

## تأثیر تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا بر آنژیوژنز بافت چربی در موش‌های صحرائی تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب

سرکوت کلاهدوزی<sup>۱</sup>، الهه طالبی گرکانی<sup>۲</sup>، غلامرضا حمیدیان<sup>۳</sup>، علی‌رضا صفرزاده<sup>۴</sup>

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران\*

۳. استادیار علوم پایه، دانشگاه تبریز

۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۰

### چکیده

هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین تناوبی با شدت بالا بر مورفولوژی و آنژیوژنز بافت چربی احشایی، در موش‌های صحرائی تغذیه‌شده با غذای پرچرب بود. تعداد ۲۰ سررت نر از نژاد ویستار با دامنه سنی چهار تا شش هفته و میانگین وزنی  $176/2 \pm 3/73$  گرم، براساس همگن‌سازی وزنی ابتدا به دو گروه تغذیه با غذای نرمال و غذای پرچرب (۱۰ سر در هر گروه) تقسیم شدند. پس از ۱۰ هفته، دوباره هریک از گروه‌ها به دو گروه مجزا (کنترل و تمرین) تقسیم شدند (پنج سر در هر گروه). گروه‌های تمرینی برای ۱۰ هفته (پنج روز در هفته) تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا را روی نوار گردان انجام دادند. حجم سلول چربی با روش استریولوژی و همچنین، چگالی مویرگی بافت چربی با روش ایمنوفلورسانس ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب منجر به افزایش معنادار وزن بدن ( $P < 0.001$ )، وزن بافت چربی ( $P < 0.001$ )، متوسط حجم سلول‌های چربی ( $P < 0.001$ )، گلوکز پلاسمایی ( $P < 0.001$ ) و کاهش چگالی مویرگی ( $P < 0.001$ ) نسبت به رژیم غذایی نرمال می‌شود. همچنین، تمرین تناوبی با شدت بالا موجب کاهش معنادار وزن بدن ( $P < 0.001$ )، وزن بافت چربی ( $P < 0.001$ )، حجم متوسط سلول‌های چربی ( $P < 0.001$ )، گلوکز پلاسما ( $P = 0.01$ )، انسولین ( $P = 0.003$ ) و شاخص مقاومت انسولینی ( $P = 0.002$ ) نسبت به رژیم غذایی به‌تنهایی می‌شود. به‌علاوه، آنژیوژنز بافت چربی در گروه تمرین + غذای پرچرب در مقایسه با گروه غذای پرچرب، به‌طور معناداری بیشتر است ( $P < 0.001$ ). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا موجب کاهش وزن بدن و وزن بافت چربی، از طریق افزایش آنژیوژنز و کاهش حجم سلول‌های چربی می‌شود که با بهبود هومئوستاز گلوکز همراه است.

**واژگان کلیدی:** بافت چربی، آنژیوژنز، تمرین ورزشی با شدت بالا، غذای پرچرب

## مقدمه

بافت چربی سفید با حفظ همئوستاز انرژی، برداشت و ذخیره لیپیدهای اضافی در خون، از رسوب اکتوییک چربی و بیماری‌های متعاقب آن جلوگیری می‌کند. این بافت با ترشح پروتئین‌های مختلف (آدیپوکاین‌ها)، بر تعادل انرژی و متابولیسم بدن نیز تأثیر می‌گذارد. با افزایش درصد چربی بدن، اندازه (هایپرتروفی) و تعداد (هایپرپلازی) سلول‌های چربی توسعه می‌یابد (۱). اختلال در روند آدیپوژنز می‌تواند در گسترش اختلالات متابولیک از جمله دیابت نوع دو نقش داشته باشد (۲). تراکم سلول‌های چربی با افزایش محتوای لیپیدی موجب تغییرات پاتولوژیک در بافت چربی، از قبیل تغییر در ترشح آدیپوکاین‌ها و افزایش التهاب بافت چربی به علت نفوذ و فعال شدن سلول‌های ایمنی می‌شود (۳، ۴، ۱). توسعه بافت چربی با رگ‌زایی (آنژیوژنز<sup>۱</sup> برای هایپرپلازی)، اتساع و بازسازی مویرگ‌های موجود (برای هایپرتروفی) همراه است؛ زیرا، انبساط بافت چربی به صورت مستقیم به تأمین افزایش تبادل گازها و مواد غذایی از خون بستگی دارد (۳). افزون‌براین، افزایش رسوب کلاژن طی توسعه چاقی، به عنوان یک مانع فیزیکی از توسعه مناسب سلول‌های چربی جلوگیری می‌کند و در نتیجه، منجر به تجمع اکتوییک چربی و مقاومت انسولینی می‌شود (۳). با این وجود، افزایش توده چربی در افراد چاق به خودی خود منعکس کننده افزایش خطر بیماری‌های مرتبط با چاقی نیست؛ بلکه اختلال در عملکرد بافت چربی و تجمع چربی احشایی از عوامل مهم در تعیین بیماری‌های مرتبط با چاقی محسوب می‌شوند. افزایش این اختلال طی چاقی، بیشتر ناشی از افزایش حجم سلول‌های چربی است (۱). افزایش حجم سلول‌های چربی، نشانگر غیرمستقیم مقاومت انسولینی شناخته می‌شود که با تحمل نکردن گلوکز و هایپرانسولینی همراه است (۲).

به خوبی مشخص شده است که توسعه نرمال بافت چربی حین افزایش وزن می‌تواند از بیماری‌های مرتبط با چاقی از قبیل مقاومت انسولینی جلوگیری کند که به عنوان فرضیه وضعیت چاقی سالم متابولیک<sup>۲</sup> شناخته می‌شود (۳). افراد چاق از نظر متابولیک سالم، دارای سلول‌های چربی کوچک‌تری نسبت به افراد چاق با عوارض متابولیک هستند که به نظر می‌رسد این وضعیت متابولیک سالم ناشی از افزایش آنژیوژنز (رگ‌زایی) باشد که در نتیجه، منجر به کاهش حجم سلول‌ها و برداشت مناسب گلوکز و همچنین، بهبود پروفایل آدیپوکینی می‌شود (۵). افزون‌براین، کاهش تأمین اکسیژن بافت چربی در اثر افزایش نامناسب آنژیوژنز در حین افزایش وزن، موجب اختلال در عملکرد بافت چربی می‌شود (۴). یکی از مکانیسم‌های اصلی ارتباط بین توسعه چربی احشایی با بیماری‌های متابولیک، ناشی از افزایش هایپوکسی در نتیجه فقدان آنژیوژنز متناسب با افزایش توسعه بافت چربی است (۶).

- 
1. Angiogenesis
  2. Metabolically Healthy Obese

در این راستا، نشان داده شده است که افزایش آنژیوژنز موجب توسعه نرمال بافت چربی و بهبود حساسیت انسولینی با وجود دریافت غذای پرچرب در موش‌ها می‌شود (۷).

تمرینات ورزشی یکی از راهکارهای مؤثر در تعدیل وضعیت متابولیک بدن هستند. تمرینات ورزشی نه تنها از طریق کاهش توده چربی، بلکه از طریق تنظیم نسخه برداری و بهبود سطوح پروتئینی عوامل مفید در بافت چربی، از بیماری‌های متابولیک و قلبی-عروقی جلوگیری می‌کنند و با افزایش بیان mRNA فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF-A)<sup>۱</sup> در بافت چربی از هایپوکسی بافت چربی جلوگیری می‌کنند (۸). گزارش شده است که تمرین هوازی با شدت متوسط تأثیری بر آنژیوژنز بافت چربی زیرپوستی در افراد دارای مقاومت انسولینی ندارد. این احتمال وجود دارد که به شدت بیشتری برای القای آنژیوژنز در بافت چربی نیاز باشد (۹). بیشتر مطالعات، بافت چربی اپیدیدمال<sup>۲</sup> را در جوندگان به عنوان چربی احشایی بررسی کرده‌اند؛ این در حالی است که این بافت در انسان وجود ندارد و بیشترین شباهت چربی احشایی در انسان و جوندگان، بافت چربی مزنتریک<sup>۳</sup> است که در انسان و جوندگان، جریان خون آن‌ها توسط سیاهرگ باب به کبد وارد می‌شود (۵).

در بین مدل‌های مختلف تمرینی، تمرین تناوبی محبوبیت زیادی دارد. نشان داده شده است که تمرین تناوبی (وهله‌های ۳۰ ثانیه تا چهار دقیقه تناوبی) در مقایسه با تمرین تداومی موجب بهبود بیشتر پروفایل متابولیکی، عملکرد اندوتلیال (۱۰)، کاهش بیشتر لیپوژنز بافت چربی، کاهش گلوکز خون همراه با افزایش سیگنال‌های انسولین در عضله و بافت چربی (۱۱) و همچنین، کاهش درصد چربی و مقاومت انسولینی در افراد چاق می‌شود (۱۲). در این راستا، نشان داده شده است که تمرینات اینتروال شدید در مقایسه با تمرینات تداومی موجب کاهش بیشتر چربی احشایی و زیرجلدی می‌شوند و پیشنهاد شده است که کاهش بیشتر چربی احشایی و زیرجلدی بعد از تمرینات اینتروال شدید می‌تواند ناشی از افزایش هورمون‌های لیپولیتیک در پاسخ به جلسات ورزشی با شدت بالا باشد (۱۳). در مجموع، به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی، بیشتر از طریق کاهش حجم سلول و نه تعداد سلول، موجب بهبود ترکیب بدن و خطرات مرتبط با آن می‌شوند (۱۴). با توجه به افزایش مقاومت انسولینی در اثر هایپوکسی بافت چربی و افزایش حجم سلول چربی احشایی (۱۵) و از طرفی، تأثیر نداشتن تمرین با شدت متوسط بر آنژیوژنز بافت چربی (۹)، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید بر آنژیوژنز و حجم سلول‌های چربی بافت چربی احشایی (مزنتریک) در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب است. به عبارت دیگر، فرضیه ما این است که تمرین

- 
1. Vascular Endothelial Growth Factor A
  2. Epididymal
  3. Mesentric

تناوبی با شدت بالا ممکن است با تغییر در مورفولوژی بافت چربی احشایی از مقاومت انسولینی ناشی از افزایش چربی دریافتی جلوگیری کند.

### روش پژوهش

همه مراقبت‌ها و اصول اخلاقی براساس راهنمای استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی (۱۶) رعایت شد و به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه مازندران رسید. تعداد ۲۰ سررت نر ویستار چهار تا شش هفته‌ای (خریداری شده از انستیتو رویان) در قفس‌های استاندارد و در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. چرخه تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) رعایت شد. حیوانات بعد از یک هفته سازگاری با محیط آزمایشگاه، براساس همسان‌سازی وزنی (میانگین و خطای استاندارد وزن اولیه:  $176/2 \pm 3/73$ ) به دو گروه غذای نرمال و غذای پرچرب تقسیم شدند. این مداخله تا پایان پروتکل پژوهش ادامه داشت (مرحله اول). حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و با رژیم غذایی پرچرب یا استاندارد تغذیه می‌شدند. آب تازه هر روز در بطری‌ها ریخته می‌شد. پس از ۱۰ هفته، هریک از گروه‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین تناوبی و کنترل تقسیم شدند (در مجموع، به چهار گروه: ۱- غذای نرمال، ۲- تمرین + غذای نرمال، ۳- غذای پرچرب و ۴- تمرین + غذای پرچرب). آزمودنی‌های گروه‌های تمرین پس از یک هفته آشنایی با نوار گردان (سه جلسه در هفته و هر جلسه ۱۰ دقیقه)، پروتکل تمرین تناوبی را شروع کردند. گروه‌های تمرینی، شش وهله سه‌دقیقه‌ای دویدن با سرعت ۴۰ متر بر دقیقه و ریکاوری فعال سه‌دقیقه‌ای با سرعت ۲۰ متر بر دقیقه بین وهله‌ها را با شیب ۱۵ درصد انجام دادند. در این پروتکل، سرعت و مدت فعالیت (تعداد وهله‌ها) به‌صورت تدریجی افزایش یافت. سرعت اولیه با ۱۵ متر در دقیقه شروع شد و در هر جلسه، یک تا دو متر در دقیقه، براساس توانایی موش‌ها به سرعت نوارگردان اضافه شد. در انتهای هفته پنجم، سرعت به ۴۰ متر در دقیقه رسید و تا پایان دوره تمرینی شدت ثابت باقی ماند. در ریکاوری فعال نیز سرعت نوار گردان با سرعت ۱۲ متر در دقیقه شروع شد و هر هفته یک تا دو متر در دقیقه به سرعت نوارگردان اضافه شد. تمرینات به مدت ۱۰ هفته و پنج جلسه در هفته بودند. پروتکل استفاده‌شده در پژوهش حاضر، تعدیل‌شده پروتکل پژوهش‌های قبلی است (۱۷، ۱۸). براساس پژوهش‌های قبلی، سرعت ۴۰ متر بر دقیقه برابر با شدت مساوی یا بیشتر از ۹۰ درصد اوج اکسیژن مصرفی در موش صحرائی است (۱۸). هر جلسه شامل پنج دقیقه گرم‌کردن و پنج دقیقه سردکردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بدون شیب نیز بود. تمرینات روی نوار گردان دارای شوک الکتریکی اجرا شدند و تا حد امکان از شوک‌دادن خودداری شد. طی ۲۰ هفته، غذای دریافتی به‌صورت روزانه و وزن بدن به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند (جدول شماره یک).

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

برنامه تمرینی	تعداد وهله‌ها	سرعت (متر در دقیقه)	شیب (درصد)	مدت زمان فعالیت (دقیقه)
هفته اول	۲	تناوبی: ۱۵←۲۰ ریکاوری: ۱۲←۱۴	۵	۱۲
هفته دوم	۳	تناوبی: ۲۰←۲۵ ریکاوری: ۱۴←۱۶	۱۰	۱۸
هفته سوم	۴	تناوبی: ۲۵←۳۰ ریکاوری: ۱۶←۱۸	۱۵	۲۴
هفته چهارم	۵	تناوبی: ۳۰←۳۵ ریکاوری: ۱۸←۲۰	۱۵	۳۰
هفته پنجم	۶	تناوبی: ۳۵←۴۰ ریکاوری: ۲۰	۱۵	۳۶
هفته ششم تا دهم	۶	تناوبی: ۴۰ ریکاوری: ۲۰	۱۵	۳۶

غذای استاندارد به صورت پلت<sup>۱</sup> و پودر، از شرکت تولیدکننده خوراک دام به پرور خریداری شد. غذای پرچرب (۶۰ درصد کیلوکالری از چربی) براساس رژیم غذایی D12492 تهیه شد. غذای پرچرب، در هر کیلوگرم حاوی ترکیبی از ۲۴۰ گرم دنبه ذوب شده گوسفند (به جای چربی خوک<sup>۲</sup>) بود. پس از مخلوط کردن مقدار پودر موردنیاز با مواد لازم و ضروری در روغن ذوب شده، این ترکیب با استفاده از دستگاه پلت ساز دستی، به پلت تبدیل شده و خشک شد. غذاهای ساخته شده در کیسه های یک کیلوگرمی تقسیم شدند و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. هر هفته، غذای پرچرب تهیه می شد. مقدار پروتئین رژیم های غذایی به روش کجلدال، میزان کربوهیدرات با استفاده از هیدرولیز اسیدی و به روش فهلینگ و درصد چربی تام رژیم ها به روش استخراج با حلال (سوکسله) اندازه گیری شدند. نتایج آنالیز رژیم های غذایی نشان داد که غذای استاندارد، در هر گرم حاوی ۲۳/۱ درصد پروتئین، ۴/۳ درصد چربی و ۶۰ درصد کربوهیدرات بود. غذای پرچرب دارای ۲۰ درصد پروتئین، ۳۱/۴ درصد چربی و ۳۵/۷ درصد کربوهیدرات بود. ترکیبات چربی دنبه با استفاده از دستگاه

1. Pellet
2. Lard

کرماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)<sup>۱</sup> (شرکت تکنولوژی اجیلنت<sup>۲</sup>، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری شدند (جدول شماره دو).

جدول ۲- ترکیبات تشکیل‌دهنده غذای پرچرب و غذای نرمال

نوع غذا	غذای پرچرب		غذای نرمال	
	گرم (درصد)	کیلوکالری (درصد)	گرم (درصد)	کیلوکالری (درصد)
کربوهیدرات	۳۵/۷	۲۸/۲	۶۰	۶۴/۶
پروتئین	۲۰	۱۶	۲۳/۱	۲۴/۸
چربی	۳۱/۴	۶۲/۱	۳/۴	۱۰/۴
کل	۸۷/۱	۱۰۰	۸۷/۴	۱۰۰
کیلوکالری در هر گرم	-	۵/۰۵	-	۳/۷۱
<b>نتایج آنالیز ترکیبات چربی دنبه (درصد)</b>				
اسیدهای چرب اشباع (درصد)		۳۷/۳۱		
غیراشباع تکی (Mono) (درصد)		۷۱/۶۲		
اسیدهای چرب غیراشباع (درصد)		۶۲/۶۹	غیراشباع تکی ترانس (Mono) (درصد)	
غیراشباع چندتایی (Poly) (درصد)		۵/۲۱		
<b>ترکیبات مواد معدنی (۱۰ گرم در هر کیلوگرم غذا)</b>				
فسفر ۱۴۰ گرم، کلسیم ۲۰ گرم، منیزیم ۱۰ گرم، سدیم ۴۵ گرم، روی ۲۵۰۰ میلی‌گرم، منگنز ۲۵۰۰ میلی‌گرم، آهن ۲۵۰۰ میلی‌گرم، مس ۵۰۰ میلی‌گرم، کبالت ۵۰ میلی‌گرم و سلنیوم ۲۰ میلی‌گرم (در هر لیتر مواد معدنی الیگوکلسیفوس شرکت رویان دارو)				
<b>ترکیبات ویتامین (۱۰ گرم در هر کیلوگرم غذا)</b>				
ویتامین A ۵۰۰۰ IU، ویتامین D <sub>3</sub> ۲۵۰۰ IU، ویتامین E ۱۰ میلی‌گرم، ویتامین B <sub>1</sub> دو میلی‌گرم، ویتامین B <sub>2</sub> دو میلی‌گرم، ویتامین B <sub>5</sub> ۵ میلی‌گرم، ویتامین B <sub>6</sub> ۱/۵ میلی‌گرم و نیکوتین آمید ۱۰ میلی‌گرم (در هر میلی‌لیتر محلول خوراکی ویتالین)				

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی، رت‌ها با تزریق درون‌صفافی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس، نمونه‌های خون از قلب گرفته شدند و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شدند و سپس، با خارج کردن قلب قربانی شدند. کل بافت چربی مزنتریک (احشایی) بلافاصله برداشته و وزن‌کشی شد و سپس، یک گرم از آن در بافر ۱۰ درصد فرمالین (شرکت مرک آلمان) تثبیت شد. در ادامه، بافت

1. Gas Chromatography–Mass Spectrometry
2. Agilent Technologies

تثبیت شده طی مراحل مختلف دهیدراته شد و در قالب‌های پارافینی (شرکت مجلی، ایران) قرار داده شد. سپس، هر قالب به چهار برش ۲۰ میکرومتری ضخیم و سپس، به پنج میکرومتر نازک برش داده شد. در ادامه، هر برش با همتوکسیلین- اتوزین<sup>۱</sup> (H & E) و تریکوروم ماسونس<sup>۲</sup> رنگ آمیزی شد. سپس، برای آنالیز استریولوژی از ۲۰ برش ضخیم استفاده شد. در روش کار، از پاساژ بافتی مدل ۲۰۰۰ و میکروتوم مدل ۸۲۰ شرکت لایکا آلمان استفاده شد. متوسط حجم سلول‌های چربی با استفاده از روش نوکلیتور<sup>۳</sup> بررسی شد (۱۹). در مراحل کار، از چسب بافتی وکتاشیلد شرکت وکتور لابراتور آمریکا به شماره H-1000 استفاده شد.

برای اندازه‌گیری آنژیوژنز (چگالی مویرگی) از روش ایمنورفلورسانس استفاده شد. در این روش، برش‌های پنج میکرومتری بافت مزنتریک قرار داده شده در اسلاید Silanized (شرکت داکو، آمریکا به شماره S3003)، دپارافینه و رهایده شده. همان‌طور که در پژوهش‌های قبلی توضیح داده شده است (۲۰)، به طور خلاصه، نمونه‌های بافتی در ۲۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر پروتئیناز k، به مدت پنج دقیقه حل شدند. سپس، به مدت ۳۰ دقیقه در محلول متانول انکوبه شدند. در ادامه، بافت‌ها با آنتی‌بادی اولیه CD31 (شرکت ابکام، آمریکا به شماره ab28364) (1:300 Dilution) رنگ آمیزی شدند و به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس، بعد از سه بار شست‌وشو با PBS، اسلایدها با آنتی‌بادی ثانویه (Alexa 555-conjugated anti-rat condary) شرکت سل سیگنالینگ آمریکا به شماره ۸۹۵۳ (1:500 Dilution) در دمای اتاق به مدت دو ساعت انکوبه شدند. بعد از فرایندهای مختلف شست‌وشو و دهیدراته کردن، در نهایت، از بافت‌های برش‌داده شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل BX60 متصل به دوربین مدل DP12 شرکت المپوس ژاپن<sup>۴</sup>، عکس برداری شد و سپس، با استفاده از سیستم مجهز به نسخه شماره نه نرم‌افزار Stereo-investigator شرکت MBF Bioscience آمریکا و نسخه شماره ۱/۴۹ نرم‌افزار ImageJ، براساس روش‌های توضیح‌داده شده توسط پژوهش‌های قبلی، میزان چگالی مویرگی مشخص شد (۲۱).

نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و برای اندازه‌گیری گلوکز و انسولین استفاده شدند. مقدار گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. انسولین سرمی با کیت تجاری (شرکت مرکودیا<sup>۵</sup>، کشور سوئد، شماره کاتالوگ: 10-1250-01)، به روش الیزا اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات درون‌آزمون و

- 
1. Hematoxylin-Eosin
  2. Mason's Trichrome
  3. Nucleator
  4. Olympus Corporation, Japan
  5. Mercodia

بین‌آزمون، به‌ترتیب برابر با ۱۰ و ۵/۱ درصد و حساسیت آن کمتر از یا مساوی با ۰/۱۵ میکروگرم در لیتر بود. شاخص مقاومت انسولینی (HOMA-IR)<sup>۱</sup> از حاصل ضرب مقدار گلوکز (میلی‌مول در لیتر) در انسولین ناشتا (میلی‌واحد بین‌المللی در لیتر)، تقسیم بر ۲۲/۵ محاسبه شد. با استفاده از نرم‌افزار اس.پی.اس.اس<sup>۲</sup> نسخه ۱۸، داده‌ها تجزیه و تحلیل آماری شدند. پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۳</sup> و بررسی همگنی واریانس‌ها با آزمون لون<sup>۴</sup>، برای تحلیل آماری داده‌ها (اثرهای تغذیه، تمرین و تعاملی)، از تحلیل واریانس دوسویه استفاده شد. در صورت معنادار بودن تعامل بین تغذیه و تمرین، از تحلیل واریانس یک‌طرفه با آزمون تعقیبی بونفرونی<sup>۵</sup> برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. همبستگی بین متغیرها با استفاده از آزمون پیرسون بررسی شد. معناداری در سطح آلفا ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

وزن بدن و بافت چربی: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنادار بین وزن اولیه گروه‌ها وجود نداشت ( $P = 0.995$ ). نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که پس از ۱۰ هفته رژیم غذایی پرچرب یا استاندارد، تفاوت معنادار بین وزن گروه‌های مطالعه‌شده وجود داشت ( $P = 0.001$ ). همچنین، نتایج نشان داد که وزن نهایی بافت چربی احشایی گروه غذای پرچرب بیشتر از گروه غذای نرمال بود ( $P < 0.05$ ). برای بررسی اختلاف وزن نهایی بافت چربی گروه‌های مورد مطالعه، نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که وزن چربی احشایی به‌طور معناداری در گروه‌های تغذیه پرچرب بیشتر از گروه‌های تغذیه نرمال بود ( $P < 0.001$ ). در گروه‌های تمرینی، وزن بدن به‌طور معناداری کمتر از گروه‌های کنترل بود ( $P < 0.05$ )؛ اما تعامل معناداری بین تغذیه و تمرین در وزن بدن و وزن چربی احشایی مشاهده نشد (به‌ترتیب،  $P = 0.12$  و  $P = 0.29$ ) (جدول شماره ۳ه).

چگالی مویرگی: نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که تعامل معناداری بین تمرین و تغذیه در چگالی مویرگی وجود داشت ( $P < 0.001$ ). نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری را بین گروه‌ها در میزان چگالی مویرگی نشان داد ( $P < 0.001$ ). آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که چگالی مویرگی در گروه تغذیه پرچرب به‌طور معناداری کمتر از گروه تغذیه نرمال بود

- 
1. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance
  2. SPSS
  3. Shapiro Wilk
  4. Levene
  5. Bonferroni



( $P < 0.001$ ). به علاوه، در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا + غذای پرچرب، چگالی مویرگی نسبت به گروه تغذیه پرچرب به طور معناداری بیشتر بود ( $P < 0.001$ ). همچنین، تمرین تناوبی شدید همراه با مصرف غذای نرمال موجب افزایش چگالی مویرگی در مقایسه با تغذیه نرمال شد ( $P = 0.003$ )؛ اما تفاوت معناداری بین دو گروه تمرین تناوبی وجود نداشت ( $P = 1.00$ ) (جدول شماره چهار).

متوسط حجم سلول‌های چربی: نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که تعامل معناداری بین تغذیه و تمرین در حجم متوسط سلول‌های چربی وجود داشت ( $P < 0.001$ ). آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها در حجم متوسط سلول‌های چربی وجود داشت ( $P < 0.001$ ). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد که متوسط حجم سلول‌های چربی در گروه تغذیه پرچرب نسبت به گروه تغذیه نرمال و گروه تمرین + غذای پرچرب بیشتر بود ( $P < 0.001$ ). همچنین، در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا + غذای نرمال، متوسط حجم سلول‌های چربی کمتر از گروه غذای نرمال بود ( $P < 0.001$ )؛ اما تفاوت معناداری بین دو گروه تمرینی وجود نداشت ( $P = 1.00$ ) (جدول شماره چهار و شکل شماره یک).

متغیرهای پلاسمایی: نتایج نشان داد که تغذیه پرچرب در مقایسه با تغذیه نرمال تأثیری بر غلظت انسولین پلاسمایی نداشت ( $P = 0.88$ )؛ اما غلظت انسولین پلاسمایی در گروه‌های تمرین در مقایسه با گروه‌های کنترل کمتر بود ( $P = 0.003$ ) (جدول شماره چهار).

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد که در گروه‌های تغذیه پرچرب، غلظت پلاسمایی گلوکز به طور معناداری بیشتر از گروه‌های با تغذیه نرمال بود ( $P < 0.001$ ). همچنین، نتایج نشان داد که در گروه‌های تمرین تناوبی، غلظت گلوکز پلاسمایی کمتر از گروه‌های بدون تمرین بود ( $P = 0.011$ ) (جدول شماره چهار).

نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه نشان داد که نوع تغذیه بر شاخص مقاومت انسولینی اثر معناداری نداشت است ( $P = 0.82$ )؛ اما تمرین ورزشی تناوبی با شدت بالا موجب کاهش شاخص مقاومت انسولینی شده است ( $P = 0.002$ ). تعامل معناداری بین تغذیه و تمرین مشاهده نشد ( $P = 0.51$ ) (جدول شماره چهار).

جدول ۳- میانگین و خطای معیار تغییرات وزن بدن و وزن بافت چربی (تعداد نمونه در هر گروه = پنج سر)

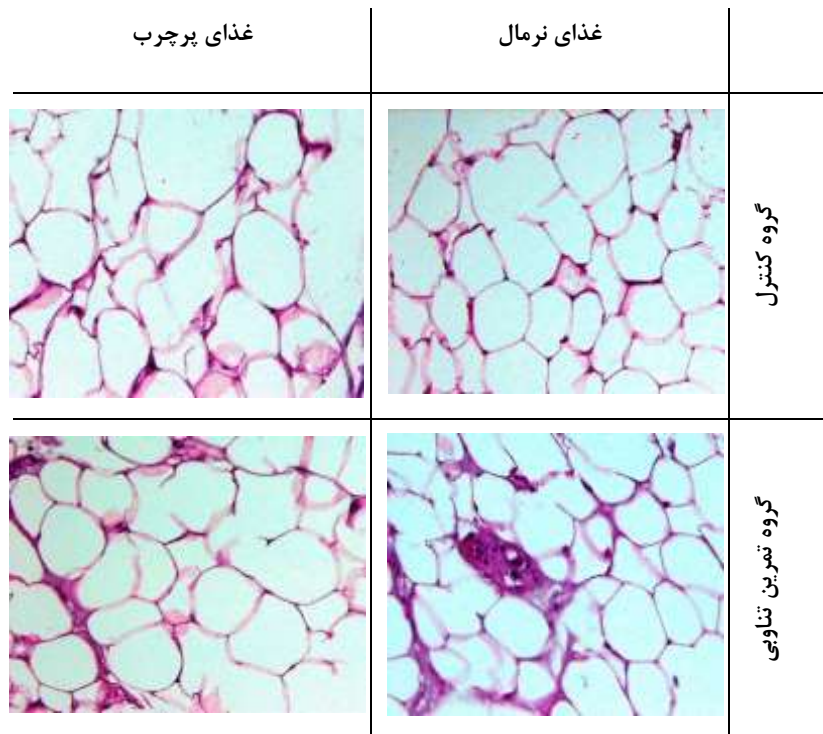
اثر تعاملی	سطح معناداری		گروه‌های تمرین تناوبی		گروه‌های کنترل		معیار
	اثر اصلی	اثر اصلی + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	
-	< / 0.01	< / 0.01	۱۷۷۶ ± ۹۱۶	۱۷۷۷ ± ۸۱۴	۱۷۷۷ ± ۹۰۱	۱۸۰۷ ± ۸۱۲	وزن اولیه (گرم)
-	< / 0.01	< / 0.01	۳۵۶۸ ± ۷۶۱	۳۹۹۰ ± ۹۴۵	۳۶۱۳ ± ۶۵۵	۴۰۱۶ ± ۸۴۵*	وزن پشم از شروع برنامه تمرینی (گرم)
۰/۱۲	< / 0.01	< / 0.01	۱۰۰	۱۲۵/۲	۱۰۴	۱۲۲/۲	تغییرات وزن قبل از شروع برنامه تمرینی (درصد)
۰/۳۹	< / 0.01	< / 0.01	۳۶۵۸ ± ۱۳۱۰۳	۴۱۶۲ ± ۷۶۳	۴۱۶۴ ± ۱۴۱۰۳	۵۰۲۱ ± ۶۱۶۵	وزن نهایی (گرم)
۰/۳۹	< / 0.01	< / 0.01	۱۰۰۵/۹	۱۳۴/۶	۱۳۵/۲	۱۷۸/۴	تغییرات وزن نهایی (درصد)
۰/۹۱۷	< / 0.01	< / 0.01	۱/۸۰ ± ۰/۱۰	۳/۶۱ ± ۰/۵۴	۵/۵۹ ± ۰/۵۸	۸/۸۰ ± ۰/۹۹	وزن بافت چربی موزتریک (گرم)
	< / 0.01	< / 0.01	۰/۴۹ ± ۰/۰۲	۰/۸۶ ± ۰/۱۲	۱/۳۴ ± ۰/۱۳	۱/۷۴ ± ۰/۱۸	وزن نسبی بافت چربی موزتریک (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن)

\* : تفاوت معنادار تغذیه یا پروتئین با تغذیه نرمال. # : تفاوت معنادار با گروه تمرین غذای نرمال (نتایج آزمون تعقیبی یونفرونی). تفاوت معناداری در سطح ۰/۰۵.

جدول ۴- میانگین و خطای معیار میزان چگالی مویزگی، حجم سلول و متغیرهای پلاسمایی (تعداد در هر گروه = پنج سر)

اثر تعاملی	سطح معناداری		گروه‌های تمرین تناوبی		گروه‌های کنترل		معیار
	اثر اصلی	اثر اصلی + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	غذای + تمرین + تغذیه	
< / 0.01	< / 0.01	< / 0.01	۸۷۸ ± ۰/۱۹	۸۳۰ ± ۰/۲۰*	۶۷۳ ± ۰/۳۵	۲۱۲۰ ± ۰/۳۰ <sup>#</sup>	چگالی مویزگی (۱۰ <sup>۳</sup> میکروستر مربع)
< / 0.01	< / 0.01	< / 0.01	۳۲۱۴ ± ۱/۱۲	۳۶۱۰ ± ۱/۳۰	۳۲۶۰ ± ۱/۶۰	۸۲۸۰ ± ۰/۹۶ <sup>§</sup>	حجم متوسط هر سلول چربی (۱۰ <sup>۳</sup> میکروستر مکعب)
۰/۷۲۵	< / 0.01	< / 0.01	۵۴۴ ± ۰/۱۳	۶۱۳۵ ± ۰/۰۶	۵۸۷ ± ۰/۱۸	۶۱۶۱ ± ۰/۱۳	کلوز (میلی مول بر لیتر)
۰/۶۴۰	< / 0.01	< / 0.01	۰/۱۶ ± ۰/۰۴	۰/۰۶۹ ± ۰/۰۲	۰/۳۲ ± ۰/۰۹	۰/۳۴ ± ۰/۰۸	انسولین (نانوگرم در میلی لیتر)
۰/۵۱۲	< / 0.01	< / 0.01	۰/۶۷ ± ۰/۳۷	۰/۴۶ ± ۰/۱۵	۲/۰۴ ± ۰/۶۲	۲/۴۶ ± ۰/۶۲	شاخص مقاومت انسولینی

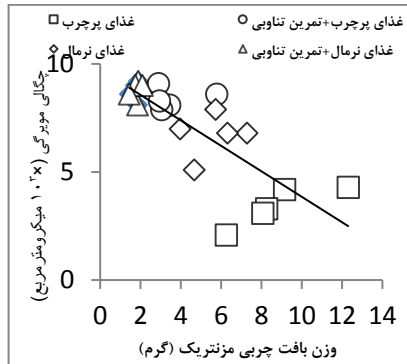
\* : تفاوت معنادار با گروه کنترل غذای پروتئین. # : تفاوت معنادار با گروه کنترل غذای نرمال. § : تفاوت معنادار با گروه کنترل غذای پروتئین و گروه تمرین + غذای پروتئین. تفاوت معناداری در سطح ۰/۰۵.



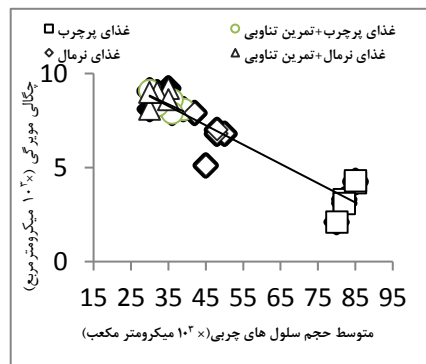
شکل ۱- مقایسه تغییرات هیستولوژی (بافتی) بافت چربی بین گروه‌های پژوهش (رنگ آمیزی بافت چربی با H & E)

همبستگی بین چگالی مویرگی و حجم کل عروق با دیگر متغیرها: نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که چگالی مویرگی ارتباط معکوس و معناداری با وزن بافت چربی احشایی ( $r = -0.76, P = 0.001$ )، متوسط حجم سلول‌های چربی ( $r = -0.93, P < 0.001$ )، گلوکز پلاسمایی ( $r = -0.58, P = 0.007$ )، انسولین پلاسمایی ( $r = -0.54, P = 0.013$ ) و شاخص مقاومت انسولینی ( $r = -0.59, P = 0.006$ ) داشت (شکل شماره یک).

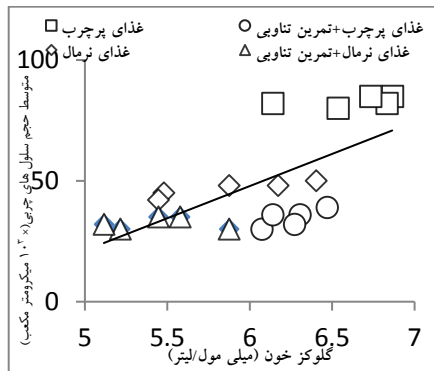
همچنین، نتایج نشان داد که متوسط حجم سلول‌های چربی ارتباط مثبت و معناداری با وزن بافت چربی احشایی ( $r = 0.82, P = 0.001$ )، گلوکز پلاسمایی ( $r = 0.67, P = 0.001$ )، انسولین پلاسمایی ( $r = 0.50, P = 0.023$ ) و شاخص مقاومت انسولینی ( $r = 0.55, P = 0.011$ ) داشت (شکل شماره دو).



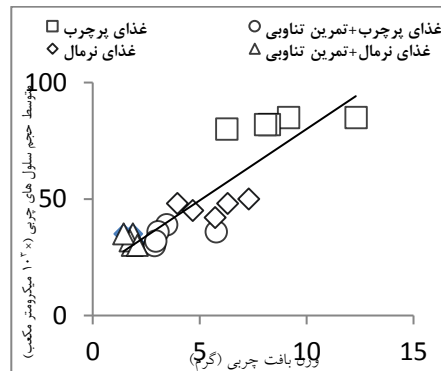
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

شکل ۲- همبستگی بین متغیرها

الف- همبستگی بین چگالی مویرگی و متوسط حجم سلول های چربی

ب- همبستگی بین چگالی مویرگی و وزن بافت چربی احشایی

ج- همبستگی بین متوسط حجم سلول های چربی احشایی و وزن بافت چربی منتریک

د- همبستگی بین متوسط حجم سلول های چربی و گلوکز پلاسمایی

## بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غذای پرچرب موجب افزایش وزن بدن و افزایش بافت چربی منتریک شده است که با کاهش معنادار چگالی مویرگی و افزایش متوسط حجم سلول های چربی همراه بوده است. در پژوهش حاضر، وزن بدن به طور معناداری در اثر تغذیه پرچرب به میزان ۲۰ درصد افزایش یافت که با افزایش ۱۳۹ درصدی در متوسط حجم سلول های چربی و کاهش ۴۹ درصدی چگالی مویرگی همراه بود. این نتایج تأیید می کند که تغذیه پرچرب با افزایش حجم سلول های چربی احشایی همراه است (۲۲). همچنین، در پژوهش حاضر، تمرین تناوبی با شدت بالا هم زمان با مصرف

غذای پرچرب موجب کاهش معنادار (۲۰ درصد) وزن بدن نسبت به گروه کنترل تغذیه پرچرب شد و از افزایش وزن بدن ناشی از دریافت چربی اضافی جلوگیری کرد و وزن بدن را در سطح رت‌های با تغذیه نرمال و بدون تمرین حفظ کرد. به‌علاوه، از مهم‌ترین یافته‌های پژوهش حاضر این بود که تمرین تناوبی هم‌زمان با و بدون غذای پرچرب موجب کاهش متوسط حجم سلول‌های چربی شد. نشان داده شده است که طی کاهش وزن، بیشترین تغییر در حجم سلول چربی رخ می‌دهد و تغییر در تعداد سلول‌های چربی کمتر است (۲۳). گزارش شده است که چهار هفته تمرین اختیاری موجب کاهش حجم سلول‌های چربی و محتوای آن می‌شود (۲۲) که این مطلب موافق با پژوهش حاضر است. مکانیسم کاهش حجم سلول‌های چربی با تمرین تناوبی به‌خوبی روشن نشده است؛ اما نشان داده شده است که تمرین تناوبی شدید با کاهش بیشتر برداشت اسید چرب (کاهش انتقال‌دهنده اسید چرب-۱ (FATP-1)<sup>۱</sup>)، کاهش لیپوژنز در بافت چربی، افزایش بیوژنز میتوکندریایی در عضلات اسکلتی و افزایش ظرفیت اکسیداسیون چربی (۱۱)، احتمالاً منجر به کاهش حجم سلول‌های چربی می‌شود. غذای پرچرب موجب کاهش فعالیت پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK)<sup>۲</sup> می‌شود؛ اما تمرین ورزشی با افزایش فعالیت AMPK موجب کاهش سنتز تری‌گلیسرید و افزایش اکسیداسیون چربی در بافت چربی احشایی می‌شود؛ در نتیجه، می‌تواند موجب کاهش متوسط حجم سلول‌های چربی شود (۲۴). افزایش لیپولیز بافت چربی احشایی که ناشی از افزایش فعالیت AMPK در اثر تمرین طولانی‌مدت (۲۵) و کاهش تمایز سلول‌های چربی بر اثر افزایش فعالیت AMPK (۲۶) است، موجب کاهش حجم بافت چربی احشایی می‌شود. در مطالعه حاضر، میزان فعالیت AMPK در بافت چربی اندازه‌گیری نشد؛ اما می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در این پژوهش، تمرین ورزشی با شدت بالا احتمالاً با افزایش فعالیت AMPK موجب کاهش چربی احشایی شده باشد که این نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری دارد.

مکانیسم دیگر احتمالی کاهش حجم سلول‌های چربی می‌تواند ناشی از کاهش هایپوکسی بافت چربی باشد؛ زیرا، آنژیوژنز برای رشد مناسب و مطلوب سلول‌های چربی ضروری است (۳). این احتمال وجود دارد که ظرفیت آنژیوژنری طی تغییر از وضعیت نرمال به چاقی افزایش یابد؛ اما این افزایش متناسب با افزایش اندازه یا تعداد سلول‌های چربی نباشد (۶)؛ در نتیجه، هایپوکسی موضعی روی می‌دهد. همچنین، افزایش رسوب چربی در سلول‌های چربی احشایی می‌تواند منجر به افزایش مقاومت انسولینی و در نتیجه، افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع دو شود (۱) که در این میان، کاهش اکسیژن‌رسانی به سلول‌های چربی نقش اساسی دارد (۷، ۱۵). تا آنجایی که می‌دانیم، برای نخستین بار نتایج این

- 
1. Fatty Acid Transport Protein 1
  2. AMP-Activated Protein Kinase

پژوهش نشان داد که افزایش متوسط حجم سلول‌های چربی احشایی ارتباط معناداری با کاهش چگالی مویرگی دارد. به علاوه، رژیم غذایی پرچرب موجب کاهش معناداری چگالی مویرگی شد؛ اما در مقابل، تمرین تناوبی با شدت بالا همراه با مصرف غذای پرچرب موجب افزایش ۱۴۰ درصدی چگالی مویرگی نسبت به گروه کنترل تغذیه پرچرب شد و حتی در مقایسه با حیوانات با رژیم غذایی نرمال و بدون تحرک، چگالی مویرگی را ۲۵ درصد افزایش داد. این یافته نشان می‌دهد که تمرین تناوبی با شدت بالا با وجود دریافت غذای پرچرب، سطح اکسیژن‌رسانی بافت چربی را بیشتر بهبود می‌بخشد که این مطلب همسو با پژوهش‌های قبلی، نشان‌دهنده کاهش هایپوکسی بافت چربی در اثر تمرینات هوازی است (۲۷). پژوهشگران با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد آنژیوژنز همراه با تغذیه پرچرب گزارش کردند که طی شش هفته استفاده از غذای پرچرب، بافت چربی سفید تحت تأثیر داروی ضد آنژیوژنز قرار می‌گیرد و با وجود برابر بودن وزن چربی کل با گروه کنترل، با افزایش حجم سلول چربی و افزایش التهاب بافت چربی سفید همراه است (۷). در پژوهش دیگری، دسانزو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۸) تأثیر هشت هفته تمرین هوازی را بر آنژیوژنز بافت چربی اپیدیدیمال در موش‌های چاق بررسی کردند. نتایج نشان داد که تمرین هوازی با شدت متوسط موجب افزایش VEGFA (نشانگر افزایش آنژیوژنز) در چربی احشایی می‌شود. این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر همسو است؛ بنابراین، در مطالعه حاضر، افزایش چگالی مویرگی احتمالاً ناشی از تغییر در فاکتورهای آنژیوژنیک بافت چربی است. VEGFA دارای دو زیرواحد VEGF<sub>165b</sub> و VEGF<sub>165a</sub> است که زیرواحد b دارای اثر ضد آنژیوژنی است و با چاقی در بافت چربی انسان افزایش می‌یابد (۲۸)؛ بنابراین، کاهش آنژیوژنز همراه با تغذیه پرچرب می‌تواند ناشی از افزایش فاکتور ضد آنژیوژنی VEGF<sub>165b</sub> در بافت چربی احشایی باشد؛ اما تمرین ورزشی با افزایش بیان ژن VEGF و چگالی سلول‌های اندوتلیال در بافت چربی سفید (۲۹)، موجب افزایش جریان خون و اکسیژن‌رسانی به بافت چربی می‌شود (۳۳).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت گلوکز خون در اثر تغذیه پرچرب به طور معناداری افزایش یافت؛ اما برخلاف انتظار، تفاوت معناداری در سطوح انسولین مشاهده نشد. شایان ذکر است که مطالعات دیگری نیز وجود دارند که نشان می‌دهند همواره مصرف غذای پرچرب با هایپرانسولینمی همراه نیست؛ برای مثال گویتیر<sup>۲</sup> و همکاران (۳۱) گزارش کردند که ۱۶ هفته غذای پرچرب موجب کاهش معنادار غلظت انسولین می‌شود. در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که ۱۴ هفته غذای پرچرب تأثیر معناداری بر غلظت انسولین در مقایسه با غذای استاندارد نداشته است (۳۰). همچنین، شش ماه غذای پرچرب تأثیری بر غلظت سرمی انسولین نداشت؛ اما غلظت گلوکز به طور معناداری

- 
1. Disanzo
  2. Gauthier

افزایش یافته بود (۳۱)؛ از این رو، به نظر می‌رسد که عواملی از قبیل نوع چربی مصرفی و طول دوره مصرف غذای پرچرب، بر پاسخ ترشح انسولین اثرگذار باشند. در این راستا، گزارش شده است که غذای پرچرب حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب اشباع (همانند چربی خوک)، موجب کاهش ترشح انسولین از سلول‌های ایزوله شده پانکراس می‌شود (۳۲). در پژوهش حاضر، ترکیبات اسیدهای چرب تقریباً مشابه با ترکیبات اسیدهای چرب موجود در ساختمان چربی خوک بود؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که غذای چرب تهیه شده از چربی دنبه در بلندمدت موجب کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس شود. در این خصوص نشان داده شده است که افزایش مزمن سطوح لیپیدهای در گردش، ابتدا موجب افزایش انسولین (هایپرانسولینی) می‌شود و متعاقب آن، موجب کاهش حساسیت سلول‌های بتا به گلوکز و در نتیجه، کاهش ترشح انسولین می‌شود که این تغییرات با افزایش غذای پرچرب تهیه شده از چربی خوک بیشتر است (۳۳)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد که بررسی‌های بیشتری در زمینه تأثیر غذای پرچرب تهیه شده با چربی دنبه بر سطوح در گردش انسولین و زمان مورد استفاده از آن، در پژوهش‌های آتی ضرورت داشته باشند.

افزون بر این، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین تناوبی با شدت بالا موجب کاهش معنادار غلظت سرمی گلوکز می‌شود. همچنین، غلظت انسولین و شاخص مقاومت انسولینی در گروه‌های تمرین نسبت به گروه‌های بدون تمرین به‌طور معناداری پایین‌تر بود. نشان داده شده است که مستقل از توده چربی کل، هایپرتروفی سلول‌های چربی با مقاومت انسولینی همراه است (۳۴). گزارش شده است که غذای پرچرب با افزایش تولید نیتریک اکساید در بافت چربی منجر به کاهش حساسیت انسولینی سلولی از طریق مهار فسفوریلاسیون پروتئین کیناز B می‌شود (۳۵). هم‌راستا با پژوهش حاضر، ژو<sup>۱</sup> و همکاران (۳۸) نشان دادند که تمرین استقامتی در موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب، با افزایش تعداد میتوکندری بافت چربی احشایی، موجب بهبود تحمل نکردن گلوکز و مقاومت انسولینی می‌شود. پژوهش حاضر نشان داد که ارتباط معکوس معناداری بین گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت انسولینی با چگالی مویرگی وجود دارد. به علاوه، ارتباط مثبت معناداری بین متوسط حجم سلول‌های چربی، وزن بافت چربی مزنتریک با گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت انسولینی وجود دارد. در پژوهش حاضر، توده چربی مزنتریک و متوسط حجم سلول‌های چربی به‌طور معناداری در اثر تمرین تناوبی با شدت بالا کاهش یافتند که این مطلب احتمالاً می‌تواند یکی از دلایل کاهش مقاومت انسولینی در اثر تمرین تناوبی باشد. گزارش شده است که موش‌های ترانس ژنیک با افزایش بیان VEGF در بافت چربی سفید، در برابر مقاومت انسولینی ناشی از غذای پرچرب مقاوم بودند و تحمل گلوکز و مقاومت انسولینی در آن‌ها بهبود یافت (۳۶). در پژوهش حاضر، چگالی مویرگی در اثر تمرین تناوبی به‌طور

معناداری افزایش یافت که این یافته احتمالاً می‌تواند یکی دیگر از دلایل کاهش مقاومت انسولینی در اثر تمرین‌های تناوبی در مقایسه با گروه‌های بدون تمرین در این مطالعه باشد. مکانیسم دیگر کاهش مقاومت انسولینی در اثر تمرین تناوبی می‌تواند ناشی از کاهش التهاب همراه با کاهش هایپوکسی بافت چربی باشد؛ زیرا، VEGF به‌عنوان نشانگر آنژیوژنز موجب افزایش ماکروفاژهای ضدالتهابی M2<sup>۱</sup> در بافت چربی می‌شود (۳۶) که این افزایش با بهبود متابولیسم بافت چربی همراه است. کاوانیشی و همکاران<sup>۲</sup> (۲۰۱۳) گزارش کردند که تمرین استقامتی موجب افزایش ماکروفاژهای M2 و کاهش ماکروفاژهای التهابی M1<sup>۳</sup> در موش‌های تغذیه‌شده با غذای پرچرب می‌شود (۳۷). کاهش نفوذ ماکروفاژها و کاهش تجمع چربی در اثر تنظیم افزایشی VEGF، با بهبود مقاومت انسولین ناشی از تغذیه پرچرب همراه است. همچنین، با کاهش ماکروفاژهای M1، سیتوکین‌های پیش‌التهابی بافت چربی از قبیل اینترلوکین-۶ (IL-6)<sup>۴</sup> و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF- $\alpha$ )<sup>۵</sup> در موش‌های تغذیه‌شده با غذای پرچرب کاهش می‌یابند (۳۶)؛ بنابراین، در این پژوهش، کاهش در نفوذ ماکروفاژهای M1 و کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی در اثر تمرین تناوبی با شدت بالا، ممکن است موجب بهبود مقاومت انسولینی شده باشند.

علاوه‌براین، تمرین تناوبی شدید با افزایش عملکرد سلول‌های بتا (۱۱) و افزایش حساسیت انسولینی در بافت چربی و کبد (۳۸)، موجب بهبود مقاومت انسولینی و هومئوستاز گلوکز می‌شود. همچنین، نشان داده شده است که در موش‌های چاق (ناشی از تغذیه)، گیرنده‌های شبه گذرگاهی (TLR4)<sup>۶</sup> از طریق فسفوریلاسیون قسمت سرین گیرنده‌های انسولین، موجب افزایش مقاومت انسولینی می‌شوند (۳۹)؛ اما تمرین ورزشی با کاهش غلظت TLR4 در بافت چربی و افزایش فسفوریلاسیون گیرنده‌های تیروزینی انسولین، موجب بهبود مقاومت انسولینی می‌شود (۳۹)؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که در این پژوهش، تمرین تناوبی با شدت بالا با افزایش چگالی مویرگی و در نتیجه، کاهش هایپوکسی که منجر به کاهش التهاب می‌شود، از اختلال در هومئوستاز گلوکز در اثر تغذیه پرچرب جلوگیری کند که این مطلب برای تأیید نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتری دارد.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغذیه پرچرب به افزایش متوسط حجم سلول‌های چربی بافت احشایی منجر می‌شود که با کاهش چگالی مویرگی همراه است. همچنین، تمرین تناوبی با شدت

- 
1. M2 Macrophages
  2. Kawanishi
  3. M1 Macrophages
  4. Interlukine-6 (IL-6)
  5. Tumour Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ )
  6. Toll-like receptor (TLR)



بالا از افزایش متوسط حجم سلول‌های چربی و گلوکز خون در اثر تغذیه پرچرب جلوگیری می‌کند و مقاومت انسولینی را در مقایسه با رژیم غذایی پرچرب به‌تنهایی کاهش می‌دهد. به‌علاوه، با توجه به ارتباط معکوس معنادار بین چگالی مویرگی و هومئوستاز گلوکز خون، تمرین تناوبی با شدت بالا با افزایش چگالی مویرگی باوجود مصرف غذای پرچرب، موجب بهبود هومئوستاز گلوکز خون می‌شود و از افزایش حجم سلول‌های چربی جلوگیری می‌کند.

### منابع

1. Blüher M. Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2013;27(2):163-77.
2. Weyer C, Foley J, Bogardus C, Tataranni P, Pratley R. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia*. 2000;43(12):1498-506.
3. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(6):2094.
4. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *British Journal of Nutrition*. 2004;92(03):347-55.
5. Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1):20-44.
6. Gealekman O, Guseva N, Hartigan C, Apotheker S, Gorgoglione M, Gurav K, et al. Depot-specific differences and insufficient subcutaneous adipose tissue angiogenesis in human obesity. *Circulation*. 2011;CIRCULATIONAHA. 110.970145.
7. Sun K, Asterholm IW, Kusminski CM, Bueno AC, Wang ZV, Pollard JW, et al. Dichotomous effects of VEGF-A on adipose tissue dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(15):5874-9.
8. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Bartłomiejczyk I, Przybylski J, Gorski J. The influence of physical exercise on the generation of TGF- $\beta$ 1, PDGF-AA, and VEGF-A in adipose tissue. *European journal of applied physiology*. 2011;111(5):875-81.
9. Walton RG, Finlin BS, Mula J, Long DE, Zhu B, Fry CS, et al. Insulin-resistant subjects have normal angiogenic response to aerobic exercise training in skeletal muscle, but not in adipose tissue. *Physiological reports*. 2015;3(6):e12415.
10. Kilpatrick MW, Jung ME, Little JP. High-intensity interval training: a review of physiological and psychological responses. *ACSM's Health & Fitness Journal*. 2014;18(5):11-6.

11. Tjønnå AE, Lee SJ, Rognmo Ø, Stølen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome. *Circulation*. 2008;118(4):346-54.
12. Racil G, Ounis OB, Hammouda O, Kallel A, Zouhal H, Chamari K, et al. Effects of high vs. moderate exercise intensity during interval training on lipids and adiponectin levels in obese young females. *European journal of applied physiology*. 2013;113(10):2531-40.
13. Zhang H, K Tong T, Qiu W, Wang J, Nie J, He Y. Effect of high-intensity interval training protocol on abdominal fat reduction in overweight Chinese women: A randomized controlled trial. *Kineziologija*. 2015;47(1):57-66.
14. You T, Murphy K, Lyles M, Demons J, Lenchik L, Nicklas B. Addition of aerobic exercise to dietary weight loss preferentially reduces abdominal adipocyte size. *International journal of obesity*. 2006;30(8):1211-6.
15. Goossens GH, Bizzarri A, Venteclef N, Essers Y, Cleutjens JP, Konings E, et al. Increased Adipose Tissue Oxygen Tension in Obese Compared With Lean Men Is Accompanied by Insulin Resistance, Impaired Adipose Tissue Capillarization, and Inflammation Clinical Perspective. *Circulation*. 2011;124(1):67-76.
16. council NR. Guide for the care and use of laboratory animals: Institute of Laboratory Animal Resources (U.S.). National Academies Press; 2010.
17. Moreira JB, Bechara LR, Bozi LH, Jannig PR, Monteiro AW, Dourado PM, et al. High-versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. *Journal of Applied Physiology*. 2013;114(8):1029-41.
18. Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, et al. Treating NAFLD in OLETF Rats with Vigorous-Intensity Interval Exercise Training. *Medicine and science in sports and exercise*. 2015;47(3):556-567.
19. Cuéllar ES, Solís LS. First use of stereology to quantify the survival of fat autografts. *Image Analysis & Stereology*. 2011;24(3):187-93.
20. Xue Y, Xu X, Zhang X-Q, Farokhzad OC, Langer R. Preventing diet-induced obesity in mice by adipose tissue transformation and angiogenesis using targeted nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016:201603840.
21. Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Analytical and quantitative cytology and histology*. 2001;23(4):291-9.

22. Gollisch KS, Brandauer J, Jessen N, Toyoda T, Nayer A, Hirshman MF, et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal-and high-fat diet-fed rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;297(2):495-504.
23. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. 2008;453(7196):783-7.
24. Higa T, Spinola A, Fonseca-Alaniz M, Evangelista F. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life sciences*. 2014;103(1):41-8.
25. Takekoshi K, Fukuhara M, Quin Z, Nissato S, Isobe K, Kawakami Y, et al. Long-term exercise stimulates adenosine monophosphate-activated protein kinase activity and subunit expression in rat visceral adipose tissue and liver. *Metabolism*. 2006;55(8):1122-8.
26. Daval M, Fougere F, Ferré P. Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue. *The Journal of physiology*. 2006;574(1):55-62.
27. Disanzo BL, You T. Effects of exercise training on indicators of adipose tissue angiogenesis and hypoxia in obese rats. *Metabolism*. 2014;63(4):452-5.
28. Adya R, Homer-Vanniasinkam S. Adipokines and Adipose Tissue Angiogenesis in Obesity. *Immunoendocrinology*. 2015;2.
29. Linden MA, Pincu Y, Martin SA, Woods JA, Baynard T. Moderate exercise training provides modest protection against adipose tissue inflammatory gene expression in response to high-fat feeding. *Physiological reports*. 2014;2(7):e12071.
30. Ikemoto S, Thompson KS, Takahashi M, Itakura H, Lane MD, Ezaki O. High fat diet-induced hyperglycemia: prevention by low level expression of a glucose transporter (GLUT4) minigene in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995;92(8):3096-9.
31. Yaspelkis BB, Davis JR, Saberi M, Smith TL, Jazayeri R, Singh M, et al. Leptin administration improves skeletal muscle insulin responsiveness in diet-induced insulin-resistant rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 2001;280(1):E130-E42.
32. Buettner R, Parhofer K, Woenckhaus M, Wrede C, Kunz-Schughart L, Schölmerich J, et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of molecular endocrinology*. 2006;36(3):485-501.
33. Manco M, Calvani M, Mingrone G. Effects of dietary fatty acids on insulin sensitivity and secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2004;6(6):402-13.

34. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, Britton T, Rydén M, Frisén J, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*. 2010;59(1):105-9.
35. Lee YS, Kim J-w, Osborne O, Sasik R, Schenk S, Chen A, et al. Increased adipocyte O<sub>2</sub> consumption triggers HIF-1 $\alpha$ , causing inflammation and insulin resistance in obesity. *Cell*. 2014;157(6):1339-52.
36. Elias I, Franckhauser S, Ferré T, Vilà L, Tafuro S, Muñoz S, et al. Adipose tissue overexpression of vascular endothelial growth factor protects against diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2012;61(7):1801-13.
37. Kawanishi N, Mizokami T, Yano H, Suzuki K. Exercise attenuates M1 macrophages and CD8+ T cells in the adipose tissue of obese mice. *Medicine and science in sports and exercise*. 2013;45(9):1684-93.
38. Marcinko K, Sikkema SR, Samaan MC, Kemp BE, Fullerton MD, Steinberg GR. High intensity interval training improves liver and adipose tissue insulin sensitivity. *Molecular metabolism*. 2015;4(12):903-15.
39. Oliveira AG, Carvalho BM, Tobar N, Ropelle ER, Pauli JR, Bagarolli RA, et al. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. *Diabetes*. 2011;60(3):784-96.

## ارجاع دهی

کلاه‌دوزی سرکوت، طالبی گرگانی الهه، حمیدیان غلامرضا، صفرزاده علی‌رضا. تأثیر تمرین تناوبی هوازی با شدت بالا بر آنژیوژنز بافت چربی در موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۳۹۷؛ ۱۰(۳۸): ۶۲-۱۴۳. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2017.3896.1528

Kolahdouzi S, Talebi Garakani E, Hamidian Gh.R, Safarzade A.R. The Effects of High-Intensity Intermittent Aerobic Training on Adipose Tissue Angiogenesis in Rats Fed a High Fat Diet. Summer 2018; 10(38): 143-62. (In Persian). DOI: 10.22089/spj.2017.3896.1528

## **The Effects of High-Intensity Intermittent Aerobic Training on Adipose Tissue Angiogenesis in Rats Fed a High Fat Diet**

**S. Kolahdouzi<sup>1</sup>, E. Talebi Garakani<sup>2</sup>, Gh.R. Hamidian<sup>3</sup>,  
A.R. Safarzade<sup>4</sup>**

1. Ph.D. Exercise Physiology, University of Mazandaran
2. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Mazandaran\*
3. Assistant professor of Basic Science, University of Tabriz
4. Associate Professor of Exercise Physiology, University of Mazandaran

**Received: 2017/03/14**

**Accepted: 2017/06/10**

---

### **Abstract**

The purpose of this study was to evaluate of high intensity intermittent training on angiogenesis and morphological changes of visceral adipose tissue in high fat fed male wistar rats. Twenty male wistar rats (4-6 weeks age, and body weight: Mean±SE: 176.2±3.73) were homogeneously divided into two groups of high fat diet (n: 10) and standard diet regimens (n: 10). After 10 weeks, each group divided into two groups (training and control; n: 5 in each group); the training group completed 10 weeks high-intensity intermittent aerobic training on a motorized treadmill. Mean adipocyte size and angiogenesis of mesenteric fat were analyzed by Stereology and Immunofluorescence methods respectively. The results showed that high fat diet regimen causes elevation in body weight (P<0.001), fat pad weight (P<0.001), mean adipocyte size (P<0.001), plasma glucose (P<0.001), and reduction in angiogenesis (P<0.001) compared to the standard diet regimen. The high intensity intermittent training caused reduction in body weight (P<0.001), fat pad weight (P<0.001), mean adipocyte size (P<0.001), plasma glucose (P=0.01), plasma insulin (P=0.003) and insulin resistance index (P=0.002) compared to the diet regimen alone (P<0.05). Moreover, in the training+high fat diet group angiogenesis increased compared to the high fat regimen control group (P<0.001). The results indicated that high intensity intermittent aerobic training induces reduction in body weight and fat weight by elevation in angiogenesis and reduction in mean adipocyte size during high fat feeding that is accompanied with improvement of blood glucose hemostasis.

**Keywords:** Adipose Tissue, Angiogenesis, High Intensity Exercise Training, High Fat Diet

---

\* Corresponding Author

Email: e.talebi@umz.ac.ir