

تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی بر تظاهر ژن ABCA1 کبدی موش ویستار

بهزاد مهدی خبازیان^۱، دکتر عباس قنبری نیاکی^۲، دکتر فاطمه رهبری زاده^۳،

دکتر سید علیرضا حسینی کاخک^۴، مهدی جباری نوقابی^۵

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش دانشگاه تربیت مدرس

۲. استادیار دانشگاه تربیت مدرس

۳. استادیار دانشگاه تربیت معلم سبزواری

۴. استادیار دانشگاه تربیت مدرس، گروه بیوتکنولوژی پزشکی

۵. کارشناس ارشد آمار

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۲/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۶/۷/۱۴

چکیده

افزایش ۱ میلی‌گرم HDL می‌تواند منجر به کاهش ۲ تا ۳ درصدی بیماری‌های قلبی شود. این عمل پیشگیرانه HDL در وقوع بیماری‌های قلبی، به دلیل نقش آن در فرآیند انتقال معکوس کلسترول رخ می‌دهد. فرآیند انتقال معکوس کلسترول شامل جمع‌آوری کلسترول اضافی از بافت‌های پیرامونی و بازگرداندن آن به کبد، برای تشکیل صفرا است. اولین مرحله انتقال معکوس کلسترول که شامل خروج کلسترول و فسفولیپید از سلول است، توسط ناقل ABCA1 میانجی‌گری می‌شود. فقدان ABCA1 در مدل‌های انسانی و حیوانی، با کاهش بسیار شدید HDL و وقوع آرترواسکلروزیس همراه است؛ در صورتی که افزایش آن با افزایش HDL و پیشگیری از آرترواسکلروزیس همراه می‌باشد. بدین ترتیب احتمالاً شناخت فعال‌کننده‌های این ژن می‌تواند تأثیر مفیدی بر پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی داشته باشد. به منظور بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر بیان این ژن ۱۰ عدد موش صحرائی نر از نژاد ویستار به مدت ۶ هفته و ۵ روز در هفته، با شدت ۲۶ متر در دقیقه و به مدت ۹۰ دقیقه، تحت تمرین روی نوارگردان قرار گرفتند. نتایج، افزایش بیان ژن ABCA1 در موش‌های گروه تجربی نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که یک مکانیزم مثبت فعالیت بدنی منظم در پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، بیان ژن ABCA1 باشد که اولین مرحله فرآیند انتقال معکوس کلسترول است.

کلیدواژه‌های فارسی: ژن ABCA1، انتقال معکوس کلسترول، HDL، تمرین استقامتی.

مقدمه

بیماری کرونری قلبی یکی از علل مرگ و میر در سرتاسر جهان می‌باشد. این بیماری با افزایش میزان لیپو پروتئین کم چگال (LDL) و لیپو پروتئین بسیار کم چگال (VLDL) پلاسما رابطه مستقیم و با لیپو پروتئین پر چگال (HDL-C) رابطه معکوس دارد (۸-۱). اگر چه، HDL نقش آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی دارد، (۵) ولی باور عمومی بر آن است که HDL از طریق انتقال معکوس کلسترول در پیشگیری از بیماری‌های قلبی _ عروقی مؤثر است (۱۱-۹،۶،۲). انتقال معکوس کلسترول به فرآیند جمع‌آوری کلسترول اضافی از بافت‌های پیرامونی، از جمله ماکروفاژهای دیواره سرخرگی و بازگرداندن آنها به کبد، همراه با تغییر شکل HDL، گفته می‌شود (۱۳،۳،۴،۱۲).

بر اساس مطالعات اخیر مراحل انتقال معکوس کلسترول عبارتند از: (۱) خروج کلسترول از سلول روی آپولیپو پروتئین A-I (Apo A-I) عاری از لیپید^۱ یا دارای حداقل لیپید^۲ که این فرآیند توسط ناقل ABCA^۳ میانجی‌گری شده و به تشکیل ذرات Pre Beta HDL منجر می‌شود (۶). (۲) خروج بیشتر کلسترول به Pre Beta HDL و تشکیل ذرات صفحه‌ای بزرگ‌تر HDL (۳) استریفه شدن کلسترول از طریق آنزیم لسیتین کلسترول اسیل ترانسفراز^۴ که منجر به ساخت HDL کروی می‌گردد. (۴) بالغ شدن HDL یعنی تشکیل ذرات بزرگ‌تر HDL توسط کسب و استریفه شدن بیشتر کلسترول از لیپو پروتئین‌های دیگر یا توسط ترکیب با ذرات کوچک‌تر HDL و (۵) تغییر شکل HDL بالغ توسط عمل کلسترول استر ترانسفر پروتئین (CETP)، فسفولیپید ترانسفر پروتئین (PLTP)، لیپاز کبدی و گیرنده‌های رفتگر نوع^۵ BI (SR-BI) با تشکیل ذرات HDL کوچک‌تر و آپولیپو پروتئین‌های A-I دارای حداقل لیپید^۶ (۱۴).

نقش ABCA^۱ به عنوان صادر کننده چربی سلول، زمانی معلوم گشت که کشف شد این ژن، ژن معیوب در بیماران تانژی^۷ ABCA^۱ می‌باشد (۱۸-۱۵). در غیاب ژن ABCA^۱

-
1. Free- Lipidated
 2. Poorly-Lipidated
 3. ATP- Binding cassette transporter protein
 4. LCAT
 5. Scavenger receptor type BI
 6. Minimally-lipidated
 7. Tangier

بیماران تانزیه دارای HDL بسیار کم بوده، قادر به خارج کردن کلسترول از سلول به Apo A-I نمی‌باشند و تجمع کلسترول استر در بسیاری از بافت‌ها به ویژه سرخرگ‌های آنها دیده می‌شود (۱۹). آرترو اسکروزیس زود هنگام نیز از دیگر عوارض این بیماری است. علاوه بر نمونه‌های انسانی، فقدان عملکرد ژن ABCA1 در موش‌ها نیز منجر به تولید عوارض مشابهی مانند بیماران تانزیه می‌شود (۲۰). اختلال در ژن ABCA1 در مدل حیوانی جوجه^۱ WHAM (تنها مدل حیوانی شناخته شده طبیعی با کمبود خود به خودی HDL) نیز منجر به کاهش ۹۵ درصدی در HDL و Apo A-I می‌شود (۲۱).

از سویی بیان بیش از حد^۲ ژن ABCA1 در موش‌های تراریخته، منجر به کاهش معنی‌دار در اندازه و پیچیدگی آسیب‌های آترواسکلروتیک، افزایش خروج کلسترول از سلول و در نهایت افزایش میزان و ترکیب HDL پلاسما می‌شود (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵). نتایج این مطالعات به روشنی نشان می‌دهد که عملکرد ABCA1 نقشی کلیدی در فرآیند انتقال معکوس کلسترول دارد. به همین علت تلاش برای درک فعال کننده‌های این ژن احتمالاً می‌تواند برای پیشگیری از آرترواسکلروزیس بسیار سودمند باشد (۲۶).

اگر چه تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی می‌تواند منجر به بهبود برخی مراحل کلیدی در فرآیند انتقال معکوس کلسترول مانند افزایش میزان و ترکیب HDL (۲۷)، افزایش خروج کلسترول از سلول (۲۸)، افزایش تشکیل و اندازه Apo A-I (۲۹، ۳۰)، افزایش Pre HDL Beta پلاسما (۳۱، ۳۲) و افزایش فعالیت آنزیم LCAT (۳۳، ۲۹، ۳۴) شود اما تاکنون مطالعه‌ای به بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر تظاهر ژن ABCA1، که اولین مرحله در فرآیند انتقال معکوس کلسترول می‌باشد، نپرداخته است. با توجه به این که تاکنون هیچ مطالعه‌ای به بررسی تأثیر فعالیت بدنی بر تظاهر ژن ABCA1 نپرداخته است، پژوهش حاضر به بررسی تأثیر ۶ هفته تمرین استقامتی بر تظاهر ژن ABCA1 کبدی می‌پردازد.

1. Wisconsin hypoalpha mutant
2. Overexpression

روش تحقیق

تعداد ۱۰ عدد موش نر سفید نژاد ویستار^۱ از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در حیوان خانه دانشگاه تربیت مدرس، تحت شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (۱±۲۳ درجه سانتی گراد) و رطوبت (۳±۵۰ درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند و در سرتاسر دوره تحقیق توسط یک نفر جابجا و دستکاری می‌شدند. پس از یک هفته آشنایی با فضای آزمایشگاه و دستکاری توسط انسان، به طور تصادفی به دو گروه شاهد و تجربی همسان از لحاظ وزن تقسیم شدند. تمرین گروه تجربی با شدت ۱۵ متر در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در روز آغاز شد و به تدریج، در مدت دو هفته با افزایش ۱ متر در دقیقه و ۷ دقیقه و ۱۵ ثانیه‌ای در روز به شدت و مدت نهایی ۲۶ متر در دقیقه به مدت ۹۰ دقیقه رسید (۴۹). سپس موش‌ها ۶ هفته دیگر، هفته‌ای ۵ جلسه با این شدت و مدت به تمرین ادامه دادند.

لازم به ذکر است که این تمرین یک تمرین استقامتی متوسط معادل ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی برآورد می‌شود (۴۳-۴۸). گروه شاهد نیز هفته‌ای سه جلسه و هر جلسه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲ متر در دقیقه روی نوارگردان راه می‌رفتند تا تمام شرایط از جمله دستکاری موش‌ها توسط محقق برای هر دو گروه یکسان شده و تنها تفاوت گروه شاهد و تجربی در برنامه تمرینی باشد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها در حالتی که یک شب کامل ناشتا بودند (۱۴ ساعت ناشتایی) از طریق تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین بیهوش شدند. بافت کبد سریعاً^۲ جدا و به داخل میکروتیوب منتقل شد و در نیتروژن مایع قرار گرفت. سپس بافت منجمد شده جهت تخلیص mRNA در فریزر ۸۰- نگهداری شد.

تخلیص mRNA و بررسی بیان ژن توسط PT-PCR

مقدار ۵۰ میلی گرم از بافت منجمد کبد با روش هموژنیزه کردن سرد پودر شد و برای تخلیص mRNA مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از روش گوانیدینیوم تیوسیانات^۲،

1. Wistar rat
2. Guanidinium thiocyanate method

RNA بافتی، محافظت و جداسازی گردید. به منظور جداسازی mRNA، از کیت تخلیص RNA شرکت Roche که با استفاده از ذرات مغناطیسی^۱ پوشیده شده، با اولیگو^۲ dt با درجه خلوص بالا و کیفیت مناسب که قادر به جداسازی mRNA است، طبق دستورالعمل شرکت سازنده، استفاده گردید. از هر یک از موش‌ها، نیم میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA به کار گرفته شد. در این تحقیق، برای ساخت cDNA از آغازگر (پرایمر^۳) اولیگو dT که مکمل دم‌های poly A در mRNA است و دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استفاده شد. کیت مذکور از شرکت Fermentase آلمان خریداری گردید. سطح نسبی mRNA ی ژن ABCA۱ در عضله با روش RT-PCR نیمه کمی^۴ اندازه‌گیری شد. این روش به کمک پرایمرهای ویژه ABCA۱ شامل:

ABCA۱- Forward: ۵'- CGT CCT CCT TGT CAT CTC TG -۳'

ABCA۱ – Reverse: ۵'- TAA CTT TCT TTC ACT TTC TCG TC-۳'

که یک قطعه ۲۳۸ جفت بازی را در این ژن تکثیر می‌کند انجام گردید. برای کنترل تکثیر این ژن از پرایمرهای ویژه B-actin استفاده شد. این پرایمرها شامل:

B-actin- Forward: ۵' - TCC TGC GGC ATC CAT GAA ACT-۳'

B-actin –Reverse: ۵' - ATC GTG CAC CGC AAA TGG TTC-۳'

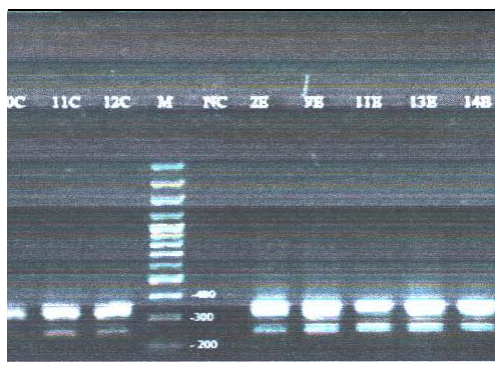
بوده و یک قطعه ۳۱۵ جفت بازی از ژن بتا اکتین را تکثیر می‌کنند. بتا اکتین یک ژن همیشه بیان شونده^۵ است و می‌تواند شاهد خوبی برای بررسی کل فرآیند تخلیص mRNA باشد. مراحل PCR شامل ۳۵ تکرار از سه مرحله: (۱) دناتوراسیون^۶ ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه (۲) دمای جفت شدن^۷ ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و (۳) دمای طویل شدن^۸ ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه بود. برای به دست آوردن بهترین غلظت cDNA الگو، غلظت‌های مختلف cDNA بررسی و نهایتاً "بهترین غلظت برای PCR نهایی به کار گرفته شد. آزمون‌های این تحقیق لاقلاً سه بار تکرار شد. بررسی نیمه کمی باندها با کمک

-
1. Magnetic particles
 2. Oligo (dt)
 3. Primer
 4. Semiquantitative PCR
 5. House Keeping gene
 6. Denaturation
 7. Annealing
 8. Extension

دانسئومتر کامپیوتری (Kodak, CT) انجام و سطح بیان mRNA نسبت به بیان ژن بتا اکتین محاسبه شد.

نتایج

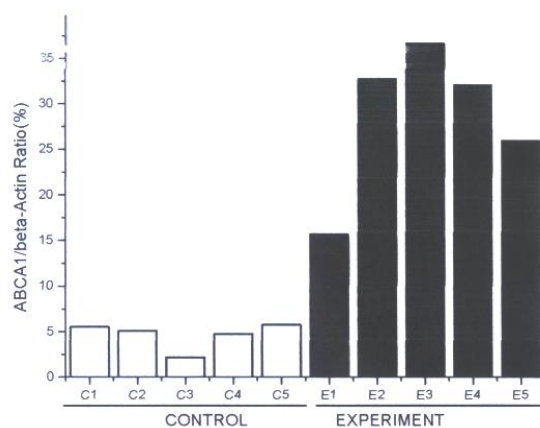
با استفاده از RT-PCR بیان ژن ABCA1 بررسی شد. نتایج به روشنی نشان می‌دهد که بیان ABCA1 در پاسخ به ۶ هفته تمرین استقامتی افزایش می‌یابد.



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز ژن‌های بتا اکتین و ABCA1 در موش‌های کنترل و تجربی. ۱C تا ۵C گروه کنترل، ۱E تا ۵E گروه تجربی، M مارکر و NC کنترل منفی می‌باشد.

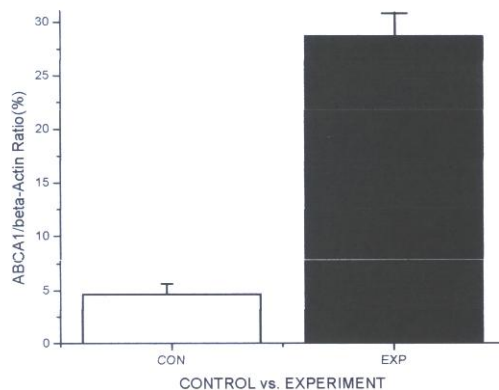
همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ژن بتا اکتین به عنوان کنترل تکثیر ژن ABCA1 به کار رفته، در تمام نمونه‌ها بیان شده است. بیان ژن ABCA1 در موش‌های گروه کنترل، بسیار کم و در موش‌های گروه تجربی، به وضوح دیده می‌شود. پس از این مرحله، بررسی نیمه کمی باندها با کمک دانسیومتر کامپیوتری (Kodak, CT) انجام و سطح

بیان mRNA نسبت به بیان ژن بتا اکتین محاسبه شد.



شکل ۲. درصد بیان mRNA ژن ABCA1 نسبت به بتا اکتین در هر یک از نمونه‌های گروه‌های کنترل و تجربی

همان طور که از شکل فوق مشخص است، بیان ژن ABCA1 در گروه تجربی، در مقایسه با گروه کنترل بیشتر می باشد.



شکل ۳. بیان ژن ABCA1 در مجموع در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل

همان گونه که در شکل بالا مشاهده می شود، بیان ژن ABCA1 در مجموع در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است.

بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه، بررسی ژن کبدی ABCA1 بر اثر ۶ هفته تمرین استقامتی، با شدت متوسط در موش های صحرایی نر بود.

زندگی بدون تحرک با افزایش بیماری های قلبی _ عروقی همراه است؛ در حالی که آمادگی بدنی و اجرای ورزش منظم، احتمال ابتلاء به بیماری قلبی _ عروقی را کاهش می دهد (۳۵). به نظر می رسد بخشی از فواید بی شمار ورزش منظم برای سلامتی، مربوط به تغییرات مفیدی باشد که در نیم رخ لیپو پروتئین های خون رخ می دهد (۲۷). این تغییرات اغلب، شامل کاهش تری گلیسیرید، LDL, VLDL و افزایش HDL یا زیر مجموعه های آن می باشد (۲۷، ۳۰، ۳۶). نشان داده شده که HDL از طریق دفع کلسترول اضافی از سلول های پیرامونی و بازگرداندن آنها به کبد، در فرآیندی تحت عنوان انتقال معکوس کلسترول، نقش مؤثری در پیشگیری از بیماری های قلبی _ عروقی دارد (۳۷).

ناقل ABCA₁ خارج کننده اصلی کلسترول و فسفولیپید از سلول به آپولیپو پروتئین عاری از لیپید یا دارای حداقل لیپید، جهت تشکیل ذرات Pre Beta HDL است. بیماری نادر تانزیه که بیماری اختلال در متابولیسم چربی‌ها است و تاکنون حدود ۶۰ مورد از آن در جهان گزارش شده، منجر به تشخیص عملکرد ژن و پروتئین ABCA₁ شد (۳۸). انجام مطالعات بیشتر در مدل‌های حیوانی فاقد ژن ABCA₁ بر عملکرد این ژن در انتقال معکوس کلسترول و تشکیل ذرات بالغ HDL صحنه گذاشته است (۳۹). از سوی دیگر اخیراً چند آزمایشگاه به تولید موش‌های تراریخته‌ای اقدام کردند که دارای بیان بیش از حد ABCA₁ می‌باشد (۴۰-۴۲). به نظر می‌رسد که تجزیه و تحلیل ابتدایی این موش‌ها آثار مفید افزایش بیان ABCA₁ در شرایط *in vivo* را تأیید می‌کند (۳۹).

اگر چه تحقیقات زیادی در طول سال‌های گذشته به تأثیر فعالیت‌های بدنی بر HDL پرداخته‌اند، (۲) اما تعداد تحقیقاتی که مکانیزم‌های افزایش HDL را بررسی کرده باشند بسیار محدود است. با توجه به اهمیت ژن ABCA₁ در اولین مرحله انتقال معکوس کلسترول و نیز نقش مهم آن در تشکیل ذرات بالغ HDL، این تحقیق برای نخستین بار در جهان به مطالعه بیان این ژن توسط فعالیت منظم بدنی پرداخت. همان طور که از نتایج این مطالعه مشخص است ژن ABCA₁ توسط تمرین استقامتی با شدت متوسط بیان می‌شود. بدین ترتیب احتمالاً "یک مکانیزم افزایش HDL توسط فعالیت بدنی می‌تواند افزایش بیان و در نتیجه خروج بیشتر کلسترول از سلول توسط این ناقل باشد.

منابع:

1. Hiroaki H, Takeshi K, Tohr E, Eiji S, Takayuki F, Sadao T, Takahashi M, Cooper I, Jackie A, Stepanova, Irina P. Nazeem N, and Miller NE.(2004). Association of Coronary Heart Disease with pre-HDL Concentrations in Japanese Men. *Clinical Chemistry*. 50:3, 598-595.
2. Oram JF. (2003). "HDL Apolipoproteins and ABCA₁: Partners in the Removal of Excess Cellular cholesterol". *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23: 720-727.

3. Lewis G, and Rader DJ. (2005). "New Insights into the Regulation of HDL Metabolism and Reverse Cholesterol transport". *Circ Res.* 96: 1221-1232.
4. Wang N, Silver DL, Thiele C, and Tall AR. (2001). "ATP- binding Cassette Transporter A¹ (ABCA¹) Functions as a Cholesterol Efflux Regulatory Protein". *The J Biol Chem.* 29: 23742-23747.
5. Knight BL. (2004). "ATP-binding cassette transporter A¹:regulation of cholesterol efflux". *Biochemical Society Transactions.* 32(1): 124-127.
6. Yancey, PG, Bortnick, AE, Kellner-Weibel, G, de la Ller-Maya, M, Phillips, MC, Rothblat, GH. (2003). "Importance of different pathways of cellular cholesterol Efflux". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23: 712-719.
7. Navab M, Judith A. Berliner, Ganesamoorthy Subbanagounder, Susan Hama, Andrew D. Watson, Brian J. Van Lenten, Deven Vora and Alan M. Fogelman, Aldons J. Lusis, Lawrence W. Castellani, Srinivasa Reddy, Diana Shih, Weibin Shi. (2001). "HDL and inflammatory response induced by LDL driven oxidized phospholipids". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21: 481-488.
8. Khalil M, William D, Wagner and Goldberg IJ. (2004). "Molecular Interactions Leading to Lipoprotein Retention and the Initiation of Atherosclerosis". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24: 2211-2218.
9. Sahoo D, Timothy C. Trischuk, TC, Victor AB, Drover, Samuel Ho, Giovanna Chimini, Luis B. Agellon, Ricky Agenihotri, Gordon A. Francis, and Lehner R. (2004). "ABCA¹-dependent lipid to efflux to apolipoprotein A-I mediates HDL particle formation and decreases VLDL secretion from murine hepatocytes". *Journal of Lipid Research.* 45: 1122-1131.
10. Rye K, Barter PJ. (2003). "Formation and Metabolism of Prebeta-Migrating, Lipid-Poor Apolipoprotein A-I". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24: 421-428.
11. Hovingh GK, Michel JA. Van wijland, Alison Brownlie, Radjesh J. Bisioendial, Michael R. Hayden, John JP, Kastelein, and Albert K. Groen. (2003). "The role of the ABCA¹ transporter and cholesterol

- efflux in familial hypoalphalipoproteinemia". *The Journal of Lipid Research*. 44: 1251-1255.
12. Tall A.R, Xian-cheng Jiang, Yi Luo, Silver D George Lyman Duff Memorial Lecture. (2000). "Lipid Transfer Proteins, HDL Metabolism, and Atherogenesis". *Arterioscler Thromb Vasc Bio*. 20: 1185-1188.
 13. Eckardstein AV, Jerzy-Roch N and Gerd A. (2001). "High Density Lipoproteins and Arteriosclerosis. Role of Cholesterol Efflux and Reverse Cholesterol Transport". *Arterioscle Thromb Vasc Biol*. 21: 13-27.
 14. Olchawa B, Kingwell BA, Hoang A, Laurence S, Miyazaki O, Nestel P and Sviridov D. (2004). "Physical fitness and reverse cholesterol transport". *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*. 24: 1087-1091.
 15. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, Yu L, Brewer C, Collins JA, Molhuizen Ho, Loubser O, Ouelette BF, Fichter K, Ashbourne-Excoffon KJ, Sensen CW, Scherer S, Mott S, Denis M, Martindale D, Frohlich J, Morgan K, Koop B, Pimstone S, Kastelein JI, Hayden Mr. (1999). "Mutations in ABC\ in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency". *Nat Genet*. 22:336-345.
 16. Bodzioch M, Orso E, Klucken J, Langmann T, Bottcher A, Diederich W, Drobnik W, Barlage S, Buchler C, Porsch-Ozcurumez M, Kaminiski WE, Hahmann HW, Oette K, Rothe G, Aslanidis C, Lackner KJ, Schmitz G. (1999). "The gene encoding ATP-binding cassette transporter \ is mutated in Tangier disease". *Nat Genet*. 22: 347-351.
 17. Rust S, Rosier M, Funke H, Real J, Amoura Z, Piette JC, Deleuze JF, Brewer HB, Duverger N, Deneffe P, Assmann G. (1999). "Trangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter\ . *Nat Genet*". 22: 352-355.
 18. Lawn RM, Wade DP, Garvin MR, Wang X, Schwartz K, Porter JG, Seilhamer JI, Vaughan AM, Oram JF. (1999). "The Tangier disease gene product ABC\ controls the cellular apolipoprotein-mediated lipid pathway". *J Clin Invest*. 104: R25-R31.
 19. Federica B, Freeman L, Knapper CL, Remaley A, Stonik J, Neufeld EB., Tansey T, Marcelo JA, Jamila A, Fruchart-Najib, Duverger N,

- Santamarina-Fojo S, and Bryan Brewer H. (2003). "Role of the hepatic ABCA¹ transporter in modulating intrahepatic cholesterol and plasma HDL cholesterol concentrations". *Journal of Lipid Research*. 44: 296-302.
20. Orsó E, Broccardo C, Kaminski WE, Bottcher A, Liebisch G, Drobnik W, Götz A, Chambenoit O, Diederich W, Langmann T, Spruss T, Luciani MF, Rothe G, Lackner KJ, Chimini G, Schmitz G. (2000). "Transport of lipid from golgi to plasma membrane is defective in tangier disease patient and ABCA¹ deficit mice". *Nat Genet*. 24: 192-196.
21. Schreyer SA, Hart LK and Attie AD. (1994). "Hypercatabolism of lipoprotein- free apolipoprotein A-I in HDL-deficient mutant chicken. Arterioscler". *Thromb Vasc Biol*. 14: 2053-2059.
22. Roshni RS, Fievet C, Castro G, James ER, Hennuyer N, Clee SM, Bissada N, Choy JC, Fruchart Bruce JC, McManus M, Staels B and Hayden MR. (2002). "Increased ABCA¹ activity protects against atherosclerosis". *The J Clin Investigation*. 1: 35-42.
23. Knight BL. (2004). "ATP-binding cassette transporter A¹: regulation of cholesterol efflux". *Biochem Soc Trans*. 32(1): 124-127.
24. Dean M, Hamon Y, and Chimini G. (2001). "The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily". *J Lipid Res*. 42: 1007-1017.
25. Ragozin S, Niemeier A, Laatsch A, Loeffler B, Merkel M, Beisiegel U, Heeren J. (2005). "Knockdown of hepatic ABCA¹ By RNA interference decreases plasma HDL cholesterol levels and influences postprandial lipemia in mice". *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25: 1233-1238.
26. Srivastava N. (2002). "ATP binding cassette transporter A¹- Key roles in cellular lipid transport and atherosclerosis. Molecular and cellular Biochemistry". 237: 155-164.
27. Durstine J.L, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, and DuBose KD. (2001). "Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis". *Sports Med*. 31: 1033-1062.
28. Ferando B, Verona J, Catherine De Geitere, Fruchart JC, Castro G, and Wikinski R. (2004). "Enhanced Cholesterol Efflux Promotion in Well-Trained Soccer Players". *Metabolism*. 10: 1262-1267.

29. Olchawa B, Bronwyn A, Kingwell A, Hoang, Schneider L, Miyazaki O, Nestel P, Sviridov D. (2004). "Physical fitness and reverse cholesterol transport". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24: 1087-1091.
30. Kenneth R. Wilund, Colvin PL, Phares D, Andrew P. Goldberg, and Hagberg JM. (2002). "The Effect of Endurance Exercise Training on Plasma Lipoprotein AI and Lipoprotein AI: All Concentrations in sedentary adults". *Metabolism.* 8: 1053-1060.
31. Jafari M, Leaf DA, MacRae H, Kasem J, O' Conner P, Pullinger C, Malloy M, and Kane JP. (2003). "The Effects of Physical Exercise on Plasma Prebeta¹-High-Density Lipoprotein". *Metabolism.* 4: 437-442.
32. Sviridov D, Kingwell B, Hoang A, Dart A, and Nestel P. "Single session exercise stimulates formation of prebeta¹- HDL in leg muscle. (2003). "*J Lipid Res.* 44: 522-526.
33. Cumhur K, Zübeyr Y, Kurtulus Y, Üçler K. (2000). "The Effects of Exercise and Smoking on Serum Lecithin: Cholesterol Acyltransferase Activity in Young Men". *Turk J Med Sci.* 30: 161-166.
34. Tsopanakis C, Kotsarellis D, Tsopanakis A. (1988). "Plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity in elite athletes from selected sports". *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 3:262-5.
35. Kannel WB, Belanger A, D'Agostino R, et al. (1986). "Physical activity and physical demand on the job and risk of cardiovascular disease and death: The Framingham Study". *Am Heart J.* 112: 820-825.
36. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, Bales CW, Henes S, Samsa GP, Otvos JD, Kulkarni KR, Slentz CA. (2002). "Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins". *N Engl J Med.* 347: 1483-1492.
37. Brewer BH. (2004). "Increasing HDL cholesterol levels". *N Engl Med.* 350: 15, 1491-1494.
38. Roshin R. Singaraja, Liam R. Brunham, Henk V, John J.P. Kastelein and Michael R. Hayden. (2003). "Efflux and atherosclerosis: the clinical and biochemical impact of variations in the ABCA¹ gene". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 32: 1322-1332.

39. Joyce C, Freeman L, Bryan Brewer H, and Santamaina-Fojo S. (2003). "Study of ABCA¹ function in transgenic mice". *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23:965-971.
40. Vaisman BL, Lambert G, Amar M, Joyce C, Ito T, Shamburek RD, Cain WJ, Fruchart-Najib J, Neufeld EB, Remaley AT, Brewer HBJ, Santamarina-Fojo S. (2001). "ABCA¹ overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice". *J Clin Invest.* 8: 303-309.
41. Cavelier LB, Qui Y, Bielicki JK, Afzal V, Cheng J-F, Rubin EM. (2001). "Regulation and activity of the human ABCA¹ gene in transgenic mice". *J Biol Chem.* 276: 18046-18051.
42. Singaraja RR, Bocher V, James ER, Clee SM, Zhang LH, Leavit BR, Tan B, Brooks-Wilson A, Kwok A, Bissada N, Yang YZ, Liu G, Tafuri SR, Fievet C, Wellington CL, Staels B, Hayden MR. (2001). "Human ABCA¹ BAC transgenic mice show increased high density lipoprotein cholesterol and apoA1-dependent efflux stimulated by an internal promoter containing liver X receptor response elements in intron 1". *J Biol Chem.* 276: 33969-33979.
43. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL and Herb, RA. (1993). "Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium". *Am J Physiol.* 265 (hear circ. Physiol.34) H294-H2098.
44. Kinoshita S, Yano H, and Tsuji E. (2003). "An increase in damage hypatocytes in rats after high intensity exercise". *Acta Physiol Scand.* 78: 225-230.
45. Salvador Versa Silvva A. Mottos KC, Gava NS, Brum PC, Negrao CE and Krieger EM. (1997). "Low intensity exercise training decrease cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol.* 273(Heart circ. physiol 42). H2627-H2631.
46. Gava NS, Versa _ Siva AS. Negrao CE and Krieger FM (1995). "Low intensity exercise training attenuates cardiac B-adrenergic tone exercise in spontaneously hypertensive rats". *Hypertension.* 26: 1129-1133.

47. Takekura H, and Yoshioka T. (1998). "Acute exhaustive exercise changes the metabolic profile in slow and fast muscle of rat". *Japanese J Physiol.* 38: 789-697.
48. Vincent HK. (2000). "Short term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance". *Eur J Appl Physiol.* 81:67-7.
49. Ghanbari_Niaki A, Khabazian B, Hissainin_Kakhak A, Rahbarizadeh F, Hedayat M. (2007). "Treadmill exercise enhance ABCA¹ expression in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun.* Doi:10,1016/j.bbrc.2007,07,100.