

## The effects of endurance training and whey protein supplementation on inflammation and insulin resistance in the rats fed with high-fat diet

Ahmadi-Kani Golzar F., PhD Student<sup>1</sup>, Fathi R., PhD<sup>2</sup>, Mahjoub S., PhD<sup>3</sup>

1. PhD student of Exercise Physiology, Exercise Biochemistry Division, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran.

2. Associate Professor of Exercise Physiology, Exercise Biochemistry Division, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran (Corresponding Author), Tel:+98-11-35302201, r.fathi@umz.ac.ir

3. Professor in Clinical Biochemistry, Cellular and Molecular Biology Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Whey protein has been known to be an excellent prophylactic agent against obesity. The aim of this study was to assess the effect of endurance training and whey protein supplementation on TNF- $\alpha$  levels and insulin resistance in the rats fed with high-fat diet.

**Materials and Methods:** In the first phase of the study, 40 male Wistar rats were randomly assigned to two groups: one group was fed with standard chow (n = 8) and the other group with high fat diet (HFD) (n = 32). After 9 weeks, in the second phase of our study, HFD rats were randomly assigned to 4 groups: (1) control, (2) whey supplementation, (3) endurance training and (4) endurance training + whey supplementation groups. Each group consisted of 8 rats. Endurance training protocol was performed for 10 weeks (5days/wk, 1hr/day, 21m/min, and 15% grade). Data were analyzed by Mann-Whitney U test (to compare normal control group and control high-fat diet group) and two way ANOVA.

**Results:** Body weight (P=0.009), adipose tissue (P=0.002), insulin resistance (P=0.045) and TNF- $\alpha$  level (P=0.022) were significantly higher in HFD sedentary rats, compared to those in the rats in normal diet control group. Adipose tissue weight (P=0.02), blood glucose (P=0.006), insulin (P=0.0003), insulin resistance index (P=0.00021), and TNF- $\alpha$  level in adipose tissue (P=0.039) in whey supplemented groups were lower than those in the non-supplemented groups. Also, body weight (P=0.017), adipose tissue weight (P=0.001), adipose tissue TNF- $\alpha$  level (P=0.001) in the training groups were lower than those in the control group.

**Conclusion:** Whey protein supplementation led to improvement of high-fat diet-induced insulin resistance and decreased inflammation. Endurance training also reduced inflammation in adipose tissue.

**Keywords:** Whey protein, Inflammation, Insulin resistance, High-fat diet.

**Received:** Jan 24, 2017      **Accepted:** Apr 30, 2017

## تأثیر تمرین استقامتی و مکمل پروتئین whey بر التهاب و مقاومت انسولینی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با غذای پرچرب

فرهاد احمدی کانی گلزار<sup>۱</sup>، رزینا فتحی<sup>۲</sup>، سلیمان محبوب<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، شاخه بیوشیمی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران.

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، شاخه بیوشیمی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران (مؤلف مسوول)، تلفن ثابت: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۲۰۱، r.fathi@umz.ac.ir

۳. استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران.

### چکیده

**زمینه و هدف:** پروتئین whey به‌عنوان یک پیشگیری کننده بسیار عالی در برابر چاقی شناخته شده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مکمل پروتئین whey بر سطوح TNF- $\alpha$  و مقاومت انسولینی در رت‌های تغذیه شده با غذای پرچرب می باشد.

**روش بررسی:** ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار در فاز اول تحقیق به دو گروه تقسیم شدند: ۱- رژیم غذایی استاندارد (۸ سر)، ۲- رژیم غذایی پرچرب (۳۲ سر). پس از ۹ هفته، در فاز دوم موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب به ۴ گروه (۸ سر در هر گروه) تقسیم شدند: ۱- کنترل، ۲- مکمل whey، ۳- تمرین استقامتی، ۴- مکمل whey + تمرین استقامتی. تمرین استقامتی به مدت ۱۰ هفته با سرعت ۲۱ متر در دقیقه با شیب ۱۵ درصد برای ۶۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون من ویتنی (مقایسه گروه کنترل نرمال و کنترل غذای پرچرب) و آنالیز واریانس دوطرفه تجزیه تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** در گروه کنترل غذای پرچرب مقادیر وزن بدن ( $P=0/009$ ) و بافت چربی ( $P=0/002$ )، مقاومت به انسولین ( $P=0/045$ )، TNF- $\alpha$  ( $P=0/022$ ) نسبت به گروه غذای استاندارد بالاتر بود. وزن بافت چربی ( $P=0/02$ )، گلوکز ( $P=0/006$ )، انسولین ( $P=0/003$ )، شاخص مقاومت به انسولین ( $P=0/0021$ ) و سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی ( $P=0/039$ ) در گروه‌های مصرف کننده whey نسبت به گروه‌های بدون مصرف مکمل کمتر بود. همچنین وزن بدن ( $P=0/017$ )، وزن بافت چربی ( $P=0/001$ ) و سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی ( $P=0/001$ ) در گروه‌های تمرین کرده نسبت به گروه‌های کنترل کمتر بود. **نتیجه‌گیری:** مصرف مکمل whey منجر به بهبود مقاومت انسولینی ناشی از غذای پرچرب و کاهش التهاب گردید. همچنین تمرین استقامتی التهاب بافت چربی را کاهش داد.

**کلید واژه‌ها:** پروتئین whey، التهاب، مقاومت به انسولین، غذای پرچرب

وصول مقاله: ۹۵/۱۱/۵ اصلاحیه نهایی: ۹۶/۱/۳۰ پذیرش: ۹۶/۲/۱۰

## مقدمه

چاقی به یک اپیدمی در سراسر جهان تبدیل شده است و منجر به افزایش وقوع بیماری‌های مرتبط با چاقی، از جمله دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود (۱). مقاومت به انسولین از ویژگی‌های مشخص چاقی و دیابت نوع ۲ است. مطالعات نشان داده‌اند که التهاب نقش مهمی در شروع و توسعه مقاومت به انسولین دارد که مسئول توسعه چاقی و دیابت نوع ۲ می‌باشد (۱ و ۲). مطالعات مدل حیوانی تفسیرهای علمی مهمی را ارائه می‌کند که چگونه غذاها و اجزای مواد غذایی ممکن است افزایش وزن و چاقی را تحت تأثیر قرار دهد (۳). موش‌ها، مانند انسان، وقتی رژیم غذایی پرچرب مصرف کنند دچار افزایش وزن بدن و چاقی می‌شوند (۴). حیواناتی که برای مدت‌زمان طولانی با غذای پرچرب تغذیه شدند، افزایش التهاب بافت چربی را نشان دادند که با نفوذ ماکروفاژها و آزادسازی آدیپوکاین‌ها مشخص می‌شود (۵). چنین التهابی در بافت چربی با مقاومت انسولینی ارتباط دارد (۶).

به‌منظور طراحی استراتژی‌هایی برای کاهش عوامل خطر مرتبط با چاقی، عوامل مهمی که ممکن است از توسعه چاقی جلوگیری کنند، باید شناسایی شوند (۷). چند راه‌حل دارویی برای التهاب ناشی از بافت چربی وجود دارد. تیازولیدین‌دیون‌ها<sup>۱</sup> با هدف قرار دادن بافت چربی و التهاب سیستمیک اگرچه باعث بهبود حساسیت به انسولین می‌شوند، اما چندین عوارض جانبی نامطلوب از جمله افزایش وزن دارند؛ بنابراین، تعیین مداخلات رفتاری که موجب کاهش التهاب بافت چربی می‌گردد اولویت بیشتری برای سلامت عمومی دارد (۶). همچنین نگرانی‌ها در مورد اثرات سمی مداخله دارویی ما را ترغیب به بررسی استراتژی‌های بالقوه مداخله در رژیم غذایی و ورزش نمود. اگرچه تغییر در شیوه زندگی مانند کاهش انرژی و دریافت چربی و ورزش منظم همیشه توصیه می‌شود (۴)، شواهد در

حال رشد ارتباط معکوس بین دریافت بالای محصولات لبنی و ابتلا به دیابت نوع ۲، چاقی و بیماری‌های مرتبط با چاقی در مطالعات انسانی و حیوانی را نشان می‌دهد (۸). شیر حاوی دو منبع اصلی پروتئین، کازئین (۸۰٪) و آب‌پنیر (whey) (۲۰٪) است. پروتئین whey محبوب‌ترین مکمل پروتئین فروخته‌شده در قالب پودر است. پروتئین whey حاوی فاکتورهای بیواکتیو و آنزیم‌ها می‌باشد. گزارش شده است اجزای بیولوژیکی whey و پودر ایزوله آن فواید آنتی‌اکسیدانی، تنظیم متابولیسم چربی، ضد خستگی و خواص ضد دیابتی دارد (۹-۱۱).

پروتئین whey به دلیل ارزش بیولوژیکی بالا به‌واسطه پپتیدهای زیستی فعال آن به‌عنوان یک پیشگیری‌کننده بسیار عالی در برابر چاقی شناخته شده است (۱۲). تعداد فزاینده‌ای از مطالعات اثرات سودمند مصرف پروتئین whey در افراد چاق، بیماران دیابتی نوع ۲ و رت‌های مقاوم در برابر انسولین را از طریق کاهش وزن، کاهش توده چربی، افزایش توده بدون چربی افزایش سیری و تنظیم حساسیت به انسولین نشان دادند (۱۳ و ۷). همچنین اثرات مفید پروتئین whey را بر میزان متابولیسم پایه، افزایش متابولیسم چربی و مقاومت انسولینی در موش‌های چاق ناشی از غذای پرچرب نشان داده شده است (۷ و ۴). پروتئین whey همچنین ممکن است خواص ضدالتهابی داشته باشد. نتایج تحقیقات اثرات ضدالتهابی پروتئین whey را در سالمندان مبتلا به سکنه مغزی ایسکمیک حاد (۱۴)، در موش‌ها با سرکوب التهاب کبد (۱۵) و در بیماری التهابی مزمن انسدادی ریه<sup>۲</sup> (COPD) با کاهش IL-6، IL-8، TNF- $\alpha$  در این بیماران (۱۶) نشان داده اند. این یافته‌های دلگرم‌کننده می‌تواند در سایر بیماری‌های ناشی از التهاب مورد مطالعه قرار گیرند.

از طرف دیگر، فعالیت بدنی به‌عنوان یک عامل کلیدی دیگر ممکن است خطر ابتلا به چاقی را کاهش دهد. ورزش

<sup>2</sup> Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)

<sup>1</sup> Thiazolidinediones

حرارت کنترل شده ۲۴-۲۶ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته (روشنایی از ساعت ۵:۰۰ تا ساعت ۱۷:۰۰) نگهداری شدند. تمام آزمایشات توسط کمیته اخلاق در دانشگاه مازندران مورد تایید قرار گرفت. پس از سپری شدن یک هفته به منظور سازش با محیط جدید، در فاز اول رت‌ها به دو گروه تقسیم شدند: ۱- رژیم غذایی استاندارد (۸ سر موش)، ۲- رژیم غذایی پرچرب (۳۲ سر موش) و به مدت ۹ هفته با رژیم غذایی پرچرب (۶۲/۱ کیلوکالری انرژی از چربی) و یا رژیم غذایی استاندارد (۱۰/۴ کیلوکالری انرژی از چربی) تغذیه شدند. سپس در فاز دوم، موش‌های گروه تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به ۴ گروه (۸ سر در هر گروه) تقسیم شدند: ۱- کنترل، ۲- مکمل whey، ۳- تمرین استقامتی، ۴- مکمل whey + تمرین استقامتی به مدت ۱۰ هفته. گروه کنترل تغذیه شده با غذای استاندارد نیز تا پایان ۱۹ هفته تحت رژیم غذایی استاندارد قرار گرفتند.

روش تهیه رژیم غذایی پرچرب: غذای استاندارد به صورت پلت (غذای موش) و پودر از شرکت تولید کننده خوراک دام به‌پرور خریداری شد. غذای پرچرب (۶۰ درصد کیلوکالری از چربی) بر اساس رژیم غذایی D12492، تهیه شد (۲۱). غذای پرچرب در هر کیلوگرم حاوی ترکیبی از ۶۷۲ گرم پودر غذای استاندارد، ۶۸ گرم ساکارز، ۳/۱ گرم مخلوط ویتامین، ۳/۱ گرم مخلوط مینرال و ۲۴۰ گرم روغن ذوب شده دنبه گوسفند (به جای چربی خوک<sup>۴</sup> جایگزین شد) بود. پس از مخلوط کردن پودر غذای استاندارد با ساکارز، مخلوط ویتامین و مینرال در روغن حل شد و به مواد خشک مخلوط شده اضافه شد. سپس مقداری آب ولرم به آن اضافه شد تا به صورت خمیری تبدیل شود و با استفاده از دستگاه پلت ساز دستی به صورت پلت تبدیل و خشک گردید. رژیم ساخته شده در کیسه های یک کیلوگرمی تقسیم شدند و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰-

متوسط با افزایش هزینه انرژی می‌تواند وزن بدن، مقاومت انسولینی، اختلالات چربی خون و التهاب را در افراد چاق کاهش دهد و منجر به افزایش حساسیت انسولینی و کنترل قند خون گردد (۱۷). از سوی دیگر، شواهد نشان می‌دهد که تمرین ورزشی دارای اثرات ضدالتهابی با کمترین عوارض جانبی در عضلات اسکلتی، بافت چربی و احتمالاً کبد می‌باشد (۱۸). کاهش التهاب بافت چربی در مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد که ورزش ممکن است یک روش درمانی مفید باشد (۱۹). اگرچه مکانیسم‌های مسئول این اثر شناخته شده نیست (۱۷ و ۲۰). در یک مطالعه، Bradley و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که ورزش اختیاری بیان سایتوکاین‌های التهابی TNF- $\alpha$  و پروتئین جذب کننده شیمیایی مونوسیت (MCP-1) بافت چربی در موش‌های چاق تغذیه شده با غذای پرچرب را کاهش می‌دهد (۲۰).

اگرچه مطالعات معدودی اثر مکمل whey را بر شاخص‌های التهابی در کوتاه مدت بررسی کرده‌اند، اما اثر مکمل whey بر التهاب بافت چربی و مکانیسم‌های اثر ضدالتهابی آن به‌خوبی روشن نشده است. علاوه بر این در ارتباط با تأثیر ترکیب تمرین ورزشی و مکمل پروتئین whey بر التهاب بافت چربی و مقاومت انسولینی مطالعه ای انجام نشده است؛ بنابراین هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی با شدت متوسط و مکمل پروتئین whey ایزولات بر سطوح پروتئین التهابی TNF- $\alpha$  در بافت چربی و خون محیطی و مقاومت انسولینی در رت‌های با غذای پرچرب می‌باشد.

### روش بررسی

حیوانات و طرح تحقیق: ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار با سن چهار هفته با میانگین وزن اولیه ۱۷/۱  $\pm$  ۱۴۵ از انستیتو پاستور خریداری شد و به تعداد ۴ سر در هر قفس پلی‌اتیلنی مخصوص رت با دسترسی آزادانه آب و غذا در درجه

<sup>4</sup> Lard

<sup>3</sup> Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1)

میزان ۲-۳ دقیقه در روز و ۱-۲ متر بر دقیقه در هفته تا رسیدن به سرعت ۲۱ متر در دقیقه با شیب ۱۵ درصد برای ۶۰ دقیقه در روز و ۵ روز در هفته افزایش یافت که در هفته چهارم به این سرعت رسیدند و تا پایان دوره تمرین این شدت ثابت ماند. این سرعت با شدت ۶۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی برابر می باشد (۲۳).

روش بافت برداری و اندازه گیری متغیرها: ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ۸ ساعت ناشتایی رت‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس با خارج کردن قلب قربانی شدند. بافت چربی اپیدیدیمال (احشایی) بلافاصله برداشته شد و وزن‌کشی گردید و بلافاصله در ازت مایع (دمای ۱۸۰- درجه) منجمد شده و در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. خونگیری از قلب موش‌ها انجام شد (۲۴). مقدار گلوکز خون به روش گلوکز اکسیداز اندازه گیری شد. انسولین سرمی با کیت تجاری (شرکت مرکودیا<sup>۵</sup>، کشور سوئد، Cat 10-1250-01 Number: TNF- $\alpha$  و نیز با کیت تجاری (ساخت شرکت دیاکلون<sup>۶</sup> کشور فرانسه، Cat Number: 865.000.096) به روش الیزا اندازه گیری شد. شاخص مقاومت انسولینی (HOMA-IR) از حاصل ضرب مقدار گلوکز (میلی مول در لیتر) در انسولین ناشتا (میلی واحد بین-المللی در لیتر) تقسیم بر ۲۲/۵ محاسبه شد (۶).

روش آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه گروه کنترل تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد و گروه کنترل تغذیه شده با غذای پرچرب از آزمون ناپارامتریک من ویتنی<sup>۷</sup> استفاده شد. برای مقایسه گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب از آنالیز واریانس دوطرفه برای مقایسه

نگهداری شدند. غذای پرچرب هر هفته تهیه می شد. مقدار پروتئین رژیم های غذایی به روش کجلدال، میزان کربوهیدرات با استفاده از هیدرولیز اسیدی و به روش فهلینگ و درصد چربی تام رژیم ها به روش استخراج با حلال (سوکسله) اندازه گیری شد. نتایج آنالیز رژیم های غذایی نشان داد که غذای استاندارد شامل ۱/۲۳ درصد پروتئین، ۳/۴ درصد چربی و ۶۰ درصد کربوهیدرات بود. غذای پرچرب دارای ۲۰ درصد پروتئین، ۴/۳۱ (۱/۶۲ کیلو کالری) چربی و ۷/۳۵ درصد کربوهیدرات بود. (۲۱ و ۲۲).

مکمل پروتئین whey: به موش های گروه های دریافت کننده مکمل ۳۰ دقیقه بعد از ورزش پروتئین whey محصول شرکت اوپتیموم (GOLD STANDARD WHEY; Optimum Nutrition, Inc., USA) به صورت تغذیه دهانی (گاواژ) داده شد. مکمل whey در آب مقطر حل شد. مقدار توصیه شده استفاده از whey برای انسان حدود ۲۰ گرم در هر وعده مصرف با یک رژیم غذایی طبیعی و برنامه ورزشی است (۹). دوز whey رت (۲/۰۵ g.kg) مورداستفاده در این مطالعه از یک دوز معادل انسان بر اساس سطح بدن با استفاده از فرمول برآورد شد. با فرض وزن انسان ۶۰ کیلوگرمی، دوز معادل انسانی ۲۰ گرم برای یک فرد ۶۰ کیلوگرمی (۰/۳۳۳ گرم بر کیلوگرم وزن بدن) =  $0.333 \times 60 / 17 = 6 / 17$  = دوز رت ۲/۰۵ گرم بر کیلوگرم؛ ضریب تبدیل ۶/۱۷ برای محاسبه تفاوت در سطح رویه بدن بین رت و انسان استفاده شد (۹).

پروتکل تمرینی: تمرین ورزشی در اولین ساعات چرخه تاریکی (چرخه فعالیت موش‌ها) انجام شد. تمرین روی یک نوارگردان موتوردار انجام شد. به منظور آشناسازی یک هفته قبل از اجرای پروتکل تمرینی حیوانات به مدت سه جلسه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه برای ۱۰ دقیقه بر روی نوارگردان دویندند. پروتکل تمرین استقامتی با سرعت اولیه ۱۵ متر در دقیقه با شیب ۱۵ درصد (۸ درجه) برای ۵ دقیقه در روز اجرا شد و مدت و سرعت به صورت تدریجی به

<sup>5</sup> Mercodia

<sup>6</sup> Diaclone

<sup>7</sup> Mann-Whitney U test

گروه های تمرین و کنترل، مکمل و بدون مکمل استفاده شد. معنی داری در سطح آلفا ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

گروه های کنترل غذای نرمال و کنترل غذای پرچرب برای بررسی اثر غذای پرچرب، ترکیب بدن، گلوکز، انسولین، مقاومت انسولینی و سطوح در گردش و بافتی TNF- $\alpha$  در پایان ۱۹ هفته مقایسه شدند. در گروه کنترل غذای پرچرب مقادیر وزن بدن ( $P=0/009$ )، وزن کل ( $P=0/002$ ) و نسبی ( $P=0/002$ ) بافت چربی اپیدیدیم، گلوکز ( $P=0/027$ )، شاخص مقاومت به انسولین ( $P=0/045$ )، TNF- $\alpha$  بافت چربی ( $P=0/022$ ) و سطوح در گردش TNF- $\alpha$  ( $P=0/006$ ) به صورت معنی داری نسبت به گروه تغذیه شده با غذای استاندارد بالاتر بود (جدول ۱). همچنین نتایج در گروه های تغذیه شده با غذای پرچرب نشان داد که وزن کل ( $P=0/02$ ) و نسبی بافت چربی

اپیدیدیم ( $P=0/011$ )، گلوکز ( $P=0/006$ )، انسولین ( $P=0/003$ )، شاخص مقاومت به انسولین ( $P=0/0021$ ) و سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی ( $P=0/039$ ) در گروه های مصرف کننده whey نسبت به گروه های بدون مصرف مکمل کمتر بود اما تفاوتی در وزن بدن ( $P=0/241$ ) و سطوح در گردش TNF- $\alpha$  ( $P=0/970$ ) بین گروه های مصرف کننده مکمل و گروه های بدون مکمل مشاهده نشد. وزن بدن ( $P=0/017$ )، وزن کل ( $P=0/001$ ) و نسبی ( $P=0/001$ ) بافت چربی اپیدیدیم و سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی ( $P=0/001$ ) در گروه های تمرین کرده نسبت به گروه های کنترل کمتر بود اما بین گروه های تمرین کرده و تمرین نکرده تفاوتی در گلوکز ( $P=0/442$ )، انسولین ( $P=0/725$ )، شاخص مقاومت به انسولین ( $P=0/974$ ) و سطوح TNF- $\alpha$  سیستمیک ( $P=0/663$ ) مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۱. اثر غذای پرچرب بر وزن بدن، وزن بافت چربی، مقاومت انسولینی و سطوح TNF- $\alpha$

مقدار p	درصد تفاوت	کنترل غذای پرچرب (n=8)	کنترل غذای نرمال (n=8)	
0/009	۲۳	* $47/8 \pm 65/37$	$38/6 \pm 50/05$	وزن بدن (گرم)
0/002	۱۵۳	* $16/68 \pm 6/38$	$6/59 \pm 2/76$	وزن بافت چربی اپیدیدیم (گرم)
0/002	۱۰۰	* $3/39 \pm 0/90$	$1/69 \pm 0/68$	وزن نسبی بافت چربی اپیدیدیم (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن)
0/027	۴۹	* $10/51 \pm 3/13$	$7/02 \pm 2/1$	گلوکز (میلی مول بر لیتر)
0/144	۹۲	$23/83 \pm 10/58$	$12/39 \pm 11/34$	انسولین (میلی واحد بین المللی بر لیتر)
0/045	۱۸۶	* $10/27 \pm 4/85$	$3/58 \pm 3/61$	HOMA-IR
0/022	۷۰	* $6/12 \pm 1/50$	$2/6 \pm 1/98$	TNF- $\alpha$ بافت چربی (pg/mg <sub>tissue</sub> )
0/006	۴۷	* $17/07 \pm 3/89$	$11/6 \pm 3/22$	TNF- $\alpha$ سرم (pg/ml)

مقادیر بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. \* نشانه تفاوت معنی دار ( $P < 0/05$ ) نسبت به غذای نرمال

جدول ۲. اثر تمرین استقامتی و مکمل پروتئین whey بر ترکیب بدن، گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و TNF-α در موش های تغذیه شده با غذای

مقدار P آنوای دوطرفه		تمرین کرده		کنترل		
اثر تعاملی	اثر whey	اثر تمرین	تمرین + غذای پرچرب + whey (n=۸)	تمرین + غذای پرچرب (n=۸)	whey + غذای پرچرب (n=۸)	غذای پرچرب (n=۸)
						وزن بدن (گرم)
۰/۸۹۰	۰/۲۴۱	*۰/۰۱۷	۴۰۸/۳ ± ۳۶/۳	۴۲۸/۳ ± ۴۷/۲	۴۵۳/۶ ± ۵۹/۸	۴۷۸/۸ ± ۶۵/۳
						وزن بافت چربی اپیدیدیم (گرم)
۰/۳۱۴	\$۰/۰۲۰	*۰/۰۰۱	۷/۲۷ ± ۱/۹۸	۹/۵۰ ± ۳/۲۱	۱۱/۳۰ ± ۴/۵۲	۱۶/۶۸ ± ۶/۳۸
						وزن نسبی بافت چربی اپیدیدیم (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن)
۰/۳۲۳	\$۰/۰۱۱	*۰/۰۰۱	۱/۷۶ ± ۰/۳۹	۲/۲۱ ± ۰/۷۲	۲/۴۳ ± ۰/۷۶	۳/۳۹ ± ۰/۹۰
						گلوکز (میلی مول بر لیتر)
۰/۹۲۱	\$۰/۰۰۶	۰/۴۴۲	۷/۴۵ ± ۱/۸۶	۹/۹۶ ± ۱/۴۹	۸/۱۷ ± ۲/۰۸	۱۰/۵۱ ± ۳/۱۳
						انسولین (میلی واحد بین المللی بر لیتر)
۰/۲۵۹	\$۰/۰۰۰۳	۰/۷۲۵	۹/۱۴ ± ۷/۱۶	۲۶/۴۱ ± ۹/۴۹	۱۴/۰۱ ± ۵/۸۷	۲۳/۸۳ ± ۱۰/۵۸
						HOMA-IR
۰/۲۰۱	\$۰/۰۰۰۲۱	۰/۹۷۴	۳/۳۵ ± ۳/۰۱	۱۲/۴۲ ± ۵/۳۷	۵/۴۰ ± ۲/۸۸	۱۰/۲۷ ± ۴/۸۵
						TNF-α بافت چربی (pg/mg tissue)
۰/۱۵۶	\$۰/۰۳۹	*۰/۰۰۱	۲/۷۸ ± ۱/۶۰	۳/۱۹ ± ۱/۹۱	۴/۰۱ ± ۱/۳۶	۶/۱۲ ± ۱/۵۰
						سرم TNF-α (pg/ml)
۰/۱۱۲	۰/۹۷۰	۰/۶۶۳	۱۸/۷۰ ± ۵/۹۸	۲۵/۵۳ ± ۱۲/۵۱	۲۳/۵۹ ± ۱۶/۵۲	۱۷/۰۷ ± ۳/۸۹

\* نشانه معنی داری اثر تمرین (P < ۰/۰۵). \$ نشانه معنی داری اثر مکمل whey

## بحث

تحریک تولید گلوکز غیرنرمال، و توسعه مقاومت به انسولین و یک وضعیت متابولیک پیش التهابی خفیف می گردد (۲۰). در مطالعه حاضر، یک رژیم غذایی با چربی بالا باعث افزایش وزن نسبی بافت چربی اپیدیدیم شد. مطالعات دیگر نتایج مشابه را نشان داده اند (۲۶ و ۲۵). این مطالعه همسو با مطالعات قبلی نشان داد که سبک زندگی غیر فعال و افزایش چربی رژیم غذایی می تواند منجر به افزایش چاقی، التهاب و مقاومت انسولینی گردد (۲۵ و ۲۰).

عدم فعالیت بدنی با چندین بیماری مزمن متابولیک و التهابی مانند دیابت نوع ۲ همراه است (۲۷). در مقابل تمرین ورزشی با شدت متوسط اثرات ضد التهابی و، بنابراین، محافظت در برابر بیماری های التهابی مزمن را نشان داده است (۲۷). بر اساس نتایج تحقیق حاضر مشخص شد وزن بدن، وزن کل و نسبی بافت چربی اپیدیدیم و سطوح TNF-α بافت چربی در گروه های تمرین کرده نسبت به

یافته های تحقیق حاضر نشان داد که در گروه کنترل غذای پرچرب مقادیر وزن بدن، وزن کل و نسبی بافت چربی اپیدیدیم، گلوکز، شاخص مقاومت به انسولین، TNF-α بافت چربی و سطوح در گردش TNF-α به صورت معنی داری نسبت به گروه تغذیه شده با غذای استاندارد بالاتر بود. افزایش وزن و چاقی می تواند پیامدهای منفی برای سلامتی داشته باشد که با افزایش بافت چربی احشایی و اختلال تنظیم گلوکز و افزایش التهاب سیستمیک همراه است (۲۵). افزایش چربی احشایی با اختلال حساسیت به انسولین محیطی و مقاومت به انسولین کبدی و بافت چربی همراه است (۲۵). مطالعات پیشین نشان داده اند رژیم های غذایی مختلف با چربی بالا منجر به القاء تعادل مثبت انرژی و چاقی در موش ها می شود (۲۶ و ۲۵ و ۲۰). به طور خاص نشان داده اند که این رژیم غذایی باعث اختلال متابولیسم گلوکز،

ماکروفاژ و همچنین کاهش بیان هر دوی نشانگرهای قطبش ماکروفاژهای M1 و M2 باشد (۲۵). Bradley و همکاران نشان دادند که ورزش اختیاری در موش های چاق شده با رژیم غذایی، منجر به بهبود چاقی، نرمال سازی حساسیت به انسولین مستقل از تغییرات سطوح آدیپونکتین و کاهش التهاب بافت چربی با وجود ادامه مصرف رژیم غذایی پرچرب می شود (۲۰). این نتایج با مطالعه حاضر تائید شد که بیان سیتوکین التهابی TNF- $\alpha$  در بافت چربی اپیدیدیم با تمرین استقامتی کاهش می یابد.

در ارتباط با تاثیر تمرینات ورزشی بر شاخص مقاومت انسولینی در مطالعه Linden و همکاران (۲۰۱۴)، افزایش در انسولین ناشتا و HOMA حیوانات کم تحرک تغذیه شده با غذای پرچرب مشاهده شد که با تمرین تردمیل متوسط پیشگیری شد (۲۵) که با نتایج تحقیق حاضر همسو نیست. نتایج مطالعات بالینی اخیر نشان داده است که تمرینات ورزشی ممکن است با عدم پاسخ و یا حتی پاسخ معکوس برای هموستاز گلوکز مواجه شوند (۳۱). مکانیسم اساسی به طور کامل شناخته نشده است، اما به نظر می رسد که رژیم غذایی پرچرب مانع از اثر تمرین ورزش بر متابولیسم گلوکز و چربی می شود (۲۹).

همچنین یافته های مطالعه حاضر نشان داد که مکمل یاری پروتئین whey منجر به کاهش وزن بافت چربی، سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی، سطوح گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین می گردد. این نتایج نشان می دهد که مکمل whey احتمالاً بتواند از افزایش وزن و چاقی و بروز دیابت که در اثر افزایش چربی دریافتی ایجاد می شود، پیشگیری کند. با توجه به اثرات جانبی و سمی روش های ژنتیکی و دارویی مسیره های ویژه درگیر در بیماری های متابولیک، مداخله با اصلاح رژیم غذایی می تواند مسیره های چندگانه را با نگرانی کمتر نسبت به اثرات سمی دارویی مورد هدف قرار بدهد. رژیم غذایی با پروتئین بالا سیری را

گروه های کنترل کمتر می باشد اما بین گروه های تمرین کرده و تمرین نکرده تفاوتی در شاخص مقاومت انسولینی و سطوح TNF- $\alpha$  سیستمیک مشاهده نشد. با توجه به اینکه وزن بدن و وزن بافت چربی در موش های گروه های تمرینی کاهش یافت، احتمالاً کاهش سطوح TNF- $\alpha$  در تحقیق حاضر پس از دوره تمرینی به دلیل بهبود ترکیب بدنی می باشد. یافته های ما با مطالعات دیگر که کاهش قابل توجهی در وزن بافت چربی با تمرین ورزشی تداومی در موش های تغذیه شده با یک رژیم غذایی با چربی بالا مشاهده کردند همسو می باشد (۲۸ و ۲۶ و ۲۵). مکانیسم های احتمالی کاهش چربی بدن به دنبال تمرین ورزشی، افزایش در آنزیم هایی که افزایش اکسیداسیون چربی را تحریک می کنند، افزایش انتقال دهنده های عصبی دخیل در مهار غذای دریافتی پس از تمرین، و افزایش آزادسازی پپتید کاهش دهنده اشتها (فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین)<sup>۸</sup> توسط هیپوتالاموس می باشد (۲۹). بنابراین تمرین استقامتی اجرا شده در پژوهش حاضر توانست از افزایش وزن بدن و وزن بافت چربی که در اثر رژیم غذایی پرچرب ایجاد شده بود، جلوگیری کند و به بهبود سطوح TNF- $\alpha$  در بافت چربی کمک کند.

بسیاری از مطالعات مزایای تمرین هوازی را نشان داده اند که باعث القای یک وضعیت ضد التهابی در موش های چاق و انسان شده اند (۳۰ و ۲۸ و ۲۶ و ۲۰). Linden و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که مصرف همزمان یک ۴، ۸ و ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و تمرین تردمیل باعث حفاظت متوسط در برخی از عوامل مرتبط با سلامت متابولیک شامل وزن بدن، چاقی، و بیان ژن برخی شاخصهای التهابی در بافت چربی سفید با وجود کالری مصرفی نسبی مشابه می شود. آنها بیان کردند که احتمالاً کاهش بیان ژن های التهابی احتمالاً حداقل در بخشی، به علت کاهش پاسخ های

<sup>8</sup> Anorectic peptide (corticotrophin-releasing factor)

مطالعات کمی اثر مکمل whey را بر سازگاری های ناشی از تمرینات ورزشی بررسی کرده اند. در مطالعه‌ای Weinheimer و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مصرف مکمل پروتئین whey به مدت ۳۶ هفته، بر پاسخ ناشی از تمرین هوازی و مقاومتی بر ترکیب بدنی و شاخص‌های سندرم متابولیک در افراد میان‌سال چاق و اضافه‌وزن تأثیر نمی‌گذارد (۳۷). عدم اثرگذاری whey ممکن است ناشی از داشتن پروفایل لیپوپروتئین طبیعی آزمودنی‌ها از نظر بالینی باشد. عدم تغییر در برخی از شاخص‌های سندرم متابولیک ممکن است به این دلیل باشد که کمتر از ۵۰ درصد آزمودنی‌ها دارای معیارهای تشخیصی سندرم متابولیک بودند. همچنین این مطالعه به دلیل میزان بالای ریزش آزمودنی‌ها (۴۳٪) محدود شده بود (۳۷). در مقابل مطالعه Arciero و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد تمرین مقاومتی و یا تمرین ترکیبی همراه با مصرف پروتئین whey به مدت ۱۶ هفته در بزرگ‌سالان دارای اضافه‌وزن و چاق، مستقل از محدودیت کالری بر توزیع کل و ناحیه‌ای چربی بدن، مقاومت انسولینی و آدیپوکین‌ها تأثیر مثبت دارد (۳۸).

### نتیجه گیری

در کل یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مصرف مکمل پروتئینی whey منجر به کاهش چربی بدن، بهبود مقاومت به انسولین ناشی از غذای پرچرب و کاهش التهاب می‌گردد. همچنین تمرین استقامتی وزن بدن، وزن بافت چربی و التهاب بافت چربی را کاهش داد اما تأثیری بر مقاومت انسولینی نداشت. با توجه به کاهش بیشتر مقاومت انسولینی و سطوح TNF- $\alpha$  بافت چربی در گروه ترکیب مکمل whey و تمرین استقامتی در مقایسه با گروه مکمل و گروه تمرین به نظر می‌رسد ترکیب مکمل whey و تمرین اثرگذاری بیشتری داشته باشد. بنابراین، پروتئین whey ممکن است پتانسیل درمانی برای کاهش بروز دیابت، به

افزایش می‌دهد و پروتئین دارای بهره‌وری انرژی<sup>۹</sup> (انرژی قابل سوخت و ساز) کمتر در مقایسه با کربوهیدرات و چربی است (۳۲). این تفاوت در بهره‌وری انرژی می‌تواند اثر پروتئین رژیم غذایی بر کاهش چربی بدن را توضیح دهد. با این حال، تمام منابع پروتئینی در جلوگیری و یا بهبود بیماری متابولیک مشابه نیستند. به عنوان مثال پروتئین whey برای کاهش وزن بدن و مقاومت به انسولین بهتر از گوشت کانگورو بود (۳۳).

در مطالعه‌ای نشان دادند که مکمل پروتئین whey در موش‌ها شدت چندین نشانگر زیستی، از جمله افزایش در وزن بدن و چاقی، مقاومت به انسولین و کبد چرب را کاهش می‌دهد. اثر حفاظتی پروتئین whey سازگار با میزان متابولیسم پایه و مصرف اکسیژن میتوکندری بالاتر و استفاده متابولیک پایین‌تر چربی رژیم غذایی بود، که منجر به بازده کلی تغذیه پایین‌تر می‌گردد (۴). در مطالعه دیگری مکمل whey در موش به مدت ۹ روز باعث افزایش جابجایی انتقال دهنده گلوکز ۴ (GLUT-4) به غشای پلاسمایی شد که منجر به بهبود مقاومت به انسولین گردید (۳۴). اثرات سودمند پروتئین whey می‌تواند به دلیل هضم و جذب سریع آن و در نتیجه غلظت بالای اسیدهای آمینه در خون بلافاصله بعد از غذا باشد. علاوه بر این، پروتئین whey همچنین می‌تواند به طور موثر آزادسازی IGF-1، (یک تعدیل‌کننده منفی پاسخ التهابی) را تحریک کند (۳۵). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که عصاره پروتئین whey می‌تواند مسیرهای سیگنالی NF- $\kappa$ B و MAPK در نوتروفیل‌های انسانی را تحریک کند (۳۶). همچنین آلفالاکتوآلبومین (۳۳ و ۳۲) و لاکتوفرین (۳۴ و ۳۵)، اجزای پپتید whey، اخیراً نشان داده‌اند باعث مهار تولید سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و IL-6 در موش‌ها و یا مونوسیت‌های انسانی می‌شوند (۳۵).

<sup>9</sup> Energy efficiency

ویژه در افراد در معرض خطر با سبک زندگی بی تحرک  
که انرژی اضافی و چربی مصرف می کنند، داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشکده تربیت بدنی  
دانشگاه مازندران به دلیل مساعدت در انجام این پژوهش  
کمال تشکر و قدردانی را اعلام می دارند.

### References

1. Liu H-Q, Qiu Y, Mu Y, Zhang X-J, Liu L, Hou X-H, et al. A high ratio of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids improves obesity-linked inflammation and insulin resistance through suppressing activation of TLR4 in SD rats. *Nut Res* 2013;33:849-58.
2. Holmer-Jensen J, Karhu T, Mortensen LS, Pedersen SB, Herzig K-H, Hermansen K. Differential effects of dietary protein sources on postprandial low-grade inflammation after a single high fat meal in obese non-diabetic subjects. *Nutr J* 2011;10: 115.
3. Huang XF, Liu Y, Rahardjo GL, McLennan PL, Tapsell LC, Buttemer WA. Effects of diets high in whey, soy, red meat and milk protein on body weight maintenance in diet-induced obesity in mice. *Nutr Diet* 2008;65:S53-S9.
4. Shertzer HG, Woods SE, Krishan M, Genter MB, Pearson KJ. Dietary whey protein lowers the risk for metabolic disease in mice fed a high-fat diet. *J Nut* 2011;141:582-7.
5. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796.
6. Vieira VJ, Valentine RJ, Wilund KR, Woods JA. Effects of diet and exercise on metabolic disturbances in high-fat diet-fed mice. *Cytokine* 2009;46:339-45.
7. Siddiqui SM, Chang E, Li J, Burlage C, Zou M, Buhman KK, et al. Dietary intervention with vitamin D, calcium, and whey protein reduced fat mass and increased lean mass in rats. *Nut Res* 2008;28:783-90.
8. Shi J, Finckenberg P, Martonen E, Ahlroos-Lehmus A, Pilvi TK, Korpela R, et al. Metabolic effects of lactoferrin during energy restriction and weight regain in diet-induced obese mice. *J Funct Foods* 2012;4:66-78.
9. Chen W-C, Huang W-C, Chiu C-C, Chang Y-K, Huang C-C. Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. *Med Sci Sports Exerc* 2014;46:1517-24.
10. Sheikholeslami VD, Ahmadi KGF. Changes in antioxidant status and cardiovascular risk factors of overweight young men after six weeks supplementation of whey protein isolate and resistance training. *Appetite* 2012;59:673-8.
11. Ahmadi Kani Golzar F, Sheikholeslami Vatani D, Kashkooli V, Moradi H, Farhangian M. The effects of whey protein isolate supplement and strength training on weight loss, body composition, strength and muscle hypertrophy in overweight young men. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology* 2012;7:37-46. [In Persian]
12. de Souza GId MH, Santamarina AB, Santana AAd, Lira FS, Laquila Rd, Moreno MF, et al. Preventive Effects of Chitosan Coacervate Whey Protein on Body Composition and Immunometabolic Aspect in Obese Mice. *Mediators Inflamm* 2014; 2014:1-13.
13. McAllan L, Keane D, Schellekens H, Roche HM, Korpela R, Cryan JF, et al. Whey protein isolate counteracts the effects of a high-fat diet on energy intake and hypothalamic and adipose tissue expression of energy balance-related genes. *Br J Nutr* 2013;110:2114-26.

14. de Aguilar-Nascimento JE, Silveira BRP, Dock-Nascimento DB. Early enteral nutrition with whey protein or casein in elderly patients with acute ischemic stroke: a double-blind randomized trial. *Nutrition* 2011;27:440-4.
15. Kume H, Okazaki K, Yamaji T, Sasaki H. A newly designed enteral formula containing whey peptides and fermented milk product protects mice against concanavalin A-induced hepatitis by suppressing overproduction of inflammatory cytokines. *Clin Nut* 2012;31:283-9.
16. Sugawara K, Takahashi H, Kashiwagura T, Yamada K, Yanagida S, Homma M, et al. Effect of anti-inflammatory supplementation with whey peptide and exercise therapy in patients with COPD. *Respirat Med* 2012;106:1526-34.
17. Yan L, Graef GL, Claycombe KJ, Johnson LK. Effects of voluntary running and soy supplementation on diet-induced metabolic disturbance and inflammation in mice. *J Agric Food Chem* 2013;61:9373-9.
18. Oliveira AG, Carvalho BM, Tobar N, Ropelle ER, Pauli JR, Bagarolli RA, et al. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. *Diabetes* 2011;60:784-96.
19. Vieira VJ, Valentine RJ, Wilund KR, Antao N, Baynard T, Woods JA. Effects of exercise and low-fat diet on adipose tissue inflammation and metabolic complications in obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296: E1164-E71.
20. Bradley RL, Jeon JY, Liu F-F, Maratos-Flier E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008;295: E586-E94.
21. Hariri N, Thibault L. High fat diets for diet-induced obesity models. *Nutr Res Rev* 2010;23:270-99.
22. Vahidinia AA, ShakerHosseini R, Mahjub H. Effect of Antioxidants Supplementation or Restricted Diet on Oxidative Stress in a Rat Model of Diet-Induced Obesity. *Sci J Hamadan Univ Med Sci* 2011;18:48-56.
23. Linden MA, Fletcher JA, Morris EM, Meers GM, Laughlin MH, Booth FW, et al. Treating NAFLD in OLETF rats with vigorous-intensity interval exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 2015;47:556-67.
24. Fahmy SR, Mohamed AS. Holoturia arenicola extract modulates bile duct ligation-induced oxidative stress in rat kidney. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:1649-57.
25. Linden MA, Pincu Y, Martin SA, Woods JA, Baynard T. Moderate exercise training provides modest protection against adipose tissue inflammatory gene expression in response to high fat feeding. *Physiol Rep* 2014;2:e12071.
26. Speretta GFF, Rosante MC, Duarte FO, Leite RD, Lino ADdS, Andre RA, et al. The effects of exercise modalities on adiposity in obese rats. *Clinics* 2012;67:1469-77.
27. Goh JG, Goh KP, Abbasi A. Exercise and adipose tissue macrophages: new frontiers in obesity research?. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2016; 7:65.
28. Yamashita AS, Lira FS, Rosa JC, Paulino EC, Brum PC, Negr?o CE, et al. Depot-specific modulation of adipokine levels in rat adipose tissue by diet-induced obesity: the effect of aerobic training and energy restriction. *Cytokine* 2010;52:168-74.
29. Batacan RB, Duncan MJ, Dalbo VJ, Buitrago GL, Fenning AS. Effect of different intensities of physical activity on cardiometabolic markers and vascular and cardiac function in adult rats fed with a high-fat high-carbohydrate diet. *J Sport Health Sci* 2016; In Press.
30. Ounis OB, Elloumi M, Chiekh IB, Zbidi A, Amri M, Lac G, et al. Effects of two-month physical-endurance and diet-restriction programmes on lipid profiles and insulin resistance in obese adolescent boys. *Diabetes Metab* 2008;34:595-600.

31. B?hm A, Weigert C, Staiger H, H?ring H-U. Exercise and diabetes: relevance and causes for response variability. *Endocrine* 2016;51:390-401.
32. van Milgen J, Noblet J, Dubois S. Energetic efficiency of starch, protein and lipid utilization in growing pigs. *J Nutr* 2001;131:1309-18.
33. Belobrajdic DP, McIntosh GH, Owens JA. A high-whey-protein diet reduces body weight gain and alters insulin sensitivity relative to red meat in wistar rats. *J Nutr* 2004;134:1454-8.
34. Morato PN, Lollo PCB, Moura CS, Batista TM, Camargo RL, Carneiro EM, et al. Whey protein hydrolysate increases translocation of GLUT-4 to the plasma membrane independent of insulin in wistar rats. *PloS one* 2013;8:e71134.
35. Ticinesi A, Meschi T, Lauretani F, Felis G, Franchi F, Pedrolli C, et al. Nutrition and Inflammation in Older Individuals: Focus on Vitamin D, n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Whey Proteins. *Nutrients* 2016;8:186.
36. Rusu D, Drouin R, Pouliot Y, Gauthier S, Poubelle PE. A bovine whey protein extract stimulates human neutrophils to generate bioactive IL-1Ra through a NF-κB-and MAPK-dependent mechanism. *J Nut* 2010;140:382-91.
37. Weinheimer EM, Conley TB, Kobza VM, Sands LP, Lim E, Janle EM, et al. Whey protein supplementation does not affect exercise training-induced changes in body composition and indices of metabolic syndrome in middle-aged overweight and obese adults. *J Nut* 2012;142:1532-9.
38. Arciero PJ, Baur D, Connelly S, Ormsbee MJ. Timed-daily ingestion of whey protein and exercise training reduces visceral adipose tissue mass and improves insulin resistance: the PRISE study. *J Appl Physiol* 2014;117:1-10.