

تاثیر تمرینات استقامتی بر بیان پروتئینی *CGI-58*، *ATGL*، سطوح سرمی گلوکز و انسولین رت های دیابتی شده با استرپتوزوسین

محمد حسن دشتی خویدکی^{۱*}، محمد فرامرزی^۲، اکبر اعظمیان جزی^۲، ابراهیم بنی طالبی^۲

مقاله پژوهشی

مقدمه: هدف از این تحقیق، تاثیر تمرینات استقامتی بر بیان پروتئینی ژن شناسی تطبیقی (*CGI-58*)، آدیپوز تری اسیل گلیسرول (*ATGL*)، سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین بود.

روش بررسی: تعداد ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی ساده در سه گروه هشت تایی شامل گروه دیابتی همراه با تمرین استقامتی (D-E)، گروه کنترل دیابتی (D) و سالم (Con) تقسیم شدند. پس از دیابتی کردن موش های صحرایی از طریق تزریق داروی استرپتوزوسین به صورت درون صفاقی، تمرینات به مدت هشت هفته و سه جلسه در هفته انجام شد. شدت تمرین معادل سرعت ۲۵-۲۲ متر بر دقیقه بود. بیان نسبی *ATGL* و *CGI-58* با تکنیک وسترن بلات و گلوکز و انسولین سرم با کیت تخصصی اندازه گیری شد. از آزمون آماری ANOVA یک طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و در سطح معناداری کمتر از پنج درصد انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد مقادیر *ATGL* و *CGI-58* در بین سه گروه اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0.001$). تفاوت *ATGL* بین گروه های D-E با گروه Con ($p = 0.001$) و D ($p = 0.001$) معنی دار بود. تفاوت *CGI-58* بین گروه های D-E با گروه Con ($p = 0.001$) و D ($p = 0.002$) معنی دار بود. هم چنین سطوح سرمی گلوکز و انسولین بعد از هشت هفته تمرین کاهش معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: به نظر می رسد که *CGI-58* نقش حیاتی در فعال شدن لیپولیز توسط *ATGL* داشته و افزایش *CGI-58*، موجب افزایش *ATGL* که در نهایت باعث افزایش اکسیداسیون تری گلیسرید درون عضلانی و بهبود مقاومت به انسولین می شود.

واژه های کلیدی: *ATGL*، *CGI-58*، تمرین استقامتی، انسولین، گلوکز

ارجاع: دشتی خویدکی محمد حسن، فرامرزی محمد، اعظمیان جزی اکبر، بنی طالبی ابراهیم. تاثیر تمرینات استقامتی بر بیان پروتئینی *CGI-58*، *ATGL*، سطوح سرمی گلوکز و انسولین رت های دیابتی شده با استرپتوزوسین. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۱): ۸۵-۹۶.

۱- هیئت علمی، فیزیولوژی ورزشی (بیوشیمی و متابولیسم ورزشی)، گروه علوم ورزشی، دانشگاه پیام نور، یزد، ایران

۲- دانشیار، فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۳۵۸۲۱۸۶، کد پستی ۱۷۷۳۵-۸۹۱۶۸، پست الکترونیکی: Dashty54@gmail.com

مقدمه

ژن شناسایی تطبیقی - Comparative Gene (*CGI-58*) Identification-58 یک پروتئین بسیار کوچک است که سطح تری گلیسرید داخل سلولی را با فعال کردن آدیپوز تری آسیل گلیسرول لیپاز (*ATGL*) Adipose triglyceride lipase، کنترل می‌کند. مطالعات اخیر بر اهمیت *CGI-58* به عنوان یک تنظیم‌کننده هموستاز انرژی داخل سلولی با مدل‌سازی هیدرولیز تری آسیل گلیسرول (*TAG*) triacylglycerols با استفاده از *ATGL*، تأکید دارد. بنابراین، موش‌ها و انسان‌هایی که فاقد *CGI-58* هستند، تجمع *TAG* را در بافت‌های گوناگون خواهند داشت (۱).

کشف *ATGL* به عنوان آنزیم اصلی هیدرولاز *TAG*، مفهوم لیپولیز درون سلولی را تغییر داد و نشان داد که در مرحله اول، هیدرولیز *TAG*، توسط *ATGL* کاتالیز می‌شود (۲-۵). پس از کشف *ATGL* لاس و همکاران (۶) Lass et al نشان دادند که فعالیت آنزیم *ATGL* به شدت به حضور *CGI-58* بستگی دارد و فعال‌سازی قدرتمند *ATGL* توسط *CGI-58* صورت می‌گیرد (۷، ۸). حضور *CGI-58* نه تنها فعالیت *ATGL* را افزایش می‌دهد بلکه باعث گسترش سوبسترای خاص آن می‌گردد. از این رو نقش این پروتئین در متابولیسم چربی و انرژی مهم است (۱) و در غیاب *ATGL*، *CGI-58* نمی‌تواند فعالیت لیپولیز را از طریق هر مسیر دیگری افزایش دهد (۹) و در حین انقباض عضلانی، فعالیت *ATGL* به طور معنی‌داری به وسیله تعامل با *CGI-58* افزایش می‌یابد (۱۰). *CGI-58* به عنوان یک فعال‌کننده قدرتمند *ATGL* در سلول‌های پستانداران بوده (۶) و با *ATGL* در عضله اسکلتی انسان هم بیان می‌شود (۱۱، ۱۲). و فعالیت *TAG* هیدرولاز را در مخازنی از عضله اسکلتی انسان و موش القا می‌کند (۱۲). تحقیقات نشان می‌دهد فعالیت *ATGL* ممکن است به طور دقیق با فسفریله شدن در پاسخ به تحریک هورمونی در طول تمرین تنظیم شود (۱۳). در تحقیق هاشیموت و همکاران (۲۰۱۳) بر روی رت‌های چاق، شش هفته تمرین هوازی متوسط کاهش معنی‌داری در میزان چربی اپیدرمال و افزایش

معنی‌داری در *ATGL* و *CGI-58* داشته است (۱۴). در تحقیقی آستد Alsted و همکاران (۲۰۰۹)، تمرین منظم استقامتی موجب شد محتویات پروتئین *ATGL* در عضله‌های اسکلتی دو برابر شوند (۱۱). به طور کلی، فعالیت *ATGL* توسط پروتئین تنظیمی مدوله شده است (۱۵). و جو یونگ بای Ju YB و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند بعد از هشت هفته تمرین، سطح *CGI-58* و *ATGL* افزایش می‌یابد (۱۶). از طرفی میزان پایین تری‌گلیسرید درون عضلانی (*IMTG*) Intramuscular Triglyceride به تنظیم منفی آبشار انسولین در بیماران دیابتی نوع ۲ منجر می‌شود (۱۷). با توجه به اهمیت یافتن مکانیسم‌های درون سلولی لیپولیز *IMTG* در کاهش یا افزایش فرایندهای التهابی ناشی از دیابت یا سایر اختلالات متابولیکی، بررسی عوامل تنظیم‌کننده ذخیره و آزاد شدن *IMTG* از جمله فعالیت ورزشی بسیار حائز اهمیت است.

در مجموع، این پرسش مطرح است که آیا تمرین استقامتی تأثیری بر بیان پروتئینی *CGI-58*، *ATGL* سطوح سرمی گلوکز و انسولین موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین دارد؟

روش بررسی

تحقیق از نوع تجربی و آزمودنی‌های پژوهش ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار بودند که به صورت تصادفی به سه گروه هشت تایی دیابت و تمرین (DE)، گروه کنترل دیابتی (D) و کنترل سالم (CON) تقسیم شدند. هم‌چنین با توجه به طول زمان از نوع مقطعی و به لحاظ استفاده از نتایج بنیادی است.

حیوانات: تعداد ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار در سن هشت هفته‌گی با محدوده وزنی ۱۷۰-۱۸۰ گرم از مرکز تحقیقات تهران (پاستور) تهیه و در شرایط دمایی 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی و با دسترسی آزاد به آب و غذای مخصوص موش صحرایی نگهداری شدند (۱۸). برای دیابتی کردن هر موش صحرایی، استرپتوزوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از راه صفاقی تزریق شد (۱۹). گلوکز خون ناشتای آزمودنی‌ها، قبل از تزریق استرپتوزوسین و نیز به ترتیب در فاصله زمانی ۱، ۳ و ۵ روز بعد از تزریق استرپتوزوسین پس از ۱۲ ساعت بی‌غذایی اندازه‌گیری شد و رت‌هایی که دارای قند خون ۳۰۰

سپس با روش هموژنایزر در نیتروژن مایع پودر و به نسبت ۱ به ۵ در بافر RIPA لیز و به‌طور کامل هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به مدت پانزده دقیقه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (۱۸). سوپرناتانت برداشته و غلظت پروتئینی محلول با روش براد فورد و با استفاده از سرم آلبومین گاوی (Bovine (BSA serum albumin به‌عنوان استاندارد تعیین و در دمای ۸۰- درجه برای مراحل بعدی نگهداری شد. مقدار بافتی پروتئین *ATGL* و *CGI-58* طبق دستورالعمل روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. برای انجام این روش آزمایشگاهی مقادیر مساوی از پروتئین به وسیله ژل پلی آکریل آمید SDS-PAGE، ۱۲ درصد جدا سازی شد. بعد از مرحله الکتروفورز، پروتئین‌های ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم در محلول بلاکینگ جهت پوشاندن جایگاه‌های اتصال غیر اختصاصی پروتئین قرار گرفت.

سپس کاغذ یک شب در آنتی‌بادی rabbit polyclonal to *ATGL* antibody- ab99532 (Abhd5) و شرکت abcam (Antibody - 0.1 ml- NB110-41576) شرکت novusbio در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روز دوم ۳ بار با محلول TBST شستشو داده شد و کاغذ به مدت یک ساعت و نیم با آنتی‌بادی ثانویه انکوبه شد. بعد از این مرحله بلاتها را با کیت ECL پوشانده و با استفاده از دستگاه اسکنر LI-COR ساخت امریکا باند پروتئین‌ها مشخص شدند (۱۸).

تجزیه و تحلیل آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها، ابتدا جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و جهت بررسی تجانس واریانس گروه‌ها از آزمون لون استفاده شد. سپس با توجه به نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه به‌منظور بررسی تفاوت بین گروه‌ها (کنترل سالم، دیابتی و تمرین) در مقادیر متغیرهای مورد نظر استفاده شد.

با توجه به این‌که تعداد آزمودنی‌ها در گروه‌ها یکسان بود برای مشخص شدن محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون

میلی‌گرم بر دسی لیتر بودند به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند (۲۰). سطوح گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان، از طریق ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانس روی ورید دم موش‌ها اندازه‌گیری شد.

پروتکل تمرین

بعد از گذشت یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه، در ابتدا برای آشنایی موش‌های صحرایی با دویدن روی تردمیل، به مدت یک هفته با سرعتی معادل ۳-۵ متر بر دقیقه به مدت پانزده تا بیست دقیقه تمرین در نظر گرفته شد (۲۱). سپس موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در گروه کنترل سالم، گروه کنترل دیابتی، گروه دیابت و تمرین تقسیم شدند. و در ادامه برای گروه‌های تمرین، به مدت هشت هفته برنامه تمرینی با شدت معادل سرعت ۲۵-۲۲ متر بر دقیقه (معادل ۸۰ درصد VO_{2max}) اجرا شد (۲۲).

اندازه‌گیری متغیرها

۴۸ ساعت پس از اتمام آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، آزمودنی‌ها با ترکیبی از داروی کتامین (۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش و خون‌گیری مستقیماً از قلب موش به عمل آمد و خون سریعاً در لوله‌های حاوی اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ریخته شد و برای جداکردن سرم خون، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سطوح سرمی گلوکز به وسیله گلوکومتر ساخت کشور آلمان و سطوح سرمی انسولین با کیت الایزا ویژه موش صحرایی (Insulin rat ELISA DEV8811) ساخت کمپانی Demeditec کشور آلمان با حساسیت ۰/۱ ng/mL اندازه‌گیری شد (۲۰).

استخراج بافت

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، بافت عضله نعلی (The soleus (SOL) تمام موش‌های صحرایی استخراج و جهت اندازه‌گیری‌های بعدی، در نیتروژن مایع نگهداری شد.

تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و در سطح $\alpha \leq 0/05$ انجام گرفت.

ملاحظات اخلاقی

در نهایت، کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) بر اساس AAALAC Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care و International و تأیید کمیته اخلاق شورای پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه شهر کرد رعایت گردید.

نتایج

با توجه به برابری واریانس‌ها و توزیع نرمال سطوح سرمی انسولین، گلوکز، *ATGL* و *CGI-58* با استفاده از آزمون‌های لون و کلموگروف-اسمیرنوف، از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) جهت مقایسه میانگین متغیرهای تحقیق در گروه‌ها استفاده شد.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه نشان دهنده تأثیر معنی‌داری تمرین بر شاخص‌های گلوکز و انسولین بود ($p < 0/001$) (جدول ۱). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد

شاخص انسولین در گروه تمرین استقامتی دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل دیابتی ($p < 0/001$) و کنترل سالم ($p < 0/001$) معنی‌دار بود همچنین شاخص گلوکز در گروه تمرین استقامتی دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل دیابتی ($p = 0/001$) و کنترل سالم ($p = 0/006$) معنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه بیان پروتئین *ATGL* در بین گروه‌های تمرین استقامتی، کنترل سالم و کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/001$) (جدول ۱) و نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تفاوت بین گروه‌های تمرین با گروه کنترل دیابتی ($P = 0/001$) و گروه کنترل سالم ($P = 0/001$) بود (جدول ۲).

هم‌چنین مقایسه بیان پروتئین *CGI-58* در بین گروه‌های تمرین، کنترل سالم و کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P = 0/001$) (جدول ۱) و نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد این تفاوت بین گروه‌های تمرین با گروه کنترل دیابتی ($P = 0/002$) و گروه کنترل سالم ($p < 0/001$) بود (جدول ۲). نهایتاً بیان *ATGL* و *CGI-58* با تمرین نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی، افزایش یافت (نمودار ۱ و ۲).

جدول ۱: میانگین، انحراف معیار و آزمون تحلیل واریانس یک طرفه پروتئین‌های *ATGL*، *CGI-58*، گلوکز و انسولین در رت‌های دیابتی شده با استریپتوزوسین

گروه متغیر	کنترل سالم (Con)	کنترل دیابتی (D)	دیابت و تمرین (D-E)	Pvalue
گلوکز (mg/ dl)	۱۵۶/۳±۲۲/۹۵	۵۷۷/۸±۱۵۸/۳	۳۴۱/۵±۹۱/۹۱	۰/۰۰۱
انسولین (ng / ml)	۰/۰۳±۰/۴۹	۰/۰۳۶±۰/۱۹	۰/۰۰۹±۰/۱۲	۰/۰۰۱
<i>ATGL</i> (چگالی نسبی باند)	۴۰۵۱±۳۲۱۲	۸۳۵۶±۶۱۳۰	۱۴۴۹۱±۵۸۵۲	۰/۰۰۱
<i>CGI-58</i> (چگالی نسبی باند)	۱۴۱۶۸±۶۳۲۸	۱۸۷۵۶±۱۴۷۹۱	۵۲۳۲۵±۲۳۶۱۳	۰/۰۰۱

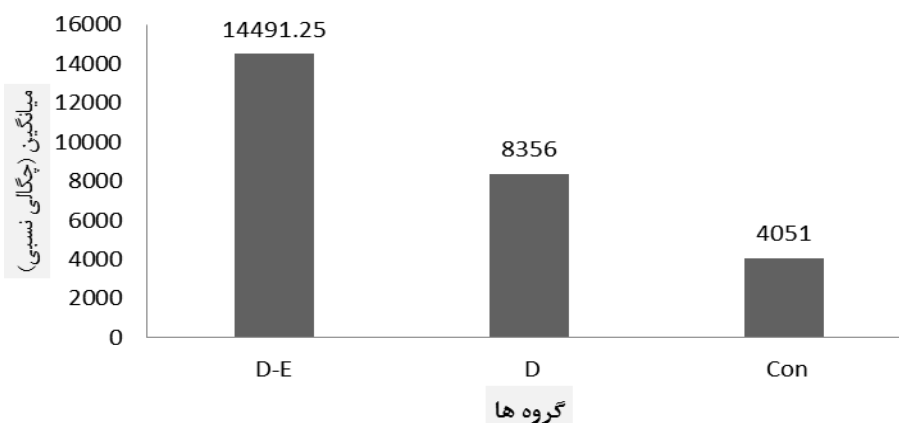
ANOVA

*معنی‌داری در سطح ($P \leq 0/05$)

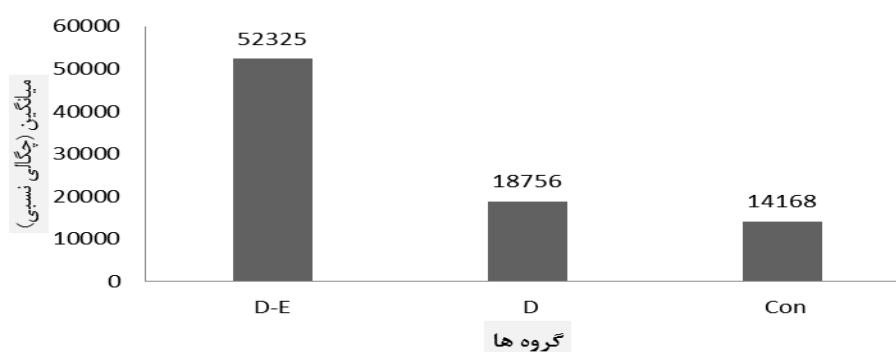
جدول ۲: نتایج تحلیل آزمون تعقیبی توکی سطوح سرمی انسولین، گلوکز، بیان *ATGL* و *CGI-58* بعد از ۸ هفته تمرینات استقامتی در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوسین

گروه	متغیر انسولین		گلوکز		<i>ATGL</i>		<i>CGI-58</i>	
	تفاوت میانگین	معنی داری	تفاوت میانگین	معنی داری	تفاوت میانگین	معنی داری	تفاوت میانگین	معنی داری
Con	-۰/۳۶۸۷	*۰/۰۰۰	۱۸۵/۲۵۰	*۰/۰۰۶	۱۳۵۵۲/۵	*۰/۰۰۱	۳۸۱۵۶/۲۵	*۰/۰۰۰
D-E	-۰/۰۷۱۲	*۰/۰۰۰	-۲۳۶/۲۵۰	*۰/۰۰۱	۱۳۲۱۱/۲۵	*۰/۰۰۱	۳۳۵۶۸/۷۵	*۰/۰۰۲

Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی، D-E: گروه دیابتی با تمرین
*معنی داری در سطح (P≤۰/۰۵)



نمودار ۱. میانگین بیان *ATGL* در گروه‌ها



نمودار ۲. میانگین بیان *CGI-58* در گروه‌ها

Con: گروه کنترل سالم، D: گروه کنترل دیابتی، D-E: گروه دیابتی با تمرین

طریق تمرینات ورزشی جهت جلوگیری از پیدایش بیماری‌های متابولیکی از جمله مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو بسیار حیاتی است و بی‌نظمی در دینامیک قطرات چربی (Lipid Droplets (LDs) و یا بیان پروتئینی LD

بحث

در مقاومت به انسولین، محتوی چربی عضله اسکلتی عامل قوی‌تری در مقایسه با اسیدهای چرب آزاد در افراد کم‌تحرک می‌باشد (۲۳). حفظ هموستاز مناسب IMTG از

ها در حساسیت به انسولین و لیپوتاکسیته اثر گذار می‌باشد (۱۳).

یافته‌ها نشان داد سطوح انسولین و گلوکز همراه با افزایش شدت تمرین استقامتی در موش‌های دیابتی کاهش یافت. کاهش سطوح سرمی انسولین و گلوکز در گروه‌های دیابت با تمرین در مقایسه با کنترل دیابتی معنادار بود. عصارزاده و همکاران (۲۰۱۲) هم در مطالعات خود نشان دادند تمرینات ترکیبی در مردان غیرفعال موجب کاهش معنادار غلظت انسولین و شاخص مقاومت به انسولین شد (۲۴). سازوکارهای احتمالی کاهش انسولین و گلوکز سرمی در اثر تمرینات استقامتی می‌تواند شامل افزایش پروتئین‌های ناقل گلوکز - Glucose transporter 4 (GLUT4)، کاهش ترشح و افزایش پاک سازی اسیدهای چرب آزاد، افزایش تحویل گلوکز به عضلات و تغییر در افزایش تمایل عضلات به گلوکز در دسترس باشد. تمرین ورزشی با شدت بالا و مدت طولانی، احتمالاً از طریق افزایش انتقال گلوکز به عضله یا کاهش سنتز اسیدهای چرب، باز جذب گلوکز به واسطه فعالیت عضلات اسکلتی را افزایش می‌دهد (۲۵). هم چنین، علت دیگر کاهش انسولین، می‌تواند مربوط به کاهش توده چربی باشد (۲۶). اغلب مطالعاتی که کاهش این شاخص را به دنبال برنامه تمرینی گزارش کرده‌اند، از شدت نسبتاً بالای تمرین برخوردار بوده‌اند (۲۷-۳۰).

در افراد سالم، عضلات مسئول جذب بیش از ۸۰ درصد گلوکز بعد از وعده غذایی با تحریک انسولین هستند (۳۱) و در تمرین استقامتی، تحریک جذب گلوکز مستقل از انسولین بوده و به جای آن از طریق مسیرهای ناشی از انقباض فعال می‌شوند. روشن است که هدف از جذب گلوکز بدون حضور انسولین هنگام تمرین می‌تواند برای افرادی که در برابر انسولین مقاوم‌اند، فواید بالینی سریعی داشته باشد (۳۲). با توجه به این موارد، کاهش سطوح انسولین و گلوکز در پژوهش حاضر منطقی به نظر می‌رسد.

در تحقیق حاضر، تفاوت معناداری در بیان پروتئین *ATGL* در بین گروه دیابت تمرینی با کنترل سالم و

دیابتی دیده شد از این رو، با تمرین استقامتی تمایل به افزایش در *ATGL* مشاهده شد. و با نتایج تحقیق سجادیان و همکاران ۱۳۹۳ که نشان دادند تمرین تناوبی با شدت بالا، مقدار آنزیم *ATGL* افزایش می‌یابد (۳۳) هم راستا بوده است.

به نظر می‌رسد افزایش معنی دار *ATGL* در موش‌های تمرین کرده دیابتی باعث می‌شود که بسیج و مصرف چربی‌های *IMTGs* از طریق متابولیت‌های درون سلولی و هورمونی تنظیم گردد. برخلاف لیپولیز بافت چربی، که به مرور زمان بر اثر تخلیه انرژی بدن تحریک می‌شود، به نظر می‌رسد لیپولیز در عضلات اسکلتی به شکل ویژه‌ای به تقاضاهای موضعی عضله جواب می‌دهد. هم چنین در حین تمرین تنظیم آن افزایش یافته و در حالت مقاومت به انسولینی ناشی از رژیم غذایی پر چرب کاهش می‌یابد (۳۴-۳۶). نتایج تحقیقی ترنبال و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد ۸ هفته تمرین استقامتی در عضلات اسکلتی موش صحرائی باعث افزایش پروتئین *ATGL* در تمام عضلات تمرینی شد (۳۷). این افزایش بیان *ATGL* احتمالاً باعث حفظ غلظت کم متابولیت‌های اسید چرب عضلانی و در نهایت به بهبود حساسیت به انسولین در تمرین‌های شدید منجر می‌گردد. با این حال، هنگام افزایش شدت تمرین، استفاده از سطوح اسید چرب (FA) *fatty acid* پلاسمایی در همان حد باقی مانده، اما لیپولیز *IMTG* در شدت‌های بالاتر افزایش می‌یابد و به نظر می‌رسد بیشترین تأثیر گذاری بر آنها در این دامنه باشد (۳۶). در همین راستا شفرد و همکاران - Shepherd et al. با مقایسه دو شیوه تمرین استقامتی و تمرین تناوبی شدید، نشان دادند که تمرین‌های تناوبی شدید منجر به تجمع بیشتر و تجزیه بیشتر *IMTG* نسبت به تمرین‌های استقامتی می‌گردد. در طی تمرین تناوبی با شدت بالا منابع مورد استفاده برای اکسیداسیون چربی از سمت اسیدهای چرب پلازما بیشتر به سمت *IMTG* سوق داده می‌شود (۳۷). آنها دریافتند افزایش میزان تجزیه *IMTG* با افزایش حساسیت به انسولین متعاقب تمرین ورزشی ارتباط دارد. در واقع، افزایش میزان بیان و یا فعالیت آنزیم لیپولیتیک

رفتن *CGI-58*، تأثیر معکوسی دارد (۱۲). و هم چنین نگی و همکاران Nagy et al در سال ۲۰۱۴ بیان کردند، *ATGL* برای بسیج موثر تری گلیسیرید در بافت چربی و بافت های غیر چربی مورد نیاز است و *ATGL* شدیداً برای در دسترس بودن اسیدهای چرب برای واکنش های متابولیکی تعیین کننده بوده و فعالیت *ATGL* توسط یک شبکه پیچیده از هورمون های لیپولیتیک و ضد لیپولیتیک تنظیم می شود و این که سیگنال ها با کنترل بیان آنزیمی و تعامل *ATGL* با پروتئین نظارتی *CGI-58* رخ می دهد (۴۵). از این رو، *CGI-58* در تنظیم عملکرد *ATGL*، بیانگر نقش مهم این پروتئین به طور خاص در سوخت و ساز چربی و انرژی در عضله است (۱) و تنظیم افزایشی بیان *CGI-58* در میوتوپ اولیه انسان، تخلیه TAG را شتاب داده و لیپولیز و اکسیداسیون FA را افزایش می دهد (۱۲). در مقابل، *CGI-58* از بین رفته، لیپولیز را کاهش داده و تجمع TAG را افزایش می دهد. که آن را مک پیرسون و همکاران Macpherson et al در سال ۲۰۱۳ با افزایش تعامل پروتئین *ATGL/ CGI-58* در عضله نعلی در طول انقباض در مقابل حالت استراحت نشان داده اند (۱۰). که این امر مشخص می کند، *CGI-58* یک نقش محوری در تنظیم فعالیت *ATGL* عضله اسکلتی و دینامیک TAG به ویژه در طول تمرین بازی می کند (۴۶، ۴۷). در نهایت از آنجائی که مطالعات اخیر نقش حیاتی *CGI-58* را در فعال شدن لیپولیز توسط *ATGL* و اثرات آن بر سوخت و ساز در بافت های چربی و غیرچربی بدن نشان می دهد افزایش *CGI-58* به همراه *ATGL* در تحقیق حاضر می تواند دلیل منطقی باشد.

از طرفی دیگر بر خلاف نتایج تحقیق حاضر، لوچ و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند لیپازهای عضله اسکلتی نقش مهمی در اختلالات متابولیک مرتبط با چاقی بازی می کنند در حالی که تمرین استقامتی بر بیان *ATGL*، پری لیپین ۳، پری لیپین ۵، هیچ تغییری ایجاد نکرد هم چنین هیچ تغییر قابل توجهی در *CGI-58* و بیان پروتئین پری لیپین ۲ در پاسخ به تمرین مشاهده نشد (۴۸). بوسما و همکاران (۲۰۱۴)

(*ATGL*) توسط تمرینات استقامتی، تجزیه *IMTG* را تسهیل و سوبسترای کافی برای عضله ها را فراهم می نماید (۳۸). با توجه به شدت و مدت تمرین و میزان دسترسی به سوبسترا، میزان استفاده از FA برای متابولیسم اکسیداسیون در زمان تمرینات استقامتی متوسط به بالاترین حد می رسد (۳۹).

عضلات اسکلتی هنگام استراحت و فعالیت ورزشی به مقدار زیادی به اکسیداسیون چربی متکی هستند (۴۰). با این وجود در شدت های بالاتر، علیرغم افزایش لیپولیز بافت چربی، سطوح اسیدچرب آزاد پلاسما تغییر نمی کند و در نهایت افزایش بیان *ATGL* در موش های دیابتی، باعث افزایش لیپولیز و در نتیجه رهایش اسیدهای چرب بیشتر می شود و در غیاب گلوکز انرژی مورد نیاز سلولها را فراهم می کند. هر چند عوامل ثابت شده دیگری مانند کاهش انسولین و مسیرهای آلفا آدرنژیک نیز برای افزایش لیپولیز در افراد دیابتی ذکر شده است (۴۱). نتایج مطالعات مورویل و همکاران (۲۰۱۷) هم نشان داد تکرار تمرین طولانی مدت، اکسیداسیون چربی در مردان مسن را کاهش و باعث افزایش قابل توجهی در بیان پروتئین HKII، GLUT4 و *ATGL* شد که نشان دهنده افزایش ظرفیت انتقال گلوکز و افزایش ظرفیت لیپولیز عضله و در نهایت کمک به افزایش سهم گلوکز خارجی و چربی درون سلولی هنگام تمرین است (۴۲).

هم چنین در تحقیق حاضر، تفاوت معناداری در بیان پروتئین *CGI-58* در بین گروه دیابتی تمرینی با کنترل سالم و دیابتی دیده شد از این رو، با تمرین استقامتی تمایل به افزایش در *ATGL* مشاهده شد. از آنجائیکه *CGI-58* با *ATGL* ارتباط داشته و تعامل میان *CGI-58* و *ATGL*، فعالیت تنظیمی *ATGL* از حالت پایه به حالت فعال را افزایش می دهد، بنابراین میزان افزایش لیپولیز به واسطه *ATGL* را می توان با افزایش *CGI-58* مرتبط و منطقی دانست (۴۳، ۴۴). مطالعات آزمایشگاهی انجام شده توسط بدین و همکارانشان در سال ۲۰۱۲ نشان داد که وجود بیش از اندازه *CGI-58* در میوتوبها باعث افزایش هیدرولیز تری گلیسیرید و اکسیداسیون FA می گردد، در حالی که از بین

دیابتی می شود. به نظر می رسد که CGI-58 نقش حیاتی در فعال شدن لیپولیز توسط ATGL داشته و افزایش CGI-58، موجب افزایش ATGL که در نهایت باعث افزایش اکسیداسیون تری گلیسرید درون عضلانی و بهبود مقاومت به انسولین می شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله دکتری تخصصی بیوشیمی و متابولیسم ورزشی دانشگاه شهرکرد بوده، که در تاریخ ۹۵/۰۹/۲۷ تصویب شده است و از تمامی کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند تقدیر و تشکر می گردد. حامی مالی وجود ندارد.
تعارض در منافع: وجود ندارد.

هم، در تحقیقات خود پیشنهاد کردند مطالعات بیشتری برای تعیین میزان شدت فعالیت ورزشی بر متابولیسم قطرات چربی نیاز است (۳۹) و یا اینکه این تفاوت‌ها ممکن است مربوط به نوع تمرین (تمرین حاد، مزمن)، پروتکل تمرینی (مدت و شدت تمرین) و روش اندازه گیری ATGL و CGI-58 باشد.

نتیجه گیری

تمرین استقامتی می تواند باعث افزایش بیان پروتئین ATGL و کاهش سطح سرمی انسولین و گلوکز در موش‌های دیابتی شود. هم چنین افزایش ATGL به نظر می رسد هم موجب سهولت اکسیداسیون IMTG در طول تمرین شده و هم موجب افزایش حساسیت به انسولین و بهبود مقاومت به انسولین در موش‌های

References:

1. Zierler KA, Zechner R, Haemmerle G. *Comparative gene identification-58/ α/β hydrolase domain 5: more than just an adipose triglyceride lipase activator?* Curr opin lipidol 2014; 25(2): 102-9.
2. Ahmadian M, Wang Y, Sul HS. *Lipolysis in adipocytes*. Inter J biochemistry & cell biology 2010; 42(5): 555-9.
3. Lass A, Zimmermann R, Oberer M, Zechner R. *Lipolysis—a highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores*. Progress Lip Res 2011; 50(1): 14-27.
4. Lord CC, Brown JM. *Distinct roles for α - β hydrolase domain 5 (ABHD5/CGI-58) and adipose triglyceride lipase (ATGL/PNPLA2) in lipid metabolism and signaling*. Adipocyte 2012; 1(3): 123-31.
5. Zechner R, Zimmermann R, Eichmann TO, Kohlwein SD, Haemmerle G, Lass A, et al. *Fat Signals-Lipases And Lipolysis In Lipid Metabolism And Signaling*. Cell metabol 2012; 15(3): 279-91.
6. Lass A, Zimmermann R, Haemmerle G, Riederer M, Schoiswohl G, Schweiger M, et al. *Adipose triglyceride lipase-mediated lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in Chanarin-Dorfman Syndrome*. Cell Metab 2006; 3(5): 309-19.
7. Bézaire V, Mairal A, Anesia R, Lefort C, Langin D. *Chronic TNF α and cAMP pre-treatment of human adipocytes alter HSL, ATGL and perilipin to regulate basal and stimulated lipolysis*. FEBS Letters 2009; 583(18): 3045-9.
8. Cornaciu I, Boeszoermyenyi A, Lindermuth H, Nagy HM, Cerk IK, Ebner C, et al. *The minimal domain of adipose triglyceride lipase (ATGL) ranges until leucine 254 and can be activated and inhibited by CGI-58 and G0S2, respectively*. PloS one 2011; 6(10): e26349.

9. Schweiger M, Schreiber R, Haemmerle G, Lass A, Fledelius C, Jacobsen P, et al. *Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase are the major enzymes in adipose tissue triacylglycerol catabolism*. J Bio Chem 2006; 281(52): 40236-41.
10. MacPherson RE, Ramos SV, Vandenoorn R, Roy BD, Peters SJ. *Skeletal muscle PLIN proteins, ATGL and CGI-58, interactions at rest and following stimulated contraction*. Am J Physiology-Regul, Integr Comp Physiol 2013; 304(8): 644-50.
11. Alsted TJ, Nybo L, Schweiger M, Fledelius C, Jacobsen P, Zimmermann R, et al. *Adipose triglyceride lipase in human skeletal muscle is upregulated by exercise training*. Am J Physiology-Endocrinology Metabol 2008; 296(3): 445-53.
12. Badin PM, Loubière C, Coonen M, Louche K, Tavernier G, Bourlier V, et al. *Regulation of skeletal muscle lipolysis and oxidative metabolism by the co-lipase CGI-58*. J lipid Res 2012; 53(5): 839-48.
13. Badin P-M, Langin D, Moro C. *Dynamics of skeletal muscle lipid pools*. Trends in Endocrinol & Metabol 2013; 24(12): 607-15.
14. Hashimoto T, Sato K, Iemitsu M. *Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes*. J Applied Physiol 2013; 115(2): 260-7.
15. Lu X, Yang X, Liu J. *Differential control of ATGL-mediated lipid droplet degradation by CGI-58 and G0S2*. Cell cycle 2010; 9(14): 2719-25.
16. Bae JY, Woo J, Roh HT, Lee YH, Ko K, Kang S, et al. *The effects of detraining and training on adipose tissue lipid droplet in obese mice after chronic high-fat diet*. Lipids Health Dis 2017; 16(1): 13.
17. Shepherd SO, Cocks M, Tipton K, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, et al. *Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5*. J physiol 2013; 591(3): 657-75.
18. Szkudelski T. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. Physiol Res 2001; 50(6): 537-46.
19. Pushparaj P, Low H, Manikandan J, Tan B, Tan C. *Anti-diabetic effects of Cichorium intybus in streptozotocin-induced diabetic rats*. J Ethnopharmacology 2007; 111(2): 430-4.
20. Wisløff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen Ø. *Intensity-controlled treadmill running in rats: $\dot{V}o_2$ max and cardiac hypertrophy*. Am J Physio-Heart Circ Physiol 2001; 280(3): 1301-10.
21. Kim D-H, Kim S-H, Kim W-H, Moon C-R. *The effects of treadmill exercise on expression of UCP-2 of brown adipose tissue and TNF- α of soleus muscle in obese Zucker rats*. J Exerc Nutrition Biochem 2013; 17(4): 199-207.
22. Ghafari M, Banitalebi E, Faramarzi M, Mohebi A. *Comparison of Two Intensities of Aerobic Training (low intensity and High Intensity) on Expression of Perlipin 2 Skeletal Muscle, Serum Glucose and Insulin levels in Streptozotocin-Diabetic Rats*. Armaghane Danesh 2017; 22(3):282-94. [Persian]

23. Laurens C, Moro C. *Intramyocellular fat storage in metabolic diseases*. Horm Mol biology clin investg 2016; 26(1): 43-52.
24. Assarzade Noushabadi M, Abedi B. *The combined effects of exercise on insulin resistance and some inflammatory markers in men inactive*. Horizon Med Sci 2012; 18(3): 95-105.
25. Kim ES, Im JA, Kim KC, Park JH, Suh SH, Kang ES, et al. *Improved insulin sensitivity and adiponectin level after exercise training in obese Korean youth*. Obesity 2007; 15(12): 3023-30.
26. Pasman W, Westerterp-Plantenga M, Saris W. *The effect of exercise training on leptin levels in obese males*. American J Physiology-Endocrinology Metabol 1998; 274(2): E280-E6.
27. Kelley DE, Goodpaster BH. *Effects of physical activity on insulin action and glucose tolerance in obesity*. Med Sci Sport Exerc 1999; 31(11 Suppl): S619-23.
28. Ivy JL. *Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Sports Med 1997; 24(5): 321-36.
29. James DE, Burleigh KM, Kraegen EW, Chisholm DJ. *Effect of acute exercise and prolonged training on insulin response to intravenous glucose in vivo in rat*. J Appl Physiol 1983; 55(6): 1660-4.
30. Berger M, Kemmer F, Becker K, Herberg L, Schwenen M, Gjinavci A, et al. *Effect of physical training on glucose tolerance and on glucose metabolism of skeletal muscle in anaesthetized normal rats*. Diabetologia 1979; 16(3): 179-84.
31. DeFronzo RA, Tripathy D. *Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes*. Diabetes care 2009; 32(suppl 2): S157-S63.
32. Stephenson EJ, Smiles W, Hawley JA. *The relationship between exercise, nutrition and type 2 diabetes*. Med Sport Sci 2014; 60: 1-10.
33. Nikooie R, Sajadian S. *TGF- β 1 protein Expression in the Skeletal Muscle Following High Interval Training and its Relationship with Intramuscular Triglycerides Oxidation* J Sport in Biomotor Sci 2015; 6(12): 45-54.
34. Holloszy JO, Coyle EF. *Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences*. J Appl physiol 1984; 56(4): 831-8.
35. Kim CH, Kim MS, Youn JY, Park HS, Song HS, Song KH, et al. *Lipolysis in skeletal muscle is decreased in high-fat-fed rats*. Metabol 2003; 52(12): 1586-92.
36. Romijn J, Coyle E, Sidossis L, Gastaldelli A, Horowitz J, Endert E, et al. *Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration*. Am J Physiol-Endocrinol Metabol 1993; 265(3): E380-E91.
37. Turnbull PC, Longo AB, Ramos SV, Roy BD, Ward WE, Peters SJ. *Increases in skeletal muscle ATGL and its inhibitor G0S2 following 8 weeks of endurance training in metabolically different rat skeletal muscles*. Am J Physiol-Regul, Integr Comp Physiol 2016; 310(2): R125-R33.
38. Yao-Borengasser A, Varma V, Coker RH, Ranganathan G, Phanavanh B, Rasouli N, et al.

- Adipose triglyceride lipase expression in human adipose tissue and muscle. Role in insulin resistance and response to training and pioglitazone.* Metabol 2011; 60(7): 1012-20.
39. Bosma M. *Lipid homeostasis in exercise.* Drug discovery today 2014; 19(7): 1019-23.
40. Holloway GP, Bezaire V, Heigenhauser GJ, Tandon NN, Glatz JF, Luiken JJ, et al. *Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyltransferase I activity in human skeletal muscle during aerobic exercise.* J physiol 2006; 571(1): 201-10.
41. Howe HR, Heidal K, Choi MD, Kraus RM, Boyle K, Hickner RC. *Increased adipose tissue lipolysis after a 2-week high-fat diet in sedentary overweight/obese men.* Metabol 2011; 60(7): 976-81.
42. Morville T, Rosenkilde M, Munch-Andersen T, Andersen PR, Kjær GK, Helbo S, et al. *Repeated Prolonged Exercise Decreases Maximal Fat Oxidation in Older Men.* Med Sci Sports Exercise 2017; 49(2): 308-16.
43. Watt MJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. *Intramuscular triacylglycerol utilization in human skeletal muscle during exercise: is there a controversy?* J Applied Physio 2002; 93(4):1185-95.
44. Yamaguchi T, Omatsu N, Matsushita S, Osumi T. *Cgi-58 Interacts With Perilipin And Is Localized To Lipid Droplets Possible Involvement Of Cgi-58 Mislocalization In Chanarin-Dorfman Syndrome.* J Biol Chem 2004; 279(29): 30490-7.
45. Nagy HM, Paar M, Heier C, Moustafa T, Hofer P, Haemmerle G, et al. *Adipose triglyceride lipase activity is inhibited by long-chain acyl-coenzyme A.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Biol Lipid 2014; 1841(4): 588-94.
46. Yang X, Lu X, Lombès M, Rha GB, Chi Y-I, Guerin TM, et al. *The G 0/G 1 switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase.* Cell metabol 2010; 11(3): 194-205.
47. Schweiger M, Paar M, Eder C, Brandis J, Moser E, Gorkiewicz G, et al. *G0/G1 switch gene-2 regulates human adipocyte lipolysis by affecting activity and localization of adipose triglyceride lipase.* J lipid Res 2012; 53(11): 2307-17.
48. Louche K, Badin P-M, Montastier E, Laurens C, Bourlier V, De Glisezinski I, et al. *Endurance exercise training up-regulates lipolytic proteins and reduces triglyceride content in skeletal muscle of obese subjects.* J Clinical End Metabol 2013; 98(12): 4863-71

Effect of endurance training on protein expression of *CGI-58*, *ATGL* and serum levels of insulin and glucose in streptozotocin-induced diabetic rats

Mohammad Hassan Dashti khavidaki ^{*1}, Mohammad Faramarzi ²,
Akbar Azamian Jazi ², Ebrahim Banitalebi²

Original Article

Introduction: The purpose of this study was Effect of endurance training on protein expression of *CGI-58*, *ATGL* and serum levels of insulin and glucose in streptozotocin-induced diabetic rats.

Methods: 24 male Wistar rats were randomly assigned to three groups of eight, including diabetic group with endurance exercise (D-E), diabetic (D) and healthy control group (Con). After induction of diabetic rats by injection streptozotocin was administered intraperitoneal , endurance exercise was applied for eight weeks, three sessions pre week in diabetic rats. Exercise intensity was equal to a speed of 22-25 m / min. The relative expression of *CGI-58* and *ATGL* protein was measured with western blot technique And Serum insulin and glucose levels were measured with a specialized kit. One-way ANOVA test was performed using SPSS-20 software and at a significance level less than 5%.

Results: Results showed that *ATGL* and *CGI-58* values were significantly different between the three groups ($p < 0.001$). *ATGL* difference between the groups of D-E with Con ($p = 0.001$) and D ($p = 0.001$) was significant. *CGI-58* difference between the groups of D-E with Con ($p = 0.001$) and D ($p = 0.002$) was significant. Also, serum glucose and insulin levels decreased significantly after eight weeks of training ($p < 0.05$).

Conclusion: : It seems that *CGI-58* play a vital role in activating lipolysis by *ATGL* and Increasing in *CGI-58* leads to an increase in *ATGL* and ultimately leads to increased levels of intramuscular triglyceride oxidation and improved insulin resistance.

Keywords: *CGI-58*, *ATGL*, endurance exercise, insulin, glucose

Citation: Dashti khavidaki MH, Faramarzi M, Azamian Jazi A, Banitalebi E. **Effect of endurance training on protein expression of *CGI-58*, *ATGL* and serum levels of insulin and glucose in streptozotocin-induced diabetic rats.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(1): 85-96.

¹Assistant professor in exercise physiology, Payame Noor University, yazd, Iran

²Associate Professor in exercise physiology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09133582186, email: Dashty54@gmail.com