

The Effect of Estrogen on Visceral Fat, Serum Omentin-1 and Insulin Resistance in Ovariectomized Rats

Babaei P¹, Damirchi A², Pourrahim Ghouroughchi A^{*2}

1. Department of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

2. Department of Physical Education and Sport Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +984143222134 Fax: +984143239691 E-mail: amenehpoorrahim@yahoo.com

Received: Feb 06, 2016

Accepted: June 08, 2016

ABSTRACT

Background & objectives: Estrogen reduction after the menopause is associated with visceral adipose tissue accumulation and insulin resistance. Serum omentin-1 level is also decreased by abdominal obesity and insulin resistance. This study investigated the effect of estrogen on visceral fat, omentin-1 and insulin resistance in ovariectomized (OVX) rats.

Methods: Thirty 13-week-old female Wistar rats weighing 180±5 gr were randomly matched on their body weight and divided into OVX (n=20) and sham-operated (SHAM; n=10) groups. OVX rats were subdivided into estrogen replacement therapy (Ovx+Est; n=10), and control (Ovx+sesame Oil; n=10) groups. The estrogen replacement therapy received 17β-estradiol (30μg/kg bw; in 0.2 ml sesame oil) three days a week, for eight weeks. Oxv+Oil received the same sesame oil subcutaneously as vehicle. All intra-abdominal fat depots were dissected out and weighed immediately. Omentin-1 concentration was measured by rat omentin ELISA kit and HOMA-IR was used to estimate the insulin resistance. Obtained data were analyzed by ANOVA and post hoc Tukey test.

Results: Visceral fat was decreased by 12.84% in Oxv+Est compared to Oxv+Oil group; but it wasn't significant. Whereas, body weight was significantly decreased by 7.87 % in Oxv+Est compared to Oxv+Oil; and it was significantly increased by 12.5% in Oxv+Oil compared to SHAM group. Omentin-1 level was significantly increased by 41% in Oxv+Est compared to Oxv+Oil group; whereas it was significantly decreased by 13.9% in Oxv+Oil compared to SHAM group. The levels of glucose, insulin and HOMA-IR were significantly decreased to 51.16%, 24.23% and 61.52%, respectively, in Oxv+Est group compared to the rats in Oxv+Oil group ($p=0.0001$).

Conclusion: 8-week estrogen reduces body weight and improves insulin resistance probably via increase in omentin-1.

Keywords: Estrogen; Visceral Fat; Omentin-1; Insulin Resistance; Ovariectomized Rats

اثر استروژن بر میزان چربی احشایی، سطح سرمی اُمنتین-۱ و مقاومت انسولینی در موش صحرایی اوارکتومی شده

پروین بابایی^۱، ارسلان دمیرچی^۲، آمنه پوررحیم قورقچی^{۲*}

۱. گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی گیلان، رشت، ایران

۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۱۴۳۲۲۱۳۴ فاکس: ۰۴۱۴۳۲۳۹۶۹۱ پست الکترونیک: amenehpoorrahim@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: کاهش استروژن پس از یائسگی با افزایش چربی احشایی و مقاومت انسولینی همراه است. افزایش چاقی شکمی و مقاومت انسولینی نیز سطح سرمی اُمنتین-۱ را کاهش می‌دهد. هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر استروژن بر چربی احشایی، اُمنتین-۱ و مقاومت انسولینی در موش صحرایی اوارکتومی شده بود.

روش کار: ۳۰ سرموش صحرایی ماده سیزده هفته ای (میانگین وزن 180 ± 5 گرم) به روش تصادفی و بر اساس همگن سازی وزن بدن در گروه‌های اوارکتومی ($n=20$) و جراحی شم ($n=10$) قرار گرفتند. گروه اوارکتومی شامل دو زیرگروه اوارکتومی + استروژن درمانی ($n=10$) و اوارکتومی + شاهد تزریق (کنترل: $n=10$) بود. استروژن درمانی شامل روزانه ۳۰ میکروگرم ۱۷-بتا استرادیول والرات محلول در ۰/۲ میلی لیتر روغن کنجد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۳ روز در هفته به مدت هشت هفته، به روش زیرجلدی تزریق شد. گروه شاهد همان حجم روغن کنجد را به روش تزریق زیرجلدی دریافت کرد. چربی احشایی به روش جراحی باز استخراج و توزین شد. اُمنتین-۱ با روش الیزا و مقاومت انسولینی با HOMA-IR اندازه گیری شد. داده ها با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شد.

یافته ها: وزن چربی احشایی گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۱۲/۸۴ درصد کاهش یافت؛ ولیکن این کاهش معنی دار نبود. این درحالی است که وزن بدن گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۷/۸۷ درصد کاهش معنی دار داشت؛ درحالیکه در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم ۱۲/۵ درصد افزایش معنی دار داشت. اُمنتین-۱ گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۴۱ درصد افزایش معنی دار داشت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم ۱۳/۹ درصد کاهش معنی دار داشت. گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی در گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق، به ترتیب ۵۱/۱۶، ۲۴/۲۳ و ۶۱/۵۲ درصد کاهش معنی دار داشت ($p=0/0001$).

نتیجه گیری: هشت هفته تزریق استروژن احتمالاً از طریق افزایش اُمنتین-۱ سرمی، موجب کاهش وزن و بهبود مقاومت انسولینی در موش صحرایی اوارکتومی شده می‌شود.

واژه های کلیدی: استروژن، چربی احشایی، اُمنتین-۱، مقاومت انسولینی، موش اوارکتومی شده

پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۹

دریافت: ۹۴/۱۱/۱۷

مقدمه

پاتولوژیک و متابولیک همراه یائسگی و چاقی شکمی را به آدیپوکین‌های مترشحه از بافت چربی نسبت می‌دهند [۹، ۱۰]. تاکنون آدیپوکین‌های متعددی گزارش شده است و اُمنتین-۱ یکی از آدیپوکین‌های

کاهش سطح استروژن تخمدانی پس از یائسگی [۱] بیماری‌های قلبی- عروقی را افزایش می‌دهد [۴-۲]. چاقی شکمی و افزایش وزن پس از یائسگی با مقاومت انسولینی، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است [۵-۸]. پژوهش‌های اخیر علت اختلالات

¹ Omentin-1

جدید با وزن مولکولی ۳۸ کیلودالتون است که به طور فراوان در بافت چربی احشایی بیان می‌شود. به نظر می‌رسد میزان سرمی امنتین-۱ با چاقی شکمی و مقاومت انسولینی کاهش می‌یابد [۷،۱۱،۱۲]. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که بین غلظت سرمی امنتین و شاخص توده بدنی، نسبت دور کمر به باسن، مقاومت به انسولین و غلظت لپتین سرم همبستگی منفی وجود دارد [۱۱]. همچنین، بیان mRNA امنتین-۱ و سطوح سرمی آن به طور منفی با ۱۷-بتا استرادیول گردش خون رابطه دارد [۷]. سطوح امنتین سرم در زنان چاق به طور معنی‌داری کمتر است و به طور معکوس با پارامترهای متابولیک و سندروم متابولیک مرتبط است [۱۰]. سطح امنتین-۱ در آزمودنی‌های لاغر نسبت به افراد چاق و دارای اضافه وزن بالاتر است [۷،۱۱]. به علاوه، بیان ژن امنتین-۱ با چاقی کاهش می‌یابد. همچنین سطح امنتین-۱ آزمودنی‌های دچار بیماری اختلال در تنظیم گلوکز [۷] و افراد دچار دیابت نوع ۲ [۳،۱۲] پایین‌تر است. به طور جالب توجهی، سطوح بالاتر امنتین سرمی در زنان در مقایسه با مردان بالاتر است [۱۱] که پیشنهاد می‌کند که استروژن احتمالاً اثر تحریکی بر تولید امنتین دارد [۱۳]. به عبارت دیگر، بین استروژن و امنتین-۱ رابطه مثبت و معنی‌دار وجود دارد [۱۴]. موازی با مطالعات انسانی، اوارکتومی در جوندگان منجر به کاهش معنی‌داری سطوح استروژن گردش خون شده [۱۲] و باعث ایجاد مقاومت انسولینی می‌شود [۱۴، ۱۵]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که چاقی [۱۳، ۱۴]، سندروم پلی کیستیک تخمدانی^۱ (PCOS) [۱۶]، دیابت نوع ۱ [۱۴] و دیابت نوع ۲ [۳]، [۱۶] سطح امنتین-۱ را کاهش می‌دهد [۷، ۱۴، ۱۷]. همچنین، نقص در عملکرد GLUT4 عضله اسکلتی به همراه کاهش بیان گلیکوژن سنتتاز موجب کاهش حساسیت انسولینی در کل بدن شده [۱۸] و افزایش هیپرگلیسمی و اسیدهای چرب آزاد شده را موجب

می‌شود [۸]. یکی از روش‌های کاهش اختلالات متابولیکی و قلبی-عروقی مرتبط یائسگی، استروژن درمانی جایگزینی^۲ (HRT) می‌باشد [۲،۱۹]. نتایج مطالعات انجام شده در خصوص استروژن درمانی بر چربی شکمی و مقاومت انسولینی متناقض و تعداد تکرار استروژن درمانی در آنها ۵ بار در هفته می‌باشد [۲۰، ۲۱]. برخی مطالعات نشان دادند که استروژن درمانی جایگزینی میزان چربی احشایی را کاهش می‌دهد [۲۰، ۲۱]؛ در حالی که برخی دیگر نشان دادند که استروژن درمانی تغییر معنی‌داری در میزان چربی احشایی ایجاد نمی‌کند [۲، ۲۲]. از طرفی، استروژن درمانی همچنین، مقاومت انسولینی را در زنان یائسه کاهش می‌دهد [۲۳]. با این حال نتایج مطالعات مختلف در این زمینه نیز متناقض است [۲۰، ۲۱، ۲۴-۲۵]. نتایج مطالعات مختلف حاکی از عدم تغییر معنی‌دار [۲، ۲۲] تا بهبود مقاومت انسولینی پس از استروژن درمانی می‌باشد [۱۴-۱۶]. یافته‌های زوئ و همکاران نشان داد که مقاومت انسولینی در موش‌های اوارکتومی شده با استروژن درمانی جایگزینی بهبود می‌یابد [۲۰، ۲۱]. در حالی که بابایی و همکاران نشان دادند که استروژن درمانی تغییر معنی‌داری در مقاومت انسولینی ایجاد نمی‌کند [۲]. از طرف دیگر، کاهش سطح امنتین-۱، مقاومت انسولینی و دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد [۱۱، ۲۷]. چندین مطالعه نیز نشان دادند که بین امنتین-۱ و BMI رابطه معکوسی وجود دارد [۴، ۷، ۱۱]. با توجه به اثر سرکوب کننده گلوکز و انسولین بر سطح امنتین [۷، ۱۳، ۲۸]، هدف از تحقیق حاضر این بود که آیا حذف تخمدان‌ها تغییری در میزان چربی احشایی، غلظت سرمی امنتین-۱ و مقاومت انسولینی ایجاد می‌کند؟ در صورت مثبت بودن پاسخ، آیا درمان با استروژن موجب تغییر و اصلاح این شاخص‌ها خواهد شد؟ همچنین، با توجه به اثرات سرطان‌زای مصرف متعدد استروژن بر سینه و رحم [۲۰]، آیا کاهش

^۱ Polycystic Ovary Syndrome^۲ Hormone Replacement Therapy

تعداد تکرار مصرف استروژن، چربی احشایی و مقاومت انسولینی را کاهش خواهد داد؟

روش کار

تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده در شرایط درجه حرارت (22 ± 2 درجه سانتی گراد)، دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته در گروه‌های ۵ تایی نگهداری شدند. حیوانات در تمامی مراحل غذای مخصوص موش صحرایی و آب آشامیدنی به اندازه کافی و آزادانه دریافت کردند. موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی گیلان رعایت شد. حیوانات در سن ۱۳ هفتگی (با میانگین وزن 180 ± 5 گرم) به روش تصادفی هدف دار و بر اساس وزن بدن (به روش هم‌تاسازی) در گروه‌های جراحی شم ($n = 10$) و اوارکتومی ($n = 20$) شامل دو زیرگروه استروژن درمانی + اوارکتومی ($n = 10$) و شاهد تزریق + اوارکتومی (کنترل؛ $n = 10$) قرار گرفتند. برای انجام اوارکتومی، پس از بی‌هوشی با کتامین (۵۰ میلی گرم در میلی متر) و زایلازین (۵۰ میلی گرم در میلی متر) با نسبت حجمی ۴ به ۱ به روش تزریق داخل صفاقی، با ایجاد یک برش بر روی پوست و عضله در ناحیه ی تحتانی شکم، تخمدان‌ها خارج شدند. در حیوانات گروه جراحی شم، مراحل بیهوشی و جراحی مانند گروه اوارکتومی شده بدون حذف تخمدان‌ها انجام شد. هدف از انجام این کار تعیین اثر استرس ناشی از تزریق مواد بیهوشی و جراحی بر روی آزمودنی‌ها بود [۲۰، ۲۱-۲۲].

استروژن درمانی شامل روزانه ۳۰ میکروگرم ۱۷-بتا استرادیول والترات (۸-۳۲-۹۷۹، Sigma-Aldrich, U.S.A.) محلول در ۰/۲ میلی لیتر روغن کنجد (Aburaihan Pharma Co, Tehran, Iran) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت هشت هفته، سه روز در هفته، به روش زیرجلدی تزریق شد. گروه شاهد تزریق نیز همان حجم روغن کنجد را به روش تزریق زیرجلدی دریافت کرد. وزن تمام موش‌ها

دوبار در هفته طی ساعات ۱۱-۹ صبح اندازه‌گیری شد. میانگین دوبار اندازه‌گیری به عنوان وزن هفتگی حیوان در نظر گرفته شد. میانگین غذای مصرفی روزانه بر حسب گرم محاسبه شد. چربی احشایی شامل چربی مزانتیری، خلف صفاق و اطراف دستگاه تناسلی و ادراری می‌باشد که به روش جراحی باز استخراج و توزین شد [۲۹، ۲۰]. برای اندازه‌گیری وزن بدن، چربی احشایی و مقدار غذای مصرفی از ترازوی دیجیتال استفاده شد. ۴۰ ساعت بعد از آخرین تزریق و پس از یک شب ناشتایی نمونه خونی برای اندازه‌گیری سطح امنتین-۱ سرم و مقاومت انسولینی یعنی مقدار گلوکز و انسولین از ورید اجوف فوقانی جمع‌آوری شد. امنتین-۱ با روش الیزا و با استفاده از کیت امنتین مخصوص رت (ساخت شرکت Shanghai Crystal Day Biotech کشور چین، E0607Ra) و انسولین نیز با روش الیزا و با استفاده از کیت انسولین مخصوص رت (ساخت شرکت BioVendor کشور چک تحت اتحادیه اروپا، RSHAKRIN010TR) اندازه‌گیری شد. سطح سرمی گلوکز به روش فتومتری توسط دستگاه اتوآنالایزر تکنیکون RA-1000 (نیوپورک، آمریکا) اندازه‌گیری شد [۲۹، ۲۰]. مقاومت انسولینی به روش HOMA-IR با اندازه‌گیری انسولین و گلوکز ناشتا طبق فرمول زیر محاسبه شد [۲۰، ۲۱-۲۲].

$$\text{HOMA-IR index} = (\text{fasting insulin } [\mu\text{U/mL}] \times \text{fasting glucose } [\text{mmol/L}]) / 22.5$$

در این پژوهش داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. برای مقایسه وزن بدن، میزان چربی احشایی، سطح سرمی امنتین-۱ و مقاومت انسولینی بین گروه‌های جراحی شم، اوارکتومی و استروژن درمانی + اوارکتومی از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. برای تحلیل داده‌های تحقیق از SPSS-22 استفاده گردید. سطح معنی‌داری نیز $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داد بین میانگین وزن بدن گروه‌ها در شروع مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($p=0/234$) و $F=1/535$. یکی از آزمودنی‌ها به دلیل تعداد چاهک‌های کیت اندازه‌گیری، از فرایند تحقیق حذف شد (جدول ۱).

آزمودنی‌ها به صورت تصادفی هدف‌دار بر اساس وزن بدن اولیه و به روش همگن سازی در گروه‌های مختلف قرار گرفتند. آزمون F که برای همتاسازی وزن اولیه بدن گروه‌های مختلف استفاده شد، نشان

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار متغیرهای ترکیب بدنی و متابولیک در گروه‌های مختلف پس از هشت هفته استروژن درمانی

Ovx+estrogen	Ovx+oil	SHAM	متغیرها
۱۰	۱۰	۱۰	تعداد اولیه (N1)
۱۸۱/۸±۶/۶۶	۱۸۶/۹±۷/۲۶	۱۸۳/۳±۶/۰۹	وزن اولیه بدن (gr)
۹	۱۰	۱۰	تعداد (N)
۲۱۵/۲۲±۹/۴۷*† ($p=0/0001$)	۲۳۳/۶±۱۳/۱۲* ($p=0/0001$)	۲۰۷/۷±۱۳/۰۱	وزن بدن (گرم)
۲۲/۱۱±۰/۳۳* ($p=0/0001$)	۲۱/۷±۰/۴۸* ($p=0/0001$)	۲۱/۱۱±۰/۳۳	قد (cm)
۰/۴۴±۰/۰۲† ($p=0/0001$)	۰/۵۰±۰/۰۴* ($p=0/0001$)	۰/۴۳±۰/۰۲	BMI (gr/cm ²)
۸/۰۵±۰/۴۸* ($p=0/0001$)	۷/۷۷±۱/۲۶	۶/۸۶±۰/۳۰	غذای مصرفی (گرم/رت/روز)
۶/۸۹±۱/۰۵	۷/۹±۱/۷۳ ($p=0/0001$)	۴/۶±۱	چربی احشایی (گرم)
-	۱۱۷۱±۱۶۲/۲۵* ($p=0/0001$)	۱۳۶۰±۹۵/۷۹	امنتین-۱ (pg/ml)
۱۶۵۱/۱۱±۱۱۷/۶۳*† ($p=0/0001$)	۳۳۵/۸۹±۱۹/۳۳	۳۲۷/۶۹±۳۳/۴۴	گلوکز (mmol/l)
۱/۹۷±۰/۶۱*† ($p=0/0001$)	۲/۶±۰/۳۲* ($p=0/012$)	۱/۱۴±۰/۲۸	انسولین (μU/ml)
۱۴/۵۶±۵/۰۵† ($p=0/0001$)	۳۸/۸۴±۵/۱۴* ($p=0/0001$)	۱۶/۳۶±۳/۶۰	مقاومت انسولینی (HOMA-IR)

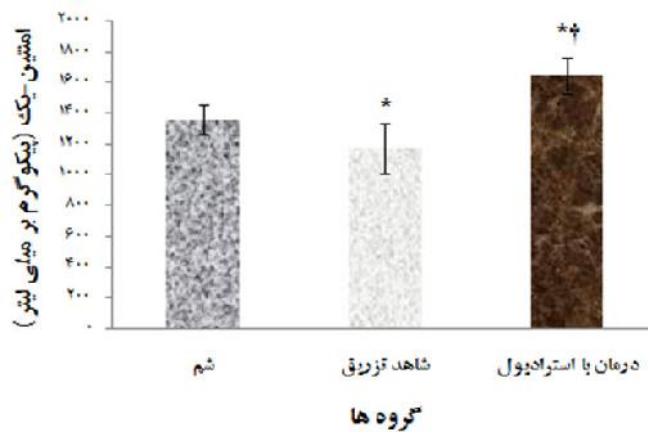
* تفاوت در مقایسه با گروه شام ($P < 0/05$); † تفاوت در مقایسه با گروه شاهد تزریق ($p < 0/05$); Ovx + oil; شاهد تزریق; Ovx + estrogen; درمان با استرادیول میانگین ± خطای معیار میانگین وزن بدن اولیه و متغیرهای متابولیک پس از هشت هفته با استفاده از آمار توصیفی و مقایسه تفاوت میانگین متغیرها پس از هشت هفته بین گروه‌های مختلف با استفاده از ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام شد.

معنی‌دار یافت. قد در گروه‌های استروژن درمانی و شاهد تزریق در مقایسه با شام، به ترتیب ۴/۷۴ و ۲/۸ درصد افزایش معنی‌دار یافت؛ در حالی که بین قد گروه‌های استروژن درمانی و شاهد تزریق تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. BMI گروه درمان با استرادیول در مقایسه با شاهد تزریق ۱۲ درصد کاهش معنی‌دار داشت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شام ۱۶/۲۸ درصد افزایش معنی‌دار یافت. بین BMI گروه‌های استروژن درمانی

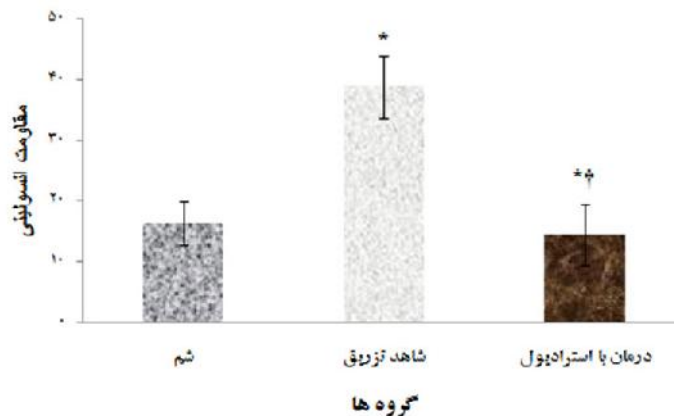
در پایان هشت هفته، وزن بدن گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۷/۸۷ درصد کاهش معنی‌دار و در مقایسه با شام ۳/۶۲ درصد افزایش معنی‌دار داشت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شام ۱۲/۵ درصد افزایش معنی‌دار یافت. وزن چربی احشایی گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۱۲/۸۴ درصد کاهش غیرمعنی‌دار داشت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شام ۷۱/۷۴ درصد افزایش

استروژن در مقایسه با گروه‌های شاهد تزریق و شم، به ترتیب ۵۱/۱۶ و ۴۹/۹۵ درصد کاهش معنی‌دار یافت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم تفاوت معنی‌داری نداشت. انسولین در گروه درمان با استرادیول در مقایسه با شاهد تزریق ۲۴/۲۳ درصد کاهش معنی‌دار یافت؛ در حالی که در مقایسه با شم ۷۲/۸۰ درصد افزایش معنی‌دار یافت. مقاومت انسولینی در گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق ۶۱/۵۲ درصد کاهش معنی‌دار یافت. HOMA در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم ۱۳۷/۴۱ درصد افزایش معنی‌دار یافت (جدول ۱، شکل ۲).

و شم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بین میانگین غذای مصرفی گروه درمان با استرادیول در مقایسه با شاهد تزریق و همچنین بین غذای مصرفی گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ در حالی که غذای مصرفی گروه استروژن درمانی در مقایسه با شم ۱۷/۳۵ درصد افزایش معنی‌دار یافت (جدول ۱). امتین-۱ سرم در گروه درمان با استرادیول در مقایسه با گروه‌های شاهد تزریق و شم، به ترتیب، ۴۱ و ۲۱/۴ درصد افزایش معنی‌دار یافت؛ در حالی که در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم ۱۳/۹ درصد کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۱، شکل ۱). گلوکز گروه درمان با



شکل ۱. سطح امتینین-۱ سرم گروه‌های مختلف پس از هشت هفته تزریق استروژن * تفاوت در مقایسه با گروه شم ($p < 0.05$); † تفاوت در مقایسه با گروه شاهد تزریق ($p < 0.05$)



شکل ۲. HOMA-IR گروه‌های مختلف پس از هشت هفته تزریق استروژن * تفاوت در مقایسه با گروه شم ($p < 0.05$); † تفاوت در مقایسه با گروه شاهد تزریق ($p < 0.05$)

بحث

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد سطح امنتین-۱ سرم پس از هشت هفته استروژن درمانی جایگزینی به طور معنی‌داری افزایش یافت که دلیل احتمالی این افزایش این است که استروژن احتمالاً اثر تحرکی بر تولید امنتین دارد [۱۱]. افزایش سطح سرمی امنتین-۱ پس از هشت هفته استروژن درمانی با کاهش مقاومت انسولینی همراه بود. این یافته با مطالعات وو و همکاران (۲۰۱۴)، جیالالا و همکاران، چویی و همکاران، تن و همکاران و باتیستا و همکاران مبنی بر ارتباط منفی و معنی‌دار میان امنتین-۱ سرم و شاخص HOMA همسو می‌باشد [۳۲-۷، ۱۱، ۲۸، ۳۰]. مطالعات قبلی نشان دادند که سطح گلوکز و انسولین ناشتا و مقاومت انسولینی به طور منفی با سطح امنتین-۱ رابطه دارد [۳، ۳۰]. مطالعات مختلف نشان داده اند که سطح امنتین-۱ پس از اوارکتومی کاهش و میزان گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی افزایش می‌یابد [۷، ۱۷، ۲۸، ۳۰]. کاهش سطح امنتین-۱ در گروه اوارکتومی به نوعی موید یافته‌های پیشین در شرایط متابولیکی نسبتاً مشابه می‌باشد. بر اساس تحقیقات گذشته، افزایش انسولین و گلوکز در شرایط اوارکتومی، بیان mRNA امنتین و تولید پروتئین آن را کاهش می‌دهند [۳۰]. علت ایجاد مقاومت انسولینی در گروه اوارکتومی شده می‌تواند کاهش ترانس لوکاز GLUT4 و گلیکوژن سنتتاز عضله در غیاب استروژن باشد [۳۳].

امنتین-۱ پروتئین کیناز Akt/B و جذب گلوکز با واسطه انسولین را که نقش مهمی در حفظ هموستاز گلوکز دارد، افزایش می‌دهد [۳۴]. Akt یک پروتئین کیناز سرین/ ترئونین است که به عنوان یک پیام‌بر ثانویه نقش مهمی در عملکردهای سلولی مانند متابولیسم گلوکز، تکثیر و آپوپتوز سلولی دارد [۷]. امنتین-۱ فسفوریلایسون Akt و پروتئین کیناز B، انتقال گلوکز به واسطه انسولین را در آدیپوسیت‌ها افزایش می‌دهد. Akt پروتئین کیناز فعال شده با

AMPK^۱ (AMPK) را افزایش می‌دهد [۳۳]. AMPK تنظیم کننده اصلی هموستاز انرژی است و فعال‌سازی آن مصرف انرژی یعنی اکسیداسیون گلوکز و اسیدهای چرب آزاد را افزایش می‌دهد [۳۴]. از طرف دیگر، امنتین-۱ موجود در جریان خون، در نواحی مانند عضله، کبد و بافت چربی زیرپوستی موجب بهبود حساسیت انسولین و متابولیسم گلوکز می‌شود [۱۱، ۱۳]. لذا، افزایش AMPK پس از استروژن درمانی منجر به افزایش جابه جایی GLUT-4 و برداشت گلوکز می‌شود [۳۴]. همچنین افزایش سطح امنتین-۱ با بهبود حساسیت انسولینی رابطه دارد؛ چرا که با وجود افزایش جذب غذا در گروه درمان با استرادیول، سطح امنتین-۱ افزایش و مقاومت انسولینی کاهش یافت. افزایش ۱۷/۳۵ درصدی مصرف غذا در گروه استروژن درمانی در مقایسه با شم نیز مشاهده شد. افزایش جذب غذا احتمالاً ناشی از افزایش متابولیسم انرژی به وسیله امنتین-۱ است [۳۴]. بنابراین کاهش گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی بعد از هشت هفته استروژن درمانی در تحقیق حاضر، احتمالاً به وسیله امنتین-۱ تعدیل می‌شود. هر چند این موضوع نیازمند بررسی‌های سلولی و مولکولی دقیق است. همانطور که گفته شد، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی در گروه استروژن درمانی در مقایسه با شاهد تزریق به طور معنی‌داری کاهش یافت؛ در حالی که این متغیرها در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم افزایش یافت. نتایج تحقیق حاضر یافته‌های پیشین را در خصوص اینکه استروژن درمانی منجر به بهبود حساسیت انسولینی در افراد چاق و دارای اضافه وزن [۱۵، ۳۵] و در رت‌های ماده اوارکتومی شده و چاق [۲۲-۲۰] می‌شود، تأیید می‌کند.

کاهش مقاومت انسولینی پس از استروژن درمانی با گزارشات یوربانوا و همکاران، ویسرز و همکاران،

^۱ AMP-Activated Protein Kinase

زوت و همکاران همسو است [۸،۱۷،۲۰،۲۱]؛ در حالی که با یافته‌های بابایی و همکاران که نشان دادند استروژن درمانی اثر معنی‌داری در کاهش مقاومت انسولینی ندارد، مغایرت دارد [۲]. دلیل این مغایرت آن است آزمودنی‌های تحقیق بابایی و همکاران موش‌های صحرایی اوارکتومی شده بودند که دو هفته بعد از جراحی و قبل از اعمال مداخلات، به لحاظ وزن بدن نسبت به گروه شم، چاق محسوب می‌شدند و شاخص HOMA-IR آنها بالاتر از گروه شم بود؛ در حالی که بین وزن بدن و مقاومت انسولینی آزمودنی‌های تحقیق حاضر دو هفته پس از جراحی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. لذا یافته‌های تحقیق حاضر با یافته‌های آنها مبنی بر عدم کاهش معنی‌دار شاخص مقاومت انسولینی متعاقب استروژن درمانی، که در نتیجه منجر به جلوگیری از افزایش مقاومت انسولینی شد، همخوانی ندارد.

در زنان یائسه [۱۸] و موش‌های صحرایی اوارکتومی شده [۳۶] دریافت‌کننده هورمون، انتقال‌دهنده گلوکز-۴ (GLUT4) تنظیم شده و انتقال آن به سطح سلول افزایش می‌یابد. استروژن درمانی با افزایش AMPK منجر به افزایش جابه‌جایی GLUT4 و برداشت گلوکز می‌شود [۳۵]. بنابراین کاهش سطح گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی پس از هشت هفته استروژن درمانی در تحقیق حاضر، احتمالاً بر اثر افزایش AMPK بوده که باعث ترانس لوکاز GLUT4 شده است.

افزایش سطح آمپک-۱ پس از استروژن درمانی، با کاهش وزن بدن و BMI همراه است که با یافته‌های قبلی هم‌خوانی دارد [۷،۳۳]. در غیاب استروژن، رابطه منفی و معکوس بین آمپک و BMI وجود دارد که نشانی می‌دهد آمپک با چاقی نیز رابطه معکوس دارد [۱۱،۱۳،۳۳،۳۷]. از سوی، اسیدهای چرب تولید شده از بافت چربی به دنبال چاقی، با تجمع در سلول‌های عضلانی، انتقال GLUT4 به سطح این

سلول‌ها را مختل کرده و موجب بروز مقاومت انسولینی می‌شود [۳۸]. چاقی بیان آمپک را به طور منفی تنظیم می‌کند [۱۱]. سطح آمپک سرم تا حد نسبتاً زیادی به وسیله چاقی و تا حدودی به وسیله وضعیت التهابی تنظیم می‌شود و در طی چاقی و دیابت کاهش می‌یابد [۱۱]. چاقی و دیابت نوعی التهاب مزمن خفیف هستند؛ به طوری که هیپرگلیسمی و مقاومت انسولینی منجر به تولید سایتوکین‌های التهابی از بافت چربی می‌شوند [۳۹].^۲ Cox-2 ناشی از TNF^۳ از طریق مهار پیام‌رسانی JNK در سلول‌های اندوتلیال عروقی نقش ضدالتهابی دارد [۴۱]. با توجه به اینکه آمپک احتمالاً به وسیله برخی شاخص‌های التهابی اندوتلیالی تنظیم می‌شود [۲۸]، به نظر می‌رسد که آمپک در شرایط التهابی نقش جبرانی داشته و به عنوان یک محافظ قلبی است. این موضوع نیازمند بررسی‌های دقیق سلولی و مولکولی است که برای تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود.

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد وزن بدن در گروه درمان با استرادیول در مقایسه با شاهد تزریق کاهش یافت؛ در حالیکه در گروه شاهد تزریق در مقایسه با شم افزایش یافت. چربی احشایی پس از هشت هفته استروژن درمانی در تحقیق حاضر کاهش یافت ولی این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین یافته‌های تحقیق حاضر این مطلب را تأیید می‌کند که اوارکتومی باعث افزایش بافت چربی شکمی و وزن بدن می‌شود [۲،۲۹]. این یافته با نتایج بابایی و همکاران و سانگ سیرسوان و همکاران همخوانی دارد؛ در حالی که با یافته‌های زوت و همکاران همخوانی ندارد که علت احتمالی آن این است که استروژن درمانی در تحقیق آنها ۱۲-۱۱ هفته و با تکرار پنج روز در هفته بود. عدم کاهش معنی‌دار چربی احشایی پس از هشت هفته استروژن درمانی

^۲ Cyclooxygenase-2

^۳ Tumor Necrosis Factor-

^۱ Glucose Transporter Type 4

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه اساتید محترم گروه فیزیولوژی ورزشی و پرسنل گرانقدر دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه گیلان و همچنین از جناب آقای مهدی پهلوانی جهت همکاری در اجرای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد.

در تحقیق حاضر را می‌توان کوتاه بودن طول دوره استروژن درمانی و تعداد تکرار آن در هفته (۳ بار در هفته) دانست.

نتیجه گیری

در کل، با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر، استروژن درمانی می‌تواند رویکرد مثبتی جهت کنترل وزن و کاهش مقاومت انسولینی احتمالا از طریق بالابردن آمینتین-۱ در شرایط مشابه یائسگی باشد.

References

- 1- Meli R, Pacilio M, Raso GM, Esposito E, Coppola A, Nasti A, et al. Estrogen and raloxifene modulate leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology*. 2004 Jul;145(7):3115-21.
- 2- Babaei P, Mehdizadeh R, Ansar MM, Damirchi A. Effects of ovariectomy and estrogen replacement therapy on visceral adipose tissue and serum adiponectin levels in rats. *Menopause Int*. 2010 Sep;16(3):100-4.
- 3- Pan HY, Guo L, Li Q. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Feb;88(1):29-33.
- 4- Tchernof A, Desmeules A, Richard C, Laberge P, Daris M, Mailloux J, et al. Ovarian hormone status and abdominal visceral adipose tissue metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jul;89(7):3425-30.
- 5- Lizcano F, Guzmán G. Estrogen deficiency and the origin of obesity during menopause. *BioMed Res Int*. 2014 Mar; 1-11.
- 6- Morstein M. Metabolic syndrome and the menopausal woman. *The Endocrine Soci*. 2013 Jan;12(1).1-12.
- 7- Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Lewandowski KC, O'Hare P, Lehnert H, et al. Omentin-1, a novel adipokine, is decreased in overweight insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. Ex vivo and in vivo regulation of omentin-1 by insulin and glucose. *Diabetes*. 2008 Apr;57(4):801-8.
- 8- Visseres D, Hens W, Taeymas J, Baeyens JP, Poortmans J, Van Gaal L. The effect of exercise on visceral adipose tissue in overweight adults: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes and Metabolism*. *PLOS One*. 2013; 8(2):e56415.
- 9- Mehdizade R. Effects of aerobic exercise training and estrogen replacement therapy on visceral fat, serum adiponectin concentration and insulin sensitivity in ovariectomized rats [dissertation]. Guilan Unive; 2009 [Full Text in Persian]
- 10- Auguet T, Quintero Y, Riesco D, Morancho B, Terra X, Crescenti A, et al. New adipokines vaspin and omentin. Circulating levels and gene expression in adipose tissue from morbidly obese women. *BMC Med Genet*. 2011 Apr;28:12:60.
- 11- Batista CM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn NM, Yu DZ, Pray J, et al. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes*. 2007 Feb;56(6):1655-61.
- 12- Cai RC, Wei L, Di JZ, Yu HY, Bao YQ, Jia WP. Expression of omentin in adipose tissues in obese and type 2 diabetic patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2009 Feb;89(6):381-4.
- 13- Yang RZ, Lee MJ, Hu H, Pray J, Wu HB, Hansen BC, et al. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Jul;290(6):E1253-61.
- 14- Sites CK, L'Hommedieu GD, Toth MJ, Brochu M, Cooper BC, Fairhurst PA. The effect of hormone replacement therapy on body composition, body fat distribution, and insulin sensitivity in

- menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 May;90(5):2701-7.
- 15- Davidson L, Hudson R, Kilpatrick K, Kuk JL, McMillan K, Janiszewski PM, et al. Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults. *Arch Intern Med.* 2009 Jan;169(2):122-31.
- 16- Brunetti L, Di Nisio C, Recinella L, Chiavaroli A, Leone S, Ferrante C, et al. Effects of vaspin, chemerin and omentin-1 on feeding behavior and hypothalamic peptide gene expression in the rat. *Peptides.* 2011 Sep;32(9):1866-71.
- 17- Urbanova M, Dostalova I, Trachta P, Drapalova J, Kavalkova P, Haluzikova D, et al. Serum concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of omentin in morbid obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of very-low-calorie diet, physical activity and laparoscopic sleeve gastrectomy. *Physiol Res.* 2014 Jan;63(2):207-18.
- 18- Ryan AS, Nicklas BJ, Berman DM. Hormone Replacement Therapy, insulin sensitivity, and abdominal obesity in post menopausal women. *Diabetes Care.* 2002 Jan;25(1):127-33.
- 19- O'Leary VB, Marchetti CM, Krishnan RK, Stetzer BP, Gonzalez F, Kirwan JP. Exercise-induced reversal of insulin resistance in obese elderly is associated with reduced visceral fat. *J Appl Physiol (1985).* 2006 May;100(5):1584-9.
- 20- Zoth N, Weigt C, Zengin S, Selder O, Selke N, Kalicinski M, et al. Metabolic effects of estrogen substitution in combination with targeted exercise training on the therapy of obesity in ovariectomized Wistar rats. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2012 May;130(1-2):64-72.
- 21- Zoth N, Weigt C, Laudenschlager U, Diel P. Physical activity and estrogen treatment reduce visceral body fat and serum levels of leptin in an additive manner in a diet induced animal model of obesity. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010 Oct; 122(1-3):100-5.
- 22- Saengsirisuwan V, Pongseeda S, Prasannarong M, Vichaiwong K, Toskulkaeo C. Modulation of insulin resistance in ovariectomized rats by endurance exercise training and estrogen replacement. *Metabolism.* 2009 Jan;58(1):38-47.
- 23- Rincon J, Holmang A, Wahlstrom EO, Lonroth P, Bjorntorp P, Zierath JR, et al. Mechanisms behind insulin resistance in rat skeletal muscle after oophorectomy and additional testosterone treatment. *Diabetes.* 1996 May;45(5):615-21.
- 24- Toth MJ, Sites CK, Eltabbakh GH, Poehlman ET. Effect of menopausal status on insulin-stimulated glucose disposal. *Diabetes Care.* 2000 Jun;23(6):801-6.
- 25- Kanaley J, Sames C, Swisher L, Swick AG, Pioutz-Snyder LL, Stepan CM, et al. Abdominal fat distribution in pre- and postmenopausal women: The impact of physical activity, age, and menopausal status. *Metabolism.* 2001 Aug;50(8):976-82.
- 26- Evans EM, Van Pelt RE, Binder EF, Williams DB, Ehsani AA, Kohrt WM. Effects of HRT and exercise training on insulin action, glucose tolerance, and body composition in older women. *J Appl Physiol (1985).* 2001 Jun;90(6):2033-40.
- 27- Grundy SM, Brewer HB, James IM, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C. Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *NHLBI/AHA Conference Proceedings. Circulation.* 2004 Jan;109(3):433-8.
- 28- Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeve HS. Metformin treatment may increase omentin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 2010 Dec;59(12):3023-31.
- 29- Damirchi A, Mehdizade R, Ansari M.M, Soltani B, Babaei P. Effects of aerobic exercise training on visceral fat and serum adiponectin concentration in ovariectomized rats. *Climacteric.* 2010 Apr;13(2):171-8.
- 30- Choi JH, Rhee EJ, Kim KH, Woo HY, Lee WY, Sung KC. Plasma omentin-1 levels are reduced in non-obese women with normal glucose tolerance and polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2011 Nov; 165(5):789-96.
- 31- Jialal I, Devaraj S, Kaur H, Adams-Huet B, Bremer AA. Increased chemerin and decreased omentin-1 in both adipose tissue and plasma in nascent metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Mar;98(3):514-517.

- 32- Vu A, Sidhom MS, Bredbeck BC, Kosmiski LA, Aquilante CL. Evaluation of the relationship between circulating omentin-1 concentrations and components of the metabolic syndrome in adults without type 2 diabetes or cardiovascular disease. *Diabetol Metab Syndr*. 2014 Jan 15;6(1):4
- 33- Davidson LE. Influence of exercise modality on body composition, insulin resistance and functional fitness in aging: A Randomized controlled trail [dissertation]. St. Queen's Unive; 2007.
- 34- Yu D. Omentin activates AMP-activated protein kinase and plays a role in energy metabolism and immune response [dissertation]. Maryland Unive; 2011.
- 35- Garrido P, Morán J, Alonso A, González, S, González C. 17-Estradiol activates glucose uptake via GLUT4 translocation and PI3K/Akt signaling pathway in MCF-7 Cells. *Endocrinology*. 2013 Jun;154(6):1979-89.
- 36- Barros RP, Machado UF, Warner M, Gustafsson JA. Muscle GLUT4 regulation by estrogen receptors ER and ER . *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006 Jan;103(5): 1605–1608.
- 37- Moreno-Navarrete JM, Catalán V, Ortega F, Gómez-Ambrosi J, Ricart W, Frühbeck G, et al. Circulating omentin concentration increases after weight loss. *Nutr Metab (Lond)*. 2010 Apr; 7:27.
- 38- Cuff DJ, Meneilly GS, Martin A, Tildesley HD, Frohlich JJ. Effective exercise modality to reduce insulin resistance in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2003 Nov;26(11):2977-82.
- 39- Fu M, Gong DW, Damcott C, Sabra M, Yang R, Pollin TI, et al. Systematic analysis of omentin 1 and omentin 2 on 1q23 as candidate genes for type 2 diabetes in the Old Order Amish. *Diabetes*. 2004 Dec; 53(12): 3292-3299.
- 40- Yan P, Li L, Yang M, Liu D, liu H, Boden G, et al. Effects of the long – acting human glucagon – Like peptide-1 analog liraglutide on plasma omentin-1 levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011 Jun;92(3):368-74.
- 41- Yamawaki H, Tsubaki N, Mukohda M, Okada M, Hara Y. Omentin, a novel adipokine, induces vasodilation in rat isolated blood vessels. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Mar; 393(4):668-72.