

تأثیر دوازده هفته رژیم غذایی پرچرب و تمرین ورزشی با شدت متوسط بر مسیر KLF-15 / KLF-3 / فورین / CTRP-12 بافت چربی احشایی رت‌های نر

ستاره امیری^۱ - اصغر توفیقی^۲ - علیرضا شیرپور^۳ - جواد طلوعی آذر^{۴*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. ۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. ۳. استاد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران. ۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۸، تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۰۲/۲۰)

چکیده

از جمله فاکتورهای مقابله‌کننده با ریسک فاکتورهای متابولیکی، CTRP-12 است. چاقی با تنظیم مثبت فاکتورهای فورین و KLF-3 و تنظیم منفی KLF-15 در مهار CTRP-12 نقش بسزایی دارد. تمرین ورزشی بر پیام‌رسانی سلول‌های چربی تأثیرگذار است. از این رو هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین ورزشی با شدت متوسط (MICT) بر CTRP-12، فورین، KLF-3 و KLF-15 بافت چربی احشایی رت‌های نر چاق بود. ۱۵ سر رت نر نژاد ویستار، ابتدا به ۲ گروه تغذیه با غذای پرچرب (۱۰ سر) و تغذیه با غذای استاندارد (۵ سر) تقسیم شدند. پس از ۱۲ هفته، مجدداً گروه تغذیه با غذای پرچرب به دو گروه MICT و HFD تقسیم شدند. برنامه تمرینی به مدت ۱۲ هفته، ۵ جلسه در هفته و با شدت ۵۰-۶۰ درصد حداکثر سرعت اجرا شد. مقادیر متغیرها به روش الیزا اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آماری ANOVA و نرم‌افزار پریم ۵ انجام گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که HFD سبب افزایش معنادار مقادیر فورین و KLF-3 بافت چربی احشایی شد ($P \leq 0/05$). ۱۲ هفته تمرین MICT سبب کاهش معنادار مقادیر فورین، KLF-3 و افزایش معنادار KLF-15 نسبت به گروه HFD شد ($P \leq 0/05$). تغییرات CTRP-12 بین گروه‌های مختلف معنادار نبود ($F=1.032, P=0/386$). ۱۲ هفته MICT مجزا از تغییرات CTRP-12، در کاهش ریسک فاکتورهای سلولی مضر بافت چربی (فورین و KLF-3) و افزایش فاکتورهای مفید بافت چربی (KLF-15) مؤثر است. از این رو پیشنهاد می‌شود افراد در معرض چاقی برای سازگاری بهتر سلولی، به تمرینات ورزشی با مدت زمان طولانی‌تر رو بیاورند.

واژه‌های کلیدی

تمرین ورزشی با شدت متوسط، CTRP-12، فورین، KLF-3، KLF-15.

مقدمه

CTRP ها در بافت‌های مختلف از جمله بافت چربی بیان می‌شوند و می‌توانند تأثیرات تقویت‌کننده متابولیکی و قلبی - عروقی داشته باشند (۱۱). بیان شده است که افزایش CTRP-12 می‌تواند مانع التهاب در بافت‌های مختلف شود و تأثیرات ضد التهابی از خود بر جای بگذارد (۱۲). همچنین، CTRP-12 به کنترل گلیسمی و حساسیت به انسولین کمک می‌کند و بیان آن از طریق وضعیت چاقی، دیابت و التهاب کاهش می‌یابد (۱۳). بنابراین، چاقی و HFD می‌تواند تأثیرات منفی بر بیان CTRP-12 داشته باشد. نشان داده شده است که مقادیر CTRP-12 در موش‌های چاق کاهش می‌یابد و تزریق CTRP-12 به افزایش حساسیت به انسولین و تحمل گلوکز در مدل‌های حیوانی چاق و دیابت منجر می‌شود. همچنین، گزارش شده است که بیان CTRP-12 آدیپوسیت‌های کشت‌شده توسط محرک‌های التهابی سرکوب می‌شود. بنابراین، قابل تصور است که التهاب بافت چربی در حالت چاقی و رژیم غذایی پرچرب دخیل در تنظیم بیان این فاکتور باشد (۱۴). تمرینات ورزشی از جمله روش‌های درمانی سبک زندگی اشتباه است. از جمله تأثیرات تمرین ورزشی افزایش انرژی مصرفی و کاهش وزن بدن ناشی از کاهش توده چربی بدنی است (۱۵). از این رو می‌تواند بیان آدیپوسایتوکاین‌ها^۵ را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات محدودی به بررسی تغییرات سطوح CTRP-12 بافت چربی احشایی با تمرین ورزشی پرداخته‌اند. در این زمینه اخیراً نشان داده شده است که تمرین ورزشی تداومی با شدت پایین (۵ جلسه در هفته، به مدت ۸ هفته) در نمونه حیوانی دیابتی قادر به افزایش CTRP-12 سرمی بود (۱۶). از آنجا که منشأ ترشح CTRP-12 بافت چربی احشایی نیز است، از این رو تغییرات آن با تمرین ورزشی نیز دور از انتظار

شیوع و گسترش رژیم غذایی پرچرب (HFD) سبب بروز مشکلات متعدد در کیفیت زندگی افراد می‌شود (۱). نشان داده شده است که گسترش HFD در سراسر دنیا به‌ویژه در ایالات متحده سبب افزایش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری قلبی - عروقی و متابولیکی شده است، زیرا گسترش HFD می‌تواند سبب بروز چاقی شود و چاقی نیز مشکل بزرگ مرتبط با سلامتی است که با توسعه و پیشرفت التهاب مزمن و اختلالات متابولیکی مختلف از جمله مقاومت انسولینی و دیابت نوع ۲ همراه است (۲، ۳). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که التهاب مزمن در پاتوژنز تعدادی از بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند آترواسکلروزیس و مقاومت انسولینی ارتباط دارد (۴-۶). بافت چربی احشایی (VAT) تعدادی از پروتئین‌های بیولوژیکی فعال را ترشح می‌کند که به‌عنوان آدیپوکاین‌ها^۲ شناسایی می‌شوند. آدیپوکاین‌ها تأثیرات موضعی و سیستمیک بر متابولیسم کربوهیدرات و چربی دارند (۷، ۸). این تنظیم‌کننده‌های متابولیکی ترشح‌شده از بافت چربی قادر به تعدیل حساسیت انسولینی کل بدن و متابولیسم انرژی از طریق تأثیر مستقیم بر بافت‌های متابولیکی (مانند عضله و کبد) هستند (۸). با وجود این، بافت چربی احشایی بسته به سبک زندگی و شرایطی که در آن قرار می‌گیرد، قادر به تولید آدیپوکاین‌های منفی و مثبت است. از جمله عواملی که با چاقی و رژیم غذایی پرچرب تحت تأثیر قرار می‌گیرد، آدیپولین (CTR-12)^۴ است. CTRP-12 حاوی یک دامنه کلاژن و یک دامنه کروی شکل C1q است (۹)، CTRP-12 در پلاسمای انسان و موش در دو ایزوفرم انتشار می‌یابد: فرم کامل (40 kDa) CTRP-12 و فرم جداشده (25 kDa) gCTR-12. در پلاسما، فرم کامل (gCTR-12) ایزوفرم غالب است (۱۰).

4. Adipolin
5. Adipocytokine

1. High Fat Diet
2. Visceral Adipose Tissue
3. Adipokine

در آدیپوسیت‌ها سرکوب می‌کند (۱۹) از این رو از آنجا که تمرینات ورزشی به‌طور مؤثر بافت چربی را هدف قرار می‌دهند، می‌توانند در تنظیم مثبت KLF-15 و به دنبال آن افزایش CTRP-12 نیز مؤثر باشند. با وجود این، مطالعات در بررسی KLF-15 و CTRP-12 با تمرین ورزشی محدود است.

در مقابل عامل رونویسی KLF-15 که در افزایش بیان CTRP-12 مؤثر است، عامل رونویسی KLF-3 و فورین قرار دارند. فورین نوعی اندوپیتیداز^۱ است که به میزان زیادی می‌تواند توسط بافت چربی ترشح شود. بیان شده است که در شرایط التهابی ناشی از چاقی مقادیر فورین نیز افزایش می‌یابد، زیرا فورین بافت چربی به‌طور مثبت از طریق حالت التهابی ناشی از چاقی تنظیم می‌شود. سطوح mRNA فورین در بافت چربی موش‌های چاق در مقایسه با موش‌های لاغر بیشتر است. نشان داده شده است که افزایش بیان فورین، شکل شکننده CTRP-12 را افزایش می‌دهد (۱۰). شکسته شدن آدیپولین یا تخریب فرم کامل آدیپولین با افزایش بیان فورین در چاقی تسهیل شده و موجب کاهش در تولید CTRP-12 بافت چربی می‌شود و در نتیجه سبب افزایش ایزوفرم شکسته CTRP-12 می‌شود.

علاوه بر فورین، نشان داده شده است که عامل KLF-3 به تنظیم منفی بیان CTRP-12 منجر می‌شود (۱۹). نشان داده شده است که ناکوت KLF-3 در نمونه حیوانی چاق ناشی از رژیم غذایی، بیان CTRP-12 را به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد. KLF-3 به‌طور مستقیم به منطقه پروموتور CTRP-12 متصل می‌شود و فعالیت آن را سرکوب می‌کند. بنابراین، KLF-3 ممکن است مولکول هدف برای دستکاری مقاومت به انسولین از طریق تعدیل

نیست. عواملی مانند KLF-15، فورین (Furin)^۲ و KLF-3 شناسایی شده‌اند که در تنظیم بیان CTRP-12 در آدیپوسیت‌ها دخیل‌اند که می‌توانند برای پیشگیری یا درمان بیماری‌های متابولیکی و التهابی مرتبط با چاقی استفاده شوند (۱۷). KLF-15 یکی از اعضای خانواده بزرگ فاکتورهای رونویسی KLF است که در تنظیم متابولیسم بدن نقش دارند (۱۷). نشان داده شده است که KLF-15 در تنظیم بیان CTRP-12 در آدیپوسیت‌ها دخیل است (۱۸). بیان شده است که سطوح رونویسی CTRP-12 در آدیپوسیت‌ها هنگام مواجهه با KLF-15 افزایش می‌یابد (۱۸). در خصوص سازوکارهای تأثیر KLF-15 بر CTRP-12 بیان شده است که KLF-15 فعالیت پروموتور CTRP-12 را تحت تأثیر قرار می‌دهد و بیان آن را افزایش می‌دهد. انوموتو و همکاران (۲۰۱۳) در آغاز میزان بیان ژنی CTRP-12 و KLF-15 را در بافت چربی موش‌های چاق بررسی کردند و نشان دادند بیان ژنی CTRP-12 mRNA و بیان KLF-15 در بافت چربی موش‌های چاق در مقایسه با گروه کنترل کمتر است (۱۸). علاوه بر این، تخریب ژن بیان‌کننده KLF-15 و در نتیجه کاهش آن، موجب کاهش ۴۲ درصدی بیان CTRP-12 در آدیپوسیت‌ها شد. همین‌طور با القای شرایط التهابی و کاربردی TNF- α ، سطوح CTRP-12 mRNA و KLF-15 در سلول‌های چربی کشت‌شده کاهش یافت، اما با افزایش بیان KLF-15 اثر TNF- α در کاهش CTRP-12 از بین رفت و بیان CTRP-12 زیاد شد (۱۸). علاوه بر این، تخریب واسطه siRNA^۳ از KLF-15 بیان CTRP-12 در آدیپوسیت‌ها را به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد. این داده‌ها نشان می‌دهد که شرایط چاقی بخشی از بیان CTRP-12 را از طریق کاهش JNK وابسته از KLF-15

3. Small interfering RNA
4. Endopeptidase

1. Kru^{ppel}-like factor -15
2. Furin

روش پژوهش

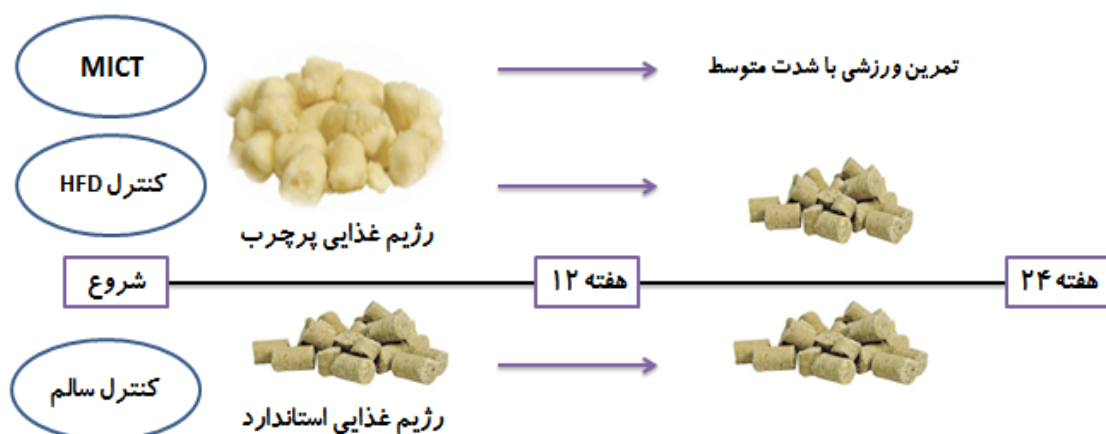
پژوهش حاضر از نوع تجربی بود که توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با کد (IR.UMSU.REC.1397.068) به تصویب رسید. در این مطالعه، تعداد ۱۵ سر موش نر نژاد ویستار ۶ هفته‌ای (خریداری شده از انستیتو پاستور ایران) در قفس‌های پلی‌کربنات، با شرایط کنترل‌شده محیطی با میانگین دمای 3 ± 25 درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ - ۶۰ درصد در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی نگهداری شدند. چرخه تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) برای حیوانات رعایت شد و بعد از یک هفته سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاهی براساس همگن‌سازی وزنی به ۲ گروه تغذیه با غذای پرچرب (۱۰سر) (گروه کنترل HFD و MICT) و تغذیه با غذای نرمال (۵ سر) (گروه کنترل سالم) تقسیم شدند (تصویر ۱).

حیوانات با دسترسی آزاد به آب و غذا در گروه تغذیه با غذای پرچرب به مدت ۱۲ هفته تحت تغذیه با غذای پرچرب، شامل ۶۰ درصد انرژی دریافتی از چربی (مشتق از روغن سویا)، ۱۶ درصد انرژی دریافتی از پروتئین و ۲۴ درصد انرژی دریافتی از کربوهیدرات (۲۲) قرار گرفتند. پس از اتمام دوره تغذیه با رژیم پرچرب براساس شاخص لی^۱ (۲۳) رت‌ها چاق محسوب شدند. با شروع دوره تمرینات (هفته ۱۲ تا ۲۴)، رژیم غذایی پرچرب به رژیم غذایی استاندارد مخصوص موش تغییر یافت. همچنین، موش‌های گروه کنترل سالم در طول مراحل انجام پروتکل‌ها تنها از رژیم غذایی استاندارد تغذیه می‌شدند. حیوانات گروه تغذیه‌شده با رژیم غذایی پرچرب به‌طور تصادفی به ۲ گروه (۵ تایی) تمرین تداومی با شدت متوسط (MICT) و کنترل با رژیم غذایی پرچرب (Co-HFD) تقسیم شدند (تصویر ۱).

رونویسی CTRP-12 باشد. KLF-3 تنظیم‌گر مهم بیولوژی سلول‌های چربی است، به طوری که موش‌های فاقد ژن KLF-3 به دلیل کاهش اندازه و توده سلول‌های چربی، لاغرند. در نتیجه مهار فورین و KLF-3 به نظر می‌رسد که روش مناسبی برای مبارزه با چاقی و کنترل مهار CTRP-12 باشد. از آنجا که یکی از عوامل مبارزه‌کننده با چاقی و پیشگیری از تخریب ناشی از چاقی انجام منظم تمرینات ورزشی است، به نظر می‌رسد تمرین ورزشی قادر به کنترل KLF3 و فورین و افزایش CTRP12 باشد.

تحقیقات محدودی به بررسی این چند فاکتور با تمرین ورزشی پرداخته‌اند. نشان داده شده است تمرینات ورزشی تناوبی (با شدت کمتر) در نمونه حیوانی با پاتولوژی دیابت قادر به افزایش معنادار در CTRP12 است، با وجود این تغییرات سایر فاکتورها در این مطالعه بررسی نشد (۲۰). این در حالی بود که شن و همکاران (۲۰۱۶) نیز در مطالعه خود نشان دادند که در مدل حیوانی مایس تمرین ورزشی حاد (۱۲۰ دقیقه شنا) سبب تنظیم بیان ژن‌های آدیپوژنیک از جمله KLF-15 در بافت چربی سفید می‌شود (۲۱). در خصوص تغییرات فورین و KLF3 و تمرین ورزشی نیز مطالعات محدود است.

از آنجا که - با توجه به بررسی ما - مطالعات در زمینه تأثیر تمرین ورزشی بر مسیر KLF-3 / KLF-15 / فورین / CTRP-12 در بافت چربی احشایی محدود است، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین ورزشی تداومی با شدت متوسط (MICT) بر مقادیر CTRP-12 و عوامل تنظیم‌کننده آن (فورین، KLF-3 و KLF-15) در بافت چربی احشایی رت‌ها پس از رژیم غذایی پرچرب بود.



تصویر ۱. طرح شماتیک گروه بندی پژوهش

گروه MICT با شدت ۵۰-۶۰ درصد V_{max} به مدت ۸۰ دقیقه و پنج جلسه در هفته به مدت ۱۲ هفته دویدند. در انتهای هر جلسه، سرد کردن با سرعت ۶ متر بر دقیقه به مدت ۳ دقیقه اجرا شد (جدول ۱).

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینات و پس از یک شب ناشتایی، موش‌ها با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. سپس نمونه‌های خون به طور مستقیم از بطن چپ قلب گرفته شدند و برای سنجش مقادیر گلوکز و انسولین به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۲۵۰۰ متر بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. به وسیله جراحی، بافت چربی احشایی برداشته شد (تصویر ۲) و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو شد. بافت چربی احشایی به منظور انجام آزمایش‌های سلولی و مولکولی در فریزر نگهداری شد. سپس، بافت چربی احشایی با دستگاه همگن‌کننده بافت، هموژن شد و مقادیر KLF-15، KLF-3، Furin و CTRP-12 با استفاده از کیت و به روش الیزا مورد سنجش قرار گرفتند.

به منظور آشنایی و آماده‌سازی گروه تمرین (MICT) برای دویدن روی تردمیل، موش‌ها به مدت ۲ هفته، ۳ جلسه در هفته و هر جلسه ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۷-۱۵ متر بر دقیقه روی تردمیل دویدند. آزمون حداکثر سرعت دویدن رت‌ها (V_{max})، قبل و ۶ هفته پس از شروع پروتکل تمرینی، برای تعیین شدت برنامه تمرینی و اعمال اضافه‌بار مطابق با مطالعات قبلی (۲۴، ۲۵) انجام گرفت. برای اجرای این آزمون، موش‌های گروه MICT پس از گرم کردن (۵ دقیقه با سرعت ۶-۸ متر بر دقیقه) با شیب صفر درجه و با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه شروع به دویدن کردند. سرعت تردمیل هر ۲ دقیقه یک بار به میزان ۰/۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر در دقیقه) افزایش می‌یافت. V_{max} سرعتی بود که با وجود اعمال تحریکات ملایم با چوب دستی، موش توانایی یا تمایلی برای ادامه دویدن نداشت. پروتکل تمرینی MICT با اقتباس از کارهای منتشرشده قبلی (۲۸-۲۶) پس از برآورد حداکثر سرعت دویدن موش‌ها (V_{max}) شروع شد. به طوری که پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۷-۱۰ متر بر دقیقه، رت‌ها در

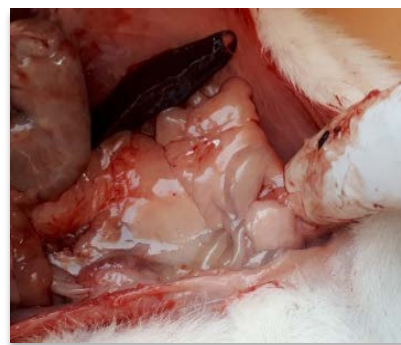
جدول ۱. تمرین هوازی با شدت متوسط (MICT)

مدت تمرین (دقیقه)	هفته (۵ جلسه در هفته)
۲۰-۱۵	۱
۳۰-۲۰	۲
۴۰-۳۰	۳
۵۰-۴۰	۴
۶۰-۵۰	۵
۶۵-۶۰	۶
۷۰-۶۵	۷
۷۵-۷۰	۸
۸۰-۷۵	۹
۸۰	۱۰
۸۰	۱۱
۸۰	۱۲

شدت تمرین در طول دوره = ۵۰ - ۶۰ درصد حداکثر سرعت دویدن (V_{max}) - ثابت بود.



بافت چربی زیر پوستی



بافت چربی احشایی

تصویر ۲. نمونه برداری بافت چربی

یافته‌ها

تغییرات وزن موش‌ها در نمودار ۱ نشان داده شده است. در بررسی درون‌گروهی تغییرات وزن موش‌ها، ۱۲ هفته رژیم غذایی استاندارد (معمولی) و پرچرب سبب افزایش معنادار وزن موش‌های تمام گروه‌ها شد (برای تمامی گروه‌ها، $P=0/001$). در گروه کنترل سالم در هفته ۲۴ (بعد از رژیم غذایی معمولی یا استاندارد)، مقادیر وزن موش‌ها افزایش معناداری نسبت به هفته ۱۲ داشت ($P=0/003$). اما در گروه HFD در هفته ۲۴، وزن موش‌ها تقریباً ثابت ماند و تغییرات معناداری نسبت به هفته ۱۲ ایجاد نشد ($P=0/169$). این در حالی بود که MICT، تغییرات وزنی ناشی از HFD را کنترل و کاهش معناداری در وزن موش‌ها نسبت به هفته ۱۲ ایجاد کرد ($P=0/003$) (نمودار ۱).

در بررسی بین‌گروهی نیز نتایج آزمون آماری ANOVA یکراهه نشان داد که بین گروه‌های مختلف در هفته ۱۲ (بعد از HFD) تفاوت معناداری وجود داشت ($F=1063/552$ و $P=0/001$) (جدول ۲). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که دو گروه کنترل HFD و MICT نسبت به گروه کنترل سالم افزایش معناداری در وزن داشتند (برای تمام گروه‌ها: $P=0/001$).

همچنین، نتایج آزمون آماری ANOVA یکراهه برای وزن هفته ۲۴ نشان داد که بین گروه‌های مختلف بعد از ۲۴ هفته تفاوت معناداری وجود داشت ($F=20/648$ و $P=0/001$) (جدول ۲). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که در هفته ۲۴، گروه کنترل HFD، وزن بیشتری نسبت به گروه کنترل سالم و MICT داشت که این تغییرات معنادار بود (برای هر دو گروه: $P=0/001$).

تغییرات مقادیر CTRP-12 بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آزمون ANOVA ($P=0/386$) مشخص شد که بین میانگین‌های مقادیر CTRP-12 چربی احشایی

مقادیر بافتی KLF-15 با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت چین با شماره کاتولوگ (E1677Ra) و حساسیت (0/019 ng/ml)، ضریب تغییرات درون‌آزمون ($CV<8\%$) و ضریب تغییرات برون‌آزمون ($CV<10\%$) اندازه‌گیری شد.

مقادیر بافتی KLF-3 با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت چین با شماره کاتولوگ (E1702Ra) و حساسیت (12/33 ng/l)، ضریب تغییرات درون‌آزمون ($CV<8\%$) و ضریب تغییرات برون‌آزمون ($CV<10\%$) اندازه‌گیری شد.

مقادیر بافتی Furin با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت چین با شماره کاتولوگ (E1678Ra) و حساسیت (0/061 ng/ml)، ضریب تغییرات درون‌آزمون ($CV<8\%$) و ضریب تغییرات برون‌آزمون ($CV<10\%$) اندازه‌گیری شد.

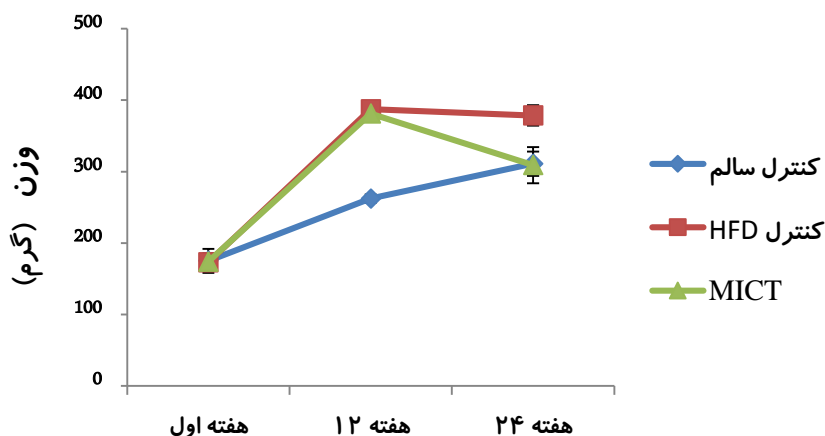
مقادیر بافتی CTRP-12 با استفاده از روش آزمایشگاهی ELISA و کیت (Bioassay Technology Laboratory) ساخت چین با شماره کاتولوگ (E1679Ra) و حساسیت (11/16 ng/l)، ضریب تغییرات درون‌آزمون ($CV<8\%$) و ضریب تغییرات برون‌آزمون ($CV<10\%$) اندازه‌گیری شد.

در پژوهش حاضر از آزمون آماری شاپیرو-ویلک برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها، از آزمون لون به‌منظور بررسی همگنی واریانس‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یکراهه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی برای تعیین تفاوت بین گروهی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت. سطح معناداری معادل $P\leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

در گروه‌های مختلف پژوهش اختلاف معناداری وجود ندارد (جدول ۳).

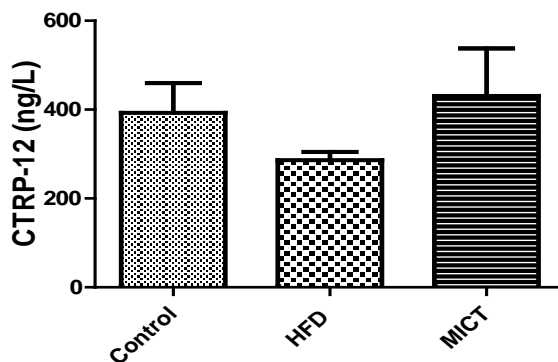
جدول ۲. نتایج آزمون ANOVA یک‌راهه در تعیین تفاوت موجود در وزن موش‌ها

P	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجذور مربعات	منبع تغییر	زمان اندازه‌گیری
۰/۹۷۴	۰/۰۲۶	۵/۰۰۰	۲	۱۰/۰۰۰	بین گروهی	هفته اول
		۱۹۱/۶۶۷	۱۲	۲۳۰۰/۰۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۲۳۱۰/۰۰۰	کل	
* ۰/۰۰۱	۱۰۶۳/۵۵۲	۲۴۸۵۱/۶۶۷	۲	۴۹۷۰۳/۳۳۳	بین گروهی	هفته ۱۲ (بعد HFD)
		۲۳/۵۵۲	۱۲	۲۸۰/۴۰۰	درون گروهی	
			۱۴	۴۹۹۸۳/۷۳۳	کل	
* ۰/۰۰۱	۲۰/۶۴۸	۷۸۴۸/۲۶۷	۲	۱۵۶۹۶/۵۳۳	بین گروهی	هفته ۲۴
		۳۸۰/۱۰۰	۱۲	۴۵۶۱/۲۰	درون گروهی	
			۱۴	۲۰۲۵۷/۷۳۳	کل	



نمودار ۱. تغییرات وزن موش‌ها در طول ۲۴ هفته پژوهش

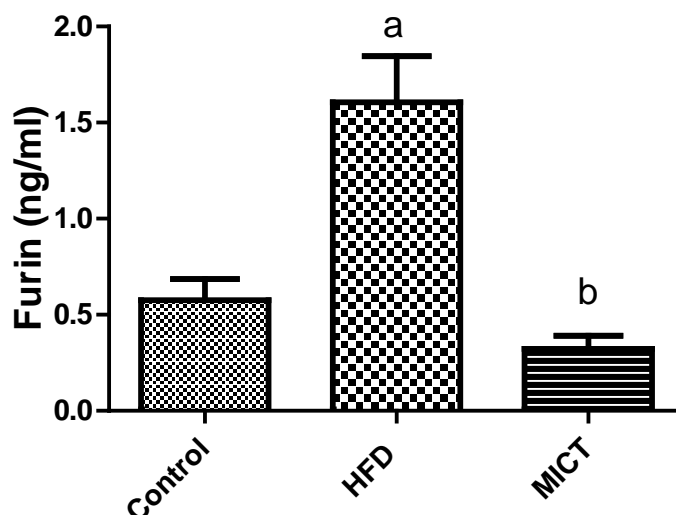
*: معناداری نسبت به هفته اول ($P < 0.05$). #: معناداری نسبت به هفته دوازدهم ($P < 0.05$).



نمودار ۲. تغییرات مقادیر CTRP-12 (ng/l) بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف پژوهش (انحراف استاندارد ± میانگین)

جدول ۳. نتایج آزمون آنوا برای مقادیر CTRP-12 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر	منبع تغییر	مجذور مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
CTRP-12 (ng/L)	بین گروهی	۵۶۲۳۰/۶۶۱	۲	۲۸۱۱۵/۳۳۱	۱/۰۳۲	۰/۳۸۶
	درون گروهی	۳۲۶۸۶۰/۳۱۱	۱۲	۲۷۲۳۸/۳۵۹		
	کل	۳۸۳۰۹۰/۹۷۲	۱۴			



نمودار ۳. تغییرات مقادیر فورین (ng/ml) بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف پژوهش (انحراف استاندارد \pm میانگین).
^a: معناداری نسبت به گروه کنترل ($P \leq 0/05$). ^b: معناداری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0/05$).

گروه‌های مختلف پژوهش اختلاف معناداری وجود دارد (جدول ۵). نتایج آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد که HFD سبب افزایش معنادار KLF-3 و تمرین MICT موجب کاهش معنادار مقادیر KLF-3 بافت چربی احشایی شد (نمودار ۴).

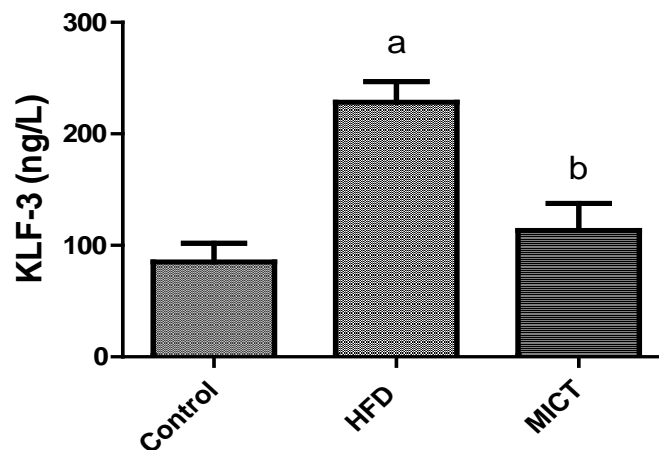
تغییرات مقادیر KLF-15 بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آنوا ($P = 0/018$) مشخص شد که بین میانگین‌های مقادیر KLF-15 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش اختلاف معناداری وجود دارد (جدول ۶). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که تمرین MICT سبب افزایش معنادار مقادیر KLF-15 بافت چربی احشایی نسبت به گروه کنترل HFD شد (نمودار ۵).

تغییرات مقادیر فورین بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف در نمودار ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آنوا ($P = 0/001$) مشخص شد که بین میانگین‌های مقادیر فورین چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش اختلاف معناداری وجود دارد (جدول ۴). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد رژیم غذایی پرچرب سبب افزایش معنادار فورین شد، این در حالی بود که MICT به‌طور معناداری مقادیر فورین بافت چربی احشایی را نسبت به گروه HFD کاهش داد (نمودار ۳).

تغییرات مقادیر KLF-3 بافت چربی احشایی بین گروه‌های مختلف پژوهش در نمودار ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آنوا ($P = 0/001$) مشخص شد که بین میانگین‌های مقادیر KLF-3 بافت چربی احشایی در

جدول ۴. نتایج آزمون آنوا برای مقادیر فورین بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش

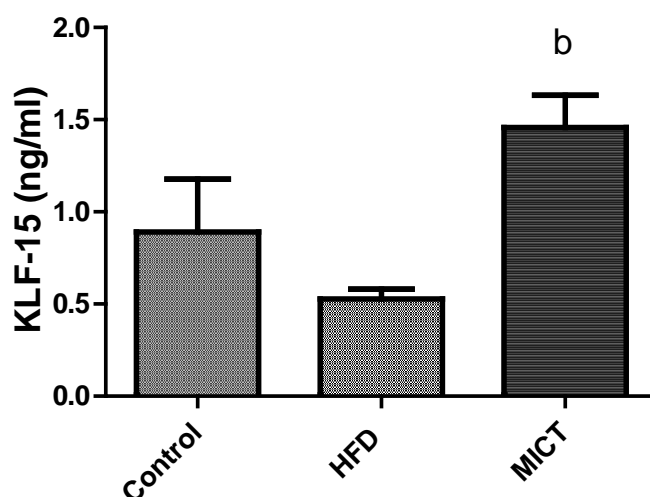
متغیر	منبع تغییر	مجذور مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
فورین (ng/ml)	بین‌گروهی	۴/۶۲۲	۲	۲/۳۱۱	۱۸/۷۶۰	* ۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۱/۴۷۸	۱۲	۰/۱۲۳		
	کل	۶/۱۰۰	۱۴			



نمودار ۴. تغییرات مقادیر KLF-3 (ng/L) بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش (انحراف استاندارد \pm میانگین).
^a: معناداری نسبت به گروه کنترل ($P \leq 0/05$). ^b: معناداری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0/05$).

جدول ۵. نتایج آزمون آنوا برای مقادیر KLF-3 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر	منبع تغییر	مجذور مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
KLF-3 (ng/l)	بین‌گروهی	۵۷۶۸۱/۱۹۶	۲	۲۸۸۴۰/۵۹۸	۱۴/۲۹۴	* ۰/۰۰۱
	درون‌گروهی	۲۴۲۱۱/۵۹۱	۱۲	۲۰۱۷/۶۳۳		
	کل	۸۱۸۹۲/۷۸۷	۱۴			



نمودار ۵. تغییرات مقادیر KLF-15 (ng/ml) بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش (انحراف استاندارد \pm میانگین).
^b معناداری نسبت به گروه HFD ($P \leq 0.05$).

جدول ۶. نتایج آزمون آنوا برای مقادیر KLF-15 بافت چربی احشایی در گروه‌های مختلف پژوهش

متغیر	منبع تغییر	مجذور مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
KLF-15 (ng/ml)	بین گروهی	۲/۱۹۳	۲	۱/۰۹۷	۵/۷۱۰	* ۰/۰۱۸
	درون گروهی	۲/۳۰۵	۱۲	۰/۱۹۲		
	کل	۴/۴۹۸	۱۴			

بحث و نتیجه گیری

آدیپوکاین‌ها می‌توانند تأثیرات مثبت و منفی از خود بر جای بگذارند (۵). از جمله این آدیپوکاین‌ها CTRP-12 و KLF-15 هستند که در تنظیم مثبت متابولیسم گلوکز و اسید چرب در شرایط چاقی نقش بازی می‌کنند (۲۹، ۳۰). این در حالی است که فاکتورهایی مانند KLF-3 یا فورین می‌توانند با ممانعت از عملکرد CTRP-12 یا به صورت مستقل تأثیرات منفی خود را بر جای بگذارند. تمرینات ورزشی از جمله راه‌های درمانی در شرایط چاقی و پیشگیری از آثار تخریبی ناشی از آن مانند دیابت، مقاومت به انسولین و ... است (۳۱). در مورد تمرینات هوازی با شدت متوسط نیز مطالعات متعدد نشان دادند که این روش تمرینی به شدت بافت چربی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با

وجود این، در خصوص تأثیر تمرین ورزشی هوازی با شدت متوسط بر فاکتورهای CTRP-12، KLF-15، KLF-3 و فورین بافت چربی احشایی مطالعات محدود است. بیان شده است که از عوامل مهم تأثیرگذار بر کنترل تخریبات بافت چربی و مقاومت به انسولین، CTRP-12 است. به بیان دیگر، CTRP-12 یک آدیپوکاین است که عمل ضددیابتی هم به طریق ژنتیکی (نقص لپتین) و هم وابسته به رژیم در مدل موش چاق و دیابتی دارد (۳۲). همسو با این تفاسیر، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رژیم غذایی پرچرب سبب کاهش CTRP-12 شد هرچند این کاهش معنادار نبود. هرچند در پژوهش حاضر روش تمرینی MICT سبب افزایش غیرمعنادار CTRP-12 شد، با این حال به نظر می‌رسد این تغییرات افزایشی بتواند تأثیرات

مفیدی بر جای بگذارد، که از جمله آنها بهبود حساسیت به انسولین باشد، زیرا بیان شده است CTRP-12 مقاومت انسولینی را با افزایش سیگنالینگ انسولینی در بافت چربی و کبد بهبود می‌بخشد. این در حالی بود که در پژوهش حاضر تغییرات سیگنالینگ انسولینی با CTRP-12 ارزیابی نشد. همچنین، CTRP-12 عمل حساسیت انسولینی را از طریق مهار گلوکونئوزنز و پیشرفت مصرف گلوکز در سلول‌های کبدی همانند سلول‌های آدیپوز بهبود می‌بخشد (۳۲). این در حالی است که در تمرینات ورزشی به‌ویژه تمرین ورزشی با شدت متوسط معمولاً گلوکز در سلول‌های عضلانی مصرف می‌شود که می‌تواند در توجیه افزایش غیرمعنادار CTRP-12 توضیح‌دهنده باشد. در خصوص CTRP-12 همچنین بیان شده است که این عامل تأثیر ضدالتهابی دارد، زیرا توزیع آن تجمع ماکروفاژ و بیان ژن فاکتور ضدالتهابی را در بافت آدیپوز موش چاق کاهش می‌دهد (۱۹). این در حالی بود که در پژوهش حاضر تغییرات التهابی القا نشده و مدنظر نبوده است. اخیراً، هاسیگاوا و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی تغییرات در سطوح سرمی CTRPs ناشی از تمرین ورزشی، در آزمودنی‌های میانسال و پیر پرداختند. ۵۲ آزمودنی به دو گروه تمرینی (۲۶ نفر) و گروه کنترل بدون تمرین (۲۶ نفر) تقسیم شدند. گروه تمرینی ۸ هفته تمرین هوازی (۶۰ تا ۷۰ درصد VO_{2peak}) به مدت ۴۵ دقیقه ۳ روز در هفته انجام دادند. نتایج این محققان نشان داد که تمرین ورزشی هوازی سبب افزایش سطوح سرمی CTRPs شده که ممکن است با کاهش سفتی شریان در میانسالی و پیری همراه باشد (۳۳). از جمله تفاوت‌ها در نتایج پژوهش حاضر و تحقیق هاسیگاوا و همکاران می‌توان به نوع پروتئین انتخابی، رده سنی آزمودنی‌ها، نوع بررسی و نوع پاتولوژی اشاره کرد. اخیراً رحمت‌اللهی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهش خود ۲۴ سر موش صحرایی ویستار را با رژیم غذایی پرچرب و STZ

دیابتی کرده و تأثیرات تمرین ورزشی تناوبی با شدت بالا و پایین را بر پروتئین CTRP12 بررسی کردند. نتایج این محققان نشان داد انجام تمرین ورزشی تناوبی با شدت پایین به مدت ۸ هفته قادر به افزایش معنادار CTRP-12 پلاسمایی بود. این در حالی بود که مقادیر گلوکز در هر دو گروه کاهش معنادار و مقادیر HOMA-IR در هر دو گروه کاهش معناداری را نشان داد. این محققان در نهایت بیان کردند که تغییرات آدیپولین پلاسمایی بیشتر به نوع تمرین ورزشی وابسته است (۱۶). در مطالعه حاضر هرچند القای دیابت صورت نگرفت، اما حیوانات از رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند. همچنین همسو با نتایج پژوهش رحمت‌اللهی شدت پایین مطالعه حاضر و ماهیت استقامتی تمرینی جدا از تأثیرات گلوکز و مقاومت به انسولینی قادر به افزایش معنادار CTRP-12 بود. تغییرات افزایشی در شدت تمرین جدا از تأثیرات و فواید متابولیکی، قادر به ایجاد التهاب در بدن نیز است (۳۶-۳۴). تغییرات التهابی می‌تواند CTRP-12 را تحت تأثیر قرار دهد، زیرا نشان داده شده افزایش التهاب ناشی از چاقی سبب تغییرات کاهش CTRP-12 می‌شود (۱۰). با وجود این تمرینات ورزشی با شدت کمتر و با مدت طولانی‌تر با افزایش سطح میتوکندری (۳۷) در سلول‌های مختلف قادر به افزایش سوخت‌وساز و تجزیه چربی‌های بدن هستند که از این طریق می‌تواند نقش ضدالتهابی نیز داشته باشد، از این‌رو افزایش CTRP-12 با تمرینات ورزشی دور از انتظار نیست. از جمله مکانیسم‌های تمرین ورزشی بهبود متابولیسم گلوکز و افزایش حساسیت به انسولینی است (۳۸). این در حالی است که یکی از مکانیسم‌های اثر CTRP-12 بهبود متابولیسم گلوکز از طریق کنترل التهاب است (۲۹). بنابراین، به‌نظر می‌رسد تمرین ورزشی با القای CTRP-12 قادر به بهبود متابولیسم گلوکز نیز است. با وجود این سایر

استراحت) به گلوکز، گلیکوژن عضله، چربی و به مقدار کمتر اسیدهای آمینه می‌شود (۴۶). با افزایش شدت ورزش اتکا به کربوهیدرات‌ها (موجود در خون و عضله) بیشتر می‌شود. در اوایل ورزش، گلیکوژن حجم زیادی از سوخت عضله در حال فعالیت را فراهم می‌کند، به طوری که ذخایر گلیکوژن تخلیه می‌شود و همچنین جذب گلوکز از خون و اسیدهای چرب آزاد شده از بافت چربی افزایش می‌یابد. ذخایر چربی درون عضلانی منبع در دسترس‌تری از چربی حین فعالیت‌های درازمدت ورزشی‌اند. همچنان که مدت ورزش ادامه می‌یابد، تولید گلوکز از گلیکوژنولیز کبدی به گلوکونئوزنر جابه‌جا می‌شود (۴۷). در نتیجه تغییرات متابولیسمی گلوکز و چربی در پژوهش حاضر دور از انتظار نیست. بنابراین، به نظر می‌رسد از جمله تأثیرات مثبت تنظیم مثبت KLF-15 با تمرین ورزشی MICT بهبود متابولیسم گلوکز و چربی باشد، زیرا در این باره نیز بیان شده است از میان KLF ها، KLF-15 نقش حیاتی در تنظیم تمایز آدیپوسیتی بازی می‌کند (۴۸). KLF-15 می‌تواند در تنظیم آدیپولین در آدیپوسیت نیز نقش داشته باشد (۱۸). بیان شده است که KLF-15 سبب القای بلوغ آدیپوسیت و بیان GLUT-4 می‌شود (۴۳). این در حالی است که GLUT-4 تحت تأثیر تمرینات استقامتی نیز قرار می‌گیرد، در نتیجه به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر KLF-15 علاوه بر تنظیم درون سلولی متابولیسم گلوکز و چربی بر ورود این مواد به درون سلول و مصرف آنها نیز تأثیرگذار باشد. در مورد تغییرات KLF-15 با تمرینات ورزشی مطالعات محدودی وجود دارد. هالدار و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه خود به بررسی تغییرات KLF-15 بافت عضلانی با تمرین ورزشی پرداختند. این محققان بیان کردند که KLF-15 قادر به تنظیم سوخت و چربی درون عضلانی است. در این مطالعه نشان داده شد که موش‌ها با ناکوت KLF-15 وابستگی سوختی بیشتر به کربوهیدرات داشته

فاکتورها در این مسیر سیگنالی می‌توانند درگیر باشند که از جمله آنها به KLF-15 می‌توان اشاره کرد (۱۸).

تحقیقات بیان کرده‌اند که حالت چاقی سبب سرکوب رونویسی سطوح CTRP-12 از طریق کاهش بیان KLF-15 می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند KLF-15 می‌تواند در تغییرات CTRP به‌ویژه CTRP-12 مؤثر باشد (۱۸). هرچند در مطالعه حاضر همبستگی میان CTRP-12 و KLF-15 بررسی نشد، تغییرات KLF-15 پژوهش حاضر همسو با نتایج سایر تحقیقات بود، زیرا افزایش مصرف رژیم غذایی پرچرب سبب کاهش معنادار KLF-15 نسبت به گروه کنترل سالم شد. این در حالی بود که تمرین ورزشی MICT به‌طور معناداری مقادیر KLF-15 را افزایش داد که افزایش این عامل را می‌توان به تأثیرات مثبت ناشی از تمرین ورزشی نسبت داد. در این زمینه بیان شده است که KLFs ها به‌طور گسترده‌ای با اختلالات از جمله چاقی، شرایط التهابی و اختلال متابولیسمی ارتباط دارند (۳۹). مطالعات قبلی نقش خانواده این ژن را در اریتروپویتز (KLF1/EKLF) (۴۰)، فعال‌سازی سلول T و توسعه عروقی (۴۱) و رشد ریه (۴۲) و همچنین نقش KLF-15 در بهبود متابولیسم گلوکز (۴۳) نشان داده‌اند. از جمله تأثیرات مثبت تمرین ورزشی بهبود متابولیسم چربی و گلوکز است (۴۴).

انقباض عضلانی جذب گلوکز خون به عضلات را افزایش می‌دهد، اگرچه سطوح گلوکز خون معمولاً از طریق تولید گلوکز طی فرایند گلیکوژنولیز و گلوکونئوزنر کبدی و فراخوانی مواد سوختی دیگر، از جمله اسیدهای چرب آزاد حفظ می‌شود (۴۵). چندین عامل بر استفاده از منابع سوختی حین ورزش مؤثرند، البته مهم‌ترین آنها شدت و مدت فعالیت است که در مطالعه حاضر از تمرین هوازی با مدت طولانی‌تر استفاده شد. فعالیت بدنی موجب تغییر سوبسترا از اسیدهای چرب آزاد (سوخت غالب حین

فاکتورهایی است که در تخریب CTRP-12 نیز نقش دارد. بیان شده است که فورین متعلق به خانواده پروپروتئین کانورتاز است و در تجزیه پروتئولیتیک CTRP-12 مؤثر است (۱۰). بیان فورین در بافت چربی موش‌های چاق تنظیم مثبت می‌شود (۵۲). به علاوه درمان آدیپوسیت با TNF- α بیان فورین را افزایش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که چاقی سبب تجزیه CTRP-12 از طریق تنظیم مثبت مقادیر فورین در بافت چربی می‌شود، زیرا القای فورین در شرایط چاقی تجزیه CTRP-12 در بافت چربی را تسهیل می‌کند، در نتیجه به کاهش سطوح جریان خون CTRP-12 نیز منجر می‌شود. تجزیه CTRP-12 مصرف گلوکز تحریک شده با انسولین در آدیپوسیت‌های کشت داده شده را افزایش می‌دهد (۵۳). سایر تحقیقات بیان کرده‌اند که حالت چاقی سبب سرکوب رونویسی سطوح CTRP-12 از طریق افزایش بیان فورین می‌شود (۱۸). به بیان دیگر، اندوپیتیداز فورین پروتئین CTRP-12 را بین پیوندهای k-۹۱ و s-۹۲ می‌شکند (۱۰). گزارش شده است که فرم کامل CTRP-12 افزایش میزان جذب گلوکز ناشی از انسولین در آدیپوسیت‌ها را به طور مؤثرتر در مقایسه با شکل جدا شده آن افزایش می‌یابد. این نتایج نشان می‌دهد که چاقی با افزایش فورین، موجب کاهش مقادیر گردش خون ایزوفرم کامل CTRP-12 می‌شود و به القای مقاومت به انسولین منجر می‌شود (۵۴). همان‌طور که بیان شد، در مطالعه حاضر MICT سبب کاهش معنادار فورین و افزایش غیرمعنادار CTRP-12 شد. هرچند همبستگی معکوس این دو فاکتور تأیید شد، عدم معناداری CTRP-12 می‌تواند مخالف با سایر تحقیقات باشد که به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی تأثیرات مجزایی بر این فاکتورها می‌گذارد که در این زمینه به مطالعه بیشتری نیاز است.

و دچار خستگی زودرس بعد از تمرینات استقامتی می‌شدند (۴۹). با وجود این ارتباط KLF-15 با CTRP-12 بعد از سازگاری تمرینی ارزیابی نشده است.

مطالعات در خصوص تأثیر تمرین ورزشی بر KLF-3 محدود است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اعمال رژیم غذایی پرچرب به نمونه حیوانی سبب افزایش معنادار KLF-3 شد. KLF-3 در ابتدا به عنوان مهارکننده رونویسی شناسایی شد. KLF-3 در تقویت تأثیرات تخریبی ناشی از رژیم غذایی پرچرب مؤثر است، زیرا بیان شده است که ناکوت KLF-3 در کاهش بافت آدیپوز سفید مؤثر است (۵۰) که در پژوهش حاضر تغییرات کاهش KLF-3 با ۱۲ هفته تمرین MICT تأیید شد. سو و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهش خود نشان دادند که سرکوب KLF-3 در کنترل آدیپوز مؤثر است (۲۰). ناکوت KLF3 در موش‌ها از چاقی و عدم تحمل گلوکز ناشی از رژیم غذایی محافظت کرد و بیان CTRP-12 را به شدت افزایش داد (۵۱). هرچند در این مطالعه تغییرات دقیق سیگنالینگ انسولینی و مقاومت به انسولین ارزیابی نشد، تغییرات افزایشی هرچند غیرمعنادار آدیپولین در گروه تمرین MICT مشاهده شد. در نتیجه به نظر می‌سد در پژوهش حاضر KLF-3 و CTRP-12 همبستگی منفی داشته باشند که باید بررسی شود، زیرا در بررسی پیشینه پژوهش مشخص شده است KLF-3 به طور مستقیم به نواحی پرموتور CTRP-12 متصل می‌شود و فعالیت آن را مهار می‌کند (۵۱). بنابراین، KLF-3 ممکن است هدف مولکولی برای دستکاری مقاومت به انسولین از طریق تعدیل رونویسی CTRP-12 باشد. از سویی، نتایج مطالعه فورین با تغییرات KLF-3 نیز هم‌جهت بود، زیرا ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب (HFD) سبب افزایش معنادار فورین و ۱۲ هفته تمرین ورزشی MICT سبب کاهش معنادار فورین شد. فورین از جمله

منفی فاکتورهای KLF-3 و فورین بافت چربی احشایی نقش داشته باشد. همچنین پیشنهاد می‌شود افراد در معرض چاقی برای سازگاری بهتر سلولی، به تمرینات ورزشی با مدت زمان طولانی‌تر رو بیاورند.

قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه رشته فیزیولوژی ورزشی است. این پژوهش، توسط کمیته ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه با کد (IR.UMSU.REC.1397.068) به تصویب رسید. از تمامی عزیزانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

در نتیجه، به نظر می‌رسد تغییرات کاهش‌ی بافت چربی از طریق مدالیته تمرین MICT پژوهش حاضر در کاهش فورین و کنترل تأثیرات تخریبی آن مؤثر باشد. با وجود این، بررسی مسیر سیگنالی دقیق این پروتئین‌ها در بافت چربی به مطالعات بیشتر به‌ویژه روی نمونه‌های انسانی نیاز دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد تمرین ورزشی با شدت متوسط (MICT) جدا از تغییرات -CTRP12، در بهبود سوخت‌وساز گلوکز و چربی و کنترل وزن و مقاومت به انسولین با تغییرات افزایشی KLF-15 و تنظیم

منابع و مآخذ

1. Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C, Pinget M, et al. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition & metabolism*. 2016;13(1):15.
2. Matsuzawa Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine*. 2006;3(1):35-42.
3. Després J-P, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006;444(7121):881-7.
4. Neels JG, Olefsky JM. Inflamed fat: what starts the fire? *Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(1):33.
5. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(2):85-97.
6. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(2):98-107.
7. Deng Y, Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1212(1).
8. Flier J, Scherer P. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*. 2005;54(Suppl 1):6-7.
9. Omidifar A, Toolabi K, Rahimipour A, Emamgholipour S, Shanaki M. The gene expression of CTRP12 but not CTRP13 is upregulated in both visceral and subcutaneous adipose tissue of obese subjects. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2019;13(4):2593-9.

10. Enomoto T, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Kataoka Y, Uemura Y, et al. Regulation of adipolin/CTR12 cleavage by obesity. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012;428(1):155-9.
11. Ogawa H, Ohashi K, Ito M, Shibata R, Kanemura N, Yuasa D, et al. Adipolin/CTR12 protects against pathological vascular remodelling through suppression of smooth muscle cell growth and macrophage inflammatory response. *Cardiovascular research*. 2019.
12. Fadaei R, Moradi N, Kazemi T, Chamani E, Azdaki N, Moezibady SA, et al. Decreased serum levels of CTR12/adipolin in patients with coronary artery disease in relation to inflammatory cytokines and insulin resistance. *Cytokine*. 2019;113:326-31.
13. Wong GW, Wei Z, Peterson JM. Method of treating diabetes by a CTR12 polypeptide. Google Patents; 2016.
14. Torres S, Fabersani E, Marquez A, Gauffin-Cano P. Adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. The proactive role of probiotics. *European journal of nutrition*. 2019;58(1):27-43.
15. Aldiss P, Betts J, Sale C, Pope M, Budge H, Symonds ME. Exercise-induced 'browning' of adipose tissues. *Metabolism*. 2018;81:63-70.
16. Rahmatollahi M, Ravasi A, Soori R, Onegh B, Dolati F. Adipolin and Insulin Resistance Response to Two Types of Exercise Training in Type 2 Diabetic Male Rats. *Endocrinol Metab Int J*. 2018;6(2):00152.
17. Matoba K, Lu Y, Zhang R, Chen ER, Sangwung P, Wang B, et al. Adipose KLF15 controls lipid handling to adapt to nutrient availability. *Cell reports*. 2017;21(11):3129-40.
18. Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, Kambara T, Uemura Y, Yuasa D, et al. Transcriptional regulation of an insulin-sensitizing adipokine adipolin/CTR12 in adipocytes by Krüppel-like factor 15. *PloS one*. 2013;8(12):e83183.
19. Ohashi K, Shibata R, Murohara T, Ouchi N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends in endocrinology & metabolism*. 2014;25(7):348-55.
20. Rahmatollahi M, Ravasi A, Soori R. Effect of 8 Weeks of Low-Intensity Continuous Training on Plasma Adipolin, Insulin Resistance, and Weight of Fatty Fat-Filled Rats. *Adv Obes Weight Manag Control*. 2017;7(5):00211.
21. Shen Y, Zhou H, Jin W, Lee H. Acute exercise regulates adipogenic gene expression in white adipose tissue. *Biology of sport*. 2016;33(4):381.
22. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition research reviews*. 2010;23(2):270-99.
23. Lee MO. Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1929;89(1):24-33.
24. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. *Proteomics*. 2009;9(1):106-15.
25. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic

- control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Scientific reports*. 2017;7(1):204.
26. Ostler JE, Maurya SK, Dials J, Roof SR, Devor ST, Ziolo MT, et al. Effects of insulin resistance on skeletal muscle growth and exercise capacity in type 2 diabetic mouse models. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2014;306(6):E592-605.
 27. Lee S, Park Y, Dellsperger KC, Zhang C. Exercise training improves endothelial function via adiponectin-dependent and independent pathways in type 2 diabetic mice. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011;301(2):H306-14.
 28. Chavanelle V, Boisseau N, Otero YF, Combaret L, Dardevet D, Montaurier C, et al. Effects of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on glycaemic control and skeletal muscle mitochondrial function in db/db mice. *Sci Rep*. 2017;7(1):204.
 29. Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, Higuchi A, Maruyama S, Izumiya Y, et al. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 2011;286(40):34552-8.
 30. Peterson JM, Seldin MM, Wei Z, Aja S, Wong GW. CTRP3 attenuates diet-induced hepatic steatosis by regulating triglyceride metabolism. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2013;305(3):G214-G24.
 31. Shirvani H, Arabzadeh E. Metabolic cross-talk between skeletal muscle and adipose tissue in high-intensity interval training vs. moderate-intensity continuous training by regulation of PGC-1 α . *Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*. 2018:1-8.
 32. Wei Z, Peterson JM, Lei X, Cebotaru L, Wolfgang MJ, Baldeviano GC, et al. C1q/TNF-related protein-12 (CTRP12), a novel adipokine that improves insulin sensitivity and glycemic control in mouse models of obesity and diabetes. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(13):10301-15.
 33. Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Uchida M, Kurihara T, Sanada K, et al. Aerobic exercise training-induced changes in serum C1q/TNF-related protein levels are associated with reduced arterial stiffness in middle-aged and older adults. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2017:ajpregu. 00212.2017.
 34. Mirdar S, Arabzadeh E, Hamidian G. Effects of two and three weeks of tapering on lower respiratory tract in the maturing rat. *Koomesh*. 2015;16(3).
 35. Arabzadeh E, Mirdar S, Fathi Z. Measurement of levels of lung HIF-1 α protein in response to tapering for 14-and 21-day with nigella sativa supplementation in maturing rat, with histological study. *Sport Sciences for Health*. 2015;11(2):195-202.
 36. Arabzadeh E, Mirdar S, Moradiani H. Nigella sativa supplementation attenuates exercise-induced bronchoconstriction in the maturing rat: a histometric and histologic study. *Comparative Clinical Pathology*. 2016;25(1):1-5.
 37. Bruce CR, Thrush AB, Mertz VA, Bezaire V, Chabowski A, Heigenhauser GJ, et al. Endurance training in obese humans improves glucose tolerance and mitochondrial fatty

- acid oxidation and alters muscle lipid content. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*. 2006;291(1):E99-E107.
38. Jelstad S, Ditta Valsdottir T, Johansen EI, Jensen Jr. Eight sessions of endurance training decrease fasting glucose and improve glucose tolerance in middle-aged overweight males. *Archives of physiology and biochemistry*. 2019:1-8.
39. McConnell BB, Yang VW. Mammalian Krüppel-like factors in health and diseases. *Physiological reviews*. 2010;90(4):1337-81.
40. Parkins AC, Sharpe AH, Orkin SH. Lethal β -thalassaemia in mice lacking the erythroid CACCC-transcription factor EKLF. *Nature*. 1995;375(6529):318.
41. Kuo CT, Veselits ML, Barton KP, Lu MM, Clendenin C, Leiden JM. The LKLF transcription factor is required for normal tunica media formation and blood vessel stabilization during murine embryogenesis. *Genes & development*. 1997;11(22):2996-3006.
42. Wani MA, Wert SE, Lingrel JB. Lung Kruppel-like factor, a zinc finger transcription factor, is essential for normal lung development. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(30):21180-5.
43. Gray S, Feinberg MW, Hull S, Kuo CT, Watanabe M, Sen S, et al. The Krüppel-like factor KLF15 regulates the insulin-sensitive glucose transporter GLUT4. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(37):34322-8.
44. Heiskanen MA, Motiani KK, Mari A, Saunavaara V, Eskelinen J-J, Virtanen KA, et al. Exercise training decreases pancreatic fat content and improves beta cell function regardless of baseline glucose tolerance: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2018;61(8):1817-28.
45. Coyle EF, Jeukendrup AE, Wagenmakers A, Saris W. Fatty acid oxidation is directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1997;273(2):E268-E75.
46. Holloszy JO, Kohrt WM. Regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Annual review of nutrition*. 1996;16(1):121-38.
47. Kim SH, Koh JH, Higashida K, Jung SR, Holloszy JO, Han DH. PGC-1 α mediates a rapid, exercise-induced downregulation of glycogenolysis in rat skeletal muscle. *The Journal of physiology*. 2015;593(3):635-43.
48. Mori T, Sakaue H, Iguchi H, Gomi H, Okada Y, Takashima Y, et al. Role of Krüppel-like factor 15 (KLF15) in transcriptional regulation of adipogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(13):12867-75.
49. Haldar SM, Jeyaraj D, Anand P, Zhu H, Lu Y, Prosdocimo DA, et al. Kruppel-like factor 15 regulates skeletal muscle lipid flux and exercise adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(17):6739-44.
50. Zhang Z-W, Wu C-Y, Li H, Wang N. Expression and functional analyses of Krüppel-like factor 3 in chicken adipose tissue. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2014;78(4):614-23.

51. Bell-Anderson KS, Funnell AP, Williams H, Jusoh HM, Scully T, Lim WF, et al. Loss of Krüppel-like factor 3 (KLF3/BKLF) leads to upregulation of the insulin-sensitizing factor adipolin (FAM132A/CTRP12/C1qdc2). *Diabetes*. 2013;62(8):2728-37.
52. Dijk W, Ruppert PM, Oost LJ, Kersten S. Angiopoietin-like 4 promotes the intracellular cleavage of lipoprotein lipase by PCSK3/furin in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2018;293(36):14134-45.
53. Wei Z, Lei X, Seldin MM, Wong GW. Endopeptidase cleavage generates a functionally distinct isoform of C1q/tumor necrosis factor-related protein-12 (CTRP12) with an altered oligomeric state and signaling specificity. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(43):35804-14.
54. Bass J, Turck C, Rouard M, Steiner DF. Furin-mediated processing in the early secretory pathway: sequential cleavage and degradation of misfolded insulin receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97(22):11905-9.

The Effect of 12 Weeks of High Fat Diet and Moderate Intensity Training on the KLF-15 / KLF-3 / Furin / CTRP-12 Pathway of Visceral Adipose Tissue in Male Rats

Setareh Amiri¹ - Asghar Tofghi² - Alireza Shirpoor³ -
Javad Tolouei Azar^{*4}

1.MSc Student of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran2.Associate Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran3.Professor of Physiology, Faculty of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran4.Associate Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: 2019/12/19; Accepted: 2020/5/9)

Abstract

One of the factors that counteracts with risk factors of metabolic disorder is CTRP-12. Obesity plays an important role in the downregulation of CTRP-12 by positive regulation of furin and KLF-3 factors and negative regulation of KLF-15. Training affects adipocytes signaling. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of 12 weeks of moderate intensity continuous training (MICT) on the KLF-15 / KLF-3 / furin / CTRP-12 of visceral adipose tissue in male obese rats. 15 male Wistar rats were divided into two groups: high fat diet (n=10) and standard diet (n=5). After 12 weeks, the high fat diet group was again divided into two groups: MICT and HFD. Training program was performed for 12 weeks, 5 sessions per week with intensity of 50-60% of maximum speed. The values of variables were measured by ELISA method. Data were analyzed using ANOVA and Prism 5 software. The results of this study showed that HFD significantly increased the amount of furin and KLF-3 in visceral adipose tissue ($P \leq 0.05$). The 12 weeks of MICT significantly decreased the levels of furin, KLF-3 and significantly increased KLF-15 compared with the HFD group ($P \leq 0.05$). Changes in CTRP-12 were not significant between groups ($F = 1.032$, $P = 0.386$). 12 weeks of MICT, apart from changes in CTRP-12, was effective in decreasing the risk of adipose tissue cellular factors (furin and KLF-3) and in increasing the beneficial factors of adipose tissue (KLF-15). Therefore, it is recommended that those exposed to obesity should get longer training sessions for better cellular adaptation.

Keywords

CTRP-12, furin, KLF-3, KLF-15, moderate intensity continuous training.

* Corresponding Author: Email: j.toloueiazar@urmia.ac.ir ; Tel: +989143410949