تاثیر تمرین استقامتی بر مقادیر پلاسمایی AGRP و NPY در رت های نژاد ویستار

سیدمجتبی پایدار اردکانی[۱]، بهزاد ساکی*[۲]، محمدرضا کردی[۳]، عباسعلی گائینی[۳]

۱) گروه تربیت بدنی، دانشکده روان شناسی، دانشگاه اردکان، یزد، ایران

۲) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳) گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۹٤/٦/۱۵ **تاریخ پذیرش:۹٤/۹/۲۸**

چکیده

مقدمه: پروتئین وابسته به آگوتی(AGRP) و نروپپتیدY (NPY) نروپپتیدهایی هستند که در کنترل اشتها نقش دارند. در مورد تاثیر تمرین استقامتی بلند مدت بر آن ها مطالعات کمی انجام شده است. هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر ۱۶ هفته تمرین استقامتی بر مقادیر پلاسمایی AGRP و NPY رت های نژاد ویستار بود.

مواد و روش ها: ۲۰ سر رت نر نژاد ویستار جوان، با دامنه سنی ۵۰ تا ۶۰ روز و میانگین وزنی ۱۰±۱۵۸ گرم به طور تصادفی ساده به دو گروه مساوی کنترل(تعداد ۱۰ سر) و تمرین(تعداد ۱۰ سر) تقسیم شدند. برنامه تمرینی ۱۶ هفته تمرین استقامتی، هر هفته پنج روز متوالی و هر روز به مدت ۶۰-۵۰ دقیقه روی تردمیل با سرعت ۳۰-۲۵ متر در دقیقه برابر با شدت ۸۵-۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود. پس از پایان ۱۶ هفته، خونگیری در حالت ناشتا و ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین انجام شد. برای بررسی تفاوت های بین گروهی از آزمون t مستقل استفاده گردید. سطح معناداری نیز $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش: یافته های تحقیق حاضر نشان داد تمرین استقامتی با شدت ۸۵-۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی باعث افزایش معنادار میزان AGRP ($P=0.001$) و افزایش غیر معنادار میزان NPY در رت های گروه تمرینی در مقایسه با گروه کنترل شد.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد تمرین استقامتی باعث تعادل منفی انرژی در رت ها می‌شود و به منظور جبران این تعادل منفی انرژی میزان AGRP پلاسمایی افزایش معنادار وNPY پلاسمایی افزایش غیر معناداری(افزایش بیش از ۲۳ درصدی) می یابد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، AGRP، NPY، رت نژاد ویستار

*نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

Email:b_saki@sbu.ac.ir

مقدمه

از زمان کشف نروپپتیدها، و به ویژه کشف پروتئین وابسته به آگوتی(Agoti-related protein) در سال ۱۹۹۷ (۱) و نروپپتیدY (Neuropeptide Y) در سال ۱۹۸۲ که مهم ترین نروپپتید اشتهاآور می باشد(۲)، دانش بشر درباره تنظیم وزن، اشتها و تعادل انرژی به نحو چشمگیری افزایش یافته است.

ژن AGRP یک ژن کاندیدا برای چاقی(۳) و یک پپتید اشتهاآور و تحریک کننده قوی اشتها می باشد که در دریافت و انتخاب غذا، تنظیم وزن و هموستاز انرژی نقش دارد، به گونه ای که سطح پلاسمایی آن در افراد چاق بیشتر از افراد معمولی است(۴). در موش های اصلاح ژنتیک شده(تراریخته) نیز که دارای بیان بیش از حد AGRP می باشند، پراشتهایی، چاقی و ابتلا به دیابت افزایش می یابد. گزارش شده است AGRP در سرطان هم نقش دارد(۳). AGRP نقش مشابهی در انسان و رت–هر دو– ایفا می کند(۵) و در گردش خون سیستمی و پلاسمای انسان و رت قابل تشخیص است(۶).

نروپپتید Y (NPY) یک پپتید ۳۶ اسید آمینه ای و یکی از فراوان ترین و گسترده ترین(از لحاظ توزیع) مواد انتقال دهنده عصبی در مغز پستانداران می باشد. هر چند NPY پس از تزریق مرکزی، اثرات گوناگونی بر رفتار و عملکرد به جا می گذارد، اما قابل توجه ترین اثر آن تحریک غذا خوردن است. NPY باعث تعادل مثبت انرژی از طریق افزایش دریافت غذا می شود و هم چنین باعث کاهش هزینه انرژی از طریق کاهش گرمازایی در بافت قهوه ای چربی و هم چنین تسهیل ذخیره چربی در بافت سفید چربی از طریق افزایش فعالیت انسولین می شود(۷).

تعادل منفی انرژی برای تحریک اشتها و افزایش جذب غذا بستگی به شدت، مدت و نوع تمرین، سطوح اولیه منابع سوختی و وضعیت های تغذیه ای دارد(۸). گزارش شده است گرسنگی و تمرین، اشتها و جذب غذا را افزایش می دهد و منجر به افزایش تعادل منفی انرژی و سطوح پپتیدهای اشتهایی هیپوتالاموسی و خارج هیپوتالاموسی از قبیل AGRP و NPY می شود(۴،۶).

NPY شروع غذا خوردن را تحریک می کند، اما ادامه غذا خوردن به AGRP وابسته است. AGRP و NPY –هر دو– تحت شرایط تعادل مثبت انرژی، که لپتین و انسولین افزایش و گرلین کاهش می یابد، سرکوب می شود. از طرفی بیان ژن AGRP و NPY در موش های صحرایی با رژیم کم انرژی در مقایسه با رژیم پرچربی بیشتر است(۸،۹).

لوین و همکاران(۲۰۰۴) اثر ۶ هفته تمرین استقامتی داخل قفس مدور و محدودیت کالری را بر روی چاقی، تنظیم وزن و بیان نروپپتیدهای هیپوتالاموس در موش های چاق بررسی کردند و نشان دادند تمرین باعث کاهش معنادار وزن بدن موش ها می شود، ولی اثر معناداری بر بیان ARC NPY mRNA یا ARC AGRP mRNA ندارد(۱۰).

قنبری نیاکی و همکاران(۲۰۰۷) اثر یک جلسه تمرین مقاومتی دایره ای بر غلظت AGRP، انسولین و هورمون رشد دانشجویان مرد را مطالعه کردند. نتیجه تحقیق نشان داد سطح AGRP پلاسما بلافاصله پس از تمرین به طور معناداری افزایش یافته و در دوره ریکاوری به سطح پیش از تمرین بر می گردد(۱۱).

ریجک و همکاران(۲۰۰۵) تحقیقی تحت عنوان بیان هیپوتالاموسی نروپپتیدها متعاقب محدودیت غذایی مزمن در موش های صحرایی غیرفعال و موش های صحرایی فعال داخل قفس مدور، انجام دادند. نتایج تحقیق حاکی از آن بود که بیان mRNA AGRP و NPY هم در گروه موش های بی تحرک دارای محدودیت غذایی و هم موش های تمرین کرده با محدودیت غذایی، در مقایسه با موش هایی که آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند، افزایش یافته است. البته این افزایش بیان AGRP و NPY در گروه تمرین در مقایسه با گروه غیرفعال دارای محدودیت غذایی به مراتب بیشتر بود(۴/۸ برابر در مقایسه با ۲/۳ برابر)(۱۲).

مشاهده شده است که گرسنگی و تمرین، اشتها و جذب غذا را افزایش می دهد و منجر به افزایش تعادل منفی انرژی و سطوح پپتیدهای اشتهای هیپوتالاموسی و خارج هیپوتالاموسی از قبیل AGRP و NPY می گردد(۴،۶،۱۳). تحقیقاتی که در این زمینه انجام شده

است عمدتاً محدود به دستکاری های ژنتیکی حیوانات آزمایشگاهی است تا از این طریق به مطالعه آثار AGRP و NPY بپردازند(۱۴). برخی تحقیقات نیز صرفاً به مطالعه تظاهر AGRP و NPY در بافت های محیطی گونه های مختلف جانوران پرداخته اند و در پاره ای از مطالعات نیز AGRP و NPY را به حیوان تزریق کرده و رفتارهای ناشی از این مداخله را مطالعه نموده اند(۱۵،۱۶).

از این رو، با توجه به نتایج متناقض تحقیقات انجام شده در زمینه تاثیر فعالیت ورزشی بر سطوح پلاسمایی AGRP وNPY و تحقیقات اندک صورت گرفته در زمینه تمرینات استقامتی بلند مدت که در آن پاسخ به سازگاری این پپتیدها مورد بررسی قرار بگیرد و هم چنین با توجه به راحت تر بودن اندازه گیری شاخص های پلاسمایی، سطوح پلاسمایی این متغیرها مورد توجه قرار گرفت و برای کنترل متغیرهای مداخله گر از جمله رژیم غذایی و سطح آمادگی بدنی متفاوت و هم چنین فعالیت های خارج از برنامه و محدودیت در دسترس بودن آزمودنی های انسانی، در تمرین استقامتی بلند مدت ۱۶ هفته ای، از موش های صحرایی استفاده شد. از طرف دیگر، با توجه به مطالب فوق و به دلیل گستردگی عوامل مرتبط با چاقی و دریافت و هزینه انرژی، بسیاری از عوامل مرتبط با این موضوع هنوز شناسایی نشده اند و عوامل تاثیرگذار بر اشتها و کنترل وزن از جمله AGRP و NPY و تاثیر فعالیت ورزشی بر آن ها هم چنان مبهم و ناشناخته می باشد و هم چنین به دلیل اهمیتی که این عوامل در تنظیم تعادل و هموستاز انرژی دارند و از طرفی با شناسایی جنبه های مهم و ناشناخته این نروپپتیدها و عوامل موثر بر آن ها می توان در شناسایی روش های درمانی کارآمد جهت مقابله با شرایطی مثل چاقی دست یافت، به نظر می رسد انجام تحقیق حاضر ضروری است، از این رو این پژوهش به منظور بررسی اثر ۱۶ هفته تمرین استقامتی بر غلظت پلاسمایی AGRP و NPY در رت های نر نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش ها

روش پژوهش حاضر از نوع تجربی با طرح پس آزمون با گروه کنترل می باشد که در آن تاثیر شانزده هفته تمرین استقامتی بر مقادیر پلاسمایی AGRP و NPY رت های نژاد ویستار بررسی گردید. آزمودنی های پژوهش حاضر ۲۰ سر رت نر نژاد ویستار جوان، با میانگین سنی دو ماه و میانگین وزنی ۱۰±۱۵۸ گرم بودند که از موسسه واکسن و سرم سازی رازی ایران خریداری و در حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران نگهداری شدند. سپس موش ها به طور تصادفی ساده به دو گروه مساوی کنترل(تعداد ۱۰ سر) و تمرین(تعداد ۱۰ سر) تقسیم شدند.

نگهداری و تغذیه موش ها: رت ها مطابق با خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی، در حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران نگهداری شدند. رت ها تحت شرایط کنترل شده نور(۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)، رطوبت ۵۰ درصد و درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. برای حفظ دما، رطوبت هوا و تهویه(برای جلوگیری از تجمع آمونیاک حاصل از ادرار و کاهش بروز بیماری های تنفسی در آزمودنی ها) از دماسنج، رطوبت سنج، بخاری برقی، سه دستگاه کولر آبی، یک دستگاه بخور و سه دستگاه تهویه بدون صدا استفاده شد. موش ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. برای جمع آوری ادرار و مدفوع آزمودنی ها نیز از تراشه های چوب استریل که از انستیتو رازی ایران تهیه شده بود، استفاده شد که برای رعایت اصول بهداشتی، هر دو روز یک بار تراشه ها تعویض و قفس آزمودنی ها شستشو و ضدعفونی شد.

پروتکل تمرین: برنامه تمرین به این صورت بود که موش های صحرایی گروه تمرینی ۵ روز در هفته(شنبه تا چهارشنبه) به مدت شانزده هفته روی نوارگردان تمرین کردند. شدت تمرین آزمودنی تقـــریباً معادل ۸۵-۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی(VO_{2max}) بود. آشناسازی حیوان با محیط و دستگاه نوارگردان پنج روز بود که به مدت ۱۵دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۵ متر در دقیقه و شیب صفر درصد انجام شد و به صورت هفتگی ۵ تا ۱۰ دقیقه به مدت تمرین اضافه شد تا در هفته چهارم به مدت ۵۰ دقیقه و سرعت ۲۵ متر در دقیقه رسید. آزمودنی ها از هفته چهارم تا هفته نهم با

همین سرعت و مدت تمرین کردند، با احتساب ۱۰ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین از هفته دهم به بعد ۶۳ دقیقه شد. در هر جلسه تمرین به منظور گرم کردن، ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه تمرین شروع و به آرامی به سرعت دستگاه اضافه شد، به این صورت که هر ۲ دقیقه، ۳ متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه گردید. از هفته چهارم به بعد در دقیقه ۱۰، سرعت دستگاه به ۲۵ متر در دقیقه رسید و در ۴ هفته آخر(هفته سیزدهم تا شانزدهم) به منظور افزایش شدت تمرین، در دقیقه ۱۰، سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. مدت ۳ دقیقه نیز به منظور سرد کردن، سرعت دستگاه به آرامی کاهش پیدا کرد(۱۹-۱۷). پروتکل تمرینی آزمودنی ها در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

جدول شماره ۱. پروتکل تمرینی آزمودنی ها

	آشناسازی	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	⟵	هفته نهم	هفته دهم	⟵	هفته شانزدهم
سرعت (متر در دقیقه)	۱۵	۱۵	۲۰	۲۵	۲۵	.....	۲۵	۳۰	.....	۳۰
زمان(دقیقه)	۱۵	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	.....	۵۰	۶۳	.....	۶۳

روش بی هوش کردن و خون گیری از موش ها: پس از اتمام دوره ۱۶ هفته ای تمرین، ۲۴ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین و پس از آن که ۱۲ ساعت قبل از کشته شدن، غذا و آب از دسترسی همه آن ها دور شد(اصطلاحاً موش ها در وضعیت ناشتایی قرار داشتند)، موش ها ابتدا توسط داروی بی هوش کننده(اتر) بی هوش و سپس کشته شدند. در حالت بی هوشی، نمونه های خونی رت ها مستقیماً از طریق قلب به وسیله سرنگ ۱۰ سی سی آغشته به هپارین گرفته شد. به منظور ممانعت از تغییر ترکیبات خون، نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۲۰۰ دور در دقیقه در محل انجام آزمون سانتریفیوژ شدند. پلاسما از نمونه استخراج و در چهار ویال میکروتیوب الیکوت، در دمای ۷۰- درجه نگهداری شد. برای سنجش مقادیر AGRP نمونه ها از روش الایزا و کیت کازابایو مخصوص رت با حساسیت ۰/۰۴ نانوگرم بر میلی لیتر، ساخت کشور چین و سنجش مقادیر NPY از روش الایزا و کیت کازابایو مخصوص رت با حساسیت ۰/۳۹ پیکوگرم بر میلی لیتر، ساخت کشور چین استفاده شد.

روش های آماری: از آزمون شاپیرو-ویلک برای بررسی طبیعی بودن توزیع داده ها، و از آزمون t مستقل برای بررسی تفاوت های بین گروهی استفاده گردید. سطح معنی داری نیز $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

تغییرات وزن و نتایج آزمون آماری t مستقل در جدول شماره ۲ و ۳ ارائه شده است. همان طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می شود، پس از ۱۶ هفته تمرین استقامتی، وزن موش های گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری می یابد($P=0.044$). بنا بر این، به طور کلی، می توان گفت ۱۶ هفته تمرین استقامتی بر وزن موش ها تاثیرگذار است.

جدول شماره ۲. میانگین و انحراف استاندارد (M±SD) وزن بدن (گرم) گروه های کنترل و تمرین

گروه ها	میانگین±انحراف استاندارد وزن اولیه(گرم)	میانگین±انحراف استاندارد وزن نهایی (گرم)
کنترل	۱۵۷/۳۸±۹/۶۲	۳۴۵/۶۲±۳۷/۵۳
تمرین	۱۵۹/۳۸±۷/۳۲	۳۰۰/۵۰±۴۳/۶۰
P	۰/۸۳	۰/۰۴۴

نتایج ارائه شده در جدول شماره ۳ نشان می دهد که شانزده هفته تمرین استقامتی باعث افزایش معنادار AGRP پلاسمایی رت های گروه تمرین نسبت به گروه کنترل می شود(P=0.001) و NPY پلاسمایی گروه تمرین نسبت به کنترل افزایش دارد اما این افزایش معنادار نیست(P=0.251). از این رو، می تواند بیان کرد تمرین استقامتی به مدت ۱۶ هفته می تواند باعث افزایش AGRP و NPY پلاسمایی موش های رت نژاد ویستار شود.

جدول شماره ۳. نتایج آزمون t مستقل بین گروه کنترل و تمرین

گروه ها	AGRP	NPY
کنترل	۰/۷۰±/۲۸*	۶/۷۳±۲/۹۶
تمرین	۱/۸۸±/۶۲	۸/۲۹±۲/۲۰
P	۰/۰۰۱	۰/۲۵۱

* داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شده است.

بحث و نتیجه گیری

پژوهش حاضر افزایش معنادار AGRP و هم چنین افزایش غیر معنادار NPY گروه تمرین نسبت به گروه کنترل پس از ۱۶ هفته تمرین استقامتی را نشان داد. همسو با تحقیق حاضر، قنبری نیاکی و همکاران(۲۰۱۱) تاثیر تمرین استقامتی بر تغییرات دوره ای AGRP پلاسما و عضله سولئوس و ارتباطش با غلظت انسولین، گلیکوژن و کورتیزول در رت های نر مورد مطالعه قرار دادند. هدف این مطالعه اندازه گیری تاثیرات تمرینات کوتاه مدت(۳هفته ای)، میان مدت(۹ هفته ای) و بلند مدت(۱۲ هفته ای) بر AGRP عضله(سولئوس) و پلاسما و هم چنین غلظت ATP گلیکوژن عضله سولئوس و کبد بود. گروه های تمرینی ۱۲، ۹، ۳ هفته ای ۶۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و با سرعت ۲۵ متر در دقیقه و با شیب صفر درجه تمرین کردند. نتایج نشان داد که بعد از ۳، ۹ و ۱۲ هفته تمرین AGRP عضله سولئوس و پلاسما افزایش می یابد(۲۰). ابراهیمی و همکاران(۲۰۱۳) در تحقیقی تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی هوازی و مقاومتی دایره ای بر سطوح پلاسمایی AGRP و گرلین زنان ورزشکار را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق ۲۴ ورزشکار زن جوان به شکل تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی کنترل، تمرین هوازی و تمرین مقاومتی دایره ای تقسیم شدند. پروتکل تمرین مقاومتی شامل ۹ ایستگاه و با شدت ۶۰ درصد 1-RM، ۳ ست و با ۵ دقیقه استراحت بین هر ست و در مجموع ۳۵ تا ۴۵ دقیقه به طول انجامید. پروتکل تمرین هوازی شامل ۱/۵ مایل دویدن با ۷۰ درصد VO_{2max} بود. نتایج تحقیق نشان دهنده افزایش قابل توجه در AGRP پلاسما(P=0.001) و گرلین پلاسما(P=0.001) در گروه تمرین هوازی و مقاومتی دایره ای بعد از یک جلسه تمرین بود(۱۸).

ناشتایی باعث افزایش بیان AGRP در هیپوتالاموس و پلاسما می شود(۴،۶،۱۲). این تحقیقات در بیان علت افزایش AGRP متعاقب ناشتایی بیان داشتند که با توجه به این که ناشتایی باعث تعادل انرژی منفی در بدن می شود لذا در پاسخ به آن ترشح AGRP در هسته کمانی هیپوتالاموس افزایش یافته تا رفتار دریافت غذا و اشتها تحریک شده و تعادل انرژی مجدداً برقرار شود. از آن جایی که تمرین طولانی مدت باعث کاهش وزن(توده چربی) بدن موش ها شده است و توده چربی از منابع اصلی و مهم تولید لپتین می باشد، لذا با توجه به این که معمولاً لپتین و AGRP رفتار معکوسی دارند، افزایش AGRP پس از تمرین را می توان به کاهش وزن(و در نتیجه کاهش لپتین) نسبت داد(۴،۶،۱۲،۱۳). در مجموع این تحقیقات بیان داشتند که احتمالاً تمرین باعث تعادل منفی انرژی در بدن شده و در پاسخ به کمبود انرژی، AGRP از هیپوتالاموس ترشح شده تا رفتار دریافت غذا را تحریک، منابع از دست رفته انرژی را تامین و تعادل انرژی را مجدداً برقرار نماید(۴،۶،۱۳).

اما بر خلاف یافته های تحقیق حاضر، وب(Webb) و همکاران(۲۰۱۱) در تحقیقی تاثیر فعالیت ورزشی

هوازی با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی برای ۴۰ دقیقه روی تردمیل بر سطوح AGRP لنفوسیت های T بررسی کردند. نتایج نشان داد که فعالیت ورزشی تاثیر معناداری بر روی سطوح AGRP پلاسما و لنفوسیت T ندارد. به نظر می رسد دلیل تفاوت یافته های وب و همکاران با یافته های پژوهش حاضر مدت زمان تمرین می باشد. در مطالعه آن ها یک جلسه استفاده شده است در صورتی که در پژوهش حاضر از یک دوره تمرینی ۱۶ هفته ای استفاده شده است(۲۱). هم چنین لوین و همکاران(۲۰۰۴) در تحقیقی اثر ۶ هفته تمرین استقامتی داخل قفس مدور روی موش های چاق، اثر معنی داری بر بیان ARC AGRP mRNA به دست نیاوردند(۱۰). دلیل تفاوت این یافته ها با پژوهش حاضر می تواند نوع آزمودنی و تمرین استفاده شده باشد، زیرا موش هایی که در تحقیق لوین و همکاران استفاده شده اند، چاق بوده اند و نوع فعالیت ورزشی تمرین داخل قفس مدور بود. اما موش هایی که در پژوهش حاضر استفاده شد وزنی طبیعی داشتند و هم چنین در پژوهش حاضر برای تمرین از تردمیل استفاده شده است. بنا بر این، نوع سازگاری های به دست آمده ناشی از دو نوع فعالیت مختلف(فعالیت در قفس مدور در مقابل دویدن روی تردمیل) در دو گروه آزمودنی با تیپ بدنی متفاوت(چاق در برابر وزن طبیعی) می تواند باعث به دست آمدن یافته های متفاوتی باشد.

یافته های اخیر بیان می کنند که AGRP هم چنین هزینه انرژی را سرکوب می کند و از این طریق نیز تاثیر معنی داری بر هموستاز انرژی می گذارد. تزریق مرکزی AGRP بیان UCP_1 و حرارت را در داخل بافت قهوه ای چربی(BAT) کاهش می دهد(۲۲) که اثر آن شاید از طریق مهار جریان سمپاتیک باشد. این اطلاعات در مجموع بیان می کنند که تغییر در هزینه انرژی نقش مهمی در تنظیم هموستاز انرژی به وسیله AGRP ایفا می کنند(۲۳). بیان AGRP و NPY در شرایط مختلف فیزیولوژیک تغییر می کند. این شرایط عبارت اند از: تعادل منفی انرژی یا افزایش نیاز به انرژی، از قبیل محرومیت غذایی یا در حین شیردهی، که طی آن ها سطح لپتین و انسولین کاهش و سطح گرلین و CORT افزایش می یابد و ترشح AGRP و هم چنین NPY را تحریک می کند. هم AGRP و NPY تحت شرایط تعادل مثبت انرژی، که لپتین و انسولین افزایش و گرلین کاهش می یابد، سرکوب می شود. از طرفی بیان ژن AGRP و NPY در موش های صحرایی با رژیم کم انرژی در مقایسه با رژیم پرچربی بیشتر است(۲۴). این شواهد در مجموع بیان می کنند که AGRP در ARC در پاسخ به کمبود انرژی ترشح شده در شرایط محرومیت از غذا، رژیم کم‌کالری یا افزایش نیاز به انرژی تولید AGRP افزایش می یابد تا دریافت غذا تحریک شده، اکسیداسیون چربی همراه با کربوهیدرات کاهش یافته و سنتز چربی افزایش یابد. AGRP علاوه بر نقش قوی تحریک کنندگی دریافت غذا، ذخایر کربوهیدرات را بازسازی می کند(۲۴). همان طور که مشاهده می شود، مباحث ذکر شده در مورد شرایط افزایش AGRP، مشابه سازگاری های به دست آمده براثر تمرین و نیازمندی های تمرین بعدی می باشد. لذا، افزایش AGRP براثر تمرین توجیه پذیر است.

پژوهش حاضر نشان داد تفاوت معناداری در میانگین NPY گروه کنترل و تمرین پس از ۱۶ هفته تمرین وجود ندارد($P<0.251$). اما، افزایش غیر معنادار از ۲/۹۶±۶/۷۳ پیکوگرم بر میلی لیتر در گروه کنترل به ۲/۲۰±۸/۲۹ پیکوگرم بر میلی لیتر در گروه تمرین مشاهده شد(افزایشی معادل بیش از ۲۳ درصد). یکی از عواملی که تاثیر مهمی بر معنادار شدن تفاوت بین دو میانگین دارد حجم نمونه است. به نظر می رسد اگر تحقیق حاضر از حجم نمونه بالاتری برخوردار بود احتمال معنادار شدن تفاوت بین میانگین NPY گروه کنترل و تمرین وجود داشت. کشتکار و همکاران(۲۰۱۴) در تحقیقی ۷۵ سر موش نر نژاد اسپراگوداولی با میانگین سنی ۲ ماه و میانگین وزنی ۱۵±۲۴۰ به مدت یک ماه از طریق تحریک اشتها با کاهو و سبزیجات چاق کردند و سپس به سه گروه کنترل(۲۵ سر)، گروه تمرین با شدت متوسط(۲۵ سر)، و گروه تمرین با شدت زیاد(۲۵ سر) تقسیم کردند. گروه های تمرینی به مدت ۸ هفته و ۳ روز در هفته روی تردمیل حیوانات تمرین کردند. پروتکل تمرین با شدت

متوسط با سرعت ۱۸ تا ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ تا ۵۰ دقیقه و با شیب صفر درجه انجام شد و پروتکل تمرین با شدت زیاد با سرعت ۱۵ تا ۲۰ متر دقیقه و به مدت ۴۰ تا ۷۵ دقیقه و با شیب ۵ تا ۱۵ درجه انجام شد. یافته های آن ها نشان داد در بین گروه ها پس از ۸ هفته تمرین شدید افزایش معناداری در سطح پلاسمایی متغیرهای NPY و گرلین وجود دارد($P<0.05$). اما پس از انجام ۸ هفته تمرین متوسط تغییرات معنی داری در سطوح پلاسمایی NPY و گرلین مشاهده نشد(۱۹). جیاژ و همکاران(۲۰۰۷) با مطالعه اثر دو برنامه تمرینی ۷ هفته ای و یک برنامه تک جلسه ای مشاهده کردند NPY بر اثر تمرینات ۷ هفته ای افزایش و پس از یک جلسه تمرین کاهش می یابد(۲۵).

لوین و همکاران(۲۰۰۴) نشان دادند که شش هفته تمرین داخل چرخ(قفس مدور) اثر معنی داری بر تظاهر ARC NPY mRNA نداشت(۱۰). ریجک و همکاران(۲۰۰۵) نشان دادند که ۱۰ روز تمرین داخل چرخ باعث افزایش NPY mRNA در موش های گروه تمرین در مقاسه با گروه کنترل شد. آن ها گزارش کردند این افزایش منعکس کننده تعادل انرژی منفی قوی تر در موش های تمرین کرده است(۱۲). در تحقیق چن و همکاران(۲۰۰۶) نیز سطوح NPY در بخش مختلف VMN, DMV, PVN هیپوتالاموس، پس از تمرین در مقایسه با قبل از تمرین مدام در حال افزایش بود($P<0.01$). آن ها گزارش کردند، احتمالاً ورزش افزایش انرژی مصرفی را در رت های تمرین کرده تحریک می کند. تعادل انرژی منفی، خواه به دلیل کاهش انرژی دریافتی یا افزایش انرژی مصرفی، فعالیت NPYergic هیپوتالاموسی را افزایش می دهد، با تحریک تغذیه تحت شرایط کاهش وزن، این پپتید ممکن است چرخه هموستاز را برای حفظ وزن بدن کامل کند(۲۶). در تحقیق زاجادس و همکاران(۲۰۰۹) NPY بلافاصله بعد از فعالیت اندازه گیری شد که افزایش قابل توجهی نسبت به مقادیر استراحتی در هر دو گروه(دوچرخه سواران و قایقرانان) نشان داد. آن ها اذعان داشتند NPY فعالیت سمپاتیک سیستم عصبی را از راه کاهش هزینه انرژی مهار می کند. عمل آنابولیک تجمع NPY پس از ورزش می تواند عاملی برای تعادل هم زمان بین اثرات کاتابولیکی کاتکولامین ها و گلوکاگن باشد(۲۷).

در تحقیق حاضر، چنان چه تفاوت آماری مد نظر قرار نگیرد و قدر مطلق داده ها ملاک باشد، احتمالاً افزایش سطوح NPY می تواند با توجه به پیشینه تحقیقات و ادبیات تحقیق عواملی مانند کشتن موش ها در حالت ناشتایی، کاهش وزن(کاهش توده چربی) و به دنبال آن کاهش اثر مهاری لپتین بر NPY و تاثیرات سایر هورمون ها و در مجموع برای برقرای تعادل انرژی که پس از ورزش به صورت منفی در آمده است، باشد. از آن جایی که تمرین استقامتی عوامل سرکوب کننده NPY را کاهش می دهد بنا بر این انتظار می رود پس از تمرین استقامتی میزان NPY نیز افزایش یابد که یافته های پژوهش حاضر، هر چند به صورت غیر معنادار، آن را تایید می کند.

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان می دهند فعالیت ورزشی متوسط تا شدید و بلندمدت بر غلظت AGRP پلاسمایی رت ها تاثیر دارد، هم چنین با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، تغییر در تعادل انرژی و تخلیه گلیکوژن به دنبال ۱۶ هفته فعالیت ورزشی متوسط تا شدید، باعث شده است به منظور بازسازی گلیکوژن و ایجاد تعادل مثبت انرژی، ترشح NPY افزایش یابد. از سوی دیگر با توجه به تاثیر فیزیولوژیکی پپتیدهای مذکور بر هموستاز انرژی، متابولیسم و تغییرات وزن، می توان گفت افزایش این پپتیدها در راستای جلوگیری از روند کاتابولیسمی ناشی از تمرین و افزایش روند آنابولیک پس از تمرینات ورزشی رخ می دهد. این کار شاید به بازسازی ذخایر کربوهیدرات و فراجبرانی گلیکوژن کمک کند. با توجه به سازوکارهای موجود، افزایش ترشح AGRP و NPY، بازسازی منابع از دست رفته انرژی(ناشی از ۱۶ هفته فعالیت ورزشی) را تحریک و تعادل انرژی را مجدداً برقرار می کند.

یکی از محدودیت های تحقیق حاضر کنترل نکردن رژیم غذایی موش ها است. هر چند نوع غذایی که مصرف کردند یکسان بود، اما میزان غذایی که هر موش مصرف کرد اندازه گیری نشد. محدودیت دیگر

تحقیق حاضر آن است که نمونه گیری فقط یک مرحله، یعنی ۲۴ ساعت بعد از اتمام تمرین بود. به نظر می رسد اگر در مراحل مختلف تمرین(۱۲، ۸، ۴ هفته) و حتی بعد از تمرین(۶، ۴، ۲، ۱ و... ساعت) نمونه گیری شود می توان نتایج قابل استنادتری به دست آورد. بنا بر این، پیشنهاد می شود در مطالعات بعدی، با در نظر گرفتن محدودیت های تحقیق حاضر، پژوهش های دقیق تری انجام شود.

References

1. Shutter JR, Graham M, Kinsey AC, Scully S, Luthy R, Stark KL. Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up regulated in obese and diabetic mutant Mice. Genes Dev 1997; 11:593-602.

2. Pritchard LE, White A. Agouti-related protein more than a melanocortin-4 receptor antagonist? Peptides 2005; 26:1759-70.

3. Inui A. Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides-mediation of the actions of leptin. Trends Neurosci 1999; 22: 62-7.

4. Katsuki A, Sumida Y, Esteban G, Murashima S, Tanaka T, Furuta M, et al. Plasma Levels of Agouti-Related Protein Are Increased in Obese Men. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86:1921-4.

5. Voisey J, Imbeault P, Hutley L, Prins J, Van Daal A. Body mass index-related human adipocyte agouti expression is sexspecific but not depot specific. Obes Res 2002; 10:447-52.

6. Shen CP, Wu KK, Shearman LP, Camacho R, Tota MR, Fong TM, et al. Plasma agouti related protein level a possible correlation with fasted and fed states in humans and Rats. J Neuroendocrinol 2002; 14:607-10.

7. Inui A. Transgenic approach to the study of body weight regulation. Pharmacol Rev 2005; 52:35-61.

8. Li JY, Finniss S, Yang YK, Zeng Q, Qu SY, Barsh G and et al. Agouti-related protein-like immunoreactivity: characterization of release from hypothalamic tissue and presence in serum. Endocrinology 2001; 141(6):1942-1950.

9. Fekete C, Sarkar S, Rand WM, Harney JW, Emerson CH, Bianco AC, et al. Agouti related protein has a central inhibitory action on the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis; comparisons between the effect of AGRP and neuropeptide Y on energy homeostasis and the HPT axis. Endocrinology 2002; 143:3846-53.

10. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. Am. J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol 2004; 286(4):771-778.

11. Ghanbariniaki A. Nabatchian S, Hedayati M. Plasma agoutirelated potein growth hormone, insulin responses to single circuitresistance exercise in male college students. Peptides 2007; 28:1035-9.

12. de Rijike C, Hillebrand G, Verhagen W, Roeling P, Adan H. Hypothalamic neuropeptides expression following chronic food restriction in sedentary and wheel running rats. J Mol Endocrinol 2005; 35:381-90.

13. Breen TL, Conwell IM, Wardlaw SL. Effect of fasting, leptin and insuline on AGRP and POMC peptide release in the hypothalamus. Brain Res 2005; 1032:141-8.

14. Shrestha, YB, Wickwire K, Giraudo SQ. Role or AGRP on ghrelin-induced feeding in the hypothalamic paraventricular nucleus. Regul Pept 2006; 133:68-73.

15. Minokoshi Y, AlquierT, Furukawa N, Kim Y, Xue B. AMP kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. Nature 2004; 428:569-74.

16. Vonhorsten S, Hoffmann T, Alfalah M, Wrann C D, Karl T, Pabst R, et al. Synthesis storage release and degradation neuropeptide Y and related peptides. 1th ed. Berlin Springer Publication. 2004; P.23-44.

17. Chen JX, Yang WY, Liang R, Lu DY, Zhou WA. Experimental study of the effects of long term and high intensity exercise on plasma a-endorphin dynorphin A1.13 leucine encephalin and lactate in Rats. Chin J Appl Physiol 1997; 14:371-8.

18. Ebrahimnia M, Rashidlamir A, Seyedalhosseini M. Effect of a single session of aerobic and circuit-resistance exercise on plasma ghrelin and agouti-related peptide levels in well trained females. ZJRMS 2014; 16:25-9.

19. Keshtkar B, Daryanoosh F, Nabizadeh F, Tanideh N, Salesi M. [The effect of

training program with moderate and high intensity exercises on neuropeptide y hormone and ghrelin in fat asprague dawley Rats]. ZUMS 2014; 22:96-110. (Persian)
20. Ghanbari-Niaki A, Kraemer R, Abednazari H. Time course alterations of plasma and soleus agouti related peptide and relationship to atp glycogen cortisol and insulin concentrations following treadmill training programs in male Rats. Horm Metab Res 2011;43:112-6.
21. Webb ND. The effect of acute aerobic exercise on AGRP levels expressed by T lymphocytes. Louisiana Southeastern University Publication. 2011;P.238-40.
22. Small C, Kim MS, Stanley SA, Mitchell JRD, Murphy K, Morgan DGA, et al. Effects of chronic central nervous system administration of agouti related protein in pair-fed animals. Diabetes 2001; 50:248-54.
23. Mokdad AH, Barbara A, Bowman, Earl S, Ford FV, James S. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. JAMA 2001; 286:1195-200.
24. Wortley KE, Anderson KD, Yasenchak J, Murphy A, Valenzuela D, Diano S, et al. Agouti related protein deficient mice display an age related lean phenotype. Cell Metab 2005; 2:421-7.
25. Jiaxu C, Xin Z, Guangxin Y, Zhufeng W. Influence of acute and chronic treadmill exercise on rat plasma lactate and brain NPY L-ENK, DYN A1. Cell Mol Neurobiol 2007; 27:1-10.
26. Chen J, Xin Z, Guangxin Y, Zhufeng W. Influence of acute and chronic treadmill exercise on rat plasma lactate and brain NPY, L-ENK, DYN A1–13. Cell Mol Neurobiol 2006; 27:1-10.
27. Zajadacz B, Skarpanska A, Brzenczek W, Juszkiewicz A, Naczk M, Adach Z. The influence of physicsl exercise on alterations in concentration of neuropeptide leptin and other selected hormonal and metabolic parameters in sports people. Biol Sport 2009; 26:309-24.

Effect of Endurance Training on Plasma AGRP and NPY Levels in Wistar Rats

*Payedarardakani M[1], Saki B[*2], Kordi M[3], Gaeini A[3]*

(Received: September 6, 2015 Accepted: December 19, 2015)

Abstract

Introduction: Agouti-Related Protein (AGRP) and Neuropeptide Y (NPY) are neuropeptidesthat involved in appetite control. Few studies have been done on the long-term effects of endurance training on these neuropeptides.The purpose of this study was to investigate the effect of 16 weeks of endurance training on plasma AGRP and NPY levels in Wistar rats.

Materials & methods: 20 male young Wistar rats, with mean ages of 50 to 60 days and the average weight of 158 ± 10 g were randomly divided into two groups: control (n = 10) and training (n = 10). Training program was Endurance training on treadmill for 50-60 min/d, 5d/wk at 25-30 m/min, which is equal to 65-85% VO_{2max}, for 16 weeks. After 16 weeks, fasting blood sampling was conducted 24 hours after the last training session. *t* test was used for data analyses. Statistical significance was set at $p<0.05$.

Findings: The results of the study indicated that endurance training with 65-85% of $vo_{2\ max}$ causes a significant increase in plasma AGRP($p=0.001$) and non-significant increase in plasma NPY levels in training group compared to control group.

Discussion & conclusions: It seems that endurance training causes a negative energy balance in rats, and to compensate this negative energy balance, plasma AGRP increases significantly and plasma NPY increases insignificantly (increase by more than 23%).

Keywords: Endurance training, AGRP, NPY, Wistar rats

1. Dept of Physical Education, Faculty of Psychology, Ardakan University, Yazd, Iran
2. Dept of Exercise Physiology,Faculty of Physical Education, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Dept of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Tehran University, Tehran, Iran
** Correspondin author Email: b_saki@sbu.ac.ir*