

آثار تمرین هوازی و محدودیت کالری بر چربی درون عضلانی، پروفایل لیپیدی و مقاومت به انسولین پس از ۱۸ هفته رژیم غذایی پرچرب در موشهای صحرایی نر

ابوذر جورنپیان^۱، حمید محبی^۲

چکیده

مقدمه و هدف: بی تحرکی با متابولیسم ناقص چربی درون عضلانی ارتباط دارد که منجر به تجمع متابولیت‌های اسید چرب و مقاومت به انسولین می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی آثار تمرین هوازی و محدودیت کالری بر چربی درون عضلانی، پروفایل لیپیدی و مقاومت به انسولین پس از ۱۸ هفته رژیم غذایی پرچرب در موش‌های صحرایی نر بود. **روش‌شناسی:** نمونه آماری تحقیق حاضر را ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزن $12/6 \pm 194/5$ گرم تشکیل دادند. نمونه برداری بافت و خون پس از ناشتایی شبانه در هفته‌های ۱۸ و ۲۸ صورت گرفت. پس از اندازه‌گیری وزن موش‌ها در هفته اول، موش‌ها رژیم غذایی پرچرب مصرف کردند. موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب پس از ۱۸ هفته، به گروه‌های کنترل و تعادل منفی انرژی شامل تمرین هوازی و محدودیت رژیم غذایی تقسیم شدند. گروه‌های تعادل منفی انرژی به مدت ۱۰ هفته، به ترتیب تحت تمرین هوازی (دویدن) با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و ۲۵٪ محدودیت رژیم غذایی قرار گرفتند. سطوح تری گلیسرید لیپاز بافت چربی، دی و تری آسید گلیسرول عضله نعلی و همچنین سطوح سرمی گلوکز، انسولین و نیمرخ لیپیدی اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین نیز محاسبه گردید.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که روش‌های تعادل منفی انرژی سبب کاهش معنی‌دار سطوح دی آسید گلیسرول عضله و سطوح سرمی انسولین، گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین، در موش‌های صحرایی چاق شد ($P < 0/05$). همچنین تنها در گروه محدودیت رژیم غذایی کاهش معنی‌دار تری آسید گلیسرول درون عضلانی مشاهده شد ($P < 0/05$). کاهش سطوح تری آسید گلیسرول و کلسترول نیز فقط در گروه تمرین هوازی نشان داده شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که روش‌های تعادل منفی انرژی حتی در زمان مصرف غذای پرچرب می‌توانند سبب کاهش دی آسید گلیسرول عضله اسکلتی شوند که تا حد زیادی با بهبود مقاومت به انسولین همسو است.

واژگان کلیدی: مقاومت به انسولین، تعادل منفی انرژی، رژیم غذایی پرچرب، تری آسید گلیسرول، دی آسید گلیسرول.

مقدمه

بر اساس گزارش سازمان جهانی سلامت، تقریباً ۲/۳ میلیارد بزرگسال در سراسر جهان دارای اضافه وزن و از این بین بیش از ۷۰۰ میلیون نفر به چاقی مبتلا هستند (۱). نگرانی‌های زیادی در مورد رشد سریع اختلالات مرتبط با بیماری‌های متابولیک ناشی از چاقی شامل دیابت نوع ۲ و همچنین بیماری‌های قلبی عروقی وجود دارد (۲). علت چاقی، ترکیبی از عوامل محیطی و وراثتی است و با افزایش قابل توجه در بیماری و مرگ و میر همراه است و کاهش وزن برای بهبود سلامتی این افراد توصیه می‌شود. با وجود انواع رژیم‌های غذایی و تمرینات ورزشی گوناگون از سوی محققان، موفقیت‌چندانی در بهبود وضعیت افراد چاق بدست نیامده است. با این حال رژیم‌های غذایی کم کالری یا تمرینات ورزشی استقامتی بلند مدت به عنوان راه‌کارهای پیشنهادی همچنان استفاده می‌شوند (۱). بنابراین جهت دستیابی به استراتژی‌های مناسب جهت کاهش وزن، آگاهی از مکانیزم‌های سلولی و مولکولی در روند چاقی و سازگاری آن‌ها به تمرینات ورزشی و یا محدودیت کالری مهم است.

مقاومت به انسولین یک نقص اولیه در دیابت نوع ۲ و همچنین عامل خطرزای مستقل برای بیماری‌های مزمن به شمار می‌رود. مقاومت به انسولین زمانی رخ می‌دهد که مقادیر فیزیولوژیکی انسولین، قادر به افزایش جذب گلوکز توسط بافت‌ها و مهار گلوکز کبدی نباشد (۲). از بین بافت‌های مختلف بدن، عضلات اسکلتی مقدار زیادی از گلوکز خون را جذب می‌کند، بنابراین بافت مهمی برای جلوگیری از تجمع گلوکز خون می‌باشد (۳). مطالعات اخیر بر روی آزمودنی‌های حیوانی و انسانی نشان داد که مقاومت به انسولین رابطه زیادی با افزایش محتوای تری آسید گلیسرول^۱ درون عضلانی دارد (۸). گزارش شده است که در افراد چاق و دیابتی نوع ۲، تجمع متابولیت‌های چربی، بیشتر از افراد لاغر و سالم می‌باشد (۶)؛ هرچند گزارشات متناقضی نیز وجود دارد (۷)، یکی از تئوری‌های مرتبط با چاقی و مقاومت به انسولین، لیپوتوکسی است که نشان دهنده عوارض ناشی از افزایش غلظت چربی درون عضله می‌باشد. به نظر می‌رسد که افزایش فراورده‌های متابولیکی چربی درون سلولی ناشی از لیپولیز و یا سنتز چربی از قبیل DAG^۲، سرامیدها و استیل کوای با زنجیره بلند، منجر به مهار حساسیت به انسولین می‌شوند (۵). در این رابطه، نشان دادند که تزریق ذرات چربی همراه با هپارین به موش‌ها و انسان، منجر به افزایش اسید چرب پلازما شده و مقاومت به انسولین بعد از ۴ الی ۶ ساعت رخ می‌دهد (۱۰). محققان این تحقیق بیان داشتند که احتمالاً، تجمع DAG به عنوان یک تشخیص دهنده ابتدایی مقاومت به انسولین بسیار مهم باشد. هرچند در مطالعه دیگری، افزایش DAG پس از تزریق چربی گزارش نشده است (۸). گزارش شده است که آنزیم تری گلیسیرید لیپاز بافت چربی^۳ منجر به شکسته شدن چربی درون سلولی می‌شود که برای شروع فرایند لیپولیز ضروری می‌باشد (۱۱). نشان داده شده است که با مهار ATGL، افزایش توده چربی و وزن بوجود می‌آید (۱۲). احتمالاً بیان ATGL توسط برخی از عوامل از جمله گرسنگی، گلوکوکورتیکوئیدها، انسولین، لپتین و میزان فعالیت بدنی تنظیم شود (۱۲). نشان داده شده است که میزان ATGL در افراد چاق و موش‌های مقاوم به انسولین کاهش می‌یابد (۱۳)، و از طرفی دیگر، افزایش بیش از حد ATGL منجر به افزایش DAG شده که مقاومت به انسولین را به همراه دارد (۱۴).

1 Triacylglycerol

2 Diacylglycerol

3 Adipose Triglyceride Lipase

فعالیت ورزشی همواره به عنوان یکی از راه کارهای کاهش وزن مد نظر محققین قرار گرفته است. عدم تعادل بین فرایند های تولید و مصرف چربی ناشی از فعالیت های ورزشی، ممکن است منجر به افزایش غلظت متابولیت های اسید چرب و افزایش مقاومت به انسولین شود (۴). گمان می رود که تمرینات ورزشی منجر به تعادل سوخت و سازی درون عضلانی شده و غلظت متابولیت ها را در حد متعادلی نگه می دارد و سبب بهبود مقاومت به انسولین می شود (۹). هرچند مکانیسم های تنظیم کننده ناشی از تمرینات ورزشی به طور واضح مشخص نیست. در مطالعات گذشته نشان دادند که حجم تمرین خاصی برای کاهش توده چربی و بهبود مقاومت به انسولین نیاز است، ولی این حجم از تمرین بسیار سخت و طاقت فرسا است. برای مثال، گزارش کردند برای کاهش نیم کیلوگرم از وزن در هفته، باید به مدت ۹۰ دقیقه و ۵ روز در هفته تمرین بر روی چرخ کارسنج اجرا شود و از طرفی محدودیت کالری، مشابه تمرینات با شدت ۴۵-۵۰ درصد حداکثر ضربان قلب به مدت ۲۵ الی ۵۰ دقیقه در هر جلسه و سه روز در هفته می باشد (۱۵). بنابراین برای کاهش فشار ناشی تمرین برای مزیت های مرتبط، می توان از محدودیت کالری نیز استفاده کرد. محدودیت کالری بدون سوء تغذیه (۳۵ الی ۴۰ درصد غذای مصرفی) سازگاری های مختلفی را بوجود می آورد که می تواند موجب بهبود عملکرد و سلامتی شود. یکی از این مزایا، بهبود مقاومت انسولینی است که در مطالعات حیوانی و انسانی، گزارش شده است (۴). مطالعات نشان دادند که افزایش $GLUT4^1$ عضلات پس از تمرینات ورزشی رخ می دهد، هرچند ارگیتینو و همکاران نشان دادند که محدودیت غذایی نیز باعث افزایش $GLUT4$ می شود (۱۶). ولی در مطالعه دیگری، عدم اثر محدودیت کالری بر بهبود مقاومت به انسولین گزارش شد (۱۷). این محققان اظهار داشتند که احتمالاً محدودیت کالری نمی تواند با حدود طبیعی انسولین، منجر به تغییر عملکرد گیرنده انسولین شود. در رابطه با مسیر سیگنالینگ انسولین نیز برخی از مطالعات تغییر و عدم تغییر ناشی از محدودیت کالری را نشان دادند (۱۸ و ۱۹). به نظر می رسد که فشار متابولیکی روش های تعادل منفی انرژی ناشی از محدودیت کالری و فعالیت ورزشی حتی با درصد یکسان، برابر نمی باشد زیرا محدودیت کالری طی روز اعمال می شود در حالی که فعالیت ورزشی در یک دامنه زمانی محدود فشار متابولیکی مربوطه را وارد می کند. بنابراین حتی با در نظر گرفتن درصد برابری از تعادل منفی انرژی باید برای روش های متفاوت اعمال آن، مکانیسم های متفاوتی را متصور شد.

با توجه به تناقضات موجود و مطالعات اندک در دسترس بین تغییرات چربی درون عضلانی ناشی از چاقی و اثرات تمرین هوازی و محدودیت کالری بر آن، محققین این پژوهش در پی یافتن این نکته هستند که کدام یک از روش های تعادل منفی انرژی، برای تنظیم متابولیسم چربی درون عضلانی و در نهایت بهبود مقاومت به انسولین مناسب تر می باشد.

مواد و روش ها

نمونه آماری

آزمودنی های پژوهش حاضر را ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار هشت هفته ای با میانگین وزن $194/5 \pm 12/6$ گرم تشکیل دادند. موش ها در گروه های چهارتایی و در قفس های مجزا از جنس پلی کربنات و در شرایط محیطی کنترل شده (دمای 22 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت 5 ± 60 و چرخه روشنایی- تاریکی معکوس ۱۲:۱۲ ساعت) و با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه موش های صحرایی نگهداری شدند. به آزمودنی ها پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، غذای پرچرب که حاوی کالری و چربی بیشتری در مقایسه با غذای استاندارد

بود (کالری غذا؛ ۴/۸۴ در مقابل ۳/۸۶ کیلوکالری بر گرم و درصد انرژی غذا از چربی ۳۹ درصد در مقابل ۳/۲ درصد)، داده شد موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب پس از ۱۸ هفته به گروه‌های غذای پرچرب (۸ سر) محدودیت رژیم غذایی (۸ سر) و تمرین هوازی (۸ سر) تقسیم شدند.

پروتکل محدودیت رژیم غذایی و تمرین هوازی

قبل از اعمال محدودیت کالری، غذای موش‌ها به مدت ۱۴ روز در هفته‌های ۱۷ و ۱۸ زیر نظر گرفته شد تا میزان غذای دریافتی گروه محدودیت رژیم غذایی مشخص شود و سپس به مدت ۱۰ هفته تحت مداخله غذایی قرار گیرند. بر اساس پروتکل تحقیق، ۲۵٪ از میانگین انرژی دریافتی روزانه این گروه کاسته شد و بقیه گروه‌ها، غذای مورد نیاز را به‌صورت دسترسی آزاد دریافت کردند.

جهت اجرای تمرین هوازی، ابتدا موش‌ها به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه، روی نوار گردان راه رفتند و به تدریج در طول مدت ۲ هفته شدت فعالیت آن‌ها به ۲۸ متر بر دقیقه معادل با ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی افزایش یافت که ۵ بار در هفته و به مدت ۱۰ هفته دویدند (۲۰). برای حذف سطوح مختلف استرس احتمالی بین حیوانات، گروه‌های محدودیت کالری و غذای پرچرب نیز یک‌بار در هفته و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲ متر بر ثانیه با شیب صفر درصد دویدند (۲۱). تمام مراحل اجرا و نگهداری حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان مورد تایید قرار گرفت.

نمونه‌گیری و اندازه‌گیری متغیرهای خونی و بافتی

نمونه‌گیری خونی و بافتی در هفته‌های اول، هجدهم و بیست و هشتم بعد از ناشتایی شبانه انجام شد. جهت حذف اثر حاد تمرین، نمونه‌گیری از گروه تمرین هوازی ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین در آزمایشگاه بافت‌شناسی علوم پزشکی دانشگاه گیلان صورت گرفت. ابتدا موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ - ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و خون‌گیری از ورید اجوف فوقانی صورت گرفت. نمونه‌های خونی به لوله‌های آزمایش مخصوص انعقاد منتقل شدند و بعد از ۲۰ دقیقه قرار گرفتن در انکوباتور (دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد) سانتریفیوژ (با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه) شدند. جهت اطمینان از کیفیت سرم، مجدداً نمونه‌ها در اپندروف‌های شماره‌گذاری شده قرار گرفتند و در میکروسانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ ثانیه سانتریفیوژ شدند. سرم خالص شده در اپندروف‌های معین قرار داده شد و برای انجام مراحل بعدی تحقیق به فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

غلظت انسولین سرم به روش الایزا (۲۰) و با استفاده از کیت (Ultrasensitive Rat Insulin, ELISA, Mercodia AB, Uppsala, Sweden) اندازه‌گیری شد. دامنه اندازه‌گیری، ضریب تغییرات برون آزمون و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۰/۰۲ - ۵/۶، ۵/۶ درصد و ۰/۰۲ میکروگرم بر لیتر برای انسولین بودند. گلوکز با روش آنزیمی-رنگ سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز (شرکت پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب ۱/۸٪ و ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. همچنین HDL-C و کلسترول با روش آنزیمی فتومتریک و تری‌گلیسیرید نیز به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با

استفاده از کیت شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفتند. سطوح LDL-C نیز با استفاده از معادله فریدوالد و همکاران (۲۲)^۱ -فرمول زیر- محاسبه شد:

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

ضریب تغییرات و حساسیت روش اندازه‌گیری به ترتیب برای HDL-C ۲٪ و ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، کلسترول ۱/۲٪ و ۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، تری‌گلیسیرید ۲/۲٪ و ۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{HOMA-IR} = 22.5 \div \left(\frac{\text{انسولین قنط (میلی واحد بر لیتر)}}{\text{گلوکز قنط (میلی مول بر لیتر)}} \right)$$

غلظت TAG، DAG و ATGL درون عضلانی

پس از تشریح موش‌ها، عضله نعلی با استفاده از تیغ جراحی جدا شده و بلافاصله پس از شستشو با آب دیونیزه در مایع نیتروژن قرار داده شد و سپس در دمای -۷۰ درجه سانتیگراد نگه داری شد. سطوح DAG با استفاده از روش رنگ سنجی (۲۳) و سطوح TAG با روش استفاده از روش رنگ سنجی وابسته به آنزیم^۲ اندازه‌گیری شدند (۲۴). ابتدا عضله نعلی با روش هاون کوبی در نیتروژن مایع پودر شد و به نسبت ۱ به ۵ در بافر مخصوص، لیز و هموژن شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد و ۱۵ دقیقه با ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت بدست آمده با روش برادفورد^۳ و با استفاده از BSA^۴ به عنوان استاندارد تعیین و در دمای منفی ۷۰ درجه برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی نگهداری شد. مقادیر بافتی آنزیم ATGL عضله با روش الایزا و با استفاده از کیت مخصوص ATGL (MyBio Source, USA) اندازه‌گیری شد. حساسیت اندازه‌گیری برابر ۰/۰۷۸ نانوگرم در میلی‌گرم و ضریب تغییرات intra و inter assay به ترتیب ۳/۱۷ و ۶/۸۳ نانوگرم در میلی‌گرم بود.

جهت اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون‌های t مستقل و تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. محاسبه‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب، وزن حیوانات ($39.0/4 \pm 2.0/8$ گرم) در مقایسه با قبل از رژیم غذایی ($32.0/1 \pm 1.5/6$ گرم)، و در مقایسه با گروه غذای نرمال هفته هجدهم ($32.0/1 \pm 1.5/6$ گرم)، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). پس از اعمال پروتکل، ده هفته محدودیت کالری منجر به کاهش وزن در مقایسه با گروه غذای پرچرب، شد ($P < 0.05$) (شکل ۱). متغیرهای سرمی و بافتی هفته هجدهم در جدول ۱ ارائه شده است. این نتایج نشان داد که پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب، سطوح سرمی تری‌آسیل گلیسرول، گلوکز، انسولین و HOMA-IR نسبت به مصرف غذای نرمال تفاوت معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$). همچنین، تفاوت معنی‌دار مقادیر TAG، DAG و ATGL درون عضلانی نیز مشاهده شد ($P < 0.05$).

نتایج مربوط به ادامه پروتکل مصرف مواد غذایی پرچرب و همچنین اعمال محدودیت رژیم غذایی و تمرین هوازی پس از ۱۰ هفته در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، گلوکز سرمی در گروه‌های

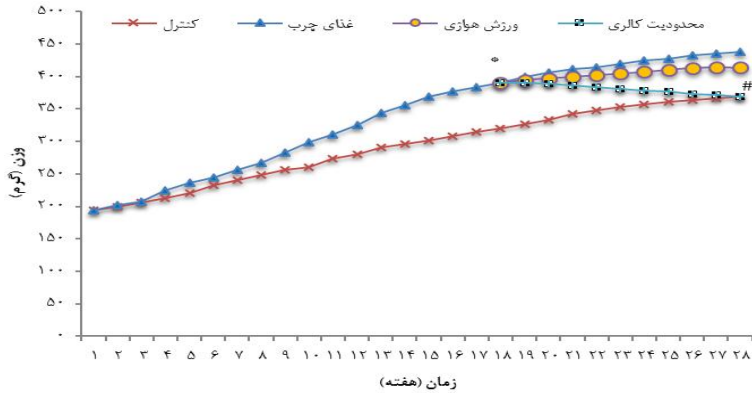
1 Friedewald

2 Colorimetric Enzyme-Linked

3 Bradford

4 Bovin Serum Albumin

تمرین هوازی و محدودیت رژیم غذایی در مقایسه با هفته هجدهم، به ترتیب ۵۰ و ۴۱ درصد کاهش یافت ($P < 0.01$). انسولین و شاخص مقاومت به انسولین نیز در هر دو گروه در مقایسه با گروه رژیم غذایی پرچرب کاهش معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.01$).



شکل ۱. وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف طی ۲۸ هفته

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به قبل از رژیم غذایی و گروه غذای نرمال هفته هجدهم ($P < 0.05$).
نشان دهنده تفاوت معنی‌دار گروه محدودیت کالری و غذای نرمال نسبت به گروه غذای پرچرب ($P < 0.05$)

جدول ۱. مقادیر متغیرهای سرمی و بافتی موش‌های صحرایی در هفته هجدهم (میانگین \pm انحراف استاندارد)

متغیر	غذای نرمال (سر ۸)	غذای پرچرب (سر ۸)
وزن (گرم)	۳۲۰/۱ \pm ۱۵/۶	۳۹۰/۴ \pm ۲۰/۸*
گلوکز (میلی‌مول بر لیتر)	۱۰/۵ \pm ۱/۶	۱۴/۸ \pm ۱/۷*
انسولین (پیکوگول بر لیتر)	۶۰/۳۳ \pm ۹/۲۲	۸۸/۹۴ \pm ۱۳/۹۷*
شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۱/۳۷ \pm ۰/۲۲	۲/۳۵ \pm ۰/۵۴*
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۲/۲ \pm ۲/۲	۳۷/۴ \pm ۳/۰*
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۶/۴۲ \pm ۷/۹	۳۱/۴۷ \pm ۹/۸۲*
کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷۲/۵ \pm ۵/۱	۸۱/۱ \pm ۱۱/۹*
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۸۳/۸ \pm ۱۶/۷	۱۱۱/۴ \pm ۲۲/۷*
DAG (میکرومول بر گرم عضله)	۲۵۷/۴۸ \pm ۱۸/۹۱	۸۵۰/۰ \pm ۳۷/۲۴*
TAG (میکروگرم بر میلی‌گرم عضله)	۳/۳۳ \pm ۰/۹۴	۹/۴۴ \pm ۲/۰۱*
ATGL (نانو گرم بر میلی‌گرم پروتئین)	۹۴/۸۳ \pm ۰/۴۱	۱۰۴/۶۶ \pm ۰/۵۱*

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با غذای نرمال ($P < 0.05$)

از بین متغیرهای پروفایل لیپیدی، تری گلیسرید در هر دو گروه تعادل منفی انرژی در مقایسه با گروه پرچرب به صورت معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). این در حالی بود که سطوح لیپوپروتئین با چگالی پایین و کلسترول تام فقط در گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه غذای پرچرب کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). مقادیر DAG گروه های تعادل منفی انرژی نسبت به گروه غذای پرچرب کاهش یافت ($P < 0.05$) ولی کاهش مقادیر TAG، تنها در گروه محدودیت رژیم غذایی نسبت به غذای پرچرب مشاهده شد ($P < 0.05$). مقادیر ATGL نیز در هر دو گروه تعادل منفی انرژی نسبت به غذای پرچرب بیشتر بود ($P < 0.05$)

جدول ۲. مقادیر متغیرهای سرمی و بافتی موش های صحرائی در هفته بیست و هشتم (میانگین \pm انحراف استاندارد)

متغیر	غذای نرمال (۸ سر)	غذای پرچرب (۸ سر)	محدودیت رژیم غذایی (۸ سر)	تمرین هوازی (۸ سر)
وزن بدن (گرم)	۳۶۹/۲ \pm ۱۵/۲	# ۴۳۸/۱ \pm ۲۳/۵	* ۳۶۹/۶ \pm ۱۲/۷	۴۱۳/۸ \pm ۲۰/۱
گلوکز (میلی مول بر لیتر)	۱۲/۳ \pm ۱/۴	# ۱۵/۶ \pm ۲/۵	* ۸/۳ \pm ۲/۰۷	* ۷/۳ \pm ۱/۸۵
انسولین (میکرومول بر لیتر)	۸۷/۸ \pm ۲۱/۴۶	# ۱۰۲/۸۷ \pm ۱۵/۹۵	* ۴۰/۵۸ \pm ۴/۳۱	* ۳۶/۶۸ \pm ۱۰/۲۳
شاخص مقاومت به انسولین	۱/۸۱ \pm ۰/۵۷	# ۲/۹۳ \pm ۰/۶۶	* ۰/۸۵ \pm ۰/۱۱	* ۰/۷۵ \pm ۰/۲۴
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۷۲/۹ \pm ۱۹/۱	# ۱۰۱/۶ \pm ۲۰/۶	* ۵۷/۵ \pm ۱۶/۲	* ۷۱/۳ \pm ۱۳/۷
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۱/۵۵ \pm ۹/۳	# ۴۲/۱۷ \pm ۸/۹۸	۳۵/۸۷ \pm ۷/۸۹	* ۲۵/۴۷ \pm ۸/۷۳
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۱/۲۵ \pm ۴/۹	# ۲۵/۷ \pm ۳/۵	۲۷/۲ \pm ۲/۴	۲۸/۳ \pm ۴/۱
کلسترول تام (میلی گرم بر دسی لیتر)	۸۰/۳۸ \pm ۴/۱	# ۸۸/۲ \pm ۸/۲	۷۴/۶ \pm ۸/۸	* ۶۸/۱ \pm ۱۳/۵
DAG (میکرومول بر گرم عضله)	۲۶۹/۶۴ \pm ۱۷/۴	# ۱۳۹۴/۸ \pm ۲۵/۵	* ۴۵۷/۳ \pm ۱۸/۹	* ۴۲۸/۸ \pm ۱۱/۶
TAG (میکروگرم بر میلی گرم عضله)	۴/۱۵ \pm ۰/۹۰	# ۸/۲ \pm ۸/۲	* ۶/۳ \pm ۰/۹	۹/۳ \pm ۱/۱
ATGL (نانو گرم بر میلی گرم پروتئین)	۹۳/۰۳ \pm ۰/۴۴	# ۱۰۵/۲۴ \pm ۰/۲۲	* ۱۲۳/۹۲ \pm ۰/۴۵	* ۱۲۴/۴۶ \pm ۰/۸۶

* نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه غذای پرچرب ($P < 0.05$)

نشان دهنده تفاوت معنی دار در مقایسه با گروه غذای نرمال ($P < 0.05$)

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که وزن موش ها پس از ۱۸ هفته مصرف غذای پرچرب، ۲۱ درصد افزایش یافت و پس از ۱۰ هفته تعادل منفی انرژی تنها در گروه محدودیت رژیم غذایی کاهش یافت. گزارش کردند که کاهش وزن شامل کاهش توده چربی و بدون چربی است. در این راستا، مطالعه ای اثرات تمرین ورزشی و محدودیت کالری بر کاهش وزن را مقایسه کرد و نشان داد که تمرین ورزشی از طریق کاهش چربی درون عضلانی و احشایی منجر به کاهش وزن می شود ولی محدودیت کالری، تنها کاهش چربی احشایی به همراه دارد (۲۵). کاهش وزن همراه با کاهش توده چربی، می تواند به بهبود مقاومت به انسولین کمک کند ولی کاهش وزن توده

بدون چربی، ممکن است با کاهش پروتئین دریافتی و افزایش کاتابولیسم پروتئین همراه باشد. همسو با نتایج مطالعه حاضر، سام جو و همکاران (۲۶) نشان دادند که تمرین ورزشی حتی بدون کاهش وزن نیز بهبود مقاومت به انسولین را به همراه دارد (۲۷). به نظر می‌رسد که تمرینات ورزشی بدون کاهش وزن، منجر به فعالیت ساخت گلیکوژن و منابع گلیکوژن می‌شود و احتمالاً با اثر بخشی بر چربی درون سلولی، مقاومت به انسولین را بهبود بخشد.

در تحقیق حاضر سطوح سرمی تری آسید گلیسرول در گروه‌های محدودیت کالری و تمرین هوازی به ترتیب کاهش معنی‌دار ۴۴ و ۳۰ درصدی را نسبت به گروه غذای پرچرب نشان دادند که با نتایج برنیکو^۱ و همکاران (۲۸) همسو بود. به همین ترتیب کریستیانسن و همکاران نیز نشان دادند که ۱۲ هفته تعادل منفی انرژی (۸ هفته رژیم بسیار کم کالری و ۴ هفته رژیم متعادل همراه با تمرین ورزشی) سبب بهبود پروفایل لیپیدی می‌گردد (۲۹). در تحقیق حاضر تنها گروه تمرین هوازی بهبود معنی‌دار کلسترول تام را نشان داد و لیپوپروتئین با چگالی بالا در هیچ یک از گروه‌ها بهبود نیافت ولی تمرین ورزشی منجر به کاهش لیپوپروتئین با چگالی پایین شد که به عنوان لیپوپروتئین مضر شناخته می‌شود. اختلاف پاسخ نیم‌رخ لیپیدی بین گروه‌های تعادل منفی انرژی، احتمالاً ناشی از تفاوت در فشار متابولیکی اعمال شده بین روش‌های استفاده شده است. زیرا فشار متابولیکی روش‌های تعادل منفی انرژی ناشی از محدودیت کالری و تمرین هوازی حتی با درصد یکسانی از تعادل منفی انرژی، برابر نمی‌باشند؛ چراکه محدودیت کالری طی بازه زمانی روزانه اعمال می‌شود در حالی که فعالیت ورزشی در یک دامنه زمانی محدود، فشار متابولیکی مربوطه را وارد می‌کند. بنابراین حتی با در نظر گرفتن درصد برابری از تعادل منفی انرژی، باید برای روش‌های متفاوت، مکانیسم‌های متفاوتی را متصور شد. تناقض نتایج مطالعه حاضر در عدم بهبود در تمام متغیرهای نیم‌رخ لیپیدی با مطالعات دیگر را می‌توان به شدت‌های بالاتر تعادل منفی انرژی در این‌گونه تحقیقات نسبت داد (۲۸ و ۲۹). به نظر می‌رسد که افزایش میزان تعادل منفی انرژی، اثرات بیشتری بر نیم‌رخ لیپیدی داشته باشد.

در ارتباط با سطح گلوکز، همسو با تحقیقات انجام شده (۲۹ و ۳۰)، نتایج تحقیق حاضر کاهش معنی‌دار گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین در گروه‌های تعادل منفی انرژی نسبت به گروه غذای پرچرب را نشان داد. به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی و محدودیت کالری اثرات خود را بر بهبود مقاومت به انسولین اعمال کرده باشند. هرچند مطالعات مختلف بیان کردند که احتمالاً مکانیسم‌های متفاوتی برای کاهش مقاومت به انسولین ناشی از تمرین ورزشی و محدودیت کالری وجود دارد. برای مثال، نشان دادند که محدودیت کالری منجر به افزایش فسفریلاسیون Akt^۲ در عضلات می‌شود که سبب کاهش مقاومت به انسولین می‌گردد (۳۱) ولی تمرین ورزشی از طریق کاهش DAG و مهار PKC^۳ و همچنین فسفریله کردن IRS-1^۴ این نقش را ایفا می‌کند (۳۲، ۳۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ۱۸ هفته رژیم غذایی پرچرب، علاوه بر افزایش تری آسید گلیسرول سرم، محتوای چربی درون سلولی (DAG و TAG) را نیز افزایش داد. رندل برای اولین بار در سال ۱۹۶۲ بیان کرد که افزایش چربی در دسترس، باعث بروز مقاومت به انسولین می‌شود که اظهاراتش بر پایه افزایش مقدار چربی

1 Burneiko

2 Protein kinase B

3 Protein kinase C

4 Insulin receptor substrate 1

پلازما در افراد دیابتی و دیگر بیماری‌های متابولیسم کربوهیدرات بود (۳۴). افزایش چربی پلازما منجر به کاهش انتقال و فسفریله شدن گلوکز، سنتز گلیکوژن و اکسیداسیون گلوکز می‌شود که به نوبه خود مقاومت به انسولین را بوجود می‌آورد. این فرضیه توسط مطالعات حیوانی و انسانی حمایت شده است (۵ و ۳۹). با افزایش چربی سرمی و سپس چربی درون عضلانی، موادی از قبیل DAG، سرامیدها و استیل کوآی زنجیره بلند در سلول افزایش می‌یابد. این مواد با مکانیسم‌های مختلف، مقاومت به انسولین را بوجود می‌آورند. برای مثال، با افزایش DAG درون عضلانی، PKC- θ افزایش می‌یابد که منجر به غیرفعال شدن IRS-1 می‌شود و در نهایت، GLUT4 جهت برداشت گلوکز، به غشا انتقال نمی‌یابد. به نظر می‌رسد که افزایش چربی درون عضلانی نقش اولیه و مهمی در تشخیص مقاومت به انسولین ایفا نماید و تمرینات ورزشی با تنظیم بازگردش و مصرف چربی باعث بهبود حساسیت به انسولین می‌شود. همچنین تمرینات ورزشی از طریق افزایش پروتئین‌های درگیر در اکسیداسیون از قبیل α^1 PGC-1، PPAR γ ، ظرفیت اکسیداتیو عضلات اسکلتی را افزایش می‌دهد (۳۵)؛ که نشان داده شده است، ظرفیت آنزیم‌های اکسیداتیو در افراد با مقاومت به انسولین، پایین است، و ناکارآمدی متابولیکی را بوجود می‌آورد. این ناکارآمدی، متابولیسم چربی و گلوکز در عضلات را دچار نقصان می‌کند و منجر به بروز مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ می‌شود. البته با فعالیت حداکثری آنزیم‌های اکسیداتیو، حساسیت انسولینی زیاد می‌شود؛ در این راستا، گزارش شده است که افزایش ظرفیت اکسیداتیو پس از تمرینات ورزشی منجر به بهبود حساسیت انسولین می‌شود (۳۶). همچنین، تمرینات ورزشی با افزایش CPT1 γ و کاهش DAG و سرامیدها ارتباط دارد (۳۶). احتمالاً تمرینات ورزشی با هدف قرار دادن چربی‌ها برای اکسیداسیون و تامین انرژی، منجر به کاهش تجمع چربی‌هایی از قبیل DAG شده و مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد (۶). بعلاوه؛ بیان شده است که افراد چاق دارای مقاومت به انسولین، آمادگی بیشتری برای مصرف چربی در طی تمرین ورزشی نسبت به افراد لاغر کم تحرک دارند که به نظر می‌رسد مکانیسم تقابلی بین میتوکندری و تجمع چربی برای اکسیداسیون و بازگردش آن وجود داشته باشد (۳۷). از آنجائیکه دی‌آسیل گلیسرول از طریق لیپولیز و یا سنتز تری‌آسیل گلیسرول در عضله بوجود می‌آید، به نظر می‌رسد که تمرین ورزشی از طریق افزایش لیپولیز و متابولیسم چربی درون عضلانی، این کار را انجام دهد. از طرفی دیگر، محدودیت کالری از طریق کاهش چربی دریافتی، منجر به کاهش تولید دی‌آسیل گلیسرول می‌شود. با وجود کاهش مقادیر DAG پس از محدودیت کالری در مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که مکانیسم متفاوتی نسبت به تمرین ورزشی بر مقاومت به انسولین داشته باشد. چرا که در مطالعات گذشته، عدم انتقال GLUT4 به غشای سلول بر اثر محدودیت کالری گزارش شده است (۱۶).

آنزیم‌هایی از قبیل ATGL و HSL برای لیپولیز چربی ضروری هستند. از طرفی دیگر گزارش شده است که عدم تناسب فعالیت ATGL و HSL منجر به افزایش متابولیت‌های FA می‌شود. هرچند افزایش بیان پروتئین ATGL در افراد چاق مقاومت به انسولین نشان داده شد ولی افزایش HSL در این افراد مشاهده نشد (۴۰). احتمالاً در مطالعه حاضر، مصرف مواد غذایی پرچرب منجر به عدم تناسب بین ATGL و HSL شده است که متعاقب آن DAG افزایش یافت. از طرفی دیگر، فعالیت ورزشی و محدودیت کالری منجر به افزایش ATGL و

1 Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha

2 peroxisome-proliferator activated receptor

3 Carnitine palmitoyl transferase1

همچنین کاهش DAG شده است، که به نظر می‌رسد با افزایش دادن فعالیت HSL، سطوح DAG را کاهش دادند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که TAG تنها در گروه محدودیت رژیم غذایی کاهش یافت. بر خلاف این نتایج، در مطالعه‌ای عدم تغییر TAG پس از محدودیت کالری گزارش شده است، هر چند همسو با مطالعه حاضر، تمرینات ورزشی منجر به افزایش TAG شد (۳۸). به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری را تحریک کرده و با مصرف بیشتر TAG و افزایش لیپولیز، مقدار آن را در عضلات افزایش می‌شود. احتمالاً تمرین ورزشی با اثر مستقیم بر چربی درون عضلانی و آبشار پیام‌رسانی جذب گلوکز، منجر به کاهش مقاومت به انسولین می‌شود ولی محدودیت کالری، اثر بیشتری بر تغییرات وزن و چربی احشایی داشته باشد (۲۵).

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محدودیت رژیم غذایی منجر به کاهش وزن شد که به نظر می‌رسد، محدودیت کالری باید به عنوان یکی از راهکارهای کاهش وزن مورد توجه قرار گیرد. از طرفی دیگر، از بین روش‌های تعادل منفی انرژی، تمرین‌های اثر بیشتری بر بهبود پروفاایل لیپیدی داشت. همچنین، روش‌های تعادل منفی انرژی، کاهش DAG را به همراه داشتند که این کاهش متناسب با بهبود مقاومت به انسولین بود.

References:

1. Broch-Johnsen K. 2007. The metabolic syndrome in a global perspective. The public health impact-secondary publication. *Dan Med Bull.* 2:165-176.
2. Muoio DM, Newgard CB. 2008. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9:193-205.
3. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. 1981. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes.* 30:1000-1007.
4. Cartee GD. 2008. Exercise and calorie restriction use different mechanisms to improve insulin sensitivity. In: Hawley JA and Zierath JR, ed. *Physical Activity and Type 2 Diabetes.* Champaign, IL: Human Kinetics. 119-134.
5. Jornayvaz FR, Shulman GI. 2012. Diacylglycerol activation of protein kinase C ϵ and hepatic insulin resistance, *Cell Metab.* 15:574-584.
6. Coen PM, Dubé JJ, Amati F, Stefanovic-Racic M, Ferrell RE, Toledo FG, Goodpaster BH. 2010. Insulin resistance is associated with higher intramyocellular triglycerides in type I but not type II myocytes concomitant with higher ceramide content. *Diabetes.* 59: 80-88.
7. Skovbro M, Baranowski M, Skov-Jensen C, Flint A, Dela F, Gorski J & Helge JW. 2008. Human skeletal muscle ceramide content is not a major factor in muscle insulin sensitivity. *Diabetologia.* 51:1253-1260.
8. Hoeg LD, Sjoberg KA, Jeppesen J, Jensen TE, Frosig C, Birk JB, Bisiani B, Hiscock N, Pilegaard H, Wojtaszewski JF, Richter EA, Kiens B. 2011. Lipid-induced insulin resistance affects women less than men and is not accompanied by inflammation or impaired proximal insulin signaling. *Diabetes.* 60:64-73.
9. Frosig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA & Wojtaszewski JF. 2007. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes.* 56:2093-2102.

10. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, and Shulman GI. 1999. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes*. 48:1270-1274.
11. Alsted TJ, Nybo L, Schweiger M, et al. 2009. Adipose triglyceride lipase in human skeletal muscle is upregulated by exercise training. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296:445-453.
12. Kershaw EE, Hamm JK, Verhagen LA, et al. 2006. Adipose triglyceride lipase: function, regulation by insulin, and comparison with adiponutrin. *Diabetes*. 55:148-57.
13. Watt MJ, van Denderen BJ, Castelli LA, et al. 2008. Adipose triglyceride lipase regulation of skeletal muscle lipid metabolism and insulin responsiveness. *Mol Endocrinol*. 22:1200-12.
14. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, et al. 2004. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*. 306:1383-6.
15. Nicklas BJ, Wang X, You T, Lyles MF, Demons J, et al. 2009. Effect of exercise intensity on abdominal fat loss during calorie restriction in overweight and obese postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 89:1043-1052.
16. Argentino DP, Dominici FP, Al-Regaiey K, Bonkowski MS, Bartke A, and Turyn D. 2005. Effects of long-term caloric restriction on early steps of the insulin-signaling system in mouse skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 60:28-34.
17. Argentino DP, Munoz MC, Rocha JS, Bartke A, Turyn D, and Dominici FP. 2005. Short-term caloric restriction does not modify the in vivo insulin signaling pathway leading to Akt activation in skeletal muscle of Ames dwarf (Prop1(df)/Prop1(df)) mice. *Horm Metab Res*. 37:672-9.
18. Sharma N, Arias EB, Bhat AD, Sequea DA, Ho S, Croff KK, et al. 2011. Mechanisms for increased insulin-stimulated Akt phosphorylation and glucose uptake in fast- and slow-twitch skeletal muscles of calorie-restricted rats. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 300:966-978.
19. Balage M, Grizard J, Manin M. 1990. Effect of calorie restriction on skeletal muscle and liver insulin binding in growing rat. *Horm Metab Res*. 22:207-214.
20. Garekani ET, Mohebbi H, Kraemer RR, and Fathi R. 2011. Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. *Peptides*. 32:1008-12.
21. Paulino EC, Ferreira JCB, Bechara LR, Tsutsui JM, Mathias W, Lima FB. 2010. Exercise training and caloric restriction prevent reduction in cardiac Ca²⁺-handling protein profile in obese rats. *Hypertension*. 56:629-35.
22. Friedewald WT, Levy RI, and Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*. 18:499-502.
23. Timmers S, de Vogel-van den Bosch J, Hesselink MK, van Beurden D, Schaart G, Ferraz MJ, Losen M, Martinez-Martinez P, De Baets MH, Aerts JM, Schrauwen P. 2011. Paradoxical increase in TAG and DAG content parallel the insulin sensitizing effect of unilateral DGAT1 overexpression in rat skeletal muscle. *PLoS One*. 6:14503.
24. Schwartz DM, Wolins NE. 2007. A simple and rapid method to assay triacylglycerol in cells and tissues, *J Lipid Res*. 48:2514-20.
25. Murphy JC, McDaniel JL, Mora K, Villareal DT, Fontana L, et al. 2012. Preferential reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. *J Appl Physiol*. 112:79-85.

26. Samjoo IA, Safdar A, Hamadeh MJ, Raha S, Tarnopolsky MA. 2013. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. *Nutr Diabetes*. 3:88.
27. Johnson NA, Sachinwalla T, Walton DW, Smith K, Armstrong A, et al. 2009. Aerobic exercise training reduces hepatic and visceral lipids in obese individuals without weight loss. *Hepatology*. 50:1105–1112.
28. Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GM, Faine LA. 2006. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food and chemical toxicology*. 44: 1167-72.
29. Christiansen T, Paulsen SK, Bruun JM, Ploug T, Pedersen SB, and Richelsen B. 2010. 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. *J Clinical Endocri Metabo*, 95:911-9.
30. O'Leary V.B, Jorett A.E, Marchetti C.M, Gonzalez F, Phillips S.A, Ciaraldi T.P, et al. 2007. Enhanced adiponectin multimer ratio and skeletal muscle adiponectin receptor expression following exercise training and diet in older insulin-resistant adults. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 293: 421-7.
31. Sharma N, Arias EB, Bhat AD, Sequea DA, Ho S, Croff KK, Sajan MP, Farese RV, Cartee GD. 2011. Mechanisms for increased insulin-stimulated Akt phosphorylation and glucose uptake in fast- and slow-twitch skeletal muscles of calorie-restricted rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 300:966-978.
32. Richter EA, Hargreaves M. 2013. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiol Rev*. 93:993-1017.
33. Rogério AL, Paulino EC, Brum PC, Andreotti S, Lima FB, Negrão CE. 2015. Exercise training and caloric restriction reduce adiposity index and hepatic lipids in obese rats, *Immunoendocrinology*. 2:1053.
34. Randle PJ, et al. 1963. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*. 1:785-9.
35. Irrcher I, Adhietty PJ, Joseph AM, Ljubicic V, Hood DA. 2003. Regulation of mitochondrial bio-genesis in muscle by endurance exercise. *Sports Med*. 33:783-793.
36. Bruce, CR, Brolin C, Turner N, Cleasby ME, Van der Leij FR, Cooney GJ, Kraegen EW. 2006. Overexpression of carnitine palmitoyltransferase I in skeletal muscle in vivo increases fatty acid oxidation and reduces triacyl-glycerol esterification. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 292:1231-1237.
37. Goodpaster BH, Wolfe RR, Kelley DE. 2002. Effects of obesity on substrate utilization during exercise. *Obes Res*. 10:575-584.
38. Venkatesh G, Navin M, Seigo I, Swee SL, Adonsia YY et al. 2016. Effect of Exercise and Calorie Restriction on Tissue. Acylcarnitines, Tissue Desaturase Indices, and Fat Accumulation in Diet-Induced Obese Rats, *Scientific Reports*. 6:26445.
39. Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F & Boden G. 2002. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes*. 51:2005-2011.
40. Badin PM, Louche K, Mairal A, Liebisch G, Schmitz G, Rustan AC, Smith SR, Langin D & Moro C. (2011). Altered skeletal muscle lipase expression and activity contribute to insulin resistance in humans. *Diabetes* 60, 1734-1742.