

بررسی اثرات پیری سلول در ایجاد مقاومت به انسولین در موش های صحرایی ویستار چاق

شده توسط رژیم غذایی

ماکان چراغ پور¹، رقیه شهبازی²، رضا همایونفر³، حسین ایمانی⁴، حمید زند⁵

- 1- دانشجوی دکتری تخصصی علوم تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران
- 2- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 3- دانش آموخته دکتری علوم تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 4- دانشجوی دکتری علوم تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 5- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم پایه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: hamidzand@gmail.com

تاریخ پذیرش: 93/9/16

تاریخ دریافت: 93/6/8

چکیده

سابقه و هدف: پیری سلول به عنوان یکی از مکانیسم های سرکوب کننده تومور شناخته شده است، اما اخیراً شواهد نشان می دهد که این فرایند یکی از عوامل الفاکتنده اختلالات متابولیک از قبیل دیابت و مقاومت به انسولین می باشد. در این مطالعه اثر پیری در بافت های محیطی موش های چاق شده توسط رژیم غذایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: 30 موش نر پنج هفته‌ای از نوع ویستار به طور تصادفی در دو گروه رژیم پرکالری با 416 کیلوکالری در هر 100 گرم (ساخت محقق) و رژیم کنترل به مدت 12 هفته تقسیم شدند. در انتهای هفته دوازدهم تغییرات وزنی، پروفایل لیپیدی، مقادیر گلوکز، انسولین و شاخص QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) برای دو گروه سنجش گردید ضمن این که نمونه‌های بافتی جداسازی و ایمونوبلاتینگ برای شناسایی پروتئین های P16INK4a و P53 (نشانه‌گر های پیری سلول) انجام گرفت.

یافته‌ها: سطوح P53 به وضوح هم در بافت چربی و هم در بافت های محیطی موش های چاق شده توسط رژیم در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود. بیان P16INK4a فقط در بافت چربی موش های چاق افزایش یافت ولی این پروتئین در سایر بافت ها بیان نشد. علاوه بر این سطوح گلوکز (183/60±34/90 در مقابل 152/40±15/48؛ P=0/019)، کلسترول (60/70±6/88 در مقابل 46/60±7/82؛ P<0/001) و تری گلیسرید (124/60±46/43 در مقابل 57/20±24/02؛ P<0/001) سرمی در گروه چاق نسبت به کنترل بالاتر بود. در حالی که شاخص QUICKI در موش های چاق شده توسط رژیم نسبت به گروه کنترل پایین تر بود (P=0/01).

نتیجه گیری: نتایج این بررسی نشان داد که پیری سلول در بافت چربی با ایجاد تغییرات بافتی، می تواند محیط مستعدی را جهت پیشرفت مقاومت به انسولین و بیماری های مرتبط با سن مهیا کند.

واژگان کلیدی: پیری سلول، چاقی ناشی از رژیم، مقاومت به انسولین

• مقدمه

پروتئین ها و عوامل درون سلولی مختلفی در این سازوکار دخیل هستند که از مهم ترین آنها می توان به دو پروتئین سرکوب کننده تومور، P53 و P16INK4a، اشاره کرد (4، 5). به عبارت دیگر فعال سازی یا بیان بیش از حد P53 و از مهم ترین نشانه‌گرهای فرایند پیری سلول در

پیری سلولی (Cellular Senescence) سازوکاری است که در آن چرخه سلول به صورت برگشت ناپذیری متوقف می شود (1)، طوری که سلول را از پیام های افزایش دهنده تکثیر و رشد محافظت می کند (2). عوامل مختلفی مانند استرس سلول می توانند الفاکتنده این وضعیت در سلول به شمار آیند (3، 1).

بر همین اساس در مطالعه حاضر، اثر فعال‌سازی مسیره‌های القاکننده پیری در بافت‌های محیطی موش‌های چاق شده توسط رژیم مورد مطالعه قرار گرفت. ضمن این که اثر P53 و PI6INK4a در القاء مقاومت به انسولین در سطح بافت و سرم بررسی شد. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند دانش جدیدی را در زمینه ی اتیولوژی مقاومت به انسولین القاء شده توسط چاقی و نیز یافتن درمان جدیدی برای دیابت نوع 2 فراهم کند.

• مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی و رژیم مورد استفاده: تعداد 30 موش نر پنج هفته‌ای از نوع ویستار انتخاب و به طور تصادفی در دو گروه تخصیص داده شدند. جهت وفق پیدا کردن با شرایط آزمایشگاه به هر دو گروه به مدت یک هفته رژیم استاندارد که از کارخانه دانه پارس تأمین شده بود داده شد. در پایان هفته اول موش‌ها به دو گروه تقسیم شدند یکی از گروه‌ها رژیم پرکالری (41% انرژی از چربی) با چربی از منشأ چربی نشخوارکنندگان (15) (ساخت محقق) دریافت کردند و در گروه دیگر رژیم کنترل (13% انرژی از چربی) ادامه پیدا کرد (جدول 1 و 2). غذا به صورت آزادانه (ad libitum) در اختیار حیوانات قرار داشت. محیط نگهداری حیوانات دارای درجه حرارت 20-24 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 70-20 درصد و چرخه روشنایی و تاریکی 12 ساعته دقیق بود نکته‌های اخلاقی مربوط به نگهداری حیوانات و آزمایش‌های انجام شده در آنها براساس پروتکل مورد تأیید دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی رعایت شد. وزن حیوانات در فواصل یک هفته‌ای با استفاده از ترازوی شرکت Kentscientific که دقتی برابر با یک صدم گرم داشت، مورد سنجش قرار گرفت.

نظر گرفته می‌شوند. اگرچه این فرایند به عنوان سد محکمی در برابر تومورزایی در پاسخ به تحریکات انکوژنی محیط میزبان در نظر گرفته می‌شود (6)، اما اخیراً بعضی از شواهد پیشنهاد می‌کنند این مکانیسم سرکوب‌کننده تومور می‌تواند به صورت یک شمشیر دو لبه عمل نماید: در حالی که پیشرفت تومور را در اوایل زندگی سرکوب می‌کند از سوی دیگر قادر به تغییر ساختار، سازماندهی و هوموستاز بافت است که می‌تواند فنوتیپ و پاتولوژی‌های مرتبط با سن از قبیل سرطان و اختلالات متابولیک را القا کند (7، 1).

مطالعات نشان می‌دهند که افزایش میزان چربی بدن و چاقی با افزایش خطر تخریب DNA به واسطه ی استرس اکسیداتیو ارتباط دارد بطوری که عدم تعادل بین عوامل اکسیدکننده ی بافتی و آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است مکانیسمی در پیشرفت عوارض مرتبط با چاقی همانند دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان به شمار آید (8، 9). به نظر می‌رسد که افزایش تخریب ژنوم و استرس اکسیداتیو در چاقی به دلیل سرعت بالای فرایندهای متابولیک جهت حفظ اعمال بیولوژیکی در افراد چاق باشد که می‌تواند منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و تخریب ژنوم گردد (10). هایپرگلیسمی، افزایش سطوح لیپیدی سرم، عدم کفایت دفاع آنتی‌اکسیدانی و التهاب مزمن از جمله مهم‌ترین عوامل القاکننده تخریب ژنوم در افراد چاق به شمار می‌آیند (13-11). اخیراً مطالعات نشان داده‌اند که افزایش میزان دریافت کالری در بافت چربی می‌تواند موجب افزایش پاسخ‌های استرسی شود، لذا قادر به تحریک مسیر سرکوب‌کننده ی تومور P53 است که القاکننده ی فنوتیپ شبه پیری نیز به شمار می‌رود (14)؛ به طوری که می‌تواند منجر به القا پیری زودرس و کاهش طول عمر گردد. بنابراین چاقی را می‌توان تسریع‌کننده پیری سلول و اختلالات مرتبط با آن دانست.

جدول 1. ترکیبات سازنده و درصد درشت‌مغذی‌های رژیمی غذایی پرکالری و رژیم استاندارد

درشت‌مغذی‌ها	رژیم استاندارد		رژیم پرکالری	
	مقدار انرژی در 100 گرم	درصد انرژی	مقدار انرژی در 100 گرم	درصد انرژی
کربوهیدرات	175	58%	187	45%
چربی	39	13%	171	41%
پروتئین	84	28%	58	14/5%
مجموع	302	100%	416	100%

ایمنوبلاتینگ: جهت استخراج کامل پروتئین ها و انجام آنالیز وسترن بلات، بافت ها توسط بافر لیز کننده RIPA lysis buffer Santa Cruz Biotechnology, (California, USA) همگن شده و سپس به مدت 30 دقیقه روی یخ تیمار و در دور 15000 به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ گردید و در ادامه مایع شناور بر سطح به دست آمده که حاوی پروتئین های بافتی بود، جدا شد. با استفاده از روش برادفورد غلظت پروتئین موجود در نمونه ها سنجش و بر آن اساس 50 میکروگرم پروتئین مربوط به هر بافت جهت انجام مراحل وسترن بلات استخراج گردید. بطوری که در ابتدا پروتئین ها توسط ژل پلی آکریل آمید 10 درصد (SDS-PAGE) جدا و متعاقب آن با سلول ترانسفر نیمه خشک به غشای نیتروسولوز (Amersham Pharmacia Biotech, USA) منتقل شدند. پروتئین های منتقل شده به غشا با آنتی بادی اولیه اختصاصی انکوبه و شناسایی شدند. آنتی بادی مونوکلنال رت برای P16INK4a از شرکت Abcam (ab54210) و آنتی بادی مونوکلنال رت برای P53 (pAB 240) از شرکت Santa Cruz Biotechnology (sc-99) استفاده گردید. پس از افزودن آنتی بادی ثانویه مناسب به غشاها، باندهای تشکیل شده با استفاده از سیستم chemi-luminescence (ECL Select, Amersham Pharmacia) براساس پروتکل شرکت سازنده شناسایی شدند و بر روی فیلم ظاهر گردیدند.

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ی 16 استفاده شد. برای آزمون توزیع طبیعی از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. مقادیر وزنی با استفاده از اندازه گیری های مکرر و آزمون تی مستقل مورد آنالیز قرار گرفت و مقایسه میانگین شاخص های سرمی بوسیله آزمون تی مستقل انجام گرفت. داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش و مقادیر $P < 0/05$ سطح معنی دار در نظر گرفته شدند.

• یافته ها

چاقی و تجمع P53 و P16INK4a در بافت های محیطی: گروه های موای موش های ویستار نر 5 هفته ای به مدت 12 هفته تحت رژیم پرکالری (41% انرژی از چربی) یا کنترل (13% انرژی از چربی) قرار گرفتند. همانطور که در شکل 1 نشان داده شده است، در ابتدای مطالعه وزن دو گروه تفاوت معنی داری نداشت [$72 \pm 6/23$ گرم در گروه کنترل و $68/12 \pm 4/58$ گرم در گروه پرکالری ($p = 0/166$)]. در پایان هفته ی سوم، وزن موش ها در گروه پرکالری نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد [$115 \pm 10/69$ گرم در

جدول 2. ترکیب اسیدچرب در هر 100 گرم محصول رژیم

پرکالری	
اسید چرب	مقدار (گرم)
C4:0	0/55
C6:0	0/41
C8:0	0/26
C10:0	0/60
C12:0	0/85
C:14:0	2/61
C:16:0	0/32
C:16:1	0/55
C:18:0	1/71
C:18:1c	3/42
C:18:1t	0/66
C:18:2c	0/17
C:18:2t	0/12
C:20:0	0/02

تست های آزمایشگاهی: در انتهای هفته ی دوازدهم، بعد از بیهوشی با اتر (که کمترین تأثیر را بر شاخصه های متابولیک دارد)، از قلب خون گیری، سرم آن جداسازی و جهت کاهش احتمال سوگیری در آزمایشات کدگذاری گردید. غلظت انسولین سرم با استفاده از کیت الایزا Chemical, Madison (Cayman USA) بر اساس پروتکل شرکت سازنده اندازه گیری شد. همه نمونه ها به صورت دوتایی ارزیابی گردید. جذب نوری در طول موج 450 نانومتر سنجیده شد (Bio-Rad). جذب نوری در طول موج 450 نانومتر سنجیده شد (Bio-Rad). خون وریدی دم، قبل و بعد از دوره ی مداخله در شرایط روزه داری شبانه مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت گلوکز 3 بار از خون قلبی با استفاده از glucose oxidase colorimetric kit (ZIST SHIMI, Tehran, Iran) پروفایل لپیدی توسط کیت های شرکت پارس آزمون و به طریقه آنزیمی اندازه گیری شد. ضمن این که نمونه هایی از بافت کبد، کلیه، روده، ماهیچه و چربی جمع آوری شد و سپس در نیتروژن مایع غوطه ور و در دمای -80°C برای انجام آنالیز وسترن بلات ذخیره شدند.

سنجش شاخص QUICKI: شاخص QUICKI به عنوان شاخص حساسیت به انسولین مورد استفاده دارد و با افزایش مقادیر این شاخص حساسیت به انسولین بیشتر می گردد.

نحوه محاسبه این شاخص به صورت مقابل است:

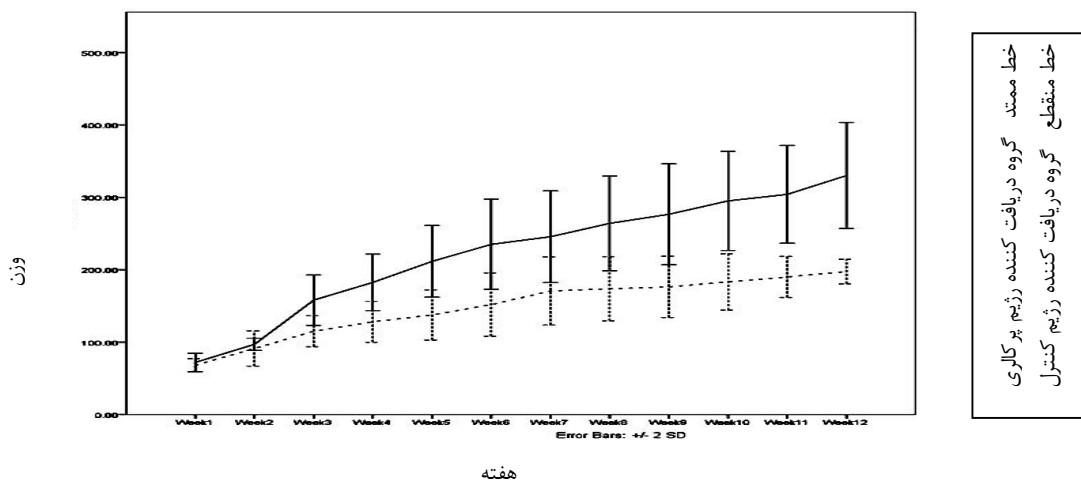
$$\text{QUICKI} = 1/[\log(I0) + \log(G0)]$$

I0 غلظت انسولین ناشتا (میکروگرم/میلی لیتر) و G0 غلظت گلوکز ناشتا (میلی گرم/دسی لیتر).

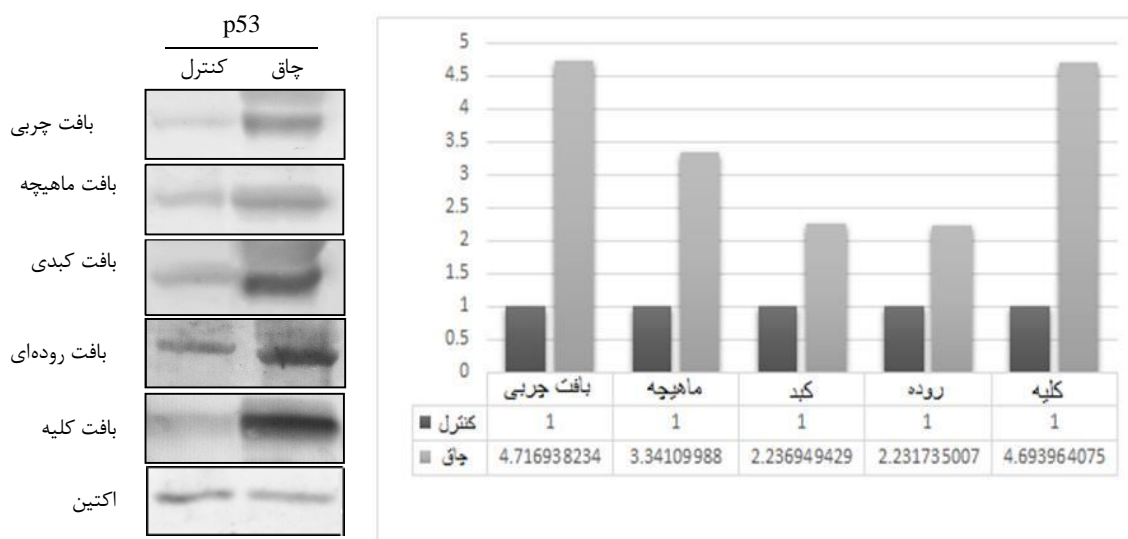
ماهیچه و چربی موش‌های چاق در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (شکل 2). ضمن این که نتایج وسترن بلات و دانستیتومتری برای پروتئین P16INK4a (شکل 3) نشان می‌دهد که این پروتئین در تمامی بافت‌های گروه کنترل به میزان کمی بیان شد در حالی که فقط در بافت چربی حیوان چاق شده توسط رژیم، بیان قابل ملاحظه‌ای داشت.

گروه کنترل و $158 \pm 17/35$ گرم در گروه پرکاری $(p < 0/0001)$. بعد از 12 هفته، موش‌های تحت رژیم پرکاری افزایش وزن قابل ملاحظه‌ای نسبت به موش‌های تحت رژیم کم چرب کسب کردند ($197/5 \pm 8/45$ گرم در گروه کنترل و $330 \pm 36/67$ گرم در گروه پرکاری $(p < 0/0001)$).

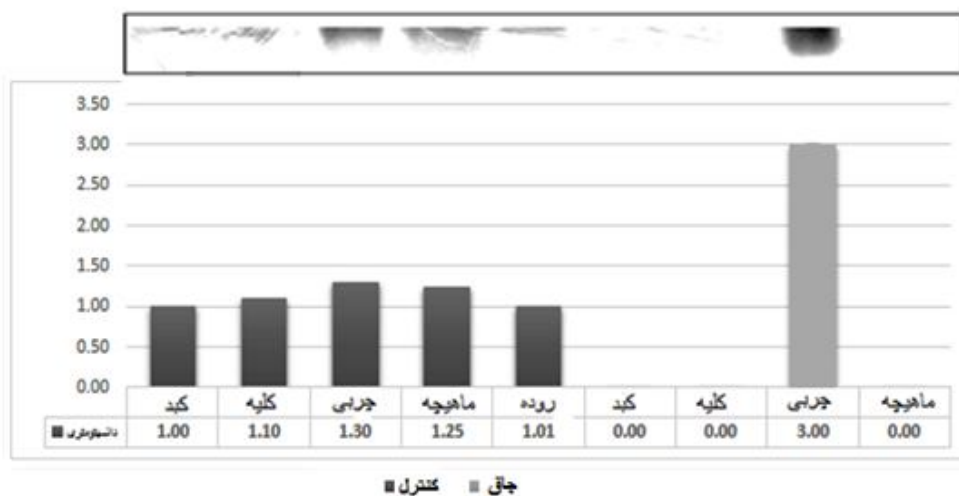
نتایج به دست آمده از تکنیک وسترن بلات نشان می‌دهند که سطوح P53 به وضوح در سلول‌های بافت کلیه، کبد، روده،



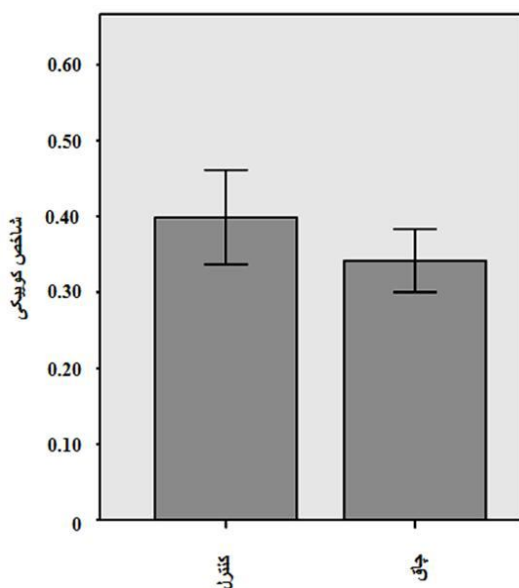
شکل 1. نمودار تغییرات وزن به گرم در دو گروه مصرف کننده رژیم پرکاری و رژیم کنترل در 12 هفته



شکل 2. دانستیتومتری نتایج وسترن بلات روی بافت‌های مختلف در مقایسه دو حیوان چاق و کنترل با آنتی بادی اولیه ی anti-P53. (یکی از 5 آزمایش در اینجا نشان داده شده است).



شکل 3. نتایج دانسیتومتری و بلات میزان P16INK4a در بافت‌های مختلف در مقایسه دو گروه چاق و کنترل. (این نتایج نمایانگر بیش از 5 بار آزمایش است).



شکل 4. مقایسه شاخص QUICKI سرم بین گروه‌های کنترل و چاق در پایان هفته 12

چاقی و خطر عوامل سندرم متابولیک و مقاومت به انسولین: نتایج مطالعه نشان داد که سطوح سرمی انسولین به طور معنی‌داری در موش‌های چاق شده توسط رژیم در مقایسه با گروه کنترل بالاتر است ($p < 0/0001$) (جدول 3). در این مطالعه، شاخص QUICKI که ارتباط بیشتری با حساسیت انسولین دارد محاسبه گردید. این شاخص در گروه موش‌های چاق شده توسط رژیم نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری پایین‌تر بود [$0/34 \pm 0/02$ در گروه پرکالری و $0/40 \pm 0/01$ برای گروه کنترل؛ ($p < 0/0001$) (شکل 4)]. سطوح گلوکز در موش‌های چاق نسبت به موش‌های کنترل بعد از 12 هفته تحت رژیم پرکالری به طور معنی‌داری بالاتر بود ($P = 0/019$). سطوح سرمی کلسترول و تری‌گلسیرید در موش‌های چاق نسبت به گروه کنترل نیز به طور معنی‌داری بالاتر بود (به ترتیب $p < 0/001$ و $p < 0/001$) (جدول 3).

جدول 3. میانگین و انحراف معیار شاخص‌های سرمی در انتهای مطالعه*

p.value	95% confidence interval	میانگین تغییرات**	گروه کنترل	رژیم پرکالری	شاخص‌های سرمی
<0/0001	1/42 – 3/25	2/34	2/15 ± 0/46	4/49 ± 1/29	انسولین (ng/ml)
<0/0001	7/17 – 21/02	14/10	46/60 ± 7/82	60/70 ± 6/88	کلسترول (mg/dl)
<0/019	5/83 – 56/56	31/2	152/40 ± 15/48	183/60 ± 34/90	گلوکز (mg/dl)
>0/05	-6/24 – 12/04	2/90	31/80 ± 10/88	34/70 ± 8/42	HDL (mg/dl)
<0/001	32/66 – 102/13	67/40	57/20 ± 24/02	124/60 ± 46/43	TG (mg/dl)
<0/0001	0/03 – 0/07	0/05	0/40 ± 0/01	0/34 ± 0/02	کوئیکی

*مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

**مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون تی مستقل

• بحث

علت‌های آن را افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در نظر گرفتند (21). هر چند که موش‌های استفاده شده در این مطالعه برخلاف مطالعه ما به صورت ژنتیکی دست‌کاری شده بودند. همچنین مشخص شده است که یکی از ویژگی‌های عمومی چاقی و پیری، سطوح پایین التهاب مزمن است (14). مطالعات نشان داده‌اند که فنوتیپ شبه پیری در بافت چربی موش‌های چاق با افزایش ترشح تعداد زیادی از سیتوکاین‌های التهابی همراه است (22، 19). بنابراین می‌توان مقاومت به انسولین ایجاد شده در موش‌های چاق این مطالعه را به واسطه القا فنوتیپ شبه پیری در بافت چربی توجیه کرد.

از سوی دیگر پیری در بافت چربی حیوانات چاق منجر به اختلال در عملکرد سلول‌های چربی، آدیپوژنز و کاهش بیان پروتئین SREBP-1 (Sterol regulatory element-binding protein 1) شده که می‌تواند منجر به لیپولیز و ترشح اسیدهای چرب آزاد گردد (23). لذا این اختلال در آدیپوژنز ممکن است علت افزایش LDL-C و تری‌گلیسرید سرمی در گروه چاق مطالعه‌ی ما نظر گرفته شود. با توجه به این اطلاعات می‌توان به این نتیجه رسید که عمده مکانیسم‌های ارائه شده برای ایجاد مقاومت به انسولین یعنی افزایش میزان اسیدهای چرب، افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و عوامل التهابی همگی می‌توانند مرتبط با یک واسطه مشترک باشند که با توجه به مطالعه حاضر و همچنین نتایج مطالعه Minamino می‌توان فرایند پیری سلول را به عنوان این واسطه مشترک معرفی نمود (17).

این مطالعه چند محدودیت داشت. اولاً عدم بررسی مسیرها و پروتئین‌های هدف بیشتر، بزرگترین محدودیت مطالعه محسوب می‌شود. در صورت فراهم بودن امکان بررسی پروتئین‌های بیشتری از قبیل AKT در مسیر پیام‌رسانی انسولین، امکان نتیجه‌گیری بهتر و دقیق‌تری فراهم می‌آید. ثانیاً عدم استفاده از تکنیک PCR جهت تعیین بیان پروتئین‌های مورد مطالعه یکی دیگر از محدودیت‌های این مطالعه به شمار می‌آید. در حالی که نقطه قوت این مطالعه، استفاده از مدل حیوانی بدون دست‌کاری ژنتیک بود که نتایج آن به راحتی قابل تعمیم به جامعه است. به طوری که با وجود عدم استفاده از چربی خوک به عنوان منبع چربی (که به اذعان اکثر مطالعات اصلی‌ترین عامل افزایش کلسترول خون و ایجاد مقاومت به انسولین است) و استفاده از چربی حیوانی با منشأ چربی

امروزه بافت چربی، تنها به عنوان یک منبع انرژی در نظر گرفته نمی‌شود بلکه مطالعات جدید نشان می‌دهند که بافت چربی در ارتباط با مکانیسم‌ها و مسیرهای درگیر در طول عمر، بیماری‌های مرتبط با سن، التهاب و اختلال در عملکرد متابولیک می‌باشد (16).

در مطالعه حاضر، جهت تعمیم نتایج مطالعه به جامعه انسانی سعی در ایجاد مدل مقاومت به انسولین بدون استفاده از دست‌کاری ژنتیک نمودیم و تأکید اصلی را بر ایجاد مقاومت به انسولین از طریق رژیم غذایی قرار دادیم که مدلی مشابه مقاومت ایجاد شده در جامعه انسانی می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر هم راستا با نتایج مطالعه Minamino و همکاران، نشان داد که پیری سلول در بافت چربی نقش مهمی را در ایجاد مقاومت به انسولین القا شده توسط چاقی ایفا می‌کند (17). به طوری که بیان بیش از حد P53 و P16INK4a در بافت چربی موش‌های چاق ممکن است مکانیسم مهمی در اختلال بافت‌های پاسخ دهنده به انسولین در نظر گرفته شود. در این مطالعه مشاهده شد که سطوح پروتئین P53 در بافت‌های موش‌های چاق نسبت به گروه کنترل بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد ضمن این که با توجه به نمودار دانسیتومتری، سطح آن در بافت چربی بیشتر از سایر بافت‌ها می‌باشد.

یکی از اهداف مطالعه حاضر اثر دریافت انرژی و چاقی بر بیان پروتئین P16INK4a بود به طوری که ما در ابتدا مطالعه، این فرضیه را داشتیم که چاقی موجب افزایش بیان P16INK4a هم در بافت چربی و هم در سایر بافت‌های محیطی می‌گردد اما به صورت غیرمنتظره‌ای در مطالعه حاضر، بافت چربی تنها بافت بیان کننده P16INK4a در موش‌های چاق بود. مطالعات زیادی نشان دادند که افزایش دریافت انرژی و افزایش میزان بافت چربی موجب افزایش استرس اکسیداتیو و نیز تخریب DNA به واسطه رادیکال‌های آزاد می‌گردد (18، 17). به عبارت دیگر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد که از مهم‌ترین عوامل القاکننده پیری در نظر گرفته می‌شود، بیان پروتئین‌های سرکوب کننده‌ی تومور P53 و سایر نشانگرهای پیری را به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد (20، 19). بنابراین افزایش رادیکال‌های آزاد تولیدی در بافت چربی موش‌های چاق از مهم‌ترین مکانیسم‌های مقاومت انسولینی مرتبط با چاقی است. نتایج مطالعه حاضر مشابه با مطالعه Onetti و همکاران بود که نشان دادند دریافت رژیم پرچربی و غربی توسط موش‌ها، موجب القا فنوتیپ پیری می‌شود که یکی از

انسولین را باعث می‌شوند. به نظر می‌رسد که فعال‌سازی p53 و P16INK4a در بافت احشایی حیوانات چاق مکانیسمی محافظتی در برابر اثر کارسینوژنیک هایپرانسولینمی مزمن در چاقی باشد. نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که در بهبودی دیابت نوع 2 باید به دقت به هر دو اثر ضد سرطانی و ضد لیپوژنیک p53 و P16INK4a توجه شود.

سپاسگزاری: هزینه اجرای این طرح توسط انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور تأمین شده‌است. بدین وسیله از مسئولان انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور قدردانی می‌گردد.

• References

- Campisi J, di Fagagna FdA. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8(9):729-40.
- Collado M, Gil J, Efeyan A, Guerra C, Schuhmacher AJ, Barradas M, et al. Tumour biology: senescence in premalignant tumours. *Nature.* 2005;436(7051):642-642.
- Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cellular senescence in cancer and aging. *Cell.* 2007;130(2):223-33.
- Levine AJ, Oren M. The first 30 years of p53: growing ever more complex. *Nature Reviews Cancer.* 2009;9(10):749-58.
- Adams PD. Healing and hurting: molecular mechanisms, functions, and pathologies of cellular senescence. *Molecular cell.* 2009;36(1):2-14.
- Ben-Porath I, Weinberg RA. When cells get stressed: an integrative view of cellular senescence. *Journal of Clinical Investigation.* 2004;113(1):8-13.
- Campisi J. Cancer and ageing: rival demons? *Nature Reviews Cancer.* 2003;3(5):339-49.
- Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International journal of obesity.* 2006;30(3):400-18.
- Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup P, Walker M. Overweight and obesity and the burden of disease and disability in elderly men. *International journal of obesity.* 2004;28(11):1374-82.
- Du Plessis SS, Cabler S, McAlister DA, Sabanegh E, Agarwal A. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. *Nature Reviews Urology.* 2010;7(3):153-61.
- Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovascular Diabetology.* 2002;1(1):1-1.
- Vincent H, Powers S, Dirks A, Scarpace P. Mechanism for obesity-induced increase in myocardial lipid peroxidation. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity.* 2001;25(3):378-88.
- Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *Jama.* 2002;288(16):2008-14.
- Tchkonina T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scoble H, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging cell.* 2010;9(5):667-84.
- Homayounfar R, Ehrampoush E, Koohpaye SA, Meshkibaf MH, Taghizade S, Almasi A, et al. Diet-induced metabolic syndrome model in rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences.* 2013;2(4):288-96.
- Arai Y, Takayama M, Abe Y, Hirose N. Adipokines and aging. *Journal of atherosclerosis and thrombosis.* 2010;18(7):545-50.
- Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nature medicine.* 2009;15(9):1082-7.
- Facchini FS, Hua NW, Reaven GM, Stoohs RA. Hyperinsulinemia: the missing link among oxidative stress and age-related diseases? *Free Radical Biology and Medicine.* 2000;29(12):1302-6.
- Monickaraj F, Aravind S, Nandhini P, Prabu P, Sathishkumar C, Mohan V, et al. Accelerated fat cell aging links oxidative stress and insulin resistance in adipocytes. *Journal of biosciences.* 2013;38(1):113-22.
- Ahima RS. Connecting obesity, aging and diabetes. *Nature medicine.* 2009;15(9):996-7.
- Onetti Y, Jiménez-Altayó F, Heras M, Vila E, Dantas AP. Western-type diet induces senescence, modifies vascular function in non-senescence mice and triggers adaptive mechanisms in senescent ones. *Experimental gerontology.* 2013;48(12):1410-9.
- Davalos AR, Coppe J-P, Campisi J, Desprez P-Y. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer and Metastasis Reviews.* 2010;29(2):273-83.
- Howcroft TK, Campisi J, Louis GB, Smith MT, Wise B, Wyss-Coray T, et al. The role of inflammation in age-related disease. *Aging (Albany NY).* 2013;5(1):84-93.

نشخوارکنندگان، افزایش محسوس در سطح گلوکز، انسولین، کلسترول و تری‌گلیسرید و همچنین مقاومت به انسولین را مشاهده نمودیم.

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سلول‌های پیر با ایجاد تغییرات بافتی، محیط مستعدی را جهت پیشرفت مقاومت به انسولین و بیماری‌های مرتبط با سن از قبیل سرطان مهیا می‌کند. در شرایط افزایش دریافت انرژی، p53 و P16INK4a برای جلوگیری از تجمع بیش از حد چربی مخصوصاً در بافت‌های احشایی فعال می‌شوند؛ در مجموع، مهار p53 و P16INK4a جهت بهبود مقاومت به انسولین و دیابت را می‌توان به شمشیری دولبه تشبیه کرد که دو سوی آن خطر ایجاد سرطان یا خطر ایجاد مقاومت به

Effect of Cellular Senescence on Insulin Resistance in Diet-induced Obese Wistar Rats

Cheraghpour M¹, Shahbazi R², Homayounfar R³, Imani H⁴, Zand H^{*5}

- 1- PhD student of Nutritional Sciences, Faculty of Paramedicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
- 2- MSc in Nutrition Science, Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 3- PhD in Nutrition Science, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4- PhD Student in Nutrition Science, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- *Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Basic Science, National Nutrition & Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, E-mail: hamidzand@gmail.com

Received 30 Aug, 2014

Accepted 7 Dec, 2014

Background and Objectives: Cellular senescence has been known as a tumor suppressor mechanism; however, some evidence shows that cellular senescence is an inducer factor for metabolic disorders, such as insulin resistance and diabetes. In this study, the effect of senescence was assayed in the peripheral tissues of diet-induced obese rats.

Materials and Methods: 30 male 5-week old wistar rats were randomly assigned into high-calorie diet through 416 kcal/100 g (researcher made) or control diet for 12 weeks. Weight changes, lipid profile, glucose, insulin levels and QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) index were measured at the end of the 12th week. Also the tissue samples were isolated, and immune-blotting was performed to identify proteins P16INK4a and P53 (cell senescence markers).

Results: P53 levels in the fat tissue and other peripheral tissues of obese rats were significantly higher compared to the control group. P16INK4a expression was increased only in fat tissue but protein was not expressed in other tissues. In the obese rats, the serum levels of glucose ($183/60 \pm 34/90$ vs. $152/40 \pm 15/48$ $P=0.019$), cholesterol ($60/70 \pm 6/88$ vs. $46/60 \pm 7/82$ $P<0.001$) and triglyceride ($124/60 \pm 46/43$ vs. $57/20 \pm 24/02$ $P<0.001$) were more than in the control group but The QUICKI index was significantly lower in the obese rats compared to the control group ($p=0.01$).

Conclusion: Our results suggest that cell senescence in fat tissue can be predisposed to the development of insulin resistance and age-related diseases by generating some alternation in the fat tissue.

Keywords: Cellular senescence, Diet-induced obesity, Insulin resistance