ( $P < 0.05$ ).



## بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد مصرف بلندمدت (۱۸ و ۲۸ هفته) غذای پرچرب - به‌رغم اینکه چربی غیراشباع حدود ۳۲/۴ درصد انرژی غذا را تشکیل می‌داد - احتمالاً به‌دلیل دریافت کالری بیشتر (۴/۸۴ در مقابل ۳/۸۶ کالری بر گرم) و افزایش وزن چشمگیر و اختلاف معنادار (۱۹ درصد در هفته هجدهم و ۱۵ درصد در هفته بیست و هشتم) در گروه غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل، سبب اختلال شدید در متابولیسم گلوکز در گروه غذای پرچرب می‌شود. در واقع، افزایش معنادار متغیرهای سرمی قندی و شاخص مقاومت به انسولین در گروه غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل در هفته‌های هجدهم و بیست و هشتم، نشان‌دهنده اختلال متابولیسم گلوکز در اثر دریافت کالری زیاد است. اندازه آدیپوسیت هر دو ناحیه حفره شکمی نیز در گروه غذای پرچرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری را در هفته‌های هجدهم و بیست و هشتم نشان داد که این تغییرات با اختلال در شاخص‌های متابولیسم قند هم‌راستا بود. یافته‌های پژوهش حاضر در راستای اختلال متابولیک و تغییرات وزنی با نتایج مطالعاتی همسوست که از چربی اشباع استفاده کرده بودند (۱۳)؛ بنابراین با استناد به تغییرات وزنی بین گروه‌های کنترل و غذای پرچرب می‌توان اذعان داشت که حتی مصرف غذای پرچرب با محتوای روغن گیاهی خوراکی کانولا (چربی غیراشباع) به‌صورت بلندمدت می‌تواند سبب افزایش معنادار وزن شود که با نتایج برخی مطالعات مبنی بر بازداری چاقی ناشی از مصرف روغن‌های گیاهی با زنجیره کوتاه همخوانی ندارد (۱۴) که احتمالاً به‌دلیل دوره مصرف کوتاه در این پژوهش‌ها بوده است؛ این در حالی است که در پژوهش حاضر به‌مدت هفت ماه رژیم غذای پرچرب غیراشباع اعمال شد. اهمیت این یافته با در نظر گرفتن این موضوع که بیش از ۹۰ درصد از روغن مصرفی سطح جهان از نوع غیراشباع و اصلاح‌شده است، دوچندان می‌شود. این یافته با گزارش اخیر گوین<sup>۱</sup> و همکاران درباره تأثیر نداشتن درصد چربی و همچنین سهم درصد اشباع و غیراشباع در بروز چاقی با استفاده از چهار رژیم پرچرب با تخصیص درصدهای متفاوت چربی اشباع و غیراشباع، همخوانی دارد (۱۵).

در پژوهش حاضر از بین گروه‌های مداخله، تنها گروه محدودیت کالری پس از ده هفته، کاهش وزن چشمگیر (۸/۲ درصد) و معناداری را نشان داد و سایر گروه‌های مداخله شامل روش‌های تغییر محتوای غذا، تمرین هوازی، ترکیبی (تمرین هوازی و محدودیت کالری) و تغییر محتوا در مقایسه با گروه غذای پرچرب، به‌رغم کاهش چشمگیر به‌ترتیب ۵، ۵/۹، ۴/۴ و ۵/۱ درصدی، تفاوت معناداری

1. Nguyen



را نشان ندادند. در مجموع، ۱۰ هفته مداخله انرژی بیانگر کارایی تعاملی هر چهار پروتکل به کاررفته در متابولیسم و تنظیم وزن بدن است. در تفسیر این نتایج با توجه به اینکه درصد چربی بدن موش-های صحرایی در پژوهش حاضر بررسی نشده است و همچنین احتمال اثر میوزنیک تمرین (اگرچه تمرینات هوازی بوده‌اند) در گروه‌های تمرین هوازی و ترکیبی، نمی‌توان روش بهینه تنظیم مجدد اختلال متابولیک را تنها با تکیه بر نتایج وزنی توجیه کرد. در این راستا نیز اسکورک<sup>۱</sup> و همکاران گزارش کردند اندازه آدیپوسیت‌ها می‌تواند تعیین‌کننده مهمی در تولید و ترشح شبه‌هورمون‌های ضدالتهابی و تنظیم‌کننده قندخون باشد (۱۶)؛ بنابراین در ادامه به بررسی شاخص‌های متابولیسم قند و چربی و وضعیت نفوذ ماکروفاژی و رابطه آن‌ها با تغییرات هیستولوژیک آدیپوسیت‌های نواحی مطالعه‌شده می‌پردازیم.

درباره اثر روش‌های محدودیت کالری و تغییر محتوای رژیم غذایی در بهبود حساسیت انسولین اجماع نظر وجود دارد (۱۷، ۹) و بسیاری از پژوهشگران به بررسی اثر انواع روش‌های تغییر هزینه و دریافت کالری بر شاخص‌های اثرگذار بر مقاومت به انسولین پرداخته‌اند. برخی از پژوهش‌ها در زمینه وضعیت متابولیک و هیستولوژی آدیپوسیت‌ها، ارتباط بین اندازه آدیپوسیت‌ها با مقاومت به انسولین را گزارش کرده‌اند (۱۸، ۱۹)؛ باین حال مطالعات، نتایج متناقضی را درباره میزان اثرگذاری پروتکل‌های تمرینی، رژیم کم‌کالری یا تغییر محتوای رژیم غذایی گزارش کرده‌اند و نمی‌توان برآیند خاصی را برای آن‌ها متصور شد؛ بنابراین برای تفسیر نتایج به‌دست‌آمده، علاوه بر اندازه آدیپوسیت باید جنبه‌های گوناگونی مانند پروتکل تمرین (کوتاه‌مدت یا طولانی‌مدت)، شدت تمرین، نوع آزمودنی (سالم، مبتلا به مقاومت انسولینی یا دیابت نوع دوم)، رژیم غذایی و حتی محتوای رژیم غذایی نیز در تفسیر نتایج، مد نظر قرار گیرند. در همین زمینه می‌توان اذعان کرد که نتایج پژوهش حاضر از این لحاظ حائز اهمیت و مقایسه‌شدنی با گزارش پژوهش‌هایی با مداخله فعالیت بدنی است که به‌رغم چاقی چشمگیر (۱۹ درصد اختلاف وزن با گروه رژیم استاندارد در هفته هجدهم)، موش-های صحرایی گروه‌های مداخله در این پژوهش در تمرینات با شدت، مشابه با موش‌های صحرایی سالم در سایر پژوهش‌ها دویدند.

بررسی هیستولوژیک آدیپوسیت نشان داد اندازه آدیپوسیت در هر دو ناحیه مطالعه‌شده، پس از ۱۸ و ۲۸ هفته در گروه رژیم غذایی پرچرب افزایش معنادار و پس از ۱۰ هفته روش‌های مداخله‌ای در

## 1. Skurk



هر چهار گروه کاهش معناداری داشت. تغییرات حجمی هم‌جهت و معنادار آدیپوسیت هر دو ناحیه حفره شکمی در تمام گروه‌های این پژوهش، اهمیت تغییرات مورفولوژیک بافت چربی حفره شکمی را در پاسخ به تغییرات هزینه و دریافت انرژی به‌وضوح نشان می‌دهد. همسو با تغییرات مورفولوژیک آدیپوسیت‌ها (کاهش اندازه آدیپوسیت در بافت چربی مزنتریک و رتروپریتونئال)، پژوهش حاضر نشان داد تمام گروه‌های مداخله، بهبود وضعیت متابولیسم قندی و لیپیدی را به همراه داشتند؛ بنابراین می‌توان حداقل بخشی از بهبود متابولیسم گلوکز، انسولین و درنهایت، شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های مذکور را متبادر با کاهش اندازه آدیپوسیت‌ها دانست که هم‌راستا با رابطه معنادار تمام متغیرهای نیم‌رخ قندی با اندازه آدیپوسیت‌های نواحی مطالعه‌شده است. یافته مذکور با نتایج پژوهش میازاکی و همکاران مبنی بر وجود شیب خطوط رگرسیون سه و چهار برابر بین اندازه آدیپوسیت و بیان ژن آدیپونکتین به‌عنوان یکی از تقویت‌کننده‌های حساسیت انسولین، به ترتیب برای بافت چربی اپیدیدیم و اینگوینال<sup>۱</sup> در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل همخوانی دارد (۱۹). همچنین بهبود متغیرهای متابولیسم گلوکز در گروه‌های مداخله در پژوهش حاضر با مطالعاتی همسوست که پروتکل‌های تعادل منفی انرژی را به‌عنوان روشی راهبردی و مؤثر از طریق کاهش توده چربی مزنتریک و حفظ نسبی توده عضلانی و متعاقب آن ایجاد محیطی ضدالتهابی در کنترل بیماری‌های مرتبط با التهاب نظیر دیابت، در نظر گرفتند (۲۰، ۲۱).

در باره اندازه آدیپوسیت در بافت چربی نواحی مطالعه‌شده نیز کاهش چشمگیر اندازه‌های آدیپوسیت در قیاس با کاهش وزن صورت‌گرفته در گروه‌های تعادل منفی انرژی در مقایسه با گروه غذای پرچرب (میانگین کاهش اندازه آدیپوسیت در هر دو ناحیه: ۴۱/۳ درصد در مقابل میانگین کاهش وزن موش‌های صحرایی: ۵/۱ درصد) مشاهده شد. این یافته بیانگر این است که بیشترین کاهش وزن صورت‌گرفته به‌واسطه کاهش حجم آدیپوسیت‌ها در نواحی مطالعه‌شده صورت می‌گیرد و سایر نواحی توزیع چربی، احتمالاً کمتر دستخوش تغییر شده‌اند. با در نظر گرفتن اینکه گروه محدودیت کالری تنها گروهی بود که کاهش معنادار وزن را نشان داد و درعین حال از تمرین هوازی بهره‌مند نبود، به نظر می‌رسد بخشی از کاهش وزن در گروه مذکور به‌واسطه ازدست‌دادن بافت عضلانی باشد؛ البته برای روشن‌شدن موضوع طرح‌شده استفاده از تصویربرداری مغناطیسی در پژوهش‌های آینده بسیار کمک‌کننده خواهد بود که از ضعف‌های پژوهش حاضر محسوب می‌شود. با توجه به اینکه کاهش اندازه آدیپوسیت در گروه‌های تعادل منفی انرژی در ناحیه مزنتریک (میانگین ۵۹/۳

## 1. Epididymis and Inguinal





درصد) در مقایسه با ناحیه رتروپریتونئال (میانگین ۲۳/۳ درصد) ۲/۵ برابر بیشتر بوده است، می‌توان ادعان داشت که اندازه آدیپوسیت ناحیه مزنتریک از عوامل مهم اثرگذار بر متابولیسم گلوکز و میانجی‌های تنظیم‌کننده آن است. علاوه بر این، براساس نتایج پژوهش حاضر، حساسیت بیشتر چربی ناحیه مزنتریک از نظر تغییر اندازه آدیپوسیت به هزینه و دریافت انرژی تأیید می‌شود؛ البته در نظر گرفتن چنین استنباطی باید با احتیاط بسیار زیادی صورت گیرد؛ زیرا به‌رغم برتری چشمگیر میانگین کاهش اندازه آدیپوسیت در ناحیه مزنتریک در مقایسه با رتروپریتونئال (به ترتیب ۵۹/۳ در مقابل ۲۳/۳ درصد) در گروه‌های تعادل منفی انرژی برخلاف نتایج برخی مطالعات (۲۲، ۲۳)، باید تمایز تفاوت احتمالی اثرگذاری بافت چربی نواحی رتروپریتونئال و مزنتریک را بر تنظیم‌کننده‌های التهابی و ضدالتهابی متابولیسم گلوکز نیز بررسی کرد؛ بنابراین به‌منظور مشخص شدن مکانیسم چنین تغییراتی به‌خصوص در خلال مصرف غذای پرچرب حاوی چربی غیراشباع با درصد زیاد، انجام‌دادن پژوهش‌های بیشتر ضرورت دارد.

یکی از عوامل دیگری که احتمال اثربخشی اندازه آدیپوسیت بر متابولیسم گلوکز را بیشتر می‌کند، تهاجم ماکروفاژی به بافت چربی در خلال شرایط چاقی و در نتیجه هایپرتروفی آدیپوسیت‌هاست که البته ملاحظات مربوط به خود را دارد؛ به‌عنوان مثال، با توجه به ادبیات پژوهشی در این زمینه، ماکروفاژ به‌عنوان میانجی التهابی و سرکوب‌کننده ترشح میانجی‌های ضدالتهابی محسوب می‌شود (۲۴-۲۶) که براساس یافته‌های اخیر به‌ویژه در خلال دوره کاهش وزن نقش‌های متفاوتی برای آن-ها متصور می‌شود (۲۷-۲۹، ۱۶)؛ به‌عنوان مثال، برخی پژوهشگران نرخ جریان موضعی اسیدهای چرب را یکی از عوامل تنظیم‌کننده اصلی فراخوانی ماکروفاژها به بافت چربی می‌دانند که به نقش ماکروفاژها به‌عنوان بافر در شرایط افزایش غلظت چربی اشاره می‌کند و با پوشیده شدن سطح ماکروفاژها با چربی تأیید شده است (۳۰). نقش دیگری که برای ماکروفاژها در نظر گرفته می‌شود، تهاجم کنترل‌نشده به بافت چربی در شرایط اختلال متابولیکی کامل است که با التهاب موضعی و سیستمی و تجمع مشخص و حلقه‌مانند ماکروفاژها در اطراف آدیپوسیت هایپرتروفی شده (ساختارهای شبه‌تاجی) تشخیص‌دانی است. در پژوهش حاضر برخلاف پژوهش‌هایی که با بررسی‌های هسیتولوژیک بافت چربی، اختلال متابولیک در افراد چاق را با حضور ساختارهای شبه‌تاجی مرتبط دانسته‌اند (۳۲، ۳۱)، هیچ‌گونه ساختار شبه‌تاجی تشخیص‌دانی نبود. یافته اخیر با توجه به اینکه رژیم غذایی استفاده‌شده از نوع غیراشباع بود و همچنین در نظر گرفتن اینکه اختلال متابولیک در پروفایل لیپیدی به‌طور کامل روی نداده بود، توجیه‌شدنی است؛ زیرا ساختارهای



شبه تاجی عمدتاً در افراد چاقی گزارش شده است که از رژیم‌های پرچرب اشباع استفاده می‌کنند و درعین حال در شرایط اختلال کامل متابولیک قرار دارند و در واقع در بافت چربی مقادیر چشمگیری آدیپوسیت‌های هایپر تروفیک-آپوتوتیک بروز می‌دهند؛ بنابراین نبود ساختارهای شبه تاجی در گروه-های مطالعه شده در پژوهش حاضر را می‌توان بنا بر پیشینه موجود، مبین وقوع نیافتن حالت بیش‌التهابی در اثر رژیم غذایی پرچرب غیر اشباع دانست؛ با وجود این، برای روشن شدن چنین وضعیتی، انجام دادن پژوهش‌های بیشتر با رویکرد بررسی تعادل میانجی‌های التهابی و ضدالتهابی کمک‌کننده خواهد بود.

ماکروفازهایی که در بافت چربی موش‌های چاق تجمع می‌یابند، عمدتاً فنوتیپ ژن‌های مرتبط با M1 (گونه میانجی آبشارهای پیش التهابی) را بیان می‌کنند؛ در حالی که ماکروفازهای بافت چربی موش‌های سالم و عمدتاً لاغر، فنوتیپ ژن‌های مرتبط با M2 (گونه مقیم بافت چربی) را بیان می‌کنند (۳۳، ۳۴) که به ترتیب معرف دو وضعیت التهابی و غیرالتهابی هستند. با توجه به این حقیقت علمی که پاسخ مورفولوژیک آدیپوسیت‌ها و فنوتیپ ماکروفازها به شدت‌های مختلف تعادل منفی انرژی بر پایه فرضیه فشار متابولیک<sup>۱</sup> متفاوت هستند، این امکان وجود دارد که نوع (قطبیت) جمعیت ماکروفازهای وارد شده به بافت چربی یا اندازه آدیپوسیت‌ها که جزئی از پیوستار هومئوستاز انرژی و التهاب هستند، دلیل تفاوت در پاسخ به پروتکل‌های تعادل منفی انرژی باشد. مطلب مذکور به دو دلیل طرح شد: اول اینکه پژوهشگران مطالعه حاضر نتوانستند رنگ‌آمیزی اختصاصی ماکروفازها و در نتیجه قطبیت ماکروفازها را محقق کنند؛ دوم اینکه به رغم تلاش پژوهشگران در اعمال پروتکل‌های تعادل منفی انرژی به صورت ایزوکالریک، فشار متابولیک ناشی از پروتکل‌ها به صورت ذاتی با یکدیگر تفاوت دارد؛ یعنی تمرین هوازی فشار متابولیک مدنظر را طی چند ساعت اعمال می‌کند، ولی پروتکل محدودیت کالری معادل همان فشار را در خلال یک روز اعمال می‌کند. از طرفی این فرایند ممکن است بسیار پیچیده باشد؛ زیرا بنا بر گزارش اخیر اسپالدینگ<sup>۲</sup> و همکاران، در حالت چاقی مرگ سلول‌های چربی اتفاق نمی‌افتد (۳۵)؛ بنابراین نفوذ ماکروفازی که تنها در گروه تمرین هوازی معنادار گزارش شده است، احتمالاً در اثر آپوتوز آدیپوسیت‌ها روی نمی‌دهد و می‌توان نقش بافرینگ چربی را برای آن متصور شد که احتمالاً دلیل تفاوت نتیجه پژوهش حاضر با مطالعاتی است که ارتباط قوی و مثبتی بین هایپر تروفی آدیپوسیت‌ها و نفوذ ماکروفازی گزارش کرده‌اند (۳۶، ۳۷، ۳۰). از طرفی با توجه به اینکه اندازه آدیپوسیت‌ها در گروه تمرین هوازی در بافت

1. Metabolic Stress

2. Spalding



چربی نواحی مزنتریک و رتروپریتونئال، به ترتیب ۵۹/۳ و ۲۳/۳ درصد کاهش پیدا کرد، پژوهشگران مطالعه حاضر انتظار داشتند تعداد ماکروفاژها کاهش پیدا کند. با در نظر گرفتن افزایش معنادار تعداد ماکروفاژها در آدیپوست‌های هر دو ناحیه مطالعه شده در گروه هوازی، براساس فرضیه‌های مطرح شده درباره تهاجم یا نفوذ ماکروفاژی به بافت چربی، تنها یکی از فرضیه‌های موجود با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. با توجه به بهبود چشمگیر پروفایل لیپیدی در گروه تمرین هوازی، احتمالاً فرضیه عملکرد بافری ماکروفاژها در اثر افزایش جریان چربی موضعی (۳۰) در اثر فشار متابولیک ناشی از تمرین هوازی به وقوع می‌پیوندد که دلیل افزایش تعداد ماکروفاژها در آدیپوست‌های نواحی مطالعه شده در این گروه است.

در پژوهش حاضر، سطوح سرمی تری‌گلیسیرید در گروه‌های محدودیت کالری، تمرین هوازی، ترکیبی و تغییر محتوای رژیم غذایی، به ترتیب کاهش معنادار ۴۴، ۳۰، ۲۸ و ۳۱ درصدی را در مقایسه با گروه غذای پرچرب نشان دادند که با نتایج پژوهش‌های توواتی<sup>۱</sup> و همکاران (۷) و برنیکو<sup>۲</sup> و همکاران (۳۸) همسو بود. همچنین کریستیانسن<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند ۱۲ هفته تعادل منفی انرژی (هشت هفته رژیم بسیار کم کالری و چهار هفته رژیم متعادل همراه با تمرین ورزشی) سبب بهبود پروفایل لیپیدی می‌شود (۳۹). در پژوهش حاضر، متغیرهای نیم‌رخ لیپیدی به‌رغم بهبود در تمام گروه‌های مداخله انرژی، تنها گروه تمرین هوازی بهبود معنادار کلسترول تام و LDL را در مقایسه با گروه غذایی پرچرب نشان داد. اختلاف پاسخ نیم‌رخ لیپیدی بین گروه‌ها در پژوهش حاضر و برتری تمرین هوازی در مقایسه با سایر گروه‌ها در بهبود نیم‌رخ لیپیدی، احتمالاً فشار متابولیک بیشتر این روش در مقایسه با سایر روش‌های اعمال شده است؛ بنابراین حتی با در نظر گرفتن درصد برابری از تعادل منفی انرژی، باید برای روش‌های متفاوت، مکانیسم‌های متفاوتی را متصور شد. از طرفی ناتوانی روش‌های محدودیت کالری و ترکیبی در بهبود HDL و کلسترول را می‌توان به نبود تفاوت معنادار در سطح پایه و پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب غیراشباع مربوط دانست که در واقع نشان‌دهنده القانشدن اختلال کامل در متابولیسم لیپیدی است. اختلاف نتایج پژوهش حاضر (ناتوانی روش‌های محدودیت کالری و ترکیبی در بهبود تمام متغیرهای نیم‌رخ لیپیدی) با مطالعاتی که از روش‌های تعادل منفی انرژی استفاده کرده بودند را می‌توان به شدت‌های بیشتر تعادل منفی

1. Touati
2. Burneiko
3. Christiansen



انرژی در این گونه پژوهش‌ها (۳۹، ۳۸) و همچنین القاشدن اختلال کامل در پروفایل لیپیدی به دلیل استفاده از چربی غیراشباع در رژیم غذایی نسبت داد. در واقع، در پژوهش حاضر، افزایش غیرمعدار HDL-C پس از ۱۰ هفته روش‌های تعادل منفی انرژی و تغییر محتوای رژیم غذایی در مقایسه با گروه غذای پرچرب را می‌توان به کاهش معنادار نیافتن متغیر مذکور در هفته هجدهم مربوط دانست. با در نظر گرفتن رابطه معنادار اندازه آدیپوسیت هر دو ناحیه مطالعه شده با متغیرهای متابولیسم گلوکز، شاخص مقاومت به انسولین و همچنین متغیرهای پروفایل لیپیدی (به استثنای LDL) می‌توان به وضوح نقش کلیدی وضعیت مورفولوژیک آدیپوسیت‌های حفره شکمی در تنظیم فرایندهای متابولیک را تأیید کرد.

از ضعف‌های پژوهش حاضر، نبود دسترسی به گاز آنالایزر مخصوص جوندگان برای بررسی حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌ها و افزایش شدت تمرین متناسب با آن، نبود دسترسی به کیت‌های رنگ‌آمیزی تخصصی ماکروفاژها برای روشن شدن قطبیت ماکروفاژهای موجود و همچنین نبود دسترسی به تصویربرداری مغناطیسی برای ارزیابی تغییرات توده عضلانی محسوب می‌شود. از دیگر ضعف‌های مطالعه حاضر می‌توان به استفاده نشدن از گروه‌های تعادل منفی انرژی (تمرین هوایی، محدودیت کالری و ترکیب دو روش) تحت رژیم غذایی استاندارد برای تمایز اثر تعادل منفی انرژی از رژیم غذایی پرچرب اشاره کرد که به دلیل افزایش چشمگیر تعداد نمونه‌های جوندگان از قراردادن این گروه‌ها خودداری شد.

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر کارایی روش‌های تعادل منفی انرژی در کاهش اندازه آدیپوسیت در بافت‌های چربی مزنتریک و رتروپریتونال به همراه بهبود وضعیت متابولیک حتی در زمان مصرف غذای پرچرب را نشان داد. همچنین شواهدی مبنی بر اهمیت وضعیت مورفولوژیک سلول‌های چربی در تغییرات نیم‌رخ لیپیدی و متابولیسمی به دست آمد و این فرضیه تأیید شد که احتمالاً اختلال متابولیک بیش از آنکه به نوع چربی استفاده شده بستگی داشته باشد، به میزان کالری دریافتی مرتبط است؛ زیرا برخی متغیرهای پروفایل لیپیدی در فاز اول پژوهش (۱۸ هفته نخست) دچار اختلال نشدند، ولی در مجموع هر دو پروفایل قندی و لیپیدی اختلال القاشده را نشان دادند. همچنین براساس نتایج پژوهش حاضر، پروتکل‌های تعادل منفی انرژی قادر به بهبود مؤثر متغیرهای متابولیسم گلوکز و همچنین بهبود نسبی متغیرهای پروفایل لیپیدی هستند. نتایج مطالعه حاضر از این نظر درخور توجه‌اند که مکانیسم‌های مورفولوژیک درگیر در بهبود متغیرهای متابولیک را تا حدودی روشن می‌کنند؛ یعنی مکانیسم‌های بهبود متغیرهای مذکور در پروتکل‌های متفاوت از گوناگونی درخور توجهی برخوردارند. در نهایت، به دلیل نبود امکان ارزیابی حجم عضلانی،



پژوهشگران به گزارش درصد دقیق کاهش چربی در مقابل افزایش یا کاهش توده عضلانی موفق نشدند و هیچ‌یک از روش‌های مذکور نیز از نظر آماری بر دیگری برتری نداشتند، ولی در بین روش‌های محدودیت کالری، به‌خصوص با در نظر گرفتن کاهش وزن تام، محدودیت کالری یکی از موفق‌ترین روش‌های پژوهش حاضر بود.

### پیام مقاله

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محدودیت کالری و فعالیت ورزشی حتی با مصرف غذای پرچرب، منجر به کاهش اندازه سلول‌های چربی و بهبود در اختلالات متابولیکی می‌شود. در این رابطه، مشخص شد که میزان کالری دریافتی، اثرگذاری بیشتری نسبت به نوع چربی استفاده شده بر اختلالات متابولیکی دارد.

### ملاحظات اخلاقی

#### پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در مطالعه حاضر، رضایت آگاهانه از شرکت کنندگان در پژوهش کسب شده است.

#### حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

#### مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاران حوزه پژوهشی و آزمایشگاه جوندگان دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان، کارشناسان آزمایشگاه مرکز غدد درون‌ریز تهران و همکاران مرکز بافت‌شناسی دانشکده علوم پزشکی گیلان قدردانی کنند.



## منابع

1. Lee D-Y, Rhee E-J, Chang Y, Sohn CI, Shin H-C, Ryu S, Lee W-Y. Impact of systemic inflammation on the relationship between insulin resistance and all-cause and cancer-related mortality. *Metabolism*. 2018;81:52-62.
2. Bessesen D, Bergouignan A. Behavior change strategies for increasing exercise and decreasing sedentary behaviors in diabetes. In: *Diabetes and exercise*. Cham: Humana Press; 2018, pp. 201-19.
3. Sahin-Efe A, Upadhyay J, Ko B-J, Dincer F, Park KH, Migdal A, et al. Irisin and leptin concentrations in relation to obesity, and developing type 2 diabetes: a cross sectional and a prospective case-control study nested in the Normative Aging Study. *Metabolism*. 2018;79:24-32.
4. Harris L, Melville C, Murray H, Hankey C. The effects of multi-component weight management interventions on weight loss in adults with intellectual disabilities and obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Res Dev Disabil*. 2018;72:42-55.
5. Thandapilly SJ, Raj P, Louis XL, Perera D, Yamanagedara P, Zahradka P, et al. Canola oil rich in oleic acid improves diastolic heart function in diet-induced obese rats. *J Physiol Sci*. 2017;67(3):425-30.
6. Gray B, Steyn F, Davies P, Vitetta L. Omega-3 fatty acids: a review of the effects on adiponectin and leptin and potential implications for obesity management. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(12):1234-42.
7. Touati S, Meziri F, Devaux S, Berthelot A, Touyz RM, Laurant P. Exercise reverses metabolic syndrome in high-fat diet-induced obese rats. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(3):398-407.
8. Stefanyk LE, Dyck DJ. The interaction between adipokines, diet and exercise on muscle insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(3):255-9.
9. 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.
10. Kingston RC, Smith M, Lacey T, Edwards M, Best JN, Markham CM. Voluntary exercise increases resilience to social defeat stress in Syrian hamsters. *Physiology & Behavior*. 2018;188:194-8.
11. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502.
12. Chapados N, Collin P, Imbeault P, Corriveau P, Lavoie J-M. Exercise training decreases in vitro stimulated lipolysis in a visceral (mesenteric) but not in the retroperitoneal fat depot of high-fat-fed rats. *Br J Nutr*. 2008;100(3):518-25.
13. Tam J, Godlewski G, Earley BJ, Zhou L, Jourdan T, Szanda G, et al. Role of adiponectin in the metabolic effects of cannabinoid type 1 receptor blockade in mice with diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;306(4):E457-E68.



14. den Besten G, Bleeker A, Gerding A, van Eunen K, Havinga R, van Dijk TH, et al. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a PPAR $\gamma$ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes*. 2015;64(7):2398-408.
15. Nguyen S, Shao D, Tomasi LC, Braun A, de Mattos ABM, Choi YS, et al. The effects of fatty acid composition on cardiac hypertrophy and function in mouse models of diet-induced obesity. *J Nutr Biochem*. 2017; 46:137-142.
16. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2007;92(3):1023-33.
17. Wang Y, Meng R-W, Kunutsor SK, Chowdhury R, Yuan J-M, Koh W-P, et al. Plasma adiponectin levels and type 2 diabetes risk: a nested case-control study in a Chinese population and an updated meta-analysis. *Scientific Reports*. 2018;8(1):406.
18. Allister-Price C, Craig CM, Spielman D, Cushman SS, McLaughlin TL. Metabolic markers, regional adiposity, and adipose cell size: relationship to insulin resistance in African-American as compared with Caucasian women. *International Journal of Obesity*. 2019;43(6):1164-73.
19. Miyazaki S, Izawa T, Ogasawara JE, Sakurai T, Nomura S, Kizaki T, et al. Effect of exercise training on adipocyte-size-dependent expression of leptin and adiponectin. *Life Sci*. 2010;86(17-18):691-8.
20. Hara T, Fujiwara H, Nakao H, Mimura T, Yoshikawa T, Fujimoto S. Body composition is related to increase in plasma adiponectin levels rather than training in young obese men. *Eur J Appl Physiol*. 2005;94(5-6):520-6.
21. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;28(3):10-9.
22. Oliver P, Ribot J, Rodriguez A, Sanchez J, Pico C, Palou A. Resistin as a putative modulator of insulin action in the daily feeding/fasting rhythm. *Pflügers Archiv*. 2006;452(3):260-7.
23. Stelmanska E, Kmiec Z, Swierczynski J. The gender-and fat depot-specific regulation of leptin, resistin and adiponectin genes expression by progesterone in rat. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012;132(1):160-7.
24. Awazawa M, Ueki K, Inabe K, Yamauchi T, Kubota N, Kaneko K, et al. Adiponectin enhances insulin sensitivity by increasing hepatic IRS-2 expression via a macrophage-derived IL-6-dependent pathway. *Cell Metab*. 2011;13(4):401-12.
25. Lovren F, Pan Y, Quan A, Szmítko P, E., Singh K, K., Shukla P, C., et al. Adiponectin primes human monocytes into alternative anti-inflammatory M2 macrophages. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(3):H656-H63.
26. Mandal P, Pratt B, T., Barnes M, McMullen M, R., Nagy L, E. Molecular mechanism for adiponectin-dependent M2 macrophage polarization link between the metabolic and innate immune activity of full-length adiponectin. *J Biol Chem*. 2011;286(15):13460-9.



27. Guerre-Millo M. Adiponectin: an update. *Diabetes & metabolism*. 2008;34(1):12-8.
28. Tian L, Luo N, Klein RL, Chung BH, Garvey WT, Fu Y. Adiponectin reduces lipid accumulation in macrophage foam cells. *Atherosclerosis*. 2009;202(1):152-61.
29. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004;92(3):347-55.
30. Kosteli A, Sugaru E, Haemmerle G, Martin JF, Lei J, Zechner R, et al. Weight loss and lipolysis promote a dynamic immune response in murine adipose tissue. *J Clin Invest*. 2010;120(10):3466-79.
31. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, et al. Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI. *Mol Cell Biol*. 2009;29(6):1575-91.
32. Murano I, Barbatelli G, Parisani V, Latini C, Muzzonigro G, Castellucci M, et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *J Lipid Res*. 2008;49(7):1562-8.
33. Ouchi N, Ohashi K, Shibata R, Murohara T. Adipocytokines and obesity-linked disorders. *Nagoya J Med Sci*. 2012;74(1-2):19-30.
34. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(1):23-35.
35. Spalding KL, Arner E, Westermarck PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. 2008;453(7196):783-7.
36. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, Murano I, Ceresi E, Faloia E, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *J Lipid Res*. 2005;46(11):2347-55.
37. de Victoria E, O, M., Xu X, Koska J, Francisco A, M., Scalise M, Ferrante A, W., et al. Macrophage content in subcutaneous adipose tissue associations with adiposity, age, inflammatory markers, and whole-body insulin action in healthy Pima Indians. *Diabetes*. 2009;58(2):385-93.
38. Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GM, Faine LA, et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol*. 2006;44(7):1167-72.
39. 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.

### استناد به مقاله

سعیدی پیام، محبی حمید، جوربنیان ابودر. تغییرات پاتومورفولوژی ماکروفاژ و بافت چربی نواحی مزنتریک و رتروپریتونئال به تغییر محتوای رژیم غذایی و سه روش ایزوکالریک تعادل منفی انرژی در موش‌های صحرائی چاق تحت رژیم غذایی پر چرب غیراشباع. *فیزیولوژی ورزشی*. بهار ۱۴۰۱؛ ۱۴(۵۳): ۱۲۰-۸۹.

شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2020.8184.1973



P. Saidie, H. Mohebbi, A. Jorbonian. Pathomorphological Changes of Macrophage and Adipose Tissue of Mesenteric and Retroperitoneal Areas to Food Content Change and Negative Energy Balance Methods in Unsaturated-High-Fat-Fed Male Obese Rats. Spring 2022; 14(53): 89-120. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2020.8184.1973

