

## تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان پروتئین‌های CREB و CRTC2 در بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع دو

فرزانه کریمی<sup>۱</sup>، فرهاد دریانوش<sup>۱\*</sup>، محسن ثالثی<sup>۱</sup>، جواد نعمتی<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** چاقی و دیابت نوع دو می‌توانند در عملکرد سلول‌ها، از جمله پروتئین‌های CREB و CRTC2 که برای تنظیم سوخت و ساز بافت چربی مهم هستند، اختلال ایجاد کنند؛ بنابراین، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر میزان پروتئین‌های CREB و CRTC2 در بافت چربی زیر جلدی موش‌های صحرایی چاق مبتلا به دیابت نوع دو است.

**روش‌ها:** در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی با میانگین وزن  $30.0 \pm 2.0$  گرم انتخاب و پس از دیابتی شدن از طریق القاء STZ و نیکوتین‌آمید به روش تصادفی به ۲ گروه، تمرین دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی ۴ روز در هفته به مدت ۸ هفته برنامه تمرینی را شامل ۵ وهله ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت انجام دادند؛ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ و آزمون آماری t-مستقل استفاده شد.

**یافته‌ها:** بعد از هشت هفته تمرین HIIT تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین CREB در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده نشد ( $P < 0.05$ )؛ با این حال، افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین CRTC2 در گروه تمرین نسبت به کنترل مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین HIIT منجر به تغییری در میزان پروتئین CREB نشد؛ اما توانست میزان پروتئین CRTC2 را افزایش دهد که این افزایش می‌تواند منجر به تنظیم سوخت و ساز بافت چربی در آزمودنی‌های دیابتی شود.

**واژگان کلیدی:** پروتئین CREB، پروتئین CRTC2، تمرین تناوبی با شدت بالا، بافت چربی زیر جلدی، دیابت نوع دو

۱- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

\***نشانی:** شیراز، میدان ارم، دانشگاه شیراز، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، گروه علوم ورزشی، تلفن: ۰۷۱۳۶۱۳۵۲۵۰، نمابر: ۰۷۱۳۶۲۷۲۷۴۸.

پست الکترونیک: daryanoosh@shirazu.ac.ir

## مقدمه

بیماری دیابت از جمله بیماری‌های متابولیک در حال گسترش است که به خاطر مرگ‌ومیر، عوارض بالا و هزینه‌های درمانی، فشار اقتصادی هنگفتی بر خانواده و اجتماع وارد می‌کند [۱]. دیابت نوع دو به علت فرآیند کاهش متابولیسم بدن، افزایش بافت چربی و کم‌تحركی، شیوع بیشتری دارد. این بیماری شامل گروهی از بیماری‌های متابولیک است که در اثر نقص در عملکرد و ترشح انسولین ایجاد شده و منجر به افزایش مقدار گلوکز در خون می‌گردد [۲]. با این حال، اعتقاد بر این است که دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین عامل شروع‌کننده‌ای است که به تدریج منجر به اختلال در عملکرد سلول بتا و در نهایت مرگ سلول بتا می‌شود [۳].

عوامل مختلفی سلولی و مولکولی در ایجاد این عوارض درگیر هستند که از مهم‌ترین آن‌ها، پروتئین متصل شونده به عنصر پاسخگو به cAMP (CREB) و پروتئین مبدل تنظیم‌کننده رونویسی CREB (CRTC2) هستند. پروتئین CREB در سلول چربی تحت شرایط چاقی فعال می‌شود، که در این حالت مقاومت به انسولین نیز بر روی آن تأثیرگذار است و با بیان عامل سرکوب‌کننده رونویسی ATF3<sup>۳</sup> منجر به تنظیم پایین هورمون آدیپونکتین و همچنین GLUT4<sup>۴</sup> می‌شود [۴]. همچنین اتصال CREB به برخی توالی DNA به نام CRE<sup>۵</sup> موجب افزایش یا کاهش رونویسی ژن‌های پایین دست می‌شود [۵]. مسدود کردن فعالیت CREB در سلول‌های چربی از توسعه‌ی نفوذهای التهابی در سلول چربی و نیز مقاومت به انسولین سیستمیک تحت شرایط چاقی پیشگیری می‌کند. این نتایج به نقش مرکزی بافت سلول چربی در هماهنگ‌سازی عمل انسولین و متعادل‌سازی تعادل انرژی تا حدودی از طریق افزایش فعالیت پروتئین CREB مربوط به چاقی اشاره دارد [۶]. خانواده‌ی پروتئین‌های CRTC در ابتدا مبدل تنظیمی فعالیت پروتئین CREB (TORCs) نامگذاری شدند. این

اصطلاح، بازتابی از طیف مفهوم اولیه‌ی فعالیت پروتئین‌های CRTC در سلول‌های کبدی نرمال و جزایر- $\beta$  پانکراس در زیست‌شناسی سلولی و فیزیولوژی است، که توسط پروتئین CREB و رونویسی ژن هدف-تنظیم CREB واسطه می‌شود [۷].

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که با رعایت درمان‌های غیردارویی همانند فعالیت فیزیکی منظم می‌توان از بروز بسیاری از عوارض دیابت جلوگیری نمود. یکی از روش‌های تمرینی که توسط عده‌ای از پژوهشگران این عرصه توصیه می‌گردد، تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)<sup>۶</sup> است. این نوع تمرینات، ترکیبی از دوره‌های شدید هوازی به همراه دوره‌های ریکاوری با شدت پایین تا متوسط یا غیرفعال است [۸]. تحقیقات بسیاری نشان داده‌اند که تمرینات HIIT نسبت به تمرینات استقامتی، از لحاظ زمانی دارای مزیت است. از سوی دیگر، شناخت روش‌های جدید تمرینی که بتواند در درمان دیابت نوع دو مؤثر باشد با ارزش است [۹].

از ویژگی‌های بارز این گونه تمرینات، حجم کم و در عین حال، اثربخشی بر هر سه سیستم انرژی است. هر چند یک وهله فعالیت شدید، نیاز به میزان بیشتری از باسازی ATP از سیستم تولید انرژی بی‌هوازی دارد، با افزایش تواتر تکرارهای شدید و اجرای آن به صورت متناوب با ریکاوری بین وهله‌های فعالیت، نیاز سلول و مسیرهای متابولیکی را تغییر می‌دهد، به گونه‌ای که سهم باسازی انرژی از سیستم بی‌هوازی، به سمت سیستم هوازی تغییر کرده و هم‌زمان، این دو سیستم درگیر در باسازی ATP می‌شوند. در مجموع سازگاری‌های فیزیولوژیکی درگیر در بهبود اجرا در تمرینات HIIT را می‌توان به تعامل نزدیک و هم‌زمانی سه بعد مهم از بدن انسان، یعنی سازگاری‌های محیطی، عصبی و قلبی-عروقی داد [۱۰].

در تحقیقی Bruno و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی میزان پروتئین‌های CREB و CRTC2 و CRTC3 بر پاسخ آنابولیک و افزایش کارایی عضله‌ی اسکلتی پرداختند. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و جلسه‌ای ۳۰ دقیقه

<sup>1</sup> cAMP-Response Element Binding Protein

<sup>2</sup> CREB Regulated Transcription Coactivator 2

<sup>3</sup> Activating Transcription factor 3

<sup>4</sup> Glucose Transporter Type 4

<sup>5</sup> cAMP Response Elements

<sup>6</sup> High Intensity Interval Training

جهت اضافه وزن به میانگین وزن  $300 \pm 20$  گرم رسیدند [۱۳].  
موش‌های صحرایی در حیوان‌خانه با دمای  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۵۰ درصد و چرخه‌ی تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ نگره‌داری می‌شدند. غذای حیوانات به‌صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد. همچنین آب موردنیاز حیوانات به‌صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی، در اختیار آن‌ها قرار داده شد. اصول اخلاقی (کد اخلاقی IR.SUMS.REHAB.REC.1399.004) مطالعه مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد توجه قرار گرفت.

بعد از به وزن رسیدن موش‌ها برای ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی، محلول استرپتوزوتوسین (STZ)<sup>۱</sup> (حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با  $\text{pH}=4/5$ ) به‌صورت داخل صفاقی و فقط یک مرتبه با دوز ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن بعد از ۱۵ دقیقه تزریق نیکوتین‌آمید با دوز ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن تزریق گردید [۱۴]. جهت اطمینان از دیابتی شدن حیوان‌ها، قند خون آن‌ها ۷۲ ساعت پس از تزریق، با کمک گلوکومتر و نمونه‌ی خونی گرفته شده از سیاهرگ دمی موش‌ها اندازه‌گیری شد؛ قند خون بالای ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد [۱۵].

پس از القای دیابت موش‌های صحرایی به روش تصادفی به ۲ گروه: گروه تمرین دیابتی (۶ سر) و کنترل دیابتی (۶ سر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تمرین برای آشنایی با نوارگردان به مدت یک هفته با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویند. برنامه‌ی گروه تمرینی به مدت ۸ هفته و هر هفته ۴ جلسه بود. موش‌های تمرینی در شروع هر جلسه با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه گرم می‌کردند. سپس برنامه‌ی تمرینی شامل ۵ وهله ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۵ درصد حداکثر سرعت و دوره‌های استراحت فعال ۳ دقیقه‌ای با شدت معادل ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر سرعت انجام شد. در پایان هر جلسه نیز موش‌ها

انجام شد. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا منجر به افزایش سطوح فرم فسفریله پروتئین CREB و دفسفریلاسیون شدن پروتئین‌های CRT2 و CRT3 شد [۱۱]. در تحقیقی دیگر Sabouri و همکاران (۱۳۹۸) اثر تمرین استقامتی قبل و بعد از القای آلزایمر بر میزان پروتئین CREB در هیپوکامپ موش‌های نر نژاد ویستار پرداختند. تمرین هوازی قبل و بعد از القای آلزایمر منجر به افزایش پروتئین CREB شد [۱۲].

هنوز اثرات پروتئین‌های CREB و CRT2 و نقش فعالیت ورزشی در تنظیم این دو پروتئین در بافت چربی به خوبی مشخص نشده است. همچنین نقش این پروتئین‌ها در انواع بیماری‌های مرتبط با چاقی مانند دیابت نوع دو ناشناخته مانده است؛ بنابراین تحقیق‌های بیشتری بر روی پروتئین‌های CREB و CRT2 در بافت چربی مورد نیاز است. از طرفی محققان حاضر تاکنون پژوهش‌های بسیار کمی که تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم پروتئین‌های CREB و CRT2 را بررسی کرده باشند مشاهده نموده‌اند. با توجه به نقش‌های بسیار مهم ذکر شده این دو پروتئین در تنظیم مقاومت و حساسیت به انسولین در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی، هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا بر میزان پروتئین‌های CREB و CRT2 در بافت چربی زیرجلدی موش‌های صحرایی نر چاق مبتلا به دیابت است.

## روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی-بنیادی است، که به‌صورت گروه آزمایش و کنترل انجام گرفت؛ در این پژوهش، ۱۲ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد اسپراگ‌داولی از حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری شدند. موش‌های صحرایی به مدت دو هفته تحت غذای کنترل‌شده پرچرب به‌صورت پلت (خریداری شده از شرکت به‌پرور؛ ترکیبی از پودر غذای استاندارد موش (۳۶۵ گرم/کیلوگرم)، چربی گوسفندی (۳۱۰ گرم/کیلوگرم)، مخلوط ویتامین‌ها و مواد معدنی (۶۰ گرم/کیلوگرم)، DL میتونین (۳ گرم/کیلوگرم)، پودر مخمر (۱ گرم/کیلوگرم) و کلریدسدیم (۱ گرم/کیلوگرم))

<sup>1</sup> Streptozotocin

به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه با آنتی‌بادی اولیهی خرگوشی anti-CREB (SC-377154) و anti-CRTC2 (SC-271912) رقیق شده (۱/۵۰۰) در محلول بلاکینگ به مدت یک شب در دمای ۴ درجه پروب شدند. پس از سه بار شستشو با بافر فسفات نمکی توین دار با آنتی‌بادی ثانویه ضد خرگوشی کونژوگه با HRP (sc-2004) در دمای اتاق به مدت یک ساعت مجاور گردیدند. کمپلکس‌های ایمنی ایجاد شده با روش کمی لومینسانس و استفاده از فیلم رادیوگرافی به ظهور رسیدند. دانسیته‌ی باندها توسط نرم‌افزار Image J (نسخه‌ی ۱/۸/۰/۱۱۲) اندازه‌گیری شد و نتایج بعد از نرمالیزه شدن در مقابل کنترل داخلی (بتا اکتین) به صورت چند برابر گروه کنترل ارائه شدند [۱۸].

ابتدا از آزمون کالموگروف اسمیرنوف (KS) برای تعیین نرمالیتی توزیع داده‌های تحقیق استفاده شد. با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها در متغیرها، از آزمون پارامتریک t-مستقل برای مقایسه‌ی گروه‌ها استفاده شده است. اطلاعات در قالب تصاویر روش آزمایشگاهی وسترن بلات و نمودار مربوطه ارائه شده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۳ انجام گرفته است. سطح معنی‌داری تجزیه و تحلیل آماری تحقیق حاضر،  $P < 0.05$  در نظر گرفته شده است.

## یافته‌ها

در پایان پژوهش، نتایج نشان دادند که به دنبال هشت هفته تمرین HIIT، تغییر معنی‌داری در میزان پروتئین CREB بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت چربی زیر جلدی وجود ندارد ( $P = 0.22$ ) (شکل ۱، A و B). همچنین، هشت هفته تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین CRTC2 ( $P = 0.005$ ) بین گروه‌های تمرین دیابتی و کنترل دیابتی در بافت چربی زیر جلدی شد (شکل ۲، A و B).

با سرعتی حدود ۱۰ تا ۱۲ متر بر دقیقه سرد می‌کردند. کل مدت‌زمان دویدن موش‌های صحرایی در هر جلسه بر روی نوارگردان ۴۴ دقیقه بود. شیب نوارگردان صفر درجه و در ۸ هفته تغییری نداشت [۱۶].

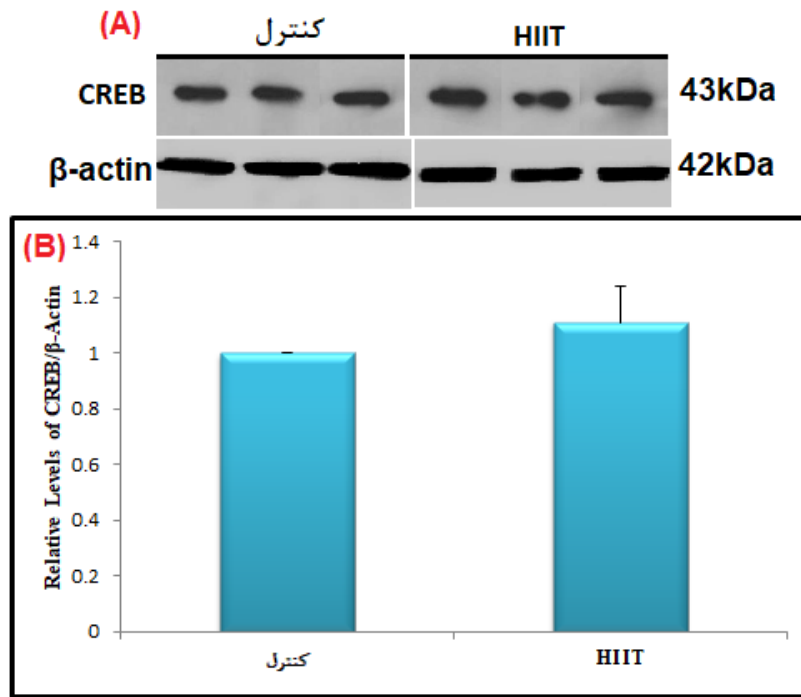
آزمون اندازه‌گیری حداکثر سرعت با سرعت ۵ متر در دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه سرعت ترمیل ۵ متر در دقیقه افزایش یافت تا موش‌های صحرایی به خستگی (چسبیدن موش‌ها به انتهای ترمیل) برسند. سرعتی که در آن موش‌های صحرایی به خستگی رسیدند، به‌عنوان حداکثر سرعت در نظر گرفته شد [۱۷].

در این مدت، گروه کنترل هیچ‌گونه برنامه‌ی تمرینی نداشتند. همچنین موش‌های صحرایی هیچ‌گونه درمانی با انسولین را در طول دوره‌ی پژوهش نداشتند. برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل استرس آزمودنی‌ها در زمان اجرای برنامه‌ی تمرینی، بعد از ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، موش‌ها با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، بی‌هوش شدند. سپس بافت چربی زیر جلدی از مکان لایه‌ی چربی اپیدیدیمال<sup>۱</sup> بدن حیوان برداشته شد و در سرم فیزیولوژیک شستشو داده و سپس بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد (از بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد) و برای سنجش‌های بعدی با دمای ۸۰- در فریزر (مدل AFR-80، شرکت آرمینکو، ساخت ایران) گذاشته شد.

با استفاده از روش آزمایشگاهی وسترن-بلات متغیرهای پژوهش اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا همورنه‌ی بافت چربی زیر جلدی در لیز بافر RIPA حاوی آنتی پروتئاز کوکتیل (sigma) تهیه شد و پس از سانتریفوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و مخلوط کردن با سمپل Loading بافر، با الکتروفورز (مدل عمودی، شرکت BioRad، ساخت آمریکا) در ژل آکرلامید حاوی سدیم دودسیل سولفات (SDS)<sup>۲</sup> تفکیک شدند. بعد از تفکیک، باندهای پروتئینی بر روی غشاء انتقال داده شده و بعد از بلوکه‌کردن غشا با محلول سرم آلبومین گاوی ۳ درصد

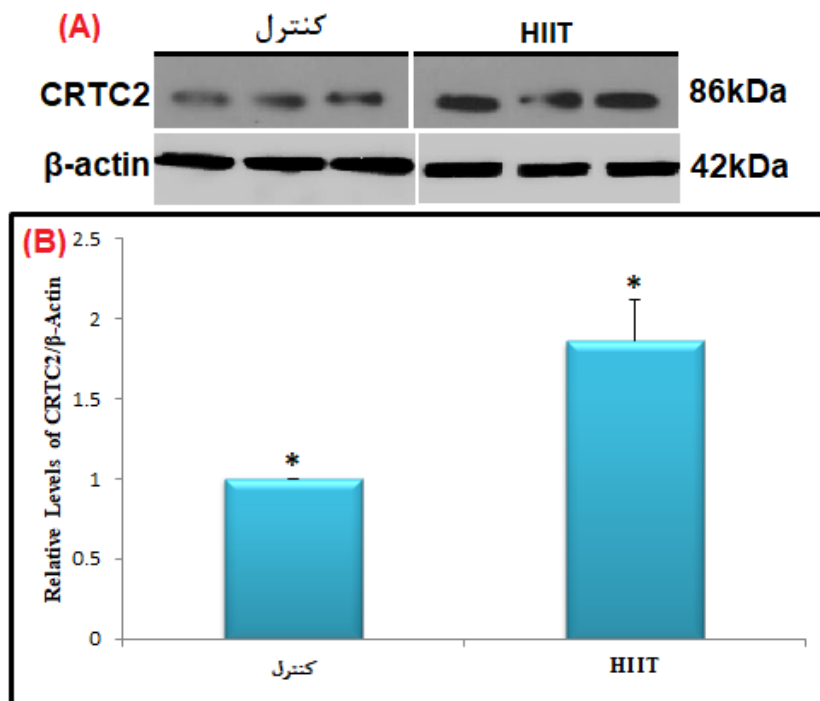
<sup>1</sup> Epididymal Fat Pad

<sup>2</sup> Sodium Dodecyl Sulfate



شکل ۱- مقایسه‌ی میزان پروتئین CREB در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن‌بلات پروتئین CREB و بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت چربی زیر جلدی. (B): نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین CREB در مقابل کنترل داخلی



شکل ۲- مقایسه‌ی میزان پروتئین CRTC2 در گروه‌های مورد مطالعه

(A): تصاویر وسترن‌بلات پروتئین CRTC2 و بتا-اکتین ( $\beta$ -actin) به‌عنوان کنترل داخلی (لودینگ کنترل) در بافت چربی زیر جلدی. (B): نمودار ستونی (میانگین و انحراف معیار) نشان دهنده‌ی مقادیر کمی شده باندهای پروتئین CRTC2 در مقابل کنترل داخلی

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT منجر به افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین‌های CRTC2 در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل شد؛ اما در میزان پروتئین CREB تغییری مشاهده نشد.

پروتئین CREB در هموستاز گلوکز و سوخت و ساز بافت چربی نقش مهمی دارد؛ فسفوریلاسیون CREB، در سلول‌های بافت چربی و فعالیت آنها را در پاسخ به مواد غذایی در بافت چربی و چاقی افزایش می‌یابد. مطابق با اثر CREB، همچنین به نظر می‌رسد CRTCs برای سوخت و ساز سلول‌های چربی در بافت چربی مهم است. به‌طور خاص، افزایش CRTC بسیار در بافت سفید چربی (WAT)<sup>۱</sup> و بافت چربی قهوه‌ای (BAT)<sup>۲</sup>، برای تنظیم مقاومت به انسولین مهم است [۱۹].

در تحقیقی Bruno و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی میزان پروتئین CREB و CRTC2 و CRTC3 بر پاسخ آنابولیک و افزایش کارایی عضله‌ی اسکلتی پرداختند. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا به مدت ۸ هفته و جلسه‌ای ۳۰ دقیقه انجام شد. تمرین ورزشی استقامتی با شدت بالا منجر به افزایش سطوح فرم فسفریله CREB و دفسفریلاسیون شدن CRTC2 و CRTC3 شد [۱۱]. نتایج تحقیق Bruno و همکاران با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا نیست. در نتایج تحقیق حاضر ما شاهد تغییر در میزان پروتئین CREB نبودیم و این در حالی است که میزان پروتئین CRTC2 افزایش معنی‌داری یافته بود که خلاف نتایج مطالعه‌ی Bruno و همکاران است. از دلایل مهم می‌توان مکان اندازه‌گیری این پروتئین باشد که در تحقیق حاضر در بافت چربی زیر جلدی است و در تحقیق Bruno و همکاران در بافت عضله‌ی اسکلتی بوده است. البته عوامل دیگر مانند نوع و شدت تمرین ورزشی نیز مهم هستند و باید مورد بررسی قرار گیرند. عامل بسیار مهم در تحقیق حاضر نسبت به دیگر تحقیق‌ها بیمار بودن آزمودنی‌ها است که مبتلا به دیابت نوع دو بودند. در افراد مبتلا به دیابت انجام فعالیت ورزشی منجر به تنظیم وزن، قند خون و مقاومت به انسولین

می‌شود؛ بنابراین تمرین HIIT می‌تواند مزیت‌های مهمی مانند تنظیم وزن و قند خون داشته باشد که باید در این حین به عوامل این تمرین مانند شدت، مدت و زمان ریکاوری تمرین دقت کرد [۲۰].

در بحث مسیرهای سلولی و ملکولی تنظیم‌کننده پروتئین CREB می‌توان به مسیرهای متفاوتی اشاره کرد. یکی از این مسیرها، فعال‌شدن توسط گیرنده‌های GPCR<sup>۳</sup> است. اتصال لیگاند به گیرنده G تحریکی، منجر به تشکیل کمپلکس زیرواحدهای آن ( $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$ ) می‌شود؛ این عمل سبب فعال‌شدن آدنیلات سیکلاز (AC)<sup>۴</sup> و در تسریع سنتز AMP حلقوی می‌شود. افزایش cAMP سلولی منجر به تحریک سیگنالینگ پروتئین کیناز-A (PKA)<sup>۵</sup> می‌شود. اتصال cAMP به زیر واحد تنظیمی PKA، سبب ارتقاء تفکیک خود از زیر واحد کاتالیزوری می‌شود. زیرواحدهای کاتالیزوری آزادشده توسط انتشار غیرفعال و فسفریله‌شدن عنصر CRE متصل‌شونده به پروتئین CREB در جایگاه سرین-۱۳۳ سبب ورود آن به هسته می‌شود و سپس اعمال فیزیولوژیک خود را اعمال می‌کند [۱۹].

در تحقیقی دیگر Woo و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تغذیه و فعالیت ورزشی در بیان پروتئین CRTC2 آنزیم‌های چربی در آدیپوسیت‌های موش چاق پرداختند. فعالیت ورزشی شامل دویدن موش‌ها بر روی تردمیل به مدت ۳۰ دقیقه و ۵ روز در هفته برای ۸ هفته انجام شد. نتایج کاهش سطوح CRTC2 را در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل و گروه تغذیه نشان داد. محققان به این نتیجه رسیدند که تغییر در رژیم غذایی بدون فعالیت ورزشی منجر به تغییر در فعالیت خانواده لیپاز پروتئین CRTC در بافت چربی نمی‌شود و این فرآیندهای متابولیکی لیپولیز تنها زمانی اتفاق می‌افتد که رژیم غذایی و فعالیت ورزشی با هم انجام شوند [۲۱]. نتایج تحقیق مذکور با نتایج تحقیق حاضر همسو نیست. از عوامل مهم، نوع تمرین ورزشی، شیوه‌ی انجام تحقیق و نوع آزمودنی‌ها است؛ اما در

<sup>3</sup> G protein-Coupled Receptors

<sup>4</sup> Adenylate Cyclase

<sup>5</sup> Protein Kinase A

<sup>1</sup> White Adipose Tissue

<sup>2</sup> Brown Adipose Tissue

هر دو تحقیق محققان پروتئین CRTC2 را در بافت چربی اندازه‌گیری کردند که نتایج متضادی را نسبت به یکدیگر مشاهده کردند. در تحقیق حاضر ما شاهد افزایش پروتئین CRTC2 بودیم و این در حالی است که در تحقیق Woo و همکاران کاهش یافته بود. مقاومت انسولین باعث یک زیان در عملکرد سلول بتا می‌شود که منجر به پیشرفت به دیابت می‌گردد. در مطالعه‌ای در موش‌های دچار نقص ژنتیک، مشاهده شد که فعال‌سازی CREB و CRTC2 در پایداری سلول‌های بتا و تحمل گلوکز به دلیل افزایش در غلظت‌های انسولین خون نقش دارد. معلوم شد که CRTC2 عملکرد سلول بتا را تا حدودی با تحریک بروز فاکتور رونویسی MafA<sup>۱</sup> بهبود می‌بخشد [۲۲].

مسیر مهم دیگر از طریق پروتئین‌های خانواده CRTCs است. سیگنال‌های AMP حلقوی و کلسیم در تنظیم عنصر CRE متصل‌شونده به پروتئین CREB از طریق فعال شدن پروتئین‌های CRTCs مهم هستند. در شرایط پایه، CRTCs در سیتوپلاسم از طریق تعامل با پروتئین‌های ۱۴-۳-۳ فسفریله می‌شوند. سیگنال‌های cAMP و کلسیم از طریق مهار پروتئین SIKs<sup>۲</sup> و سپس از طریق القای کلسی‌نورین فسفاتاز منجر به دفسفریلاسیون CRTC می‌شوند. دفسفریله شدن CRTC سبب جابه‌جایی آن به هسته و سپس اتصال آن به CREB می‌شود و فعالیت خود را تحریک می‌کند [۲۳].

در نهایت، هشت هفته تمرین HIIT منجر به تغییری در میزان پروتئین CREB نشد که می‌توان گفت از فعال شدن و فسفریله شدن CREB جلوگیری کرده است. با این حال، تمرین HIIT میزان پروتئین CRTC2 را افزایش داد که این افزایش می‌تواند منجر به تنظیم سوخت و ساز بافت چربی در آزمودنی‌های دیابتی نوع دو شود. با این وجود باید به مشخصه‌های تمرین مانند مدت زمان، شدت، حجم و تکرار برنامه‌های تمرینی HIIT توجه کرد.

## سپاسگزاری

این مقاله حاصل تلاش نویسندگان در دانشگاه دانشگاه شیراز است. سپاسگزار تمام افرادی هستیم که در این امر ما را یاری کردند.

<sup>۱</sup> Transcription Factor MafA

<sup>۲</sup> Salt-inducible kinases

## مآخذ

- Mobaraki A, Hejazi SM, Ramadanpour MR. Effect of eight weeks aerobic periodic training with increasing intensity on insulin-like growth factor (IGF-1) and insulin resistance in middle-aged women with type 2 diabetes. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2018; 25(4): 317-325.
- Luo L, Lu AM, Wang Y, Hong A, Chen Y, Hu J, et al. Chronic resistance training activates autophagy and reduces apoptosis of muscle cells by modulating IGF-1 and its receptors, Akt/mTOR and Akt/FOXO3a signaling in aged rats. *Experimental Gerontology* 2013; 48(4):427-36.
- Suhara T, Baba Y, Shimada BK, Higa JK, Matsui T. The mTOR signaling pathway in myocardial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Current Diabetes Reports* 2017; 17(6):38.
- Ghorbani M. A Review of Type 2 Diabetes and Obesity. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 2015; 5(18) :9-14.
- Kandel ER. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Molecular brain* 2012; 5(1):1-2.
- Hogan MF, Ravnskjaer K, Matsumura S, Huising MO, Hull RL, Kahn SE, et al. Hepatic insulin resistance following chronic activation of the CREB coactivator CRTC2. *Journal of Biological Chemistry* 2015; 290(43):25997-6006.
- Luan B, Yoon YS, Le Lay J, Kaestner KH, Hedrick S, Montminy M. CREB pathway links PGE2 signaling with macrophage polarization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2015; 112(51):15642-7.
- Gibala MJ, Little JP, MacDonald MJ, Hawley JA. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of Physiology* 2012; 590:1077-84.
- Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia* 2017; 60(1):7-23.
- Bayati M, Gharakhanlou R, Farzad B. Adaptations of physiological performance following high-intensity interval training. *Sport Physiology* 2015; 7:15-32.
- Bruno NE, Kelly KA, Hawkins R, Bramah Lawani M, Amelio AL, Nwachukwu JC, et al. Creb coactivators direct anabolic responses and enhance performance of skeletal muscle. *The EMBO journal* 2014; 33(9):1027-43.
- Sabouri M, Kordi M, Shabkhiz F. Effect of endurance training before and after induction of Alzheimer on the level of interleukin 1 beta and cAMP response element-binding protein (CREB) in the hippocampus of Wistar male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport* 2019; 1-12.
- Fathi R, Ebrahimi M, Sanami SK. Effects of High Fat Diet and High Intensity Aerobic Training on Interleukin 6 Plasma Levels in Rats. *Pathobiology Research* 2015; 18(3):109-16.
- Safhi MM, Anwer T, Khan G, Siddiqui R, Moni Sivakumar S, Alam MF. The combination of canagliflozin and omega-3 fatty acid ameliorates insulin resistance and cardiac biomarkers via modulation of inflammatory cytokines in type 2 diabetic rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology* 2018; 22(5):493-501.
- Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB. Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of ASIAN Natural Products Research* 2017; 19(10):1011-21.
- Khoramshahi S. Effect of five weeks of high-intensity interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in gastrocnemius muscles of diabetic male rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 2017; 18(5):361-7.
- Garcia NF, Sponton AC, Delbin MA, Parente JM, Castro MM, Zanesco A, et al. Metabolic parameters and responsiveness of isolated iliac artery in LDLr<sup>-/-</sup> mice: role of aerobic exercise training. *American Journal of Cardiovascular Disease* 2017; 7(2):64-71
- Khani M, Motamedi P, Dehkhoda MR, Nikukheslat SD, Karimi P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 $\alpha$  content and endurance exercise performance in rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2017; 14 (1): 1-8.
- Altarejos JY, Montminy M. CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nature Reviews Molecular cell Biology* 2011; 12(3):141-51.
- Galbo H, Tobin L, van Loon LJ. Responses to acute exercise in type 2 diabetes, with an emphasis on metabolism and interaction with oral hypoglycemic agents and food intake. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 2007; 32(3):567-75.
- Woo J, Kang S. Diet change and exercise enhance protein expression of CREB, CRTC 2 and lipolytic enzymes in adipocytes of obese mice. *Lipids in Health and Disease* 2016; 15(1):1-6.
- Wang Y, Inoue H, Ravnskjaer K, Viste K, Miller N, Liu Y, Hedrick S, Vera L, Montminy M. Targeted disruption of the CREB coactivator Crtc2 increases insulin sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010; 107(7):3087-92.
- Blanchet E, Van de Velde S, Matsumura S, Hao E, LeLay J, Kaestner K, Montminy M. Feedback inhibition of CREB signaling promotes beta cell dysfunction in insulin resistance. *Cell Reports* 2015; 10(7):1149-57.



## **THE EFFECT OF EIGHT WEEKS OF HIGH INTENSITY INTERVAL TRAINING ON CREB AND CRTC2 PROTEINS LEVELS IN SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE OF OBESE RATS WITH TYPE 2 DIABETES**

Farzaneh Karimi<sup>1</sup>, Farhad Daryanoosh<sup>\*1</sup>, Mohsen Salehi<sup>1</sup>, Javad Nemati<sup>1</sup>

*1. Department of Sport Sciences, School of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran*

### **ABSTRACT**

**Background:** Obesity and type 2 diabetes can impair the function of cells, including CREB and CRTC2 proteins, which are important for regulating adipose tissue metabolism. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the effect of eight weeks of high intensity interval training (HIIT) on CREB and CRTC2 proteins levels in subcutaneous adipose tissue of obese rats with type 2 diabetes.

**Methods:** In this experimental study, 12 head two-month-old Sprague-Dawley rats with a mean weight of  $300 \pm 20$  g were selected. After diabetic induction with Streptozotocin and Nicotinamide, rats were randomly assigned to two groups, diabetic training (6 heads) and diabetic control (6 heads). The training groups performed the training program 4 days a week for 8 weeks, including 5 interval 4-minute with an intensity of 85 to 95% of the maximum speed, and 3-minute active rest periods with an intensity of 50 to 60% of the maximum speed; SPSS software version 23 and independent t-test were used to analyze the data.

**Result:** After eight weeks of HIIT training, no significant change in CREB protein level was observed in the training group compared to the control ( $P < 0.22$ ); However, a significant increase in CRTC2 protein level was observed in the training group compared to the control ( $P < 0.005$ );

**Conclusion:** HIIT training did not result in a change in CREB protein level. But, it was able to increase the CRTC2 protein level, which could lead to the regulation of adipose tissue metabolism in diabetic subjects.

**Keywords:** CREB Protein, CRTC2 Protein, High Intensity Interval Training, Subcutaneous Adipose Tissue, Type 2 Diabetes

---

\* Shiraz, Eram Square, Shiraz University, School of Education and Psychology, Department of Sports Sciences. Phone: 07136135250 Fax: 07136272748, Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir