



تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی فزآینده بر بیان پروتئین‌های مؤثر در لیپولیز بافت عضله اسکلتی موش‌های صحرایی تغذیه شده با محلول ساکاروز

آرش خدامرادی^{۱*}، الهه طالبی گرکانی^۲، فرشته میر محمد رضایی^۲، رزیتا فتحی^۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۵

چکیده

هدف: انرژی مازاد بدن به صورت تری‌آسیل‌گلیسرول (TAG) در بافت چربی اندام‌های مختلف ذخیره می‌شود. به منظور کاهش ذخایر چربی، باید استفاده از آن‌ها برای تولید انرژی افزایش یابد. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی فزآینده و مصرف محلول ساکاروز بر بیان پروتئین‌های مؤثر در لیپولیز بافت عضله اسکلتی موش‌های صحرایی بود.

روش‌شناسی: ۳۲ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (۶-۸ هفته‌ای)، ابتدا به طور تصادفی به ۲ گروه تغذیه شده با و بدون مصرف محلول ساکاروز ۳۰ درصد تقسیم و پس از ۴ هفته هر یک از گروه‌ها به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت ۸ هفته تمرین مقاومتی به روش فزآینده (بالا رفتن از نردبان) را ۳ روز در هفته انجام دادند. دو روز پس از آخرین جلسه تمرینی نمونه برداری انجام شد. مقدار پروتئین لیپاز حساس به هورمون (HSL)، گیرنده‌ی کبدی ایکس-آلفا ($LXR\alpha$) و پری‌لیپین عضله‌ی خم کننده بزرگ انگشتان (FHL) به روش وسترن بلات اندازه‌گیری شد. جهت تعیین معنادار بودن تفاوت بین متغیرها و تعامل بین آنها از تحلیل واریانس دوطرفه در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ استفاده شد.

یافته‌ها: سطوح پروتئین HSL و پری‌لیپین در آزمودنی‌های گروه تمرین در مقایسه با کنترل افزایش ($P < 0.01$)، اما سطح $LXR\alpha$ بدون تغییر بود. تأثیر مصرف محلول ساکاروز به تنهایی و همچنین تعامل بین مصرف محلول ساکاروز و تمرین مقاومتی فزآینده بر بیان پروتئین‌های مذکور در بافت عضله معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش بیانگر آن است که اگرچه ۸ هفته تمرین مقاومتی فزآینده موجب افزایش معنادار بیان برخی از پروتئین‌های درگیر در لیپولیز شد، لیکن این تغییرات وابسته به مصرف محلول ساکاروز نمی‌باشد.

واژگان کلیدی: تمرین مقاومتی فزآینده، لیپولیز، لیپاز حساس به هورمون، پری‌لیپین، گیرنده‌ی X کبدی-آلفا.

۱. دانشجوی دکتری بیوشیمی و متابولیسم ورزشی، ۲. دانشیار دانشگاه مازندران، ۳. استادیار دانشگاه مازندران

*نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: a.khodamoradi@stu.umz.ac.ir

مقدمه

انرژی مازاد به صورت تری آسیل گلیسرول^۱ (TAG) در قطرات چربی^۲ (LDs) بافت چربی پستانداران ذخیره می‌شود، ذخایر TAG، زمانی که انرژی ذخیره شده مورد نیاز باشد، نظیر شرایط گرسنگی و ورزش جهت هیدرولیز شدن برای تامین اسیدهای چرب (FAs) بافت‌های مختلف توسط فرآیندی به نام لیپولیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین، استرس‌های فیزیولوژیکی نظیر تمرین ورزشی باعث کاهش چربی از طریق فعال شدن لیپولیز در بافت چربی (به حرکت درآمدن چربی‌ها) و اکسیداسیون اسید چرب در عضلات (مصرف چربی) می‌شوند. با این وجود، مکانیسم‌های ملکولی درگیر در فرآیند اثر تمرین ورزشی بر سوخت و ساز چربی کاملاً شناخته نشده است (۲۴).

یکی از مهمترین آنزیم‌هایی که لیپولیز بافت چربی را تنظیم می‌کند لیپاز حساس به هورمون (HSL) است. HSL و تری گلیسرید لیپاز بافت چربی (ATGL) در تنظیم کامل لیپولیز به صورت مکمل عمل می‌کنند (۳۸). فعالیت HSL به وسیله فسفوریلاسیون در حداقل پنج جایگاه سرین تنظیم می‌شود (۳۵)، چهار تا از این موارد در HSL فسفوریله شده عضلات اسکلتی انسان یافت می‌شوند (۳۱). HSL و ATGL به عنوان اصلی‌ترین تنظیم کننده‌های لیپولیز، با تحریک کاتکولامین‌ها فعال می‌شوند (۴).

فراوان‌ترین پروتئین‌های وابسته به قطرات چربی که سطح آنها را می‌پوشانند، پری‌لیپین‌ها هستند (۱۴). پری‌لیپین نقش دوگانه‌ای در تنظیم لیپولیز سلولهای چربی بر عهده دارد. در شرایط

سیری، زمانی که جریان انسولین باعث افزایش ذخایر تری‌آسیل گلیسرول در سلول‌های چربی می‌شود، پری‌لیپین A به شکل یک حفاظ در سطح قطرات چربی برای محدود کردن دسترسی لیپازهای سیتوزولیک به قطرات چربی عمل می‌کند (۳۶). بنابراین، ذخایر تری‌آسیل گلیسرول در سطح بسیار کمی از روند لیپولیز پایه در دسترس قرار می‌گیرد. زمانی که کاتکولامین‌ها و اکنشای آبخاری سیگنالینگ گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک را فعال می‌کنند، لیپاز حساس به هورمون فسفوریله شده توسط پروتئین کیناز A^۳ (PKA) به سطوح قطرات چربی دسترسی پیدا می‌کنند، جایی که منابع چربی به پری‌لیپین A فسفوریله شده توسط PKA متصل می‌شود (۳۶).

گیرنده‌های کبدی ایکس^۴ (LXRs)، از جمله فاکتورهای رونویسی فعال شونده توسط لیگاند متعلق به ابر خانواده گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای هستند، که در فرآیندهای متابولیسم سلولی، تکثیر سلولی، تمایز و پاسخ ایمنی درگیرند (۵). LXR یک تنظیم کننده اصلی متابولیسم لیپید و کربوهیدرات در انسان و موش می‌باشد (۳۴). اخیراً نشان داده شده است که فعال شدن LXR باعث تنظیم مصرف سوخت سلولی در سلولهای چربی می‌شود. در مقابل، نقش LXR در لیپولیز سلول‌های چربی در انسان، مشخص نشده است (۳۴). نشان داده شده است که بیان و جای‌گذاری پری‌لیپین^۱ (PLIN1) و HSL داخل سلولی تحت تأثیر آگونیست GW3965 گیرنده کبدی X قرار می‌

3. Protein kinase A
4. Liver X Receptors (LXRs)

1. Triacylglycerol (TAG)
2. Lipid Droplets

شرایط کاهش می‌یابد (۱۸). دلیل کاهش بیان پروتئین‌های درگیر در لیپولیز بافت چربی ناشی از اثرات سرکوب‌گر انسولین بر بیان mRNA HSL و ATGL می‌باشد، در واقع بیان این پروتئین‌ها در بافت چربی آزمودنی‌های با نقص گیرنده انسولین افزایش می‌یابد و این نشان دهنده رابطه منفی بین انسولین و بیان HSL و ATGL می‌باشد. در موش‌های فاقد ژن پری-لیپین^۳ نیز بافت چربی به شدت کاهش می‌یابد و این موش‌ها مستعد مقاومت به انسولین می‌شوند (۳۶).

نشان داده شده است که فعالیت بدنی منظم سودمندی‌های بسیاری نظیر افزایش حساسیت انسولینی، کنترل قندخون، کاهش وزن و درصد چربی بدن، فشار خون و ابتلا به بیماری قلبی-عروقی دارد. در این بین تمرینات مقاومتی با تأثیر بر افزایش مصرف گلوکز و هیپرتروفی ناشی از انقباض‌های عضلانی موجب شده که به عنوان ابزاری درمانی برای بهبود تعدادی از بیماری‌ها، موثر دانسته شود (۱۷). تمرینات مقاومتی مناسب، همانند تمرینات هوازی، موجب افزایش حساسیت انسولینی، کاهش سطوح پایه سایتوکین‌ها، افزایش هزینه کرد انرژی و بهبود کیفیت زندگی می‌شود (۷). فعالیت بدنی توانایی عضلات را برای سوخت و ساز چربی‌ها ارتقاء می‌دهد. این تأثیر به وسیله فعال شدن تعدادی از آنزیم‌های درگیر در عضلات اسکلتی که برای سوخت و ساز لیپیدها ضروری هستند میانجی‌گری می‌شود. در موش‌های صحرایی چاق با ارائه رژیم پرچرب، تأثیرات هر دو ورزش حاد و مزمن به منظور بهبود عملکرد انسولین، حساسیت و ظرفیت سیگنالینگ در عضله، کبد و

گیرد. اگر چه فعال شدن LXR وضعیت فسفوریلاسیون HSL را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد، اما فعالیت HSL برای اثر لیپولیتیک GW3965 مورد نیاز است (۳۴). علاوه بر این، نشان داده شده است که LXR پس از فعال شدن، به مناطق پروگزیمال^۱ پروتئین PLIN1 و HSL متصل می‌شود. LXR α اصلی‌ترین ایزوفرم میانجی‌گر اثرات مرتبط با لیپولیز LXR می‌باشد. فعال شدن LXR α لیپولیز پایه سلول-های چربی در انسان را تنظیم مثبت می‌کند. در نهایت، LXR از طریق متصل شدن به PLIN1 بیان آن را تنظیم منفی می‌کند (۳۴).

مقاومت به انسولین در نتیجه از بین رفتن حساسیت بافت‌ها به آثار طبیعی انسولین ایجاد می‌شود. در حالت مقاومت به انسولین ممکن است کاهش اثر پیغام رسانی انسولین در کبد و روده نقش اساسی در تولید بیش از حد لیپوپروتئین‌ها داشته باشد. مطالعات با موش-هایی که فاقد گیرنده انسولین در بافت عضله بودند نشان دهنده کاهش فسفوریلاسیون گیرنده انسولین، کاهش پیغام رسانی این گیرنده و اختلال عملکرد انسولین در این بافت بوده است (۲۱)، اما این موش‌ها دچار مقاومت به انسولین یا هیپرگلیسمی مزمن نشدند. در مقابل، موش-های فاقد گیرنده‌های انسولین در کبد، مقاومت شدید به انسولین و عدم تحمل گلوکز را بروز دادند (۲۳). در مطالعه جاکن^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان پروتئین‌های HSL و ATGL در شرایط مقاومت به انسولین در بافت چربی افراد چاق مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیان پروتئین‌های مذکور تحت این

1. Proximal Regions
2. Jocken

بافت چربی شناخته شده است (۲۸). به نظر می‌رسد، شناخت عوامل تنظیم کننده متابولیسم اسیدهای چرب بافت عضلانی در طی ورزش خصوصاً در شرایط متابولیک از جمله مقاومت به انسولین برای درک کنترل سیستمیک متابولیک و همچنین پیامدهایی برای فهم پاتوژنز چاقی و بیماریهای همراه مرتبط با آن مهم است. لذا این تحقیق با توجه به ارتباط بین تمرینات مقاومتی با هزینه کرد و سوخت‌وساز انرژی و نیز نامشخص بودن تغییرات پروتئین‌های دخیل در لیپولیز بافتی در شرایط مقاومت به انسولین و همچنین در پاسخ به فعالیت مقاومتی فزاینده تدوین گردید تا به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین مقاومتی فزاینده و مصرف محلول ساکاروز بر تغییرات پروتئین‌های منتخب دخیل در لیپولیز موش‌های صحرایی بپردازد.

روش پژوهش

آزمودنی‌ها

در این پژوهش ۳۲ سر موش صحرایی نر از نژاد ویستار (شش تا هشت هفته‌ای، با میانگین وزن $110.3 \pm 158/94$ گرم) مورد استفاده قرار گرفت. این حیوانات از مرکز پژوهش و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهران خریداری و در قفس‌های پلی‌کربنات و در شرایط کنترل شده در محیطی با میانگین دمای 22 ± 2 درجه-ی سانتی‌گراد و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت با دسترسی آزاد به آب و غذای ویژه‌ی موش نگهداری شدند. آن‌ها پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید و نحوه‌ی تمرین به طور تصادفی به ۲ گروه تغذیه شده با محلول ساکارز ۳۰ درصد و آب تقسیم

شدند. برای درست کردن محلول ۳۰ درصدی، ۷ لیتر آب را با ۳ کیلوگرم شکر محلول و در ظرف‌های آب قرار داده شده بود و موش‌ها دسترسی آزاد داشتند (۳۰). مدت زمان مصرف محلول ساکاروز در کل ۱۲ هفته بود. پس از ۴ هفته مصرف محلول ساکاروز هر یک از گروه‌ها به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند (در کل ۴ گروه؛ کنترل ($n=8$)، کنترل-ساکاروز ($n=8$)، تمرین ($n=8$) و تمرین-ساکاروز ($n=8$). حیوانات در گروه تجربی یک دوره تمرین مقاومتی با بار فزاینده (قدرتی) را برای ۸ هفته انجام دادند. تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از نردبان (طول ۱ متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله و ۲ سانتی‌متر فضای بین هر پله) بود که با اضافه کردن وزنه به دم موش‌ها انجام می‌شد. تمرینات ۳ روز در هفته و یک روز در میان بود. پیش از شروع برنامه تمرین (هفته دوم)، به منظور آشناسازی با نحوه اجرای پروتکل تمرینی ۴ روز و به مدت ۴۵ دقیقه بدون وزنه، تمرین بالا رفتن از نردبان به حیوانات آموزش داده شد. به منظور کاهش استرس از شوک الکتریکی، فشار هوا، آب سرد و یا پاداش و محرومیت غذایی استفاده نشد و به منظور تحریک جهت انجام تمرینات تنها از لمس کردن و مالیدن دم استفاده شد. به منظور هم‌سان‌سازی استرس ناشی از مواجهه با آزمون-گر، حیوانات گروه کنترل در زمان معینی توسط آزمون‌گر جابه‌جا و لمس می‌شدند.

پروتکل تحقیق

مرحله اول (مرحله آشنایی): در مرحله سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش‌ها به مدت ۴ هفته، ۳ روز در هفته (هر جلسه ۴ الی ۵ تکرار با استراحت ۲ دقیقه‌ای بین تکرارها)، با نحوه بالارفتن از نردبان بدون حمل وزنه آشنا شدند که در این مرحله نیز به هیچ وجه از شوک الکتریکی یا تحریک دیگری استفاده نشد. لازم به ذکر است که موش‌ها در طول این ۴ هفته با استفاده از محلول شکر ۳۰ درصد مقاوم به انسولین شدند.

مرحله دوم (مرحله اضافه بار): این مرحله از تمرین بعد از مرحله ۴ هفته‌ای القای مقاوم به انسولینی آزمودنی‌ها بود، برنامه تمرینی با بار معادل ۵۰٪ وزن بدن حیوانات شروع شد. این وزنه‌ها به قسمت نزدیک به تنه‌ی دم حیوانات متصل می‌شد. حیوانات در دو جلسه اول ۸ تا ۱۰ تکرار (بالا رفتن از نردبان) که حدود ۴ الی ۶ ثانیه طول می‌کشید را با فواصل استراحت ۲ دقیقه‌ای انجام دادند. در جلسه سوم تمرین، از تکرار دوم به بعد، در هر تکرار ۳۰ گرم وزنه به بار متصل به دم حیوانات اضافه شد. از چهارمین جلسه تمرین تا جلسه آخر، برنامه‌ی تمرینی با باری معادل ۵۰٪ وزن بدن حیوان در تکرار اول شروع و در هر تکرار ۳۰ گرم به وزنه قبلی اضافه می‌گردید. به منظور انجام مراحل گرم کردن و سرد کردن، ۲ بار بالا رفتن از نردبان بدون وزنه، پیش و پس از هر جلسه تمرین انجام می‌شد. چنانچه با افزایش وزنه‌های ۳۰ گرمی حیوان قادر به بالا رفتن از نردبان نبود، تکرارها با بار قبلی تا ۸ تکرار ادامه می‌یافت (۱۶).

نمونه برداری بافت‌ها

به منظور از بین بردن اثر حاد تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه‌گیری انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین^۱ (۷۰ mg/kg) و زایلازین^۲ (۳ mg/kg) -۵ بی‌هوش شدند. نمونه‌برداری از بافت عضله خم کننده بزرگ انگشتان^۳ (FHL) انجام شد که پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک در تیوپ‌های مخصوص قرار داده و سپس در نیتروژن مایع منجمد گردید. برای اندازه‌گیری میزان بیان پروتئین‌ها در بافت مورد نظر از روش وسترن بلات، با استفاده از آنتی بادی‌های اختصاصی پری‌لیپین (Anti-Perilipin A antibody)، لیپاز حساس به هورمون (abcam Anti-Hormone sensitive lipase antibody)، و گیرنده کبدی X آلفا (abcam Anti-LXR) و آنتی بادی Actin (alpha antibody abcam) شرکت abcam استفاده شد. جهت آماده‌سازی بافت‌ها در ابتدا میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بافت با ترازوی سارتریوس با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم وزن شده و در یک میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی ۱۰۰ میلی مولار و اسیدیته ۷/۴ و دارای کوکتل آنتی پروتئاز توسط دستگاه هوموژنایزر، هوموژنیزه شد. لازم به ذکر است به منظور جلوگیری از خطای گذاشت و برداشت در مرحله وزن کردن نمونه‌ها، از نسبت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر استفاده شد مثلاً اگر وزن بافت ۱۱۰ میلی‌گرم بود به جای برداشت ۱۰ میلی-گرم از بافت حجم بافر از یک میلی‌لیتر به ۱/۱ میلی‌لیتر افزایش یافت. نکته دوم اینکه کوکتل آنتی پروتئاز تهیه شده از کمپانی گولدیو آمریکا

1. Ketamine
2. Xylazine
3. Flexor Hallucis Longus

باند‌های مربوط به پروتئین‌ها که آنتی بادی به آنها اتصال یافته به روش کمی لومینسنت بر روی فیلم رادیوژی ظاهر شدند. در نهایت باند‌های پروتئینی توسط برنامه Image J کمی شدند.

روش آماری

جهت تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه‌ی بین گروه‌ها، پس از تایید توزیع طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، برای مقایسه‌ی تغییرات بین متغیرها و تعامل آنها از تحلیل واریانس دوطرفه استفاده شد. یافته‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P \leq 0.05$) بررسی و برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نیز از نرم افزار SPSS Statistics نسخه ۲۴ استفاده گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند.

یافته‌های پژوهش

وزن اولیه، وزن پایانی و تغییرات وزن موش‌های صحرایی چهار گروه (کنترل، تمرین، کنترل تغذیه شده با ساکاروز و تمرین تغذیه شده با ساکاروز) در جدول ۱ آورده شده است.

طبق توصیه کمپانی سازنده با بافر هموژنیزه کننده به نسبت ۱:۵۰ آماده شد به عبارتی ۹.۸ میلی‌لیتر بافر با ۲/۰ میلی‌لیتر استوک آنتی پروتئاز مخلوط شد. بافت‌های هموژنیزه با سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت نیم ساعت با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتریفیوژ و از محلول فوقانی جهت الکتروفورز و وسترن بلات استفاده شد. جهت نورمالایز کردن نتایج علاوه بر سنجش میزان پروتئین در نمونه‌های هموژنیزه با کیت برادفورد کمپانی زلیبو آلمان از سنجش باند بتا اکتین و بیان نسبت دانسیته باند نمونه‌ها به دانسیته بتا اکتین در همان نمونه استفاده شد.

آنالیز وسترن بلات

برای انجام تست وسترن بلات از ژل پلی آکریل آمید استفاده شد. بعد از الکتروفورز، پروتئین‌ها از ژل به کاغذ PVDF منتقل شده و کاغذ PVDF پس از پایان انتقال پروتئین‌ها برای ۱ ساعت در محلول بلاکینگ قرار گرفت. سپس جهت بررسی میزان بیان پروتئین‌ها کاغذ PVDF یک شب در آنتی بادی اولیه اختصاصی هر پروتئین در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و پس از شستشو با محلول TBST با آنتی بادی ثانویه کنژوگه با آنزیم پراکسیداز به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه گردید. سپس

جدول ۱. وزن موش‌های صحرایی قبل و پس از ۸ هفته تمرین مقاومتی فزاینده.

متغیر	کنترل	کنترل-ساکاروز	تمرین	تمرین-ساکاروز
وزن اولیه (گرم)	۱۶۰±۹	۱۵۹±۸	۱۵۸±۸	۱۵۸±۸
وزن پایانی (گرم)	۳۳۷±۲۵	۳۴۴±۳۳	۳۵۱±۲۱	۳۲۰±۲۴
تغییر وزن (گرم)	۱۷۷±۱۸	۱۸۵±۳۱	۱۹۳±۲۰	۱۶۲±۲۳

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان شده‌اند. تغییر وزن = وزن اولیه - وزن پایانی. به طور کلی تفاوت معناداری در هیچ یک از متغیرها بین گروه‌ها مشاهده نشد.

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان می-دهد. مقادیر وزن اولیه، پایانی و همچنین سطوح تغییرات وزن بین هیچکدام از گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت.

ظرفیت حمل بیشینه گروه‌های تمرینی

همه موش‌های صحرایی در گروه تمرین توانستند ۸ هفته تمرین مقاومتی با بار فزآینده را انجام دهند. این برنامه‌ی تمرینی موجب افزایش تقریباً ۸۲ درصدی در ظرفیت حمل بیشینه‌ی گروه تمرین تغذیه شده با غذای نرمال حیوانات از ابتدای هفته سوم (گرم $443/75 \pm 67/5$) تا آخرین جلسه تمرینی (گرم

1190 ± 30) و یک افزایش تقریباً ۷۴ درصدی در ظرفیت حمل بیشینه گروه تمرین تغذیه شده با ساکاروز از ابتدای هفته سوم (گرم $415/73 \pm 65/83$) تا آخرین جلسه تمرینی (گرم $1057/16 \pm 14/16$) شد. ظرفیت حمل بیشینه جلسه آخر گروه تمرین تغذیه شده با غذای نرمال بیانگر میانگین باری معادل با ۳۰ $\pm 336/15$ درصد وزن بدنی حیوانات بود. ظرفیت حمل بیشینه جلسه آخر گروه تغذیه شده با ساکاروز بیانگر میانگین باری معادل با $14/16 \pm 316/51$ درصد وزن بدنی حیوانات بود

جدول ۲. میزان بیان پروتئین‌های HSL، Perilipin و LXR α در بافت عضله در گروه‌های مختلف.

گروه‌ها	کنترل	کنترل-ساکاروز	تمرین	تمرین-ساکاروز
HSL	$0/99 \pm 0/06$	$0/95 \pm 0/05$	$1/51 \pm 0/12$ ##	$1/49 \pm 0/13$ ##
Perilipin	$0/99 \pm 0/04$	$0/99 \pm 0/11$	$1/34 \pm 0/08$ ##	$1/35 \pm 0/11$ ##
LXR α	$1/02 \pm 0/10$	$1/01 \pm 0/04$	$1/02 \pm 0/07$	$1/05 \pm 0/07$

تمامی داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده‌اند، (واحد اندازه‌گیری میلی واحد بر میلی-گرم پروتئین (mU/mg protein)). * در مقایسه با گروه کنترل، # $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل-ساکاروز، $P < 0.05$

مقدار متغیرهای اندازه‌گیری شده در بافت عضله

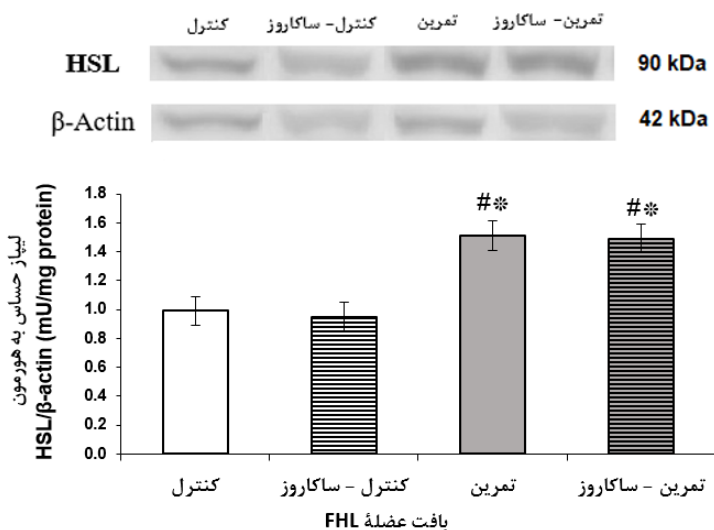
میزان بیان پروتئین‌های HSL، Perilipin و LXR α در بافت عضله در گروه‌های مختلف آزمودنی در جدول ۲ نشان داده شده است. بالاترین میزان بیان پروتئین HSL در گروه تمرین دیده شد و درصد افزایش گروه تمرین نسبت به کنترل و گروه تمرین-ساکاروز نسبت به کنترل-ساکاروز به ترتیب $34/44$ و $36/24$ درصد بود. بیشترین میزان بیان پری‌لیپین در

گروه تمرین-ساکاروز مشاهده شد و درصد افزایش پری‌لیپین بافت عضله در گروه تمرین-ساکاروز نسبت به کنترل-ساکاروز و گروه تمرین نسبت به کنترل به ترتیب $26/66$ و $26/12$ درصد بود. میزان بیان پروتئین LXR α عضله در گروه‌های مختلف آزمودنی اختلاف چندانی با هم نداشت، به عنوان مثال میزان بیان این پروتئین در گروه تمرین نسبت به کنترل بدون تغییر و در گروه تمرین-ساکاروز نسبت به کنترل-ساکاروز $1/03$ درصد افزایش یافت.

میزان بیان پروتئین لیپاز حساس به هورمون (HSL) در بافت عضله

تجزیه و تحلیل یافته‌های تحقیق نشان داد که میزان بیان پروتئین HSL در بافت عضله در گروه تمرین پس از اجرای تمرین مقاومتی فزاینده در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت ($P=0/001$) و

($F=199/14$). با این وجود، اثر تعاملی مصرف محلول ساکاروز و تمرین معنادار نبود ($P=0/70$) و ($F=0/15$)، همچنین میزان بیان پروتئین HSL بافت عضله در پاسخ به مصرف محلول ساکاروز تغییر معناداری نداشت ($P=0/43$) و ($F=0/63$)، (نمودار ۱).



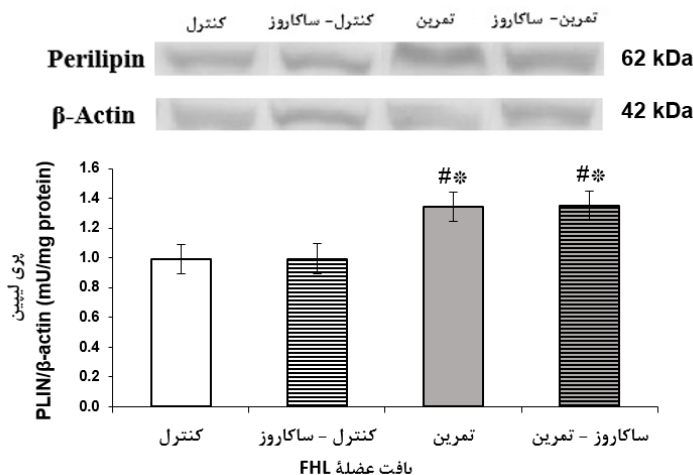
نمودار ۱. تغییرات در بیان پروتئین HSL بافت عضله FHL در گروه‌های مختلف آزمودنی.

* نشانگر تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین-ساکاروز و تمرین نسبت به گروه کنترل، # نشانگر تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین-ساکاروز و تمرین نسبت به گروه کنترل-ساکاروز. باند پروتئین HSL با نرم افزار Image J کمی شده و نسبت به باند β-actin و کنترل محاسبه گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین (± انحراف معیار) نشان داده شده اند، ($P<0.01$).

میزان بیان پروتئین پری‌لیپین در بافت عضله

نتایج آماری به دست آمده در رابطه با اثر تمرین مقاومتی فزاینده بر بیان پری‌لیپین بافت عضله FHL نشان داد که میزان بیان این پروتئین در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری دارد و این نوع تمرین سبب افزایش معناداری در میزان بیان این پروتئین شده است

($P=0/001$ و $F=106/68$). با این وجود، اثر تعاملی مصرف محلول ساکاروز و تمرین بر میزان بیان پروتئین پری‌لیپین معنادار نبود ($P=0/9$) و ($F=0/002$). از طرفی، بیان پروتئین پری‌لیپین بافت عضله در پاسخ به مصرف محلول ساکاروز به تنهایی تغییر معناداری نداشت ($P=0/8$) و ($F=0/02$)، (نمودار ۲).



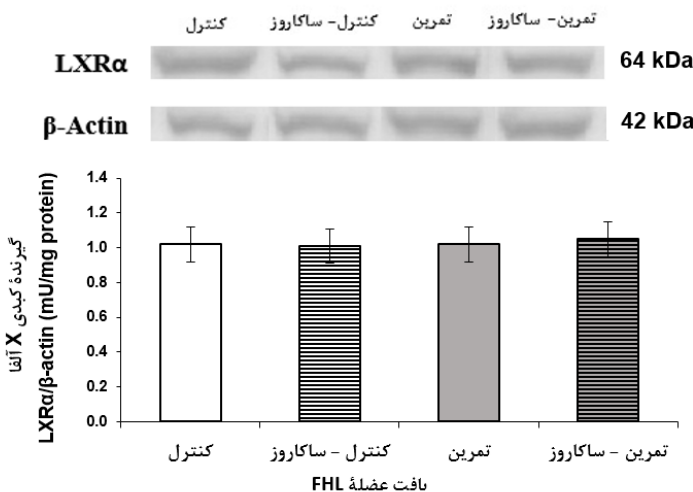
نمودار ۲. تغییرات در بیان پروتئین پری لیپین بافت عضله FHL در گروه‌های مختلف آزمودنی.

* نشانگر تفاوت معنادار بین گروه‌های تمرین-ساکاروز و تمرین نسبت به گروه کنترل، # نشانگر تفاوت معنادار بین گروه تمرین و تمرین-ساکاروز نسبت به گروه کنترل-ساکاروز. باند پروتئین پری لیپین با نرم افزار Image J کمی شده و نسبت به باند β-actin و کنترل محاسبه گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین (± انحراف معیار) نشان داده شده اند، ($P < 0.001$).

میزان بیان پروتئین گیرنده کبدی X آلفا (LXRα) در بافت عضله

همچنین میزان بیان این پروتئین در پاسخ به مصرف محلول ساکاروز ($P = 0.06$ و $F = 0.25$) و تمرین مقاومتی ($P = 0.05$ و $F = 0.36$) تغییر معناداری نداشت (نمودار ۳).

نتایج حاصل از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد اثر تعاملی مصرف محلول ساکاروز و تمرین بر بیان پروتئین گیرنده X کبدی آلفا بافت عضله FHL معنادار نیست ($P = 0.04$ و $F = 0.68$).



نمودار ۳. تغییرات در بیان پروتئین LXRα بافت عضله FHL. در گروه‌های مختلف آزمودنی باند پروتئین LXRα با نرم افزار Image J کمی شده و نسبت به باند β-actin و کنترل محاسبه گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین (± انحراف معیار) نشان داده شده‌اند.

محلول ساکاروز و نیز تعامل بین تمرین و مصرف ساکاروز معنادار نبود.

لیپولیز در آزمودنی‌های سالم به شدت حساس به عمل انسولین می‌باشد (۲). با این وجود، تنظیم هورمونی لیپولیز در چاقی و مقاومت به انسولین هنوز به طور کامل مشخص نشده است. در رابطه با انسولین، افزایش، بدون تغییر و حتی کاهش اثرات آن‌تی لیپولیتیک گزارش شده است (۲). لیپولیز و آزادسازی FFA از بافت چربی به طور معمول در چاقی افزایش می‌یابد (۳۳). به عنوان مثال در تحقیق تیناهونز^۱ و همکاران (۲۰۱۰)، بیان ATGL و HSL به طور کلی در بیماران چاق مستقل از مقاومت به انسولین افزایش یافت (۳۷). همان‌طور که قبلاً اشاره شد HSL به عنوان اولین لیپاز مسئول هیدرولیز

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های اصلی در تحقیق حاضر شامل: (۱) بیان پروتئین HSL بافت عضله FHL در موش‌های صحرایی بطور معناداری بعد از ۸ هفته تمرین مقاومتی فزاینده افزایش یافت، (۲) HSL در پاسخ به مصرف محلول ساکاروز به تنهایی تغییر معناداری نداشت، همچنین تعامل بین مصرف محلول ساکاروز و تمرین مقاومتی فزاینده تأثیر معناداری بر HSL نداشت، (۳) پری‌لیپین در پاسخ به تمرین مقاومتی به طور معناداری افزایش یافت، (۴) در مقابل تأثیر مصرف ساکاروز و تعامل تمرین مقاومتی و مصرف ساکاروز بر پری لیپین عضله معنادار نبود، (۵) LXRα بافت عضله در پاسخ به تمرین مقاومتی، مصرف

و فسفوریلایسیون HSL در سرین ۵۶۵ کاهش یافت، که نشان دهنده افزایش فعالیت پایه این لیپاز می باشد (۱).

مکانیسم‌های مسئول فعال شدن HSL ناشی از انقباض عضله اسکلتی هنوز درک نشده است. مطالعات انجام شده در رده‌های مختلف سلولی، نشان داده است که فسفوریلایسیون HSL⁵⁶³، Ser⁶⁵⁹ و Ser⁶⁶⁰ توسط پروتئین کیناز وابسته به cAMP انجام می‌شود که اثر مثبتی بر فعالیت HSL دارد (۳، ۳۲). وجود این مکانیسم در عضلات اسکلتی نیز با مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که اپی نفرین فعالیت‌های HSL عضلات اسکلتی را در حالت استراحت و در طول انقباض افزایش می‌دهد (۲۰، ۴۰). در نتیجه، افزایش در سطوح اپی‌نفرین گردش خون دیده شده در ورزش ممکن است تا حدی توضیح دهد که چرا HSL عضله اسکلتی در طول ورزش فعال می‌شود. با این حال، هنوز مشخص نیست که کدامیک از مکان‌های PKA در میانجی‌گری اثر اپی‌نفرین بر فعالیت HSL در عضلات اسکلتی در طی ورزش مهمتر است.

در مورد عضلات، انولدسن^۴ و همکاران هیچ تفاوتی در میزان فعالیت HSL عضلات بین موش‌های تمرین کرده و بی‌تمرین پیدا نکردند (۱۲). با توجه به نتایج تحقیقات مختلف می‌توان گفت که شدت تمرین نقش تعیین‌کننده‌ای در فعال کردن پروتئین‌های درگیر در لیپولیز دارد (۱۲)، یکی از دلایل ناهم‌سویی تحقیق حاضر با نتیجه تحقیق انولدسن و همکاران احتمالاً تفاوت در ماهیت تمرین دو تحقیق، تمرین مقاومتی فزآینده در برابر تمرین شنا می‌باشد، که مکانیسم احتمالی آن را می‌توان به این نسبت

تری آسپیل گلیسرول داخل سلولی (IMTG) در نظر گرفته می‌شود. این نظریه به وسیله یافته‌هایی هم در موش و هم در عضلات اسکلتی انسان تأیید می‌شود. موش‌های فاقد HSL ظرفیت تمرین پایینی در نتیجه کمبود بکارگیری FA دارند. این نشان دهنده اهمیت HSL در طی تمرینات زیر بیشینه می‌باشد (۱۳). نشان داده شده است که تمرینات ورزشی موجب افزایش بیان HSL در بافت چربی زیر جلدی (SCAT^۱) موش می‌شود (۲۹). و فسفوریلایسیون HSL در طی تمرین ورزشی در SCAT تنظیم مثبت می‌شود (۳۹). و نشان دهنده این است که تمرین ورزشی به طور مشخص، موجب تحریک گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک و در نتیجه باعث افزایش فسفوریلایسیون HSL به ویژه در مکان‌های سرین ۵۶۳ و ۶۶۰ می‌شود، که همراه با افزایش در لیپولیز SCAT است (۲۹). در مطالعه نومورا^۲ و همکاران (۲۰۰۲) مکانیسم‌های احتمالی که توسط آن لیپولیز بافت چربی در موش‌های تمرین کرده افزایش می‌یابد، مورد بررسی قرار گرفت. پروتکل تمرینی شامل دویدن روی تردمیل ۵ روز در هفته و برای مدت ۹ هفته بود. نتایج نشان داد که فعالیت PKA و HSL افزایش می‌یابد (۲۵). در تحقیقی دیگر آلستد^۳ و همکاران به بررسی تأثیر ۸ هفته تمرینات ورزشی استقامتی بر روی ATGL و HSL در عضلات اسکلتی ۱۰ مرد جوان سالم پرداختند. نتایج نشان داد که فسفوریلایسیون HSL در سرین ۶۶۰ افزایش می‌یابد، فسفوریلایسیون HSL در سرین ۶۵۹ بدون تغییر

1. Subcutaneous Adipose Tissue
2. Nomura
3. Alsted

داد که تمرینات مقاومتی موجب افزایش بیشتر سطوح کاتکولامین‌های پلاسما می‌گردد، که به نوبه خود، باعث تحریک هیدرولیز قطرات چربی در سلولهای چربی برای آزاد کردن اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول برای فراهم نمودن سوخت برای سوخت و ساز بدن می‌شود. به صورت گسترده پذیرفته شده است که فعال شدن PKA وابسته به cAMP موجب تجمع cAMP داخل سلولی می‌شود که به عنوان اصلی‌ترین مکانیسم سیگنالینگ شناخته شده و موجب تحریک هورمونی لیپولیز که در سلول‌های چربی از طریق انتقال سیگنال واسطه توسط گیرنده-های β_1 , β_2 و β_3 -آدرنرژیک (AR) اتفاق می‌افتد، می‌گردد که به عنوان آبشار لیپولیتیک معرفی شده است (۱۵). با این وجود، یافته‌های مطالعات قبلی نشان داده است که بیان تعدادی از گیرنده‌های β_2 -AR سطح سلول ارتباط نزدیکی با تغییرات سطوح cAMP داخل سلولی دارد (۲۷). نتایج مطالعات نشان داد که میزان لیپولیز پایه در موش‌های تمرین کرده نسبت به تمرین نکرده افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد فعالیت HSL و در نتیجه میزان لیپولیز بافت چربی در موش‌های تمرین کرده افزایش می‌یابد که ناشی از افزایش فسفوریلاسیون cAMP وابسته به PKA می‌باشد (۲۶).

در تحقیق حاضر، HSL در پاسخ به مصرف ساکاروز تغییر معناداری نداشت و نیز تعامل بین مصرف محلول ساکاروز و تمرین مقاومتی فرآینده معنادار نبود. در مطالعه جاکن^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داده شد که بیان پروتئین‌های HSL و ATGL در شرایط مقاومت به انسولین در افراد چاق کاهش می‌یابد

(۱۸). دلیل کاهش بیان پروتئین‌های درگیر در لیپولیز بافت چربی ناشی از اثرات سرکوب‌گر انسولین بر بیان mRNA HSL و ATGL می‌باشد، در واقع بیان این پروتئین‌ها در بافت چربی آزمودنی‌های با نقص انسولین افزایش می‌یابد (۱۸). و این نشان دهنده رابطه منفی بین انسولین و بیان HSL و ATGL می‌باشد. دلیل ناهم‌سویی این نتایج با تحقیق حاضر را شاید می‌توان به اثرات تمرین مقاومتی فرآینده و افزایش ترشح کاتکولامین‌ها و نیز تغییرات اندک در میزان ترشح انسولین و در نهایت اثر ناچیز انسولین بر میزان بیان HSL نسبت داد.

یکی دیگر از یافته‌های تحقیق حاضر این بود که میزان بیان پروتئین پری‌لیپین بافت عضله FHL در پاسخ به مصرف محلول ساکاروز تغییر معناداری نداشت. در تحقیق کورلا^۲ و همکاران (۲۰۰۶) تغییر معناداری در پری‌لیپین سرم آزمودنی‌های مقاوم به انسولین با رژیم غذایی غنی از اسیدهای چرب و کربوهیدرات مشاهده شد (۸). همانطور که قبلاً اشاره شد Perilipin پروتئین غالب در ارتباط با قطرات چربی آدیپوسیت‌هاست و نقش کلیدی در تنظیم ذخیره سازی چربی آدیپوسیت‌ها و تجمع چربی بدن بر عهده دارد (۲۲). ارتباط بین پری‌لیپین، چربی بدن، و مقاومت به انسولین در مدل‌های موش با نقص ژنتیکی بررسی شده است، که نشان دهنده کاهش چربی بدن، افزایش خطر ابتلاء به عدم تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین محیطی می‌باشد (۳۶).

پژوهش‌ها در رابطه با تأثیر ورزش بر بیان ژن LXR محدود است. کته و همکاران^۱ با بررسی تأثیر رژیم غذایی آتروژنیک بر بیان ژن LXR تحت ورزش استقامتی، گزارش کردند که بیان ژن LXR تحت تأثیر تمرین استقامتی قرار نگرفت (۹) که با یافته تحقیق حاضر همسو می‌باشد. کاظمی نسب و همکاران (۱۳۹۱) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که یک مکانیزم مثبت تمرینات استقامتی منظم در بهبود نیمرخ لیپیدی و پیش‌گیری از بیماری‌های قلبی-عروقی، افزایش بیان ژن LXR می‌تواند باشد که باعث خروج کلسترول سلولی می‌شود (۱۹). همچنین در مطالعه‌ای باتچر^۲ و همکاران تأثیر ۸ هفته تمرین با شدت کم را بر بیان ژن LXR لکوسیت بررسی کردند که نتایج، افزایش بیان این ژن را نشان داد (۶).

به طور خلاصه نتایج این پژوهش نشان داد که ۸ هفته تمرین مقاومتی فزآینده موجب افزایش معنادار در میزان پروتئین‌های درگیر در فرآیند لیپولیز از جمله لیپاز حساس به هورمون (HSL) به عنوان یکی از مهمترین آنزیم‌های درگیر در لیپولیز بافت عضله اسکلتی و نیز پری‌لیپین به عنوان اولین هدف برای سیگنالینگ کاتکولامین-ها به منظور هیدرولیز کامل و کارآمد تری‌گلیسیریدها می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر مهدی هدایتی و نیز سرکار خانم دکتر مرجان ظریف یگانه برای انجام روش‌های آزمایشگاهی نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تمرین مقاومتی فزآینده موجب افزایش معنادار در میزان پری‌لیپین بافت عضله می‌گردد. فعالیت جسمانی ممکن است بر روی محتوای پری‌لیپین تأثیرگذار باشد، با این وجود واکنش پری‌لیپین به تمرینات ورزشی مشخص نیست. محتوای پروتئین پری‌لیپین در ذخایر SCAT در موش-های تمرین کرده مشابه موش‌های تمرین نکرده گزارش شده است، با این وجود، پری‌لیپین در بافت چربی زیر پوستی بعد از تمرین ورزشی بالاتر بود (۲۹). عملکرد پری‌لیپین نقشی حیاتی در تعدیل لیپولیز از طریق تنظیم پروتئین‌های لیپولیتیک ایفا می‌کند. اگر چه فعالیت بدنی و تمرین ورزشی برای حفظ تعادل چربی بدن و سلامت متابولیک و قلبی-عروقی استفاده می‌شوند، واکنش پری‌لیپین و پروتئین‌های وابسته به این محرک‌ها نیاز به بررسی دارد (۱۱). در تحقیقی تأثیر فعالیت ورزشی بر روی محتوای پری‌لیپین در عضلات اسکلتی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که بیان این پروتئین افزایش می‌یابد (۱۰) که با نتایج تحقیق حاضر همسو می‌باشد.

از دیگر یافته‌های تحقیق حاضر این بود که میزان بیان $LXR\alpha$ بافت عضله در پاسخ به تمرین مقاومتی، مصرف محلول ساکاروز و نیز تعامل بین تمرین و مصرف ساکاروز تغییر معناداری نداشت. اخیراً به دلیل اثرات قوی ضد آترواسکلروزیس و ضد التهابی LXR، این دسته از گیرنده‌ها موضوع بسیاری از مطالعات قرار گرفته‌اند (۹). در حقیقت، تلاش برای شناخت فعال‌کننده‌های غیر دارویی ژن LXR که یکی از آن‌ها می‌تواند فعالیت بدنی باشد، احتمالاً می‌تواند برای پیشگیری از آترواسکلروز بسیار سودمند و بی‌ضرر باشد. با این وجود،

منابع

1. Abid, A., Taha, O., Nseir, W., Farah, R., Grosovski, M., & Assy, N. (2009). Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *Journal of hepatology*, 51(5), 918-924.
2. Alsted, T. J., Nybo, L., Schweiger, M., Fledelius, C., Jacobsen, P., Zimmermann, R., Zechner, R., & Kiens, B. (2009). Adipose triglyceride lipase in human skeletal muscle is upregulated by exercise training. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 296(3), E445-E453.
3. Amer, P. (1988). Control of lipolysis and its relevance to development of obesity in man. *Diabetes/metabolism reviews*, 4(5), 507-515.
4. Anthonsen, M. W., Rönnstrand, L., Wernstedt, C., Degerman, E., & Holm, C. (1998). Identification of novel phosphorylation sites in hormone-sensitive lipase that are phosphorylated in response to isoproterenol and govern activation properties in vitro. *Journal of Biological Chemistry*, 273(1), 215-221.
5. Anthony, N. M., Gaidhu, M. P., & Ceddia, R. B. (2009). Regulation of Visceral and Subcutaneous Adipocyte Lipolysis by Acute AICAR-induced AMPK Activation. *Obesity*, 17(7), 1312-1317.
6. Bocarsly, M. E., Powell, E. S., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. (2010). High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: increased body weight, body fat and triglyceride levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 97(1), 101-106.
7. Brasaemle, D. L., Rubin, B., Harten, I. A., Gruia-Gray, J., Kimmel, A. R., & Londos, C. (2000). Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 275(49), 38486-38493.
8. Butcher, L. R., Thomas, A., Backx, K., Roberts, A., Webb, R., & Morris, K. (2008). Low-intensity exercise exerts beneficial effects on plasma lipids via PPAR γ . *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 40(7), 1263-1270.
9. Calle, M. C., & Fernandez, M. L. (2010). Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutrition research and practice*, 4(4), 259-269.
10. Caspersen, C. J., & Fulton, J. E. (2008). Epidemiology of walking and type 2 diabetes. *Medicine and science in sports and exercise*, 40(7 Suppl), S519-528.
11. Chen, G.-C., Huang, C.-Y., Chang, M.-Y., Chen, C.-H., Chen, S.-W., Huang, C.-j., & Chao, P.-M. (2011). Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and a sucrose-containing beverage intake, alone or in combination, on inducing metabolic syndrome in Wistar rats and C57BL/6J mice. *Metabolism*, 60(2), 155-164.
12. Corella, D., Qi, L., Tai, E. S., Deurenberg-Yap, M., Tan, C. E., Chew, S. K., & Ordovas, J. M. (2006). Perilipin Gene Variation Determines Higher Susceptibility to Insulin Resistance in Asian Women When Consuming a High-Saturated Fat, Low-Carbohydrate Diet. *Diabetes care*, 29(6), 1313-1319.
13. Côté, I., Sock, E. T. N., Lévy, É., & Lavoie, J.-M. (2013). An atherogenic diet decreases liver FXR gene expression and causes severe hepatic steatosis and hepatic cholesterol accumulation: effect of endurance training. *European journal of nutrition*, 52(5), 1523-1532.
14. Covington, J. D., Galgani, J. E., Moro, C., LaGrange, J. M., Zhang, Z., Rustan, A. C., Ravussin, E., & Bajpeyi, S. (2014). Skeletal muscle perilipin 3 and coatomer

- proteins are increased following exercise and are associated with fat oxidation. *PloS one*, 9(3), e91675.
15. Ducharme, N. A., & Bickel, P. E. (2008). Minireview: lipid droplets in lipogenesis and lipolysis. *Endocrinology*, 149(3), 942-949.
 16. Enevoldsen, L., Stallknecht, B., Langfort, J., Petersen, L., Holm, C., Ploug, T., & Galbo, H. (2001). The effect of exercise training on hormone-sensitive lipase in rat intra-abdominal adipose tissue and muscle. *The Journal of physiology*, 536(3), 871-877.
 17. Eves, N. D., & Plotnikoff, R. C. (2006). Resistance training and type 2 diabetes. *Diabetes care*, 29(8), 1933-1941.
 18. Fernandez, C., Hansson, O., Nevsten, P., Holm, C., & Klint, C. (2008). Hormone-sensitive lipase is necessary for normal mobilization of lipids during submaximal exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 295(1), E179-E186.
 19. Fung, T. T., Malik, V., Rexrode, K. M., Manson, J. E., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2009). Sweetened beverage consumption and risk of coronary heart disease in women. *The American journal of clinical nutrition*, 89(4), 1037-1042.
 20. Greenberg, A. S., Egan, J. J., Wek, S. A., Garty, N. B., Blanchette-Mackie, E., & Londos, C. (1991). Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. *Journal of Biological Chemistry*, 266(17), 11341-11346.
 21. Greenberg, A. S., Egan, J. J., Wek, S. A., Moos, M. C., Londos, C., & Kimmel, A. R. (1993). Isolation of cDNAs for perilipins A and B: sequence and expression of lipid droplet-associated proteins of adipocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(24), 12035-12039.
 22. Holm, C. (2003). *Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis*: Portland Press Limited.
 23. Hornberger Jr, T. A., & Farrar, R. P. (2004). Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Canadian journal of applied physiology*, 29(1), 16-31.
 24. Hu, F. B., & Malik, V. S. (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence. *Physiology & behavior*, 100(1), 47-54.
 25. Irvine, C., & Taylor, N. F. (2009). Progressive resistance exercise improves glycaemic control in people with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Australian Journal of Physiotherapy*, 55(4), 237-246.
 26. Jocken, J. W., Langin, D., Smit, E., Saris, W. H., Valle, C., Hul, G. B., Holm, C., Arner, P., & Blaak, E. E. (2007). Adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase protein expression is decreased in the obese insulin-resistant state. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(6), 2292-2299.
 27. Kawasaki, T., Kashiwabara, A., Sakai, T., Igarashi, K., Ogata, N., Watanabe, H., Ichiyangai, K., & Yamanouchi, T. (2005). Long-term sucrose-drinking causes increased body weight and glucose intolerance in normal male rats. *British journal of nutrition*, 93(5), 613-618.
 28. Kazeminasab, F., Marandi, M., Ghaedi, K., Esfarjani, F., & Moshtaghian, J. (2017). Effects of A 4-Week Aerobic Exercise on Lipid Profile and Expression of LXR α in Rat Liver. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19(1), 45.

29. La Fleur, S., Luijendijk, M., Van Rozen, A., Kalsbeek, A., & Adan, R. (2011). A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *International journal of obesity*, 35(4), 595.
30. Langfort, J., Ploug, T., Ihlemann, J., Saldo, M., Cecilia, H., & Galbo, H. (1999). Expression of hormone-sensitive lipase and its regulation by adrenaline in skeletal muscle. *Biochemical Journal*, 340(2), 459-465.
31. Lauro, D., Kido, Y., Castle, A. L., Zarnowski, M.-J., Hayashi, H., Ebina, Y., & Accili, D. (1998). Impaired glucose tolerance in mice with a targeted impairment of insulin action in muscle and adipose tissue. *Nature genetics*, 20(3), 294-298.
32. Londos, C., Gruia-Gray, J., Brasaemle, D., Rondinone, C., Takeda, T., Dwyer, N., Barber, T., Kimmel, A., & Blanchette-Mackie, E. (1996). Perilipin: possible roles in structure and metabolism of intracellular neutral lipids in adipocytes and steroidogenic cells. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 20, S97-101.
33. Lu, X., Gruia-Gray, J., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., Londos, C., & Kimmel, A. R. (2001). The murine perilipin gene: the lipid droplet-associated perilipins derive from tissue-specific, mRNA splice variants and define a gene family of ancient origin. *Mammalian Genome*, 12(9), 741-749.
34. MacLaren, D., & Morton, J. (2011). *Biochemistry for sport and exercise metabolism*: John Wiley & Sons.
35. Malik, V. S., Schulze, M. B., & Hu, F. B. (2006). Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. *The American journal of clinical nutrition*, 84(2), 274-288.
36. Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Després, J.-P., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes care*, 33(11), 2477-2483.
37. Mattes, R. D., Shikany, J. M., Kaiser, K. A., & Allison, D. B. (2011). Nutritively sweetened beverage consumption and body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized experiments. *Obesity Reviews*, 12(5), 346-365.
38. Michael, M. D., Kulkarni, R. N., Postic, C., Previs, S. F., Shulman, G. I., Magnuson, M. A., & Kahn, C. R. (2000). Loss of insulin signaling in hepatocytes leads to severe insulin resistance and progressive hepatic dysfunction. *Molecular cell*, 6(1), 87-97.
39. Miura, S., Tadaishi, M., Kamei, Y., & Ezaki, O. (2014). Mechanisms of exercise- and training-induced fatty acid oxidation in skeletal muscle. *The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 3(1), 43-53.
40. Nomura, S., Kawanami, H., Ueda, H., Kizaki, T., Ohno, H., & Izawa, T. (2002). Possible mechanisms by which adipocyte lipolysis is enhanced in exercise-trained rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 295(2), 236-242.
41. Ogasawara, J., Sakurai, T., Rahman, N., Kizaki, T., Hitomi, Y., Ohno, H., & Izawa, T. (2004). Acute exercise alters Gai2 protein expressions through the ubiquitin-proteasome proteolysis pathway in rat adipocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 323(3), 1109-1115.
42. Ogasawara, J., Sanpei, M., Rahman, N., Sakurai, T., Kizaki, T., Hitomi, Y., Ohno, H., & Izawa, T. (2006). β -Adrenergic receptor trafficking by exercise in rat adipocytes: roles of G-protein-coupled receptor kinase-2, β -arrestin-2, and the ubiquitin-proteasome pathway. *The FASEB journal*, 20(2), 350-352.

43. Oliveira, A. G., Carvalho, B. M., Tobar, N., Ropelle, E. R., Pauli, J. R., Bagarolli, R. A., Guadagnini, D., Carvalheira, J. B., & Saad, M. J. (2011). Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. *Diabetes*, 60(3), 784-796.
44. Petridou, A., Tsalouhidou, S., Tsalis, G., Schulz, T., Michna, H., & Mougios, V. (2007). Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in rat adipose tissue. *Metabolism*, 56(8), 1029-1036.
45. Ribeiro, R., Lutt, W., Legare, D., & Macedo, M. (2005). Insulin resistance induced by sucrose feeding in rats is due to an impairment of the hepatic parasympathetic nerves. *Diabetologia*, 48(5), 976-983.
46. Richter, E. A., Garetto, L. P., Goodman, M. N., & Ruderman, N. B. (1982). Muscle glucose metabolism following exercise in the rat: increased sensitivity to insulin. *Journal of Clinical Investigation*, 69(4), 785.
47. Rodnick, K. J., Reaven, G. M., Azhar, S., Goodman, M. N., & Mondon, C. E. (1990). Effects of insulin on carbohydrate and protein metabolism in voluntary running rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 259(5), E706-E714.
48. Roepstorff, C., Vistisen, B., Donsmark, M., Nielsen, J. N., Galbo, H., Green, K. A., Hardie, D. G., Wojtaszewski, J. F., Richter, E. A., & Kiens, B. (2004). Regulation of hormone-sensitive lipase activity and Ser563 and Ser565 phosphorylation in human skeletal muscle during exercise. *The Journal of physiology*, 560(2), 551-562.
49. Roepstorff, C., Donsmark, M., Thiele, M., Vistisen, B., Stewart, G., Vissing, K., Schjerling, P., Hardie, D. G., Galbo, H., & Kiens, B. (2006). Sex differences in hormone-sensitive lipase expression, activity, and phosphorylation in skeletal muscle at rest and during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 291(5), E1106-E1114.
50. Saha, P. K., Kojima, H., Martinez-Botas, J., Sunehag, A. L., & Chan, L. (2004). Metabolic Adaptations in the Absence of Perilipin increased β -oxidation and decreased hepatic glucose production associated with peripheral insulin resistance but normal glucose tolerance in perilipin-null mice. *Journal of Biological Chemistry*, 279(34), 35150-35158.
51. Sánchez-Lozada, L. G., Mu, W., Roncal, C., Sautin, Y. Y., Abdelmalek, M., Reungjui, S., Le, M., Nakagawa, T., Lan, H. Y., & Yu, X. (2010). Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *European journal of nutrition*, 49(1), 1-9.
52. Shen, W.-J., Patel, S., Natu, V., & Kraemer, F. B. (1998). Mutational analysis of structural features of rat hormone-sensitive lipase. *Biochemistry*, 37(25), 8973-8979.
53. Soriguer, F., García-Serrano, S., García-Almeida, J. M., Garrido-Sánchez, L., García-Arnés, J., Tinahones, F. J., Cardona, I., Rivas-Marín, J., Gallego-Perales, J. L., & García-Fuentes, E. (2009). Changes in the Serum Composition of Free-fatty Acids During an Intravenous Glucose Tolerance Test. *Obesity*, 17(1), 10-15.
54. Stenson, B. M., Rydén, M., Venteclef, N., Dahlman, I., Pettersson, A. M., Mairal, A., Åström, G., Blomqvist, L., Wang, V., & Jocken, J. W. (2011). Liver X receptor (LXR) regulates human adipocyte lipolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 286(1), 370-379.

55. Strålfors, P., Björgell, P., & Belfrage, P. (1984). Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase in intact adipocytes: identification of phosphorylated sites and effects on the phosphorylation by lipolytic hormones and insulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(11), 3317-3321.
56. Tansey, J., Sztalryd, C., Gruia-Gray, J., Roush, D., Zee, J., Gavrilova, O., Reitman, M., Deng, C.-X., Li, C., & Kimmel, A. (2001). Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(11), 6494-6499.
57. Tinahones, F., Garrido-Sanchez, L., Miranda, M., García-Almeida, J., Macías-Gonzalez, M., Ceperuelo, V., Gluckmann, E., Rivas-Marin, J., Vendrell, J., & García-Fuentes, E. (2010). Obesity and insulin resistance-related changes in the expression of lipogenic and lipolytic genes in morbidly obese subjects. *Obesity surgery*, 20(11), 1559-1567.
58. Watt, M. J., & Spriet, L. L. (2010). Triacylglycerol lipases and metabolic control: implications for health and disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 299(2), E162-E168.
59. Watt, M. J., Holmes, A. G., Steinberg, G. R., Mesa, J. L., Kemp, B. E., & Febbraio, M. A. (2004). Reduced plasma FFA availability increases net triacylglycerol degradation, but not GPAT or HSL activity, in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 287(1), E120-E127.
60. Watt, M. J., Steinberg, G. R., Chan, S., Garnham, A., Kemp, B. E., & Febbraio, M. A. (2004). β -Adrenergic stimulation of skeletal muscle HSL can be overridden by AMPK signaling. *The FASEB journal*, 18(12), 1445-1446.
61. Watt, M. J., Holmes, A. G., Pinnamaneni, S. K., Garnham, A. P., Steinberg, G. R., Kemp, B. E., & Febbraio, M. A. (2006). Regulation of HSL serine phosphorylation in skeletal muscle and adipose tissue. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 290(3), E500-E508.
62. Williams, P. T. (2008). Reduced diabetic, hypertensive, and cholesterol medication use with walking. *Medicine and science in sports and exercise*, 40(3), 433.



The effect of 8 weeks progressive resistance training on the expression of proteins involved in skeletal muscle tissue lipolysis in rats feeding with sucrose solution

Khodamoradi A^{1*}, Talebi Garakani E², Mir Mohammad Rezaei F³, Fathi R²

Received: 4/4/2017

Accepted: 30/7/2017

Abstract

Aim: Excessed energy is stored as triacylglycerol (TAG) in adipose tissue within various organs. In order to reduce excessed fat storage, the utilization of fat storage must be increased to produce energy. The purpose of this study was to evaluate the effects of 8 weeks progressive resistance training on expression of proteins involved in skeletal muscle tissue lipolysis in rats feed with sucrose solution.

Method: 32 male Wistar rats (6-8 weeks) were randomly divided into two groups, the first group took sucrose solution 30%, the second group did not. After 4 weeks, each group divided into exercise and control groups. Exercise groups performed a progressive resistance training protocol 3 days per week for 8 weeks. Tissue samples were taken 2 days after the last session. HSL, Perilipin and LXR α protein expression were determined by Western blot. To evaluate the difference between the variable and the interaction between them, two-way ANOVA at the significant level of $P < 0.05$ was used.

Results: Protein levels of HSL and Perilipin were increased in the exercise group compared to control ($P < 0.001$), but LXR α levels were unchanged. The effect of sucrose solution alone and the interaction between the consumption of sucrose and progressive resistance training on the expression of these proteins in muscle tissue were not significant.

Conclusion: The results show that although the 8 weeks of progressive resistance training significantly increased the expression of some proteins involved in lipolysis, but these changes are not related to the consumption of sucrose solution.

Keywords: Progressive Resistance Training, Lipolysis, HSL, Perilipin, Liver X Receptor α .

1. PhD student in Exercise Physiology, 2. Associate Professor, Mazandaran University, 3. Assistant Professor, Mazandaran University

*Email: a.khodamoradi@stu.umz.ac.ir