

## Research Paper

**The Effect of Endurance Training on the Mechanism of Muscle Glycogen Storage in Pre-diabetic C57BL/6 Mice****S. Gh. H. Rahimi<sup>1</sup>, S. M. Marandi<sup>2</sup>, M. H. Naser Esfahani<sup>3</sup>**

1. Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

2. Professor in Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran. (Corresponding Author).

3. Professor in Biology, Biotechnology Research Institute, Royan Research Institute, Iran

Received: 2022/05/10

Accepted: 2022/08/27

**Abstract**

**Purpose:** Type 2 diabetes originates from impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance, which is known as prediabetes. Prediabetes is known as a serious condition in developed and non-developed countries, and treatments for prediabetes will reduce the number of diabetics. The present study aimed to investigate the effect of endurance training on the mechanism of glycogen investments in the gastrocnemius of prediabetic mice.

**Methods & Materials:** Fifteen C57BL/6 male mice were randomly divided into two groups. First, mice were fed for 12 weeks on a normal diet (ND, 5) or a high-fat diet (HFD, 10). After the induction of prediabetes in the HFD group, they were divided into two subgroups: prediabetic (PD) and prediabetic with endurance exercise (PD-Ex) which trained on a treadmill, 5 days a week, and 45 minutes each day. The velocity also increased from 15 to 23 m/min.

**Results:** The results showed a significant decrease ( $p < 0.0001$ ) in blood glucose level and insulin resistance in the PD-Ex group compared to PD. Moreover, the PAS technique presented a significant decrease in the glycogen level ( $p < 0.001$ ) of the HFD group compared to the ND group, while endurance training increased glycogen accumulation in this muscle. The gene expression of markers involved in muscle glycogen content via RT-PCR, indicated a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in PI3K, AKT, GYS1 and LRRC8A genes, and a significant increase ( $p < 0.05$ ) in GSK3 between the ND group compared to the HFD group. This indicates the disruption of the signaling pathway of glycogen storage in the HFD group. However, endurance training (PD-Ex) led to a significant improvement in the expression level of PI3K, AKT, GYS1, and LRRC8A.

1. Email: smmarandi2001@yahoo.com

2. Email: qolale@yahoo.com

3. Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org



**Conclusion:** In general, endurance training seems to improve the harmful effects of prediabetic conditions on the signaling pathway of glycogen synthesis in the muscle of prediabetic mice.

**Keywords:** Prediabetes, Glycogen Synthase, High Fat Diet, Endurance Training

---

## **Extended Abstract**

### **Background and Purpose**

Diabetes, as one of the most important health problems in the world today, is associated with an increase in mortality (1, 2). Prediabetes is considered as the borderline of diabetes in which blood glucose is abnormally high but does not reach the threshold considered for the diagnosis of diabetes (3). The increase of insulin in the blood circulation is one of the factors of pre-diabetes, which is worsen with the development of insulin resistance (4, 5). Insulin resistance leads to changes in insulin-dependent metabolic processes such as glucose transport and glycogen synthesis. In fact, disruption in glycogen synthesis leads to an increase in blood sugar and diabetes. Therefore, one of the strategies to improve diabetic conditions is the stimulation of glucose uptake by skeletal muscles, the glycogen synthesis enzyme GYS1, which synthesizes glycogen through the AKT signaling pathway (6). Indeed, it can be said that the PI3K, AKT, GSK3, and GYS1 pathway is one of the effective pathways in glucose uptake in muscle, as a defect in it leads to insulin resistance. On the other hand, the growth and maintenance of skeletal muscle are largely regulated by insulin. Findings indicate that LRRC8A, also known as SWELL1, is an essential subunit of volume-regulated anion channels (VRAC) and may link mechanical stress transmission to AKT/PI3K insulin signaling, which is predicted in skeletal muscle to differentiate muscle. It regulates skeletal, functional, and potentially obesity and systemic glucose metabolism (7). Considering the importance of pre-diabetes and the unknown pathways involved in creating insulin resistance and their relationship with physical activity, it is necessary for people with pre-diabetes to make a procedural change in their lifestyle in the form of physical activities.. Therefore, The present study aimed to investigate the effect of endurance training on the mechanism of glycogen investments in the gastronome of prediabetic mice.

### **Materials and Methods**

Fifteen C57BL/6 male mice were randomly divided into two groups and at first, mice were fed for 12 weeks on a normal diet (ND, 5) or a high-fat diet (HFD, 10). After the induction of prediabetes in the HFD group, they were divided into two subgroups: prediabetic (PD) and prediabetic with endurance exercise (PD-Ex)



which trained on a treadmill, 5 days a week, and 45 minutes each day. Besides, the velocity increased from 15 to 23 m/min. Mice were anesthetized 24 hours after the last training session, and after 12 hours of fasting by intraperitoneal injection of the anesthetic ketamine (50-30 mg/kg) and xylazine (3-5 mg/kg), the muscle tissue was quickly separated and weighed. It was measured by a digital scale. Then, the findings were transferred to liquid nitrogen, and finally, the frozen tissues were kept in a freezer at  $-40^{\circ}\text{C}$  for mRNA extraction. The gene expression of markers involved in muscle glycogen content was measured using RT-PCR. The PAS technique was used for histological evaluation. Data were analyzed using a t-test and  $P < 0.05$  was considered as a significant change.

### Results

After the induction of prediabetes, the results showed a significant increase ( $p < 0.0001$ ) in blood glucose level, insulin resistance, and glucose tolerance test in the HFD group compared to ND. However, endurance training caused a significant decrease ( $p < 0.0001$ ) in blood glucose, insulin level resistance, and glucose tolerance test in the PD-Ex group compared to PD. Moreover, the PAS technique presented a significant decrease in the glycogen level ( $p < 0.001$ ) in the HFD group compared to the ND group, while endurance training increased glycogen accumulation in this muscle. The gene expression of markers involved in muscle glycogen content via RT-PCR indicated a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in PI3K, AKT, GYS1, and LRRC8A genes and a significant increase ( $p < 0.05$ ) in GSK3 in the ND group compared to the HFD group. Additionally, endurance training caused an increase in PI3K, AKT, GYS1, and LRRC8A genes and a decrease ( $p < 0.05$ ) in GSK3 in the ND group compared to the HFD group.

### Conclusion

In general, the HFD disruption of the glycogen synthesis signaling pathway reversed in the pre-diabetes group, and endurance training (PD-Ex) led to a significant improvement in the mRNA expression of PI3K, AKT, GYS1, and LRRC8A. The endurance training seems to improve the negative effects of pre-diabetic on the signaling pathway of glycogen in the muscle of pre-diabetic mice. Therefore, it seems that in the present study, training recovered the PI3K-AKT axis and LRRC8A expression from HFD injuries and led to the improvement of muscle glycogen in the exercise group compared to the pre-diabetes group. As the result, improvement of skeletal muscles would help insulin resistance conditions.



### The Article Message

The results of this study showed that aerobic exercise as a prevention method leads to the improvement of metabolic factors (blood sugar and insulin levels) and has a potential effect on the improvement of glycogen synthesis activity impaired by PI3K-AKT-GYSI and LRRC8A signaling. In pre-diabetic mice fed with a high-fat diet, it, in turn, leads to the return of glycogen reserves. These data support further studies on long-term effects aimed at possible applications.

### Ethical Considerations

#### Compliance with Research Ethical Guidelines

The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of Isfahan university (ethics Code: IR. UI. 140109)

#### Funding

This study received no funding from public, commercial, or nonprofit organizations.

#### Authors' Contributions

All authors have participated in designing, implementing and writing all parts of the present study.

#### Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest

#### Acknowledgement

This article is extracted from the thesis of the professional doctoral course of sports physiology in Isfahan University. The authors express their sincere gratitude to the respected staff of Royan Biotechnology Research Institute as well as the Faculty of Physical Education and Sports Sciences of Isfahan University who helped us in carrying out and improving the quality of this research.

### References

1. Deedwania PC, Fonseca VA. Diabetes, prediabetes, and cardiovascular risk: shifting the paradigm. *The American journal of medicine*. 2005;118(9):939-47.
2. Abbasi B, Molavi N, Tavalae M, Abbasi H, Nasr-Esfahani MH. Alpha-lipoic acid improves sperm motility in infertile men after varicocele: a triple-blind randomized controlled trial. *Reproductive BioMedicine Online*. 2020;41(6):1084-91.
3. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet*. 2012;379(9833):2279-90.
4. Li Y-p, Xiao J, Liang X, Pei Y, Han X-f, Li C-x, et al. DPP-4 inhibition resembles exercise in preventing type 2 diabetes development by inhibiting hepatic protein kinase C $\epsilon$  expression in a mouse model of hyperinsulinemia. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(6):0300060520934635.



5. Solayman M, Ali Y, Alam F, Islam A, Alam N, Khalil I, et al. Polyphenols: potential future arsenals in the treatment of diabetes. Current pharmaceutical design. 2016;22(5):549-65.
6. Kuai M, Li Y, Sun X, Ma Z, Lin C, Jing Y, et al. A novel formula Sang-Tong-Jian improves glycometabolism and ameliorates insulin resistance by activating PI3K/AKT pathway in type 2 diabetic KKAY mice. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016; 84:1585-94.
7. Kumar A, Xie L, Ta CM, Hinton AO, Gunasekar SK, Minerath RA, et al. SWELL1 regulates skeletal muscle cell size, intracellular signaling, adiposity and glucose metabolism. Elife. 2020;9: e58941.



## تأثیر تمرین استقامتی بر سازوکار ذخایر گلیکوژن عضلانی در موش‌های C57BL/6 پیش‌دیابتی

سید غلامحسین رحیمی<sup>۱</sup>، سید محمد مرندی<sup>۲</sup>، محمدحسین نصر اصفهانی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران (نویسنده مسئول)

۳. استاد جنین‌شناسی، گروه زیست‌شناسی، پژوهشکده زیست‌فناوری پژوهشگاه رویان، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

### چکیده

اهداف: دیابت نوع ۲ از اختلال در گلوکز ناشتا یا اختلال در تحمل گلوکز نشات گرفته است که به صورت پیش‌دیابت شناخته می‌شود. پیش‌دیابت گریبان‌گیر بسیاری در کشورهای توسعه یافته و غیر توسعه یافته شده است و اقدامات در افراد پیش‌دیابت به صورت مؤثری در کاهش آمار افراد دیابتی مؤثر خواهد بود. هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر سازوکار ذخایر گلیکوژن در عضله دوقلو موش‌های پیش‌دیابتی است. مواد و روش‌ها: تعداد ۱۵ سر موش نر نژاد C57BL/6 به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی طبیعی (ND، ۵ عدد) و رژیم غذایی پرچرب (HFD، تعداد ۱۰ عدد). موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. پس از تشخیص القای پیش‌دیابت توسط آزمون‌های تشخیصی در گروه HFD، این گروه به دو زیرگروه تقسیم شدند: موش‌های پیش‌دیابت شده (PD) و موش‌های پیش‌دیابت شده به همراه تمرین استقامتی (PD-Ex) که به صورت دویدن بر تردمیل ۵ روز در هفته و ۴۵ دقیقه در هر روز و با سرعت فزاینده از ۱۵ الی ۲۳ متر بر دقیقه انجام شد. یافته‌ها: نتایج کاهش معناداری ( $p < 0.0001$ ) در سطح گلوکز خون و مقاومت انسولینی را در گروه PD-Ex نسبت به PD نشان داد. همچنین تکنیک PAS، کاهش قابل‌مشاهده و کمی در سطح ( $p < 0.001$ ) از ذخایر گلیکوژن عضله‌ی دوقلو در موش‌های گروه HFD نسبت به گروه ND نشان داد. درحالی‌که تمرین استقامتی باعث افزایش تجمع گلیکوژن در این عضله شد. سطح نسبی بیان ژن‌های دخیل در ذخایر گلیکوژن عضله، که از طریق تکنیک Real-Time PCR انجام

1. Email: smmarandi2001@yahoo.com

2. Email: qolale@yahoo.com

3. Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org



گرفت، کاهش معناداری ( $p < 0.05$ ) را در ژن های *AKT, GYS1, PI3K* و ژن *LRRC8A* و در خصوص *GSK3*، افزایش معناداری ( $p < 0.05$ ) بین گروه ND در مقایسه با گروه HFD نشان داد. این امر، نشان دهنده اختلال مسیر پیام‌رسانی ذخایر گلیکوژن در گروه HFD می‌باشد. اما تمرین استقامتی (PD-Ex) منجر به بهبود قابل‌ملاحظه‌ای از سطح بیان ژن های *AKT, GYS1, PI3K* و *LRRC8A* شد. نتیجه‌گیری: به طور کلی به نظر می‌رسد انجام تمرین استقامتی، تأثیرات منفی شرایط پیش‌دیابتی ایجاد شده بر مسیر پیام‌رسانی سنتز گلیکوژن در بافت عضله موش‌های پیش‌دیابتی را بهبود می‌بخشد.

### واژگان کلیدی: تمرین استقامتی، ذخایر گلیکوژن عضلانی، پیش‌دیابت

#### مقدمه

دیابت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در جهان امروز با افزایش نرخ مرگ‌ومیر همراه است (۱، ۲). پیش‌دیابت به‌عنوان مرز ورود به دیابت در نظر گرفته می‌شود که در آن گلوکز خون به‌طور غیرطبیعی زیاد است اما به آستانه‌ای که جهت تشخیص دیابت در نظر گرفته شده نمی‌رسد (۳). افزایش انسولین در گردش خون، یکی از عوامل پیش‌دیابت است که با ایجاد مقاومت انسولینی وخیم‌تر می‌شود (۴، ۵). از آنجا که ۸۰ درصد برداشت گلوکز تحریک شده توسط انسولین مربوط به عضله اسکلتی است، تصور می‌شود که عضله اسکلتی عامل اصلی در ایجاد مقاومت به انسولین در انسان باشد (۶). در نتیجه لزوم مطالعات بیشتر و یافتن یک راه‌کار درمانی کم‌خطر و قابل دسترس عموم در جهت پیشگیری از این بیماری بیش‌ازپیش ضروری به نظر می‌رسد (۷).

مقاومت انسولینی منجر به تغییر فرآیندهای متابولیکی وابسته به انسولین همچون انتقال گلوکز و سنتز گلیکوژن می‌شود. میزان گلیکوژن یکی از اصلی‌ترین شاخص‌ها در متابولیسم گلوکز است که به توزیع و برداشت گلوکز مربوط می‌شود. اختلال در سنتز گلیکوژن منجر به افزایش قند خون و دیابت می‌شود، بنابراین یکی از استراتژی‌های بهبود شرایط دیابتی تحریک برداشت گلوکز توسط عضلات اسکلتی، آنزیم سنتز گلیکوژن *GYS1* است که از طریق مسیر پیام‌رسانی *AKT*، گلیکوژن را سنتز می‌کنند (۸). به لحاظ مولکولی، فعال‌سازی پروتئین کیناز B<sup>۱</sup> (*AKT*)، سوبسترای گیرنده انسولین - ۱<sup>۲</sup> (*IRS1*) و فسفواینوزیتول ۳ کیناز<sup>۳</sup> (*PI3K*) باعث ایجاد اثرات انسولین بر جابجایی انتقال دهنده

1. Protein kinase B
2. Insulin Receptor Substrate - 1
3. Phosphoinositide 3-Kinase



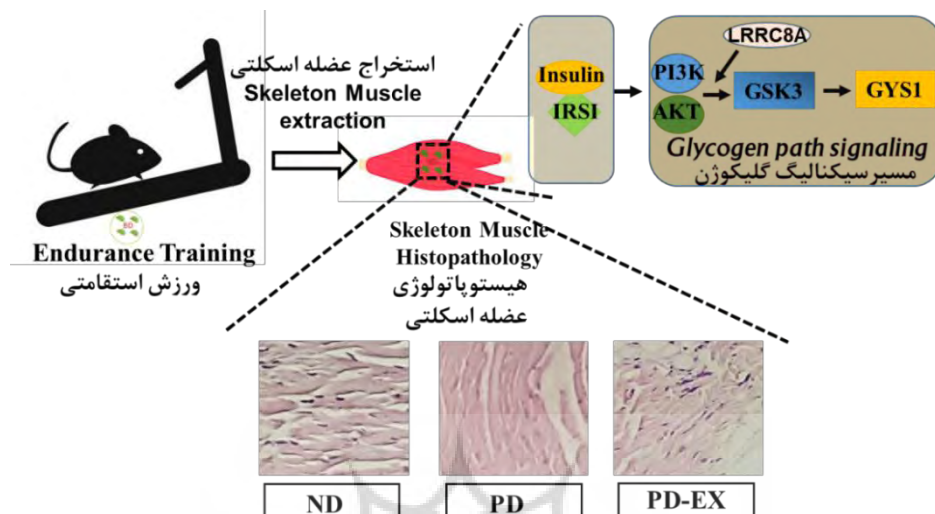
گلوکز نوع ۱۴ (GLUT4) و در نتیجه انتقال گلوکز به درون عضلات اسکلتی می‌شود. از این رو، AKT از مولکول‌های مهم پیام‌رسانی انسولین در نظر گرفته می‌شود. در عضله اسکلتی انسان، انسولین در غلظت‌های فیزیولوژیکی باعث دفسفوریلاسیون و مهار فعالیت گلیکوژن سنتاز کیناز ۲۳ (GSK3) می‌شود که با دفسفوریلاسیون و فعال شدن گلیکوژن سنتاز ۳ (GYS) و افزایش شدید سنتز گلیکوژن همراه است (شکل ۱) (۹). به بیان دیگر ژن *GYS1* در عضله اسکلتی باعث افزایش سنتز گلیکوژن می‌شود و در نهایت انتقال گلوکز خون به داخل عضله را تسهیل کرده و باعث کاهش قند خون و بهبود مقاومت انسولینی می‌شود. فرآیند تبدیل گلوکز به گلیکوژن توسط *GYS1*، ایزو فرم اصلی آنزیم *GYS* در عضلات اسکلتی انجام می‌شود (۱۰). در واقع می‌توان گفت، مسیر *PI3K, AKT, GSK3, GYS1* یکی از مسیرهای موثر در برداشت گلوکز در عضله است و نقص در آن منجر به ایجاد مقاومت انسولینی می‌شود. بنابراین، در حال حاضر اعتقاد بر این است که پیام‌رسانی انسولین از گیرنده به *GYS* شامل فعال‌سازی *PI3K* و *AKT* می‌شود که به نوبه خود منجر به مهار *GSK3* و در نتیجه فعال شدن *GYS* می‌شود. لذا اختلال در سنتز گلیکوژن تحریک شده با انسولین با اختلال در فعال‌سازی گلیکوژن سنتاز همراه است. تحقیقات نشان داده است که افزایش گلیکوژن سنتاز باعث افزایش تجمع گلیکوژن می‌شود. این نتیجه، تایید می‌کند که فعال شدن گلیکوژن سنتاز، و همچنین انتقال گلوکز، به تجمع گلیکوژن در پاسخ به انسولین در عضلات اسکلتی کمک می‌کند. در نتیجه ژن *GYS1* عضله را می‌توان به عنوان کاندید مهمی برای تعدیل مقاومت به انسولین در عضلات اسکلتی در نظر گرفت (شکل ۱) (۱۱).

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
پرتال جامع علوم انسانی

1. Glucose Transport 4
2. Glycogen Synthase Kinase 3
3. Glycogen Synthase







شکل ۱- تأثیر وضعیت استرس پیش دیابتی و تمرین استقامتی بر ذخایر گلیکوژن عضله اسکلتی.

**Figure 1 - The effect of pre-diabetic stress status and endurance training on skeletal muscle glycogen stores.**

In the above figure, a summary of the methodology of the current protocol is depicted. As can be seen, in the current research, the effect of endurance training was used to affect muscle tissue and the path of glycogen synthesis. Under normal circumstances, insulin binds to its receptor (IRS1) at the skeletal muscle cell surface. IRS1 then activates various pathways to build muscle glycogen, one of the most important of which is the PI3K-AKT signalling pathway. Activation of this molecular pathway leads to inhibition of GSK3 molecule through dephosphorylation. Subsequent inhibition of GSK3 activity leads to activation of the major isoform of glycogen synthase in skeletal muscle (GYS1), which is accompanied by a sharp increase in glycogen synthesis. Meanwhile, the LRR8A gene may regulate mechanical stress transfer to PI3K / AKT insulin signalling. In pre-diabetic conditions (PD) (induced by excessive consumption of a high-fat diet), the glycogen-related pathway associated with glycogen stores in skeletal muscle is disrupted, leading to muscle glycogen loss. But when pre-diabetic rats undergo endurance training (PD-EX) intervention, skeletal muscle glycogen stores return to normal.

در شکل فوق خلاصه ای از روش شناسی پروتکل حاضر به تصویر کشیده شده است. همانطور که ملاحظه می شود، در تحقیق حاضر تأثیر تمرین استقامتی جهت اثرگذاری بر بافت عضلانی و مسیر سنتز گلیکوژن استفاده



شده است. در شرایط طبیعی، انسولین به گیرنده خود (IRS1) در سطح عضلات اسکلتی متصل می‌گردد. سپس به منظور ساخت گلیکوژن عضله، IRS1 مسیرهای مختلفی را فعال می‌کند و از مهمترین این مسیرها، مسیر پیام‌رسانی PI3K-AKT می‌باشد. فعال شدن این مسیر مولکولی منجر به مهار مولکول GSK3 به طریق دفسفریلاسیون می‌شود. متعاقب مهار فعالیت GSK3، منجر به فعال شدن ایزو فرم اصلی آنزیم گلیکوژن سنتاز (GYS1) در عضله اسکلتی می‌شود که با افزایش شدید سنتز گلیکوژن همراه است. در این میان، ژن LRRC8A ممکن است انتقال فشار مکانیکی را به پیام‌رسانی PI3K/AKT / انسولین تنظیم سازد. در شرایط پیش‌دیابتی (PD) (که به وسیله مصرف بیش از اندازه ی رژیم غذایی پرچرب القا می‌شود)، مسیر سیگنالینگ مرتبط با ذخایر گلیکوژن در عضلات اسکلتی دچار اختلال می‌گردد و منجر به از دست رفتن گلیکوژن عضله می‌شود. اما زمانی که موش‌های پیش‌دیابتی تحت مداخله تمرین استقامتی (PD-EX) قرار می‌گیرند، ذخایر گلیکوژن عضله اسکلتی به وضعیت طبیعی خود باز می‌گردد.

از سوی دیگر رشد و حفظ عضله اسکلتی تا اندازه زیادی با انسولین تنظیم می‌شود. مطالعات جدید نشان می‌دهند کانال‌های یونی حسگر مکانیکی، یا کمپلکس‌های کانال‌های یونی ممکن است مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی را تنظیم کنند. کانال‌های آنیونی تنظیمی با حجم<sup>۱</sup> (VRAC)، کلید اصلی تنظیم تورم سلول بر اثر برداشت آب می‌باشند که به طور طبیعی از مصرف بیش از حد آب و تورم بیش از حد سلول جلوگیری می‌کند. از طرفی اهمیت VRAC در سلامت سلول به تازگی مشخص شده است. VRAC یک کانال هترومیری با ساختار پیچیده شامل ۵ زیر واحد پروتئینی حاوی توالی‌های غنی از لوسین ۸ از A تا E<sup>۲</sup> (LRRC8A-E) می‌باشد که ترکیب دقیق آنها تعیین کننده خواص آن است (۱۲). مطالعات اخیر، LRRC8A که با عنوان SWELL1 نیز شناخته می‌شود را شناسایی کرده اند که جهت عملکرد دقیق VRAC ضروری می‌باشد. به عبارتی SWELL1 یک زیر واحد ضروری VRAC است و باید حداقل با یکی دیگر از اعضای خانواده برای ایجاد فعالیت طبیعی VRAC بیان شود که تغییرات حجم سلول‌های مختلف را به‌طور چشمگیری تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۳). روی هم‌رفته، یافته‌ها نشان می‌دهد که LRRC8A ممکن است انتقال فشار مکانیکی را به پیام‌رسانی انسولین PI3K/AKT مربوط سازد، که در عضله اسکلتی پیش‌بینی می‌شود تمایز عضله اسکلتی، عملکرد و همچنین به‌صورت بالقوه چاقی و متابولیسم گلوکز سیستمیک را تنظیم می‌کند (۱۴).

1. Volume-Regulated Anion Channel
2. Leucine-Rich Repeat-Containing Protein 8 A-E



کنترل وزن و توده عضلانی، روش مؤثری برای زندگی سالم است و شامل تعادل بین فعالیت بدنی و رژیم غذایی سالم است. تمرینات منظم ورزشی به عنوان ابزار درمانی یا پیشگیرانه غیر دارویی در مقابل بیماری‌های متابولیک استفاده می‌شود (۱۵). توانایی حرکت ارادی و انقباض عضله اسکلتی که با ورزش و سایر فعالیت‌های بدنی مرتبط است با افزایش تمرینات ورزشی در افراد، ابتدا به بیماری‌های متابولیک را کاهش می‌دهد (۱۶). همچنین مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که فعالیت بدنی باعث بهبود حساسیت انسولینی در عضلات و کل بدن شده و همچنین اثرات معکوسی بر سندروم متابولیکی دارد (۱۷). جالب توجه است که کاهش وزن ناشی از ورزش نسبت به رژیم غذایی برای بهبود مقاومت به انسولین در افراد چاق بهتر است (۱۸). مکانیسم اساسی ممکن است این باشد که کاهش وزن ناشی از ورزش می‌تواند گلوکونئوز غیر ضروری را از طریق فعال شدن ظرفیت اکسایشی میتوکندری و کاهش تولید گلوکز درون‌زا، سرکوب کند (۱۹). با توجه به کمبود منابع و تحقیقات در مورد نقش فعالیت بدنی بر مسیر PI3K, AKT بخصوص مارکر GYS1 اقدام به انجام این تحقیق نموده ایم و هنوز جنبه‌های مشخصی از این فرآیند ناشناخته است و نیاز به تحقیقات بیشتری است. لذا در تحقیق حاضر از تمرین استقامتی جهت متغیر اثرگذار بر مسیر پیام‌رسانی سنتز گلیکوژن استفاده شد، تا محقق بررسی کند که آیا تمرین استقامتی با پروتکل مورد نظر می‌تواند بر بیان ژن‌های مورد نظر در سنتز گلیکوژن اثر بگذارد؟

با توجه به اهمیت مسئله پیش‌دیابت و ناشناخته بودن مسیرهای درگیر در ایجاد مقاومت انسولینی به خصوص مسیر موثر PIK3/AKT و ارتباط آن‌ها با انواع فعالیت بدنی و همچنین نقش پیشگیری پیش‌دیابت در سلامتی و جلوگیری از رشد مبتلایان به دیابت نوع ۲، ضروری است تا افراد مبتلا به پیش‌دیابت تغییر رویه‌ای در سبک زندگی را در دستور کار قرار دهند. در این راستا با توجه به اینکه عضله اسکلتی بزرگ‌ترین بافت حساس به انسولین در بدن است، تمرکز این مطالعه بر عضلات است تا اثر ۸ هفته تمرین استقامتی در رشد میوبلاست‌های پیش‌دیابتی به واسطه ژن LRRC8A و ذخایر گلیکوژن در سطح سلولی و مولکولی در پیشگیری از پیش‌دیابت مورد بررسی قرار دهد، تا اهمیت مسئله پیش‌دیابت و تأثیرات مخرب آن و راه‌کارهای احتمالی برای بهبود عوارض آن روشن گردد.

## روش پژوهش

### طراحی مطالعه

در این پژوهش از موش‌های C57BL/6 چهار هفته‌ای با وزن متوسط ۱۲ تا ۱۴ گرم استفاده گردید. موش‌ها تحت شرایط استاندارد چرخه روشنایی - تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)



و با میزان رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و درجه حرارت  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و همه موش‌ها دسترسی آزاد به خوراک و آب داشتند.

تحقیق حاضر دارای دو مرحله بوده است. در مرحله اول که هدف القای پیش‌دیابت بود از رژیم پرچرب استفاده شد. بدین ترتیب موش‌های همسان در این پژوهش به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه اول (تعداد = پنج: N)، رژیم غذایی نرمال<sup>۱</sup> (ND) حاوی ۱۰٪ چربی، ۷۰٪ کربوهیدرات، ۲۰٪ پروتئین را دریافت کردند و گروه دوم (تعداد = ده: N)، که رژیم غذایی پرچرب<sup>۲</sup> (HFD) حاوی ۶۰٪ چربی، ۲۵٪ کربوهیدرات و ۱۵٪ پروتئین را دریافت کردند. به مدت زمان ۱۲ هفته گروه اول و دوم تغذیه شدند. پس از ۱۲ هفته و گرفتن تست‌های تشخیصی پیش‌دیابت و مقایسه‌ی دو گروه، القای پیش‌دیابت در گروه رژیم پرچرب در مقایسه با گروه ND به اثبات رسید. در مرحله دوم تحقیق و در انتهای ۱۲ هفته، موش‌های دریافت‌کننده رژیم پرچرب به دو گروه مجزا تقسیم شدند. با توجه به اینکه محدوده‌ی سطح پیش‌دیابت، در موش‌های C57BL/6، ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گلوکز خون می‌باشد (۱۸)، پس از اطمینان از القای پیش‌دیابت در گروه HFD، سپس این گروه به دو زیرگروه (تعداد = پنج: N) تقسیم شد: گروه پیش‌دیابتی<sup>۳</sup> (PD) صرفاً تا پایان آزمایش رژیم غذایی پرچرب را دریافت کردند و موش‌های پیش‌دیابتی که تحت یک دوره ورزش استقامتی<sup>۴</sup> (PD-Ex) و به همراه دریافت رژیم HFD قرار گرفتند. در پایان پروتکل تمرینی<sup>۲</sup> گروه مقایسه شدند و اثربخشی تمرین استقامتی گزارش گردید (در واقع در این پژوهش به دنبال ارزیابی تاثیر تمرین استقامتی بر پیشگیری بیماری پیش‌دیابت بوده ایم که هدف بهبود شرایط پیش‌دیابت با استفاده همزمان از رژیم پرچرب بوده است).

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی با تزریق درون صفاقی ماده بیهوشی (ترکیبی از کتامین (۳۰-۵۰ mg/kg) و زایلازین (۵-۳ mg/kg)) بیهوش شدند. پس از تأیید بیهوشی (توسط عدم عقب کشیدن پا)، بافت عضله دوقلو سریعاً جدا و وزن آن توسط ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد. در ادامه بافت‌ها به نیتروژن مایع منتقل و در نهایت بافت‌های منجمد شده جهت استخراج mRNA در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

1. Normal Diet
2. High-Fat Diet
3. Pre-Diabetics
4. Pre-Diabetics - Exercise



### مداخله ورزشی

موش‌های گروه تمرین، به مدت ۱۰ هفته و به مدت ۵ روز در هفته (روزانه ۴۵ دقیقه) به تمرین هوازی، استقامتی روی تردمیل پرداختند (۱۹). پروتکل شدت تمرین طراحی شده به صورت فزاینده بود. بدین صورت که هر دو هفته یکبار بر شدت تمرین افزوده می‌شد (با شدت متوسط ۵۰ تا ۶۰ درصد اکسیژن مصرفی) (۲۰، ۲۱). در ابتدا پیش از شروع مداخله تمرین اصلی، همه موش‌ها به مدت یک هفته روی تردمیل (۱۰ دقیقه، با استفاده از سرعت‌های مختلف) به منظور آشناسازی موش‌ها به دویدن، شروع به دویدن کردند. هفته‌های مداخله تمرینی عبارت بودند از: هفته اول و دوم موش‌ها با شدت ۱۵ متر در دقیقه، هفته سوم و چهارم با سرعت ۱۷ متر در دقیقه، هفته پنجم و ششم با سرعت ۱۹ متر در دقیقه، هفته هفتم و هشتم با سرعت ۲۱ متر در دقیقه و در هفته نهم و دهم با سرعت ۲۳ متر در دقیقه تمرین خود را انجام دادند. نکته قابل توجه اینکه هر جلسه تمرینی شامل ۳ دقیقه گرم کردن با سرعتی معادل ۱۵ درصد کمتر از شدت تمرینی در هر هفته، ۴۰ دقیقه تمرین و ۲ دقیقه سرد کردن، معادل ۲۰ درصد کمتر از شدت تمرین بود (۲۲، ۲۳). این مطالعه به تائید کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان با شناسه‌ی اخلاق IR.UI.1401019 رسیده است.

### تجزیه و تحلیل های بیوشیمیایی

در پایان ۱۲ هفته، به منظور تأیید القای پیش‌دیابت، نسبت به گروه متناظر خود (گروه دریافت کننده رژیم غذایی طبیعی) و در پایان ۲۲ هفته جهت بررسی اثربخشی مداخلات، فاکتورهای بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. سنجش گلوکز خون ناشتا<sup>۱</sup> (FBS) و سنجش تحمل گلوکز<sup>۲</sup> (GTT)، با استفاده از دستگاه سنجش گلوکز خون (Sannuo GA-3 Blood Glucose Meter, Changsha) (Sinocare Inc) از انتهای دم موش‌ها صورت گرفت. به منظور سنجش تحمل گلوکز، موش‌ها به مدت ۶ ساعت ناشتا بودند و سپس با ۲۰۰ میکرولیتر محلول گلوکز گاوآژ شدند. خونگیری برای سنجش تست تحمل گلوکز با گلوکومتر حیوانی به صورت قطره ای و در فاصله های زمانی ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد اندازه‌گیری شد. سطح انسولین پلاسما با کیت الیزا انسولین فوق حساس موش (ALPCO 80-INSMS-E01، Keewaydin Drive، USA) طبق دستورالعمل سازنده تعیین شد. در پایان تحقیق، پس از گذشت ۱۲ ساعت از آخرین تمرین استقامتی و سایر مداخلات، موش‌ها توسط ماده بیهوشی کتامین و زایلازین بی هوش شدند و سپس کشتار شدند. سپس عضله دوقلو تمامی

1. Fasting Blood Sugar
2. Glucose tolerance test



موش‌ها جدا و از طریق ترازوی دیجیتالی، وزن کل عضله اندازه‌گیری شد. در نهایت جهت نگهداری و ارزیابی‌های هیستولوژی و بافتی در فریزر منهای ۸۰ قرار گرفت.

### تجزیه و تحلیل RT-qPCR

استخراج کل RNA از عضله دوقلو طبق پروتکل ترایزول (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) مورد انجام قرار گرفت. سپس غلظت تمامی RNA ها توسط دستگاه Nano Drop خوانده شد و فرآیند سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA (biotechrabbit™ cDNA Synthesis) طبق دستورالعمل سازنده صورت گرفت. RT-qPCR با تکنیک SYBR Green (TaKaRa, Japan) Kit، طبق دستورالعمل سازنده صورت گرفت. دستگاه Applied Biosystems™ StepOne™ Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) انجام شد. در جدول ۱-۱ توالی پرایمرهای اختصاصی ژن‌های های دخیل در ذخیره گلیکوژن عضله اسکلتی (*PI3K, AKT, GSK3, GYS1*) و همچنین ژن *LRRC8A* ارائه شده است. همچنین از پرایمر اختصاصی *GAPDH* جهت کنترل تکثیر ژن داخلی استفاده شد.

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی (رفت و برگشت) مربوط به هر ژن

Table 1-Specific Primers (Forward and Reverse) for Each Gene

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Annealing temperature (°C)
PI3K	CAGATACTCAGATGCCA CACCAA	CGCTCTTCATAACGATG CTCCC	58
AKT	CTTACAGCCCTCAAGTAT GCC	TCCGTGAAGACTCGCTC CC	56
GSK3	AGTTATTTGACCGCATAG TTCC	GACTCTAGCACGCACAC C	50
GYS1	GTCTTCACTACCGTATCC CA	TCTTACATTGAGCCCGT TG	54
LRRC8a	TCCTCGCCTTAGATCAAT CACA	GACGCAGAAAACACAAA TGGAC	56
18sRNA	TGTCACCAACTGGGACG ATA	GGGGTGTGTAAGGTCTC AAA	60



### تجزیه و تحلیل هیستوپاتولوژی

جهت بررسی و ارزیابی بافت‌شناسی، بعد از کشتار موش‌ها، بخشی از عضله دوقلو در مایع فرمالین با غلظت چهار درصد تثبیت شد. سپس به‌منظور تهیه اسلاید، بخش‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر در فرمالین ۱۰ درصد بافر ثابت و در پارافین جاسازی شدند. برای بررسی و رنگ‌آمیزی گلیکوژن از تکنیک رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیف<sup>۱</sup> (PAS) استفاده شد. سپس ارزیابی‌های کمی رنگ‌آمیزی در عضله دوقلو موش‌ها، توسط یک پاتولوژیست با تجربه انجام شد و اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده شدند.

### تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار گراف پد پریم 8.4.3 GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) انجام شد. آزمون (Student independent) t-test جهت مقایسه با گروه کنترل و همچنین به‌منظور تأثیر ورزش استقامتی به عنوان فاکتور پیشگیری کننده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت نیز از همین آزمون استفاده گردید. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد. سطح معناداری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. تمام نتایج تجربی به‌صورت: میانگین  $\pm$  استاندارد خطای میانگین ارائه شده‌است.

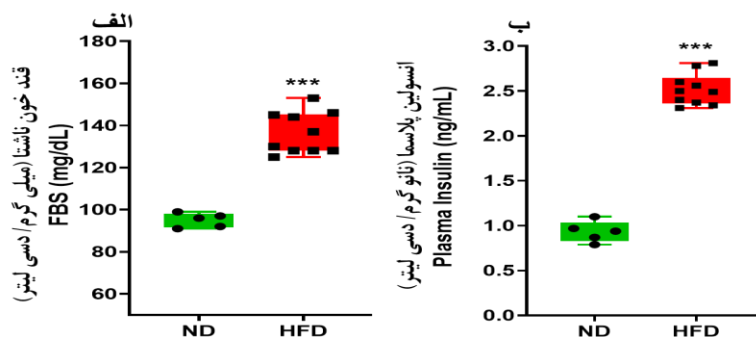
### نتایج

#### اثر پیش‌دیابت بر گلوکز خون و انسولین

نتایج نشان داد که بعد از القای پیش‌دیابت به عنوان مداخله اول بر روی موش‌ها، که به مدت ۱۲ هفته به طول انجامید، در زمان ناشتایی، گلوکز خون موش‌هایی که HFD دریافت کرده بودند، افزایش قابل‌ملاحظه و معناداری ( $136/9 \pm 6/92$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در مقایسه با موش‌هایی که ND دریافت کرده بودند ( $95/39 \pm 3$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) نشان دادند ( $p < 0/0001$ ) (نمودار ۱-الف). این بدین معنا است که القای پیش‌دیابت به‌درستی انجام شده است. در ارتباط با میزان انسولین پلاسما، در پایان مداخله اول، میزان انسولین پلاسما در گروه HFD نسبت به گروه ND افزایش معناداری نشان داد ( $p < 0/0001$ ). این امر می‌تواند اثباتی بر ایجاد مقاومت انسولینی باشد (نمودار ۱-ب).

#### 1. Periodic Acid - Schiff





شکل ۱- اثر پیش‌دیابت بر گلوکز خون و انسولین. الف مقایسه سطح قند خون ناشتا (FBS) و ب سطح انسولین پلاسما بین گروه HFD و گروه ND. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری، (p < 0.001) \*\* (p < 0.0001) \*\*\*: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

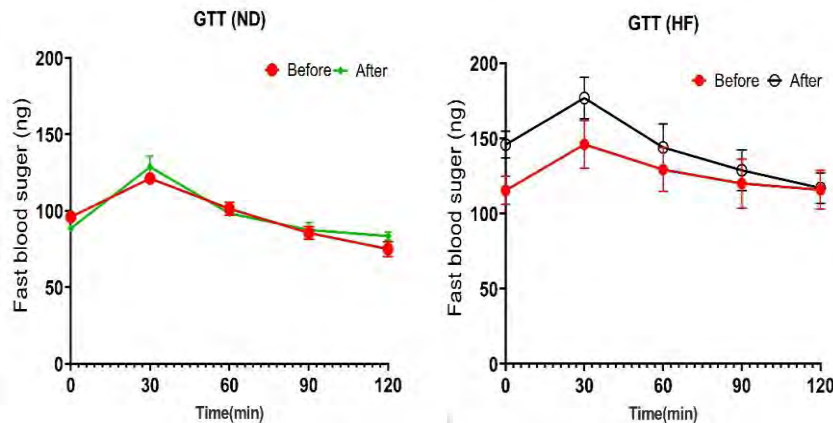
**Diagram 1 - The effect of pre-diabetes on blood glucose and insulin. A comparison Fasting blood sugar (FBS) levels and Plasma insulin level between the HFD group and the ND group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* (p < 0.001), \*\*\* (p < 0.0001). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.**

### ۳-۲ - اثر پیش‌دیابت بر تست تحمل گلوکز

داده‌ها نشان داد که بررسی‌های خونی تست تحمل گلوکز در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه، گلوکز خون موش‌هایی که HFD دریافت کرده بودند در پایان ۲۳ هفته نسبت به پایان ۱۲ هفته یعنی بعد از القای پیش‌دیابت به عنوان مداخله اول بر روی موش‌ها، به طول انجامید، افزایش قابل‌ملاحظه‌ای مشاهده شد. از طرفی در گروه نرمال تغییرات خاصی در پایان ۲۳ هفته نسبت به پایان ۱۲ هفته مشاهده نشد. (شکل ۲).







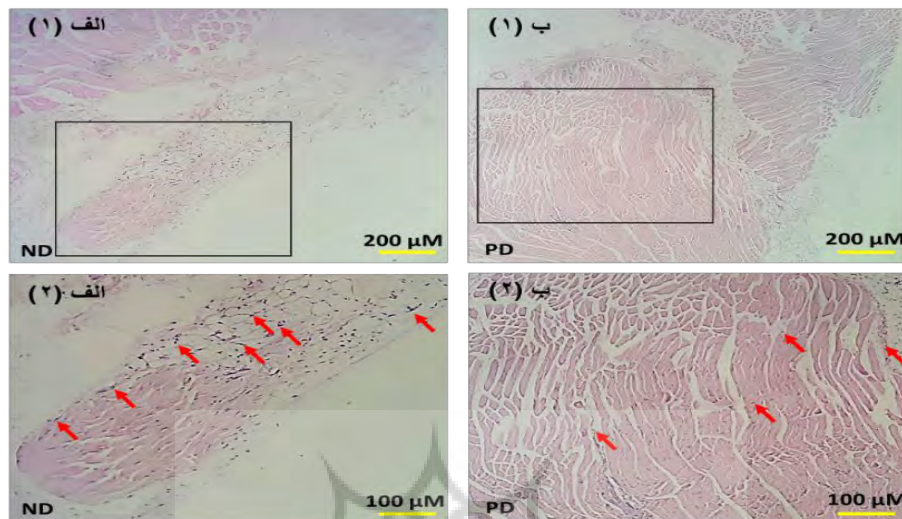
شکل ۲- اثر پیش دیابت بر تست تحمل گلوکز. مقایسه سطح قند خون (GTT) در پایان ۲۳ هفته نسبت به پایان ۱۲ هفته بین گروه HFD و گروه ND. در گروه ND سطح معنی داری ( $p < 0.001$ ) \*\* بیم هفته ۲۳ و هفته ۱۲ بود. تمام نمودار ها بر اساس (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) ارائه شده اند. ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

**Figure 2-** Effect of pre-diabetes on glucose tolerance test. Comparison of blood glucose levels (GTT) at the end of 23 weeks compared to the end of 12 weeks between the HFD group and the ND group. All graphs are presented as (mean  $\pm$  standard error). ND: group that received a regular diet. HFD: group that received a high-fat diet.

### اثر پیش دیابت بر ذخایر گلیکوژن بافت عضله اسکلتی

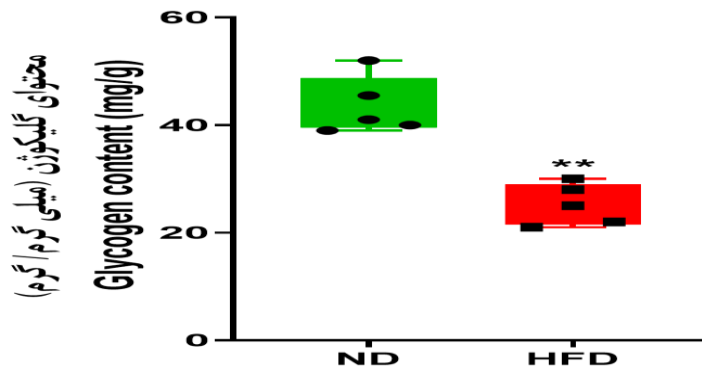
طبق نتایج بررسی هسیتولوژی بافت عضله اسکلتی، گروه HFD منجر به کاهش تجمع سطح کلیکوژن در عضلات اسکلتی در مقایسه با گروه ND شده است (شکل ۳). همچنین، بر اساس نتایج کمی به دست آمده گروه HFD، به لحاظ آماری کاهش معناداری از تجمع گلیکوژن در بافت عضله اسکلتی موش ها، نسبت به گروه ND نشان داد ( $p < 0.001$ ) (شکل ۳).





شکل ۳- اثر پیش دیابت بر ذخایر گلیکوژن بافت عضله اسکلتی. الف (۱) و الف (۲) تجمع محتوای گلیکوژن عضلانی در گروه ND. ب (۱) و ب (۲). گروه PD کاهش تجمع محتوای گلیکوژن را نشان می دهند. تمام نقاط آبی پرنگ در تصاویر نشان دهنده ی تجمع گلیکوژن عضلانی می باشند که با فلش قرمز رنگ نشان داده شده است.

**Figure 3 - The effect of prediabetes on glycogen stores in skeletal muscle tissue. A (1) and A (2) Accumulation of muscular glycogen content in ND group. B (1) and B (2) of the PD group show a decrease in the accumulation of glycogen content. All blue dots in the images show the accumulation of muscle glycogen, which is indicated by a red arrow.**



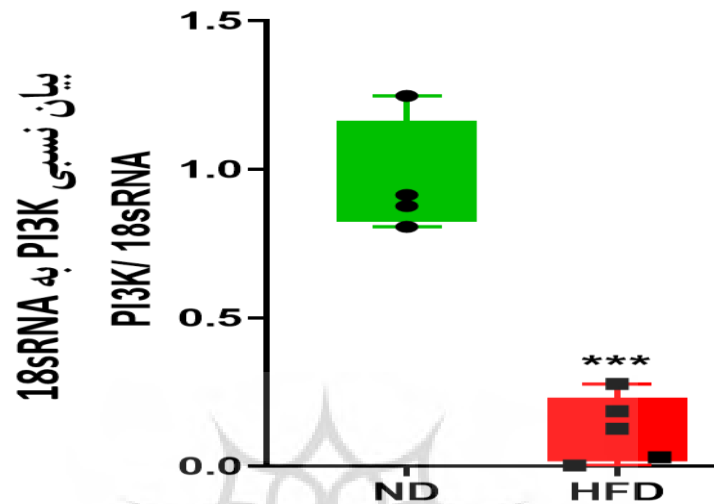
شکل ۳ - اثر پیش‌دیابت بر محتوای گلیکوژن بافت عضله اسکلتی. میانگین درصد تجمع گلیکوژن عضلانی بین مداخله‌ها. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری ( $p < 0.0001$ ), (\*\*\*) ( $p < 0.001$ ), (\*\*): گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

**Diagram 3 - The effect of prediabetes on glycogen content of skeletal muscle tissue. The mean percentage of muscle glycogen accumulation between interventions. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.**

### ۳-۴ - اثر پیش‌دیابت بر ژن‌های دخیل در ذخایر گلیکوژن

بیان ژن‌های دخیل در آنزیم‌های مرتبط با مسیر سنتز گلیکوژن در بافت عضله دوقلو نشان دادند که گروه HFD در مقایسه با گروه ND کاهش معناداری از سطح بیان ژن نسبی PI3K نشان می‌دهد ( $p < 0.0001$ ) (شکل ۴). درحالی‌که PD-EX در ارتباط با ارزیابی بیان ژن نسبی AKT، گروه HFD در مقایسه با گروه ND کاهش معناداری از سطح بیان ژن نسبی AKT نشان داد ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۵). در ادامه بررسی آنزیم‌های پایین‌دست مسیر پیام‌رسانی PI3K-AKT، به بررسی بیان ژن نسبی GSK3 پرداختیم که داده‌ها نشان دادند که گروه HFD در مقایسه با گروه ND افزایش معناداری از سطح بیان ژن نسبی GSK3 نشان می‌دهد ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۶). همچنین، داده‌ها نشان دادند که گروه HFD در مقایسه با گروه ND کاهش معناداری از سطح بیان ژن نسبی GYS1 نشان می‌دهند ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۷).

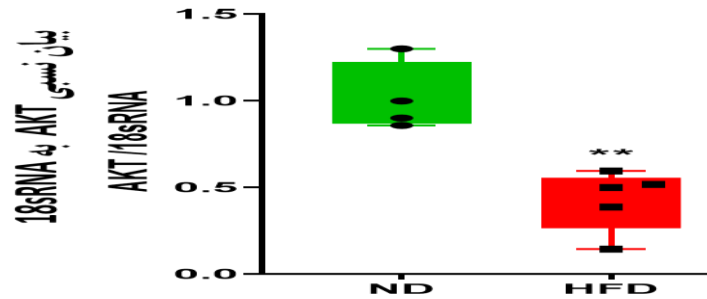




شکل ۴- اثر پیش‌دیابت بر ژن *PI3K* دخیل در ذخایر گلیکوژن. میانگین سطح بیان ژن نسبی *PI3K* در ND در مقابل HFD. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری ( $p < 0.001$ )، (\*\*  $p < 0.0001$ )، (\*\*\*) ( $p < 0.05$ ): ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

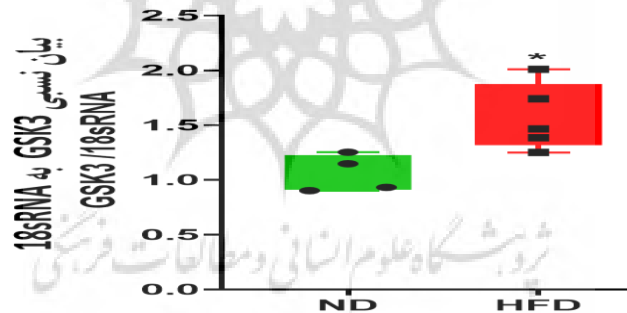
**Diagram 4.** Effect of prediabetes on *PI3K* gene involved in glycogen storage. The mean relative gene expression of *PI3K* ND group vs. HFD group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ), \* ( $p < 0.05$ ). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.





شکل ۵ - اثر پیش‌دیابت بر ژن AKT دخیل در ذخایر گلیکوژن. میانگین سطح بیان ژن نسبی AKT در ND در مقابل HFD. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری (p < 0.001) \*\*, (p < 0.0001) \*\*\*, (p < 0.05) \* ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

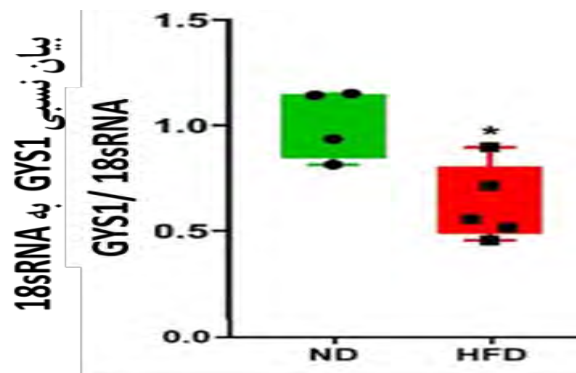
Diagram 5. Effect of prediabetes on AKT gene involved in glycogen storage. The mean relative gene expression of AKT in ND group vs. HFD group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* (p < 0.001), \*\*\* (p < 0.0001) \* (p < 0.05). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.



شکل ۶ - اثر پیش‌دیابت بر ژن GSK3 دخیل در ذخایر گلیکوژن. میانگین سطح بیان ژن نسبی GSK3 در ND در مقابل HFD. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری (p < 0.001) \*\*, (p < 0.0001) \*\*\*, (p < 0.05) \* ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

Diagram 6. Effect of prediabetes on GSK3 gene involved in glycogen storage. The mean relative gene expression of GSK3 ND group vs. HFD group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* (p < 0.001), \*\*\* (p < 0.0001) \* (p < 0.05). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.





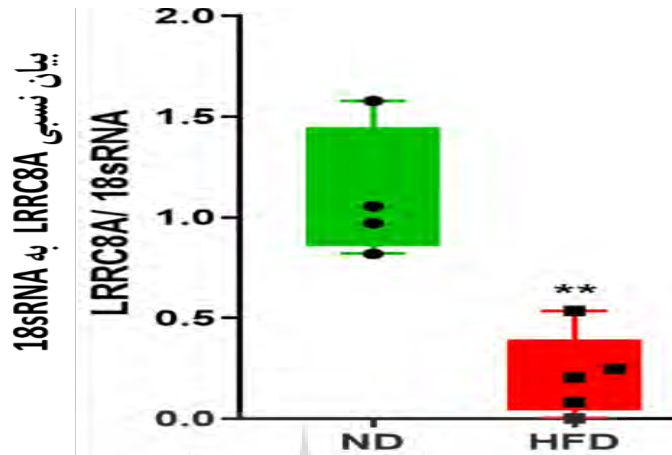
شکل ۷ - اثر پیش‌دیابت بر ژن *GYS1* دخیل در ذخایر گلیکوژن. میانگین سطح بیان ژن نسبی *GYS1* در ND در مقابل HFD. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری ( $p < 0.001$ )،  $** (p < 0.0001)$ ،  $*** (p < 0.05)$ . ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

**Diagram 7. Effect of prediabetes on GYS1 gene involved in glycogen storage. The mean relative gene expression of GYS1 ND group vs. HFD group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels  $** (p < 0.001)$ ,  $*** (p < 0.0001)$  \* ( $p < 0.05$ ). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.**

اثر پیش‌دیابت بر ژن دخیل در حجم عضله اسکلتی

بررسی بیان ژن نسبی *LRRC8A*، نشان داد رژیم غذایی پرچرب در گروه HFD نسبت به گروه ND کاهش معناداری داشته است ( $p < 0.0001$ ) (شکل ۸).



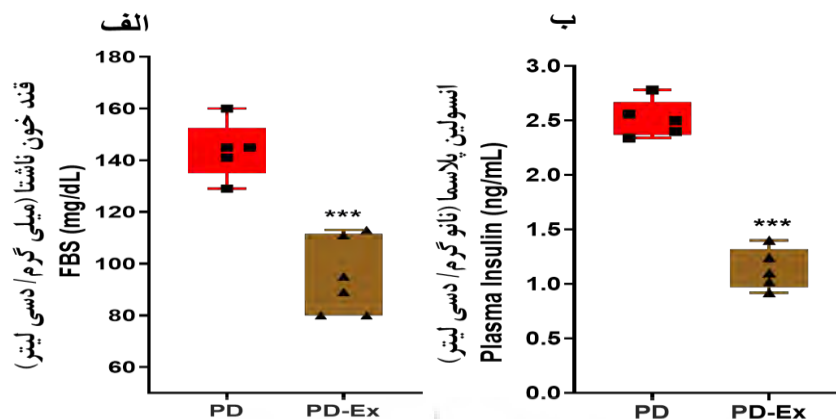


شکل ۸ - اثر پیش‌دیابت بر ژن *LRRC8A* دخیل در ذخایر گلیکوژن. میانگین سطح بیان ژن نسبی *LRRC8A* در ND در مقابل HFD. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری ( $p < 0.001$ ), \*\* ( $p < 0.0001$ ), \*\*\* ( $p < 0.05$ ). ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

**Diagram 8. Effect of prediabetes on LRRC8A gene involved in glycogen storage. The mean relative gene expression of LRRC8A ND group vs. HFD group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ) \* ( $p < 0.05$ ). ND: The group that received a normal diet. HFD: The group that received the high-fat diet.**

#### اثر تمرین استقامتی بر گلوکز خون و انسولین

نتایج نشان داد که در مداخله دوم که ۱۰ هفته به طول انجامید، گروه پیش‌دیابتی به همراه تمرین استقامتی (PD-Ex)، کاهش معناداری در گلوکز خون ناشتا ( $14 \pm 94/60$  میلی‌گرم بر دسی لیتر) نسبت به گروه پیش‌دیابت (PD) ( $11 \pm 144/09$  میلی‌گرم بر دسی لیتر) به‌عنوان گروه کنترل نشان داد ( $p < 0.0001$ ). (نمودار ۸ - الف) در ارتباط با میزان انسولین پلاسما، در پایان تمرین استقامتی، گروه PD-Ex کاهش معناداری از میزان سطح انسولین در مقایسه با گروه PD نشان داد ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۸ - ب).



شکل ۸- اثر تمرین استقامتی بر گلوکز خون و انسولین. الف: سطح قند خون ناشتا (FBS) ب: سطح انسولین پلاسما (Insuline) بین گروه PD و گروه PD-EX. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری: ( $p < 0.001$ ) \*\* ( $p < 0.0001$ ) \*\*\*. PD: گروه پیش دیابتی. PD-Ex: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

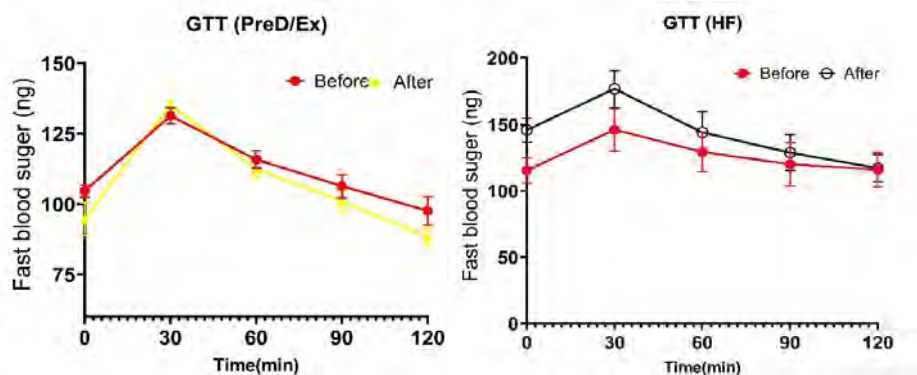
**Diagram 8 - The effect of endurance training on blood glucose and insulin. A Fasting blood sugar (FBS) levels and B Plasma insulin level between PD group and PD-EX group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ). PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.**

### ۳-۷- اثر تمرین استقامتی بر تست تحمل گلوکز

داده ها نشان داد که بررسی های خونی تست تحمل گلوکز در زمان های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه، گلوکز خون موش هایی که تمرین استقامتی داشتند در پایان ۲۳ هفته نسبت به پایان ۱۲ هفته یعنی بعد از القای پیش دیابت به عنوان مداخله اول بر روی موش ها، به طول انجامید، افزایش قابل ملاحظه ای مشاهده شد. (شکل ۹).







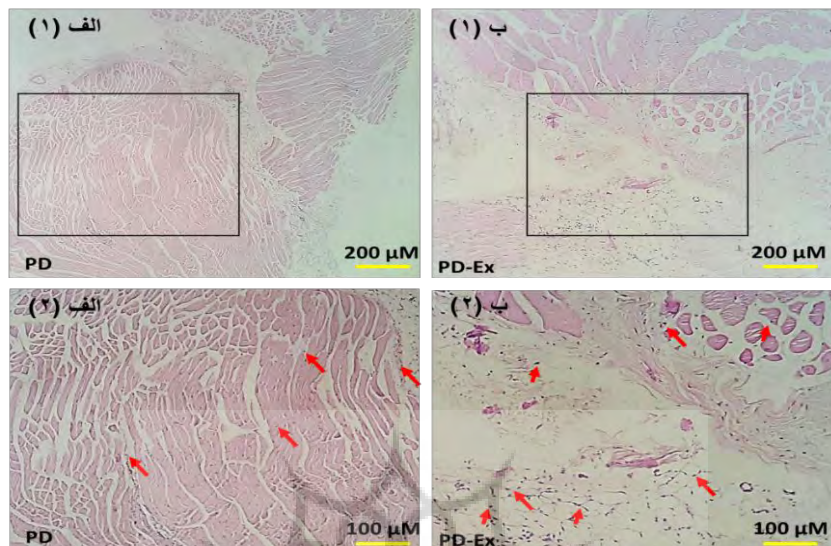
شکل ۹- اثر پیش دیابت بر تست تحمل گلوکز. مقایسه سطح قند خون (GTT) در پایان ۲۳ هفته نسبت به پایان ۱۲ هفته بین گروه تمرین استقامتی و گروه کنترل. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) ارائه شده اند. EX: گروهی که تمرین استقامتی داشتند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

**Diagram 9-** Effect of pre-diabetes on glucose tolerance test. Comparison of blood glucose levels (GTT) at the end of 23 weeks compared to the end of 12 weeks between the endurance training group and the control group. All graphs are presented as (mean  $\pm$  standard error). EX: The group that did endurance training. HFD: group that received a high-fat diet.

### ۳- ۸- اثر تمرین استقامتی بر ذخایر گلیکوژن بافت عضله اسکلتی

HFD منجر به کاهش تجمع سطح کلیکوژن در عضلات اسکلتی شده است درحالیکه ورزش منجر به افزایش سطح تجمع کلیکوژن گردیده است (شکل ۳). نتایج به دست آمده، حاکی از آن است که تمرین استقامتی در گروه PD-Ex، افزایش معناداری از سطح تجمع یافته گلیکوژن در بافت عضله اسکلتی در مقایسه با گروه PD نشان داد ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۱۰).



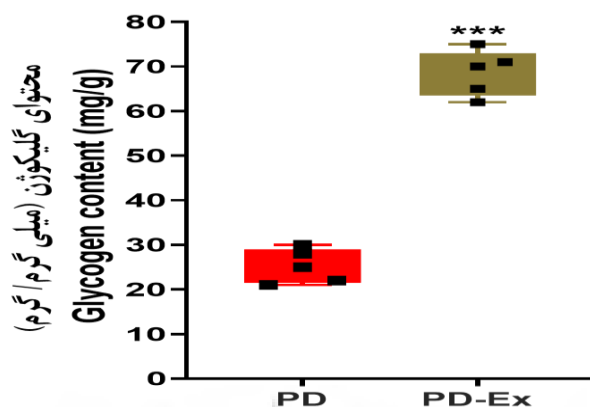


شکل ۱۰- اثر تمرین استقامتی بر ذخایر گلیکوژن بافت عضله اسکلتی. الف (۱) و الف (۲): گروه PD کاهش تجمع محتوای گلیکوژن را نشان می دهند. ب (۱) و ب (۲): گروه PD-Ex افزایش در تجمع محتوای گلیکوژن را نشان می دهند. تمام نقاط آبی پرنگ در تصاویر نشان دهنده ی تجمع گلیکوژن عضلانی می باشند که با فلش قرمز رنگ نشان داده شده است.

**Figure 10 - The effect of endurance training on glycogen stores in skeletal muscle tissue. A (1) and A (2) of the PD group show a decrease in the accumulation of glycogen content. B (1) and B (2) PD-Ex group shows an increase in the accumulation of glycogen content. All blue dots in the images show the accumulation of muscle glycogen, which is indicated by a red arrow.**

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
 رتال جامع علوم انسانی





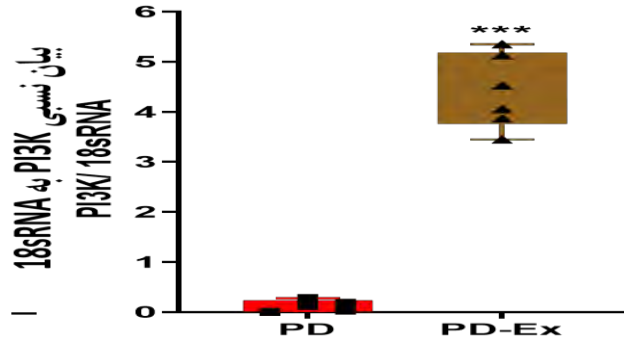
شکل ۱۱- اثر تمرین استقامتی بر محتوای گلیکوژن بافت عضله اسکلتی. میانگین درصد تجمع گلیکوژن عضلانی بین مداخله‌ها. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده‌اند و همچنین سطح‌های معنی‌داری ( $p < 0.0001$ ), (\*\*\*) ( $p < 0.001$ ), (\*\*). PD: گروه پیش‌دیابتی. PD-Ex: گروه پیش‌دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram 11- The effect of endurance training on glycogen content of skeletal muscle tissue. A (1) and A (2) The mean percentage of muscle glycogen accumulation between interventions. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$  PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.**

### ۳-۹- اثر تمرین استقامتی بر ژن‌های دخیل در ذخایر گلیکوژن

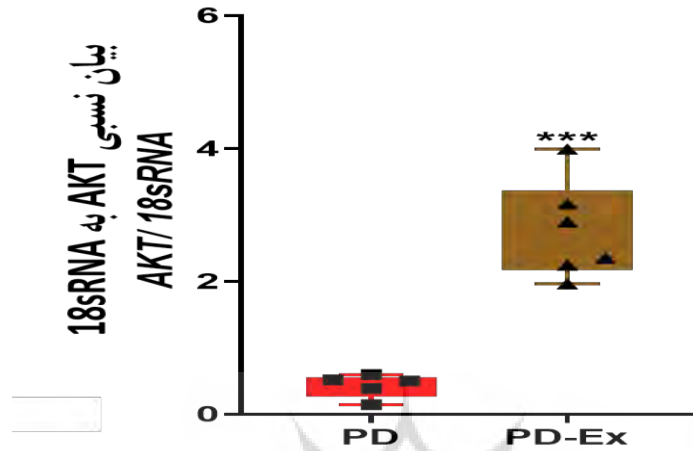
با توجه به بیان ژن‌های دخیل در آنزیم‌های مرتبط با مسیر سنتز گلیکوژن در بافت عضله دوقلو، نتایج نشان دادند که گروه PD-EX افزایش معناداری از بیان PI3K در مقایسه با گروه PD نشان داد ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۱۲). در ارتباط با ارزیابی بیان ژن نسبی AKT، تمرین استقامتی در گروه PD-EX منجر به افزایش معناداری از بیان AKT در مقایسه با گروه PD گردید ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۱۳). در خصوص بیان ژن نسبی GSK3، هرچند بیان این ژن در گروه PD-EX در مقایسه با گروه PD افزایش داشت، اما این افزایش از لحاظ آماری معنادار نبود ( $p > 0.05$ ) (نمودار ۱۴). از طرفی همچنین، داده‌ها نشان دادند که تمرین استقامتی در گروه PD-EX منجر به افزایش معناداری از بیان GYS1 در مقایسه با گروه PD گردید ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۱۵).





شکل ۱۲ - اثر تمرین استقامتی بر ژن *PIK3* دخیل حجم عضله اسکلتی. میانگین سطح بیان ژن نسبی *PIK3* در گروه PD در مقابل گروه PD-Ex. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری ( $p < 0.001$ ) \*\*، ( $p < 0.0001$ ) \*\*\*، ( $p < 0.05$ ) \* : PD: گروه پیش دیابتی. PD-Ex: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram 12.** Effect of endurance training on *PIK3* gene involved in skeleton muscle volume. The mean relative gene expression of *PIK3* PD group vs. PD-EX group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ), \* ( $p < 0.05$ ). PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.

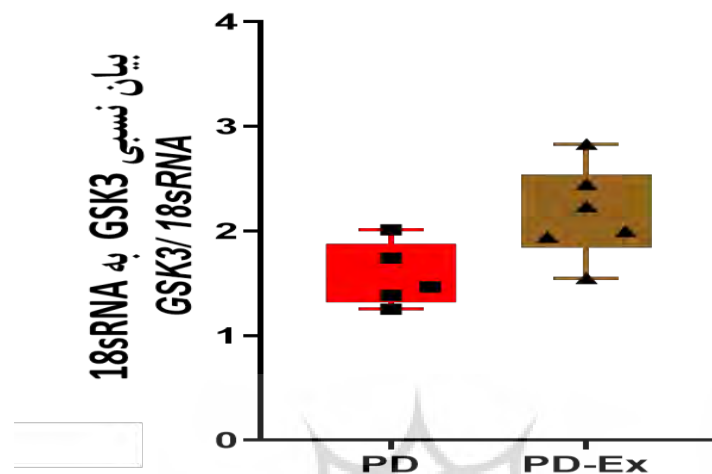


شکل ۱۳ - اثر تمرین استقامتی بر ژن *AKT* دخیل حجم عضله اسکلتی. میانگین سطح بیان ژن نسبی *AKT* در گروه *PD* در مقابل گروه *PD-Ex*. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری ( $p < 0.001$ ),  $**$  ( $p < 0.0001$ ),  $***$  ( $p < 0.05$ ). گروه *PD*: گروه پیش دیابتی. *PD-Ex*: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram13.** Effect of endurance training on *AKT* gene involved in skeleton muscle volume. The mean relative gene expression of *AKT* *PD* group vs. *PD-EX* group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels  $**$  ( $p < 0.001$ ),  $***$  ( $p < 0.0001$ ),  $*$  ( $p < 0.05$ ). *PD*: Pre-diabetic group. *PD-Ex*: Pre-diabetic group with endurance training.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
 رتال جامع علوم انسانی

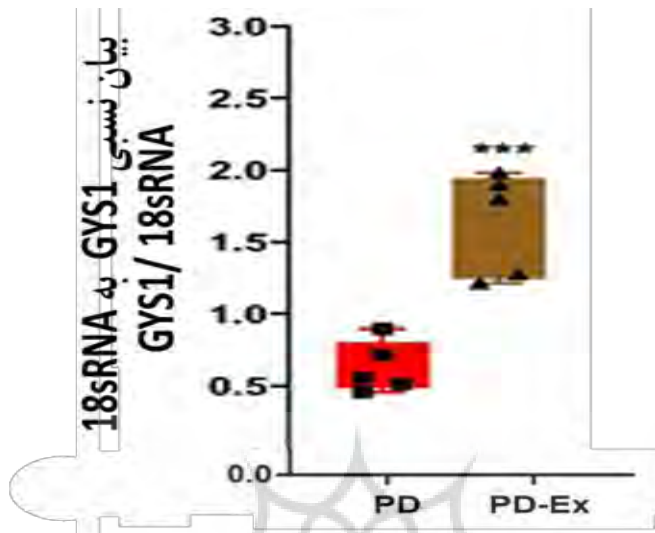




شکل ۱۴ - اثر تمرین استقامتی بر ژن *GSK3* دخیل در حجم عضله اسکلتی. میانگین سطح بیان ژن نسبی *GSK3* در گروه PD در مقابل گروه PD-Ex. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری ( $p < 0.001$ ) \*\*, ( $p < 0.0001$ ) \*\*\*, ( $p < 0.05$ ) \*: PD. گروه پیش دیابتی. PD-Ex: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram 14.** Effect of endurance training on *GSK3* gene involved in skeleton muscle volume. The mean relative gene expression of *GSK3* PD group vs. PD-EX group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ), \* ( $p < 0.05$ ). PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.



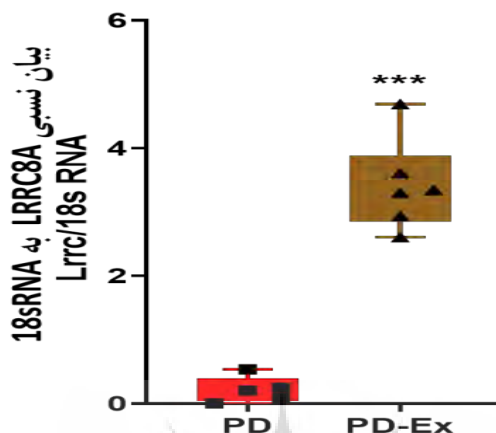


شکل ۱۵ - اثر تمرین استقامتی بر ژن *GYS1* دخیل در حجم عضله اسکلتی. میانگین سطح بیان ژن نسبی *GYS1* در گروه PD در مقابل گروه PD-Ex. تمام نمودارها بر اساس (میانگین ± میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری ( $p < 0.001$ ), \*\* ( $p < 0.0001$ ), \*\*\* ( $p < 0.05$ ). PD: گروه پیش دیابتی. PD-Ex: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram 15. Effect of endurance training on GYS1 gene involved in skeleton muscle volume. The mean relative gene expression of GYS1.PD group vs. PD-EX group. All graphs are presented based on (mean ± SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ), \* ( $p < 0.05$ ). PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.**

اثر تمرین استقامتی بر ژن دخیل در حجم عضله اسکلتی

نتایج بررسی بیان ژن نسبی *LRRC8A*، نشان داد تمرین استقامتی در گروه PD-EX منجر به افزایش معناداری از تجمع ژن *LRRC8A* در عضلات اسکلتی موش ها شده است ( $p < 0.0001$ ) (نمودار ۱۶).



شکل ۱۶- اثر تمرین استقامتی بر ژن *LRRC8A* دخیل حجم عضله اسکلتی. میانگین سطح بیان ژن نسبی *LRRC8A* در گروه PD در مقابل گروه PD-Ex. تمام نمودارها بر اساس (میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد) ارائه شده اند و همچنین سطح های معنی داری ( $p < 0.001$ ) \*\*، ( $p < 0.0001$ ) \*\*\*، ( $p < 0.05$ ) \* PD: گروه پیش دیابتی. PD-Ex: گروه پیش دیابتی به همراه تمرین استقامتی.

**Diagram16.** Effect of endurance training on *LRRC8A* gene involved in skeleton muscle volume. The mean relative gene expression of *LRRC8A* PD group vs. PD-EX group. All graphs are presented based on (mean  $\pm$  SD) as well as significance levels \*\* ( $p < 0.001$ ), \*\*\* ( $p < 0.0001$ ), \* ( $p < 0.05$ ). PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.

### بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، اثرات تمرین استقامتی در موش های پیش دیابتی مورد بررسی قرار گرفت. با بررسی شواهد موجود از نتایج سایر مقالات، مطالعه پیش رو اولین مطالعه با هدف بررسی ذخائر گلیکوژن در بافت عضلات موش های پیش دیابت است.

مطابق با یافته های حاضر، موش های پیش دیابت اختلالات متابولیکی همچون افزایش سطح گلوکز خون ناشتا، انسولین و تحمل غیرطبیعی گلوکز را نشان دادند. تحقیقات اخیر نشان داده اند که مصرف رژیم غذایی پرچرب اثرات مضر بر چرخه متابولیکی و هورمونی در موش و انسان دارد و منجر به عدم تعادل آنها می شود (۲۶، ۲۷). به بیان دیگر، محققان بیان کردند مصرف رژیم غذایی حاوی چربی بالا نه تنها منجر به چاقی و سوق بیماری به سمت شکل گیری دیابت می شود، بلکه همچنین





منجر به ایجاد سندرم متابولیکی، شامل سطح افزایش یافته FBS، انسولین، شاخص هما بتا و موارد های دیگر می شود که می تواند به طور سیستمیک بر کل ارگان اثرات نامطلوبی داشته باشد (۲۸-۳۰).

گلیکوژن شکل ذخیره کربوهیدرات در پستانداران است. در انسان بیشتر گلیکوژن در عضلات اسکلتی (۵۰۰ گرم) و کبد (۱۰۰ گرم) ذخیره می شود. غذا در وعده های غذایی بزرگ تر عرضه می شود، اما برای زنده ماندن و سلامتی، غلظت گلوکز خون باید در محدوده های مشخصی حفظ شود. در افراد سالم زمانی که گلوکز بیش از حد باشد، گلوکز خون را به سرعت حذف می کنند، اما دفع گلوکز تحریک شده با انسولین در افراد مقاوم به انسولین و افراد دیابتی نوع ۲ کاهش می یابد. در این میان، عضلات اسکلتی بافتی هستند که انرژی شیمیایی را به کار مکانیکی تبدیل می کنند و در نتیجه بیشترین انرژی را در حین ورزش مصرف می کنند که در این میان گلیکوژن ماده اصلی در طول تمرینات با شدت بالا است (۳۱). بدین ترتیب، عضلات اسکلتی به عنوان بافت اصلی هستند که برداشت گلوکز ناشی از انسولین را برای حذف گلوکز از خون تحریک می کند و گلوکز برداشت شده به شکل گلیکوژن عضلانی ذخیره می شود. به لحاظ مولکولی، در شرایط طبیعی انسولین با اتصال به گیرنده خود اثر خود را در عضلات اسکلتی آغاز می کند. فعال شدن مسیر PI3K-AKT مهم ترین مسیر سیگنالینگ است که توسط اتو - فسفوریلاسیون گیرنده انسولین اتفاق می افتد و متعاقب آن، منجر به مهار GSK3 (از سوسترهای مسیر سیگنالینگ AKT و به عنوان تنظیم کننده آنزیم گلیکوژن سنتاز) از طریق فسفوریلاسیون می شود. مهار GSK3، منجر به فعال شدن GYS1 می شود که بدین طریق همراه با افزایش شدید سنتز گلیکوژن عضلات اسکلتی است (۳۲). در نهایت تبدیل گلوکز به گلیکوژن توسط GYS1 انجام می شود. در یک روش بازخورد، GYS با غیرفعال کردن GSK-3 از طریق مسیر PI3K-AKT فعال می شود. مطالعه حاضر در سطح هیستوپاتولوژی، نشان داد که میزان ذخایر گلیکوژن در عضلات موش های پیش دیابتی نسبت به گروه طبیعی به طور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. در این راستا، مطالعات نشان دادند در افراد چاق و دیابتی نوع ۲، ذخیره گلیکوژن عضلات اسکلتی دچار اختلال می گردد (۳۳، ۳۴) و به نحوی فعالیت و عملکرد چرخه سنتز گلیکوژن کاهش می یابد (۳۳). همچنین در مطالعه حاضر نشان دادیم که HFD باعث تأثیر منفی بر مسیر PI3K-AKT شده است که نتایج هیستوپاتولوژی از بافت عضله اسکلتی این موضوع را تأیید می کند. در همین راستا نشان داده شده است که سنتز گلیکوژن تحریک شده با انسولین در عضلات اسکلتی در افراد مقاوم به انسولین کاهش می یابد و این اختلال از تنظیم مناسب گلوکز خون جلوگیری می کند (۳۵). همچنین یافته های مطالعه حاضر با سایر مطالعات اخیر که نشان می دهد، مقاومت انسولینی



باعث کاهش پیام‌رسانی انسولین مانند PI3K، AKT، GSK3 و GSY1 در عضلات می‌شود، همسو است (۳۶، ۳۷). جالب‌توجه است که نسبت بین محتوای گلیکوژن و ظرفیت اکسیداتیو در عضلات افراد چاق افزایش می‌یابد (۳۸). بنابراین، این‌طور به نظر می‌رسد که کاهش ظرفیت ذخیره‌سازی گلیکوژن در عضلات افراد مقاوم به انسولین در افراد پیش‌دیابتی باعث مهار بازخورد قوی‌تر گلیکوژن سنتاز (GYS1) در محتوای گلیکوژن مشابه و بدتر شدن تنظیم گلوکز می‌شود و محتوای گلیکوژن نسبت به ظرفیت ذخیره‌سازی گلیکوژن ممکن است حساسیت به انسولین را تنظیم کند.

علاوه بر این موارد، ژن LRRC8A که زیر واحد ضروری جهت فعالیت طبیعی کانال آنیونی تنظیمی با حجم عضله اسکلتی می‌باشد و اثر انتقال فشار مکانیکی به محور پیام‌رسانی PI3K/AKT دارد (۱۴) مطالعات نشان داده است که انسولین و تمایز سلول‌های عضلانی و همچنین مسیر پیام‌رسانی PI3K-AKT با واسطه بیان LRRC8A تنظیم می‌شود (۳۹). در این ارتباط مطالعه حاضر کاهش معنادار بیان LRRC8A در گروه HFD در مقایسه با گروه ND را نشان داده است. تحقیق Kumar و همکاران نشان دادند کمپلکس LRRC8، مسیر سیگنالینگ انسولین PI3K-AKT را در عضله اسکلتی تنظیم می‌کند تا بر تمایز ماهیچه‌های اسکلتی در شرایط آزمایشگاهی و اندازه میوفیبر اسکلتی، عملکرد عضلانی، چاقی و متابولیسم سیستمیک در داخل بدن تأثیر بگذارد (۳۹).

در ارتباط با مداخله ورزشی نشان داده شده است که تمرین در برابر اختلالات متابولیکی ناشی از شرایط پیش‌دیابتی از جمله تعادل سطح گلوکز خون ناشتا و انسولین مؤثر است. بهبودی حاصل از تمرین در این مطالعه، با داده‌های بالینی پیش از این مطابقت دارد که نشان داده شده است تمرین مداوم بر بهبود سندرم متابولیک و دیابت مؤثر است (۴۰، ۴۱). برخی از یافته‌های پیشین نشان می‌دهد تمرینات استقامتی منجر به بهبود فعالیت متابولیکی در موش‌های HFD می‌شود (۴۲). از آنجایی که مصرف بیش از حد چربی باعث تجمع چربی‌های اشباع در عضلات اسکلتی می‌شود و در نتیجه ممکن است منجر به مقاومت انسولینی و سندرم‌های متابولیک شود (۴۳)، نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که اثرات مفید تمرین استقامتی بر روی عضلات اسکلتی ممکن است تا حدی از طریق بازیابی محتوای اسیدهای چرب غیراشباع<sup>۱</sup> (PUFA) همچون امگا-۳ که با تغذیه با رژیم غذایی پرچرب کاهش یافته‌است، ایجاد شده و باعث بهبود عملکرد متابولیکی اسکلتی شود (۴۲). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که تمرین ورزشی این اثرات مفید را بدون نیاز به اصلاح رژیم غذایی ایجاد می‌کند.

## 1. Polyunsaturated Fatty Acid



و این اثرات مفید ممکن است با کاهش فعالیت مسیر Akt/eNOS ناشی از استرس واسطه گری می شود (۴۴).

برخلاف اثرات منفی HFD، تمرین استقامتی منجر به تنظیم مجدد ژن‌های های دخیل در ذخایر گلیکوژن عضلانی موش‌های تحت رژیم غذایی پرچرب شد. همچنین نشان دادیم که تمرین استقامتی منجر به برگشت سطح گلوکز خون و انسولین در موش‌های پیش‌دیابتی به سطح نرمال شده است. مطالعات نشان داده است که گلیکوژن در افراد تمرین کرده استقامتی در مقایسه با افراد تمرین نکرده بیشتر است (۴۵) و محتوای گلیکوژن در عضلات پس از تمرین استقامتی افزایش می‌یابد (۴۶). همچنین گزارش شده است اگر مقادیر زیادی کربوهیدرات به مدت ۳ روز مصرف شود، منجر به کاهش گلیکوژن عضلانی می‌شود، اما یک تمرین حاد می‌تواند محتوای گلیکوژن را در عضلات اسکلتی دو برابر کند (۴۷). با این حال، رویداد پیام‌رسانی که منجر به بهبود حساسیت به انسولین پس از تمرین ورزشی می‌شود، قطعی نیست. گزارش شده است که تمرین ورزشی کوتاه مدت فعالیت PI3K تحریک‌شده با انسولین را افزایش می‌دهد (۴۸)، اما مطالعات دیگر گزارش داده‌اند که فعالیت PI3K مرتبط با IRS1 تحریک‌شده با انسولین پس از تمرین تغییری نکرده یا کاهش می‌یابد (۴۹، ۵۰). درحالی‌که اثرات تمرین بر فعالیت PI3K متناقض است، چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که بهبود حساسیت به انسولین با افزایش فسفوریلاسیون و بیان AKT مرتبط است (۴۹، ۵۱). در ارتباط با تأثیر تمرینات ورزشی بر بیان LRRC8، مطالعه‌ای در این راستا وجود ندارد. اگرچه مطالعات نشان دادند مسیر PI3K-AKT عضلانی توسط بیان LRRC8 کنترل و تنظیم می‌شود (۱۴). LRRC8A تمایز میوژنیک و سیگنال دهی انسولین PI3K-AKT، ERK1/2 و mTOR را در میوتوب‌ها از طریق سیگنال دهی با واسطه ژن GRB2 که اخیر شناخته شده است تنظیم می‌کند (۵۲). در داخل بدن، LRRC8A برای حفظ ظرفیت نرمال ورزش، استقامت عضلانی، چاقی در شرایط پایه، و قند خون سیستمیک در شرایط تغذیه بیش از حد مورد نیاز است (۳۹، ۵۲). بنابراین، به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر تمرینات ورزشی با تأثیر مثبت بر محور PI3K-AKT و بیان LRRC8A منجر به بهبود ذخایر گلیکوژن عضلانی در گروه موش‌های دریافت کننده HFD در مقایسه با گروه کنترل خود می‌گردد و از طرف دیگر به بهبود عضلات اسکلتی در شرایط مقاومت به انسولین کمک کند.

از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر اینکه گروه‌های حیوانی جوان بودند چرا که بیماری‌های مرتبط با سندرم متابولیک همچون پیش‌دیابت و دیابت تا حدود زیادی در میانسالان، بزرگسالان و بالاتر برزو می‌کند. از طرفی این مطالعه، مداخلات و آزمایش‌های مربوط به تغییرات پیش‌دیابت را بررسی کرد، اما طراحی آن کور نبوده است. همچنین طرح مطالعه حاضر، تأثیر جنسیت بر پیامدها را در نظر



نگرفته است. علاوه بر این، تغییرات در سطوح mRNA بافت، از کل اندام (عضله) است و به صورت اختصاصی در سلول بررسی نشده است. در نهایت، با توجه به اینکه پیش‌دیابت، سندرم متابولیک و دیابت شرایط مزمن هستند، مدت زمان کلی فاصله مطالعه کوتاه بود.

### پیام مقاله

به‌طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین هوازی به عنوان روش پیشگیری، منجر به بهبود فاکتورهای متابولیکی (سطح قند خون و انسولین) می‌شود و همچنین تاثیر بالقوه‌ای بر بهبودی فعالیت سنتز گلیکوژن مختل شده از مسیر سیگنالینگ PI3K-AKT-GYS1 و LRRC8A در موش‌های پیش‌دیابتی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب دارد که به نوبه خود منجر به بازگشت سطح ذخایر گلیکوژن می‌گردد. این داده‌ها از مطالعات بیشتر در مورد اثرات بلند مدت باهدف کاربردهای احتمالی پشتیبانی می‌کنند.

### ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با کد IR. UI. 1401019 به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان رسیده است.

### حامی مالی

این پژوهش هیچ گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

### مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه اصفهان استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از کارکنان محترم پژوهشگاه زیست فناوری رویان و همچنین دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه اصفهان که ما را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.



## منابع

1. Deedwania PC, Fonseca VA. Diabetes, prediabetes, and cardiovascular risk: shifting the paradigm. *The American journal of medicine*. 2005;118(9):939-47.
2. Abbasi B, Molavi N, Tavalaei M, Abbasi H, Nasr-Esfahani MH. Alpha-lipoic acid improves sperm motility in infertile men after varicocele: a triple-blind randomized controlled trial. *Reproductive BioMedicine Online*. 2020;41(6):1084-91.
3. Tabák AG, Herder C, Rathmann W, Brunner EJ, Kivimäki M. Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet*. 2012;379(9833):2279-90.
4. Li Y-p, Xiao J, Liang X, Pei Y, Han X-f, Li C-x, et al. DPP-4 inhibition resembles exercise in preventing type 2 diabetes development by inhibiting hepatic protein kinase C $\epsilon$  expression in a mouse model of hyperinsulinemia. *Journal of International Medical Research*. 2020;48(6):0300060520934635.
5. Solayman M, Ali Y, Alam F, Islam A, Alam N, Khalil I, et al. Polyphenols: potential future arsenals in the treatment of diabetes. *Current pharmaceutical design*. 2016;22(5):549-65.
6. Ng JM, Azuma K, Kelley C, Pencek R, Radikova Z, Laymon C, et al. PET imaging reveals distinctive roles for different regional adipose tissue depots in systemic glucose metabolism in nonobese humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2012;303(9):E1134-E41.
7. Catherine M, Kenneth C. Prediabetes: A Worldwide Epidemic. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2016;45(4,751-764).
8. Kuai M, Li Y, Sun X, Ma Z, Lin C, Jing Y, et al. A novel formula Sang-Tong-Jian improves glycometabolism and ameliorates insulin resistance by activating PI3K/AKT pathway in type 2 diabetic KKAY mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:1585-94.
9. Højlund K. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. *Danish Medical Journal*. 2014. 61(7):B4890
10. Akmal A, Saghebjo M. High-intensity interval training with long duration intervals is more effective than short duration intervals for improving glycolytic capacity in the rats' gastrocnemius muscle. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2020;41(2).
11. Orho-Melander M, Almgren P, Kanninen T, Forsblom C, Groop LC. A paired-sibling analysis of the XbaI polymorphism in the muscle glycogen synthase gene. *Diabetologia*. 1999;42(9):1138-45.
12. Strange K, Yamada T, Denton JS. A 30-year journey from volume-regulated anion currents to molecular structure of the LRRC8 channel. *Journal of General Physiology*. 2019;151(2):100-17.
13. Osei-Owusu J, Yang J, del Carmen Vitery M, Qiu Z. Molecular biology and physiology of volume-regulated anion channel (VRAC). *Current topics in membranes*. 2018;81:177-203.



14. Kumar A, Xie L, Ta CM, Hinton AO, Gunasekar SK, Minerath RA, et al. SWELL1 regulates skeletal muscle cell size, intracellular signaling, adiposity and glucose metabolism. *Elife*. 2020;9:e58941.
15. Haidari F, Samadi M, Mohammadshahi M, Jalali MT, Engali KA. Energy restriction combined with green coffee bean extract affects serum adipocytokines and the body composition in obese women. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2017;26(6):1048-54.
16. Stump CS, Henriksen EJ, Wei Y, Sowers JR. The metabolic syndrome: role of skeletal muscle metabolism. *Annals of medicine*. 2006;38(6):389-402.
17. Roberts CK, Won D, Pruthi S, Barnard RJ. Effect of a diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation and monocyte adhesion in diabetic men. *Diabetes research and clinical practice*. 2006;73(3):249-59.
18. Laboratory J. Phenotype Information For Diet-Induced Obese C57BL/6J (380050). . Available at: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/phenotype-information-380050>.
19. Dougherty JP, Springer DA, Gershengorn MC. The treadmill fatigue test: a simple, high-throughput assay of fatigue-like behavior for the mouse. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2016(111):e54052.
20. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu F-K, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1993;265(6):H2094-H8.
21. Powers SK, Howley ET, Quindry J. *Exercise physiology: Theory and application to fitness and performance*: McGraw-Hill New York, NY; 2007.
22. Kazeminasab F, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Esfarjani F, Nasr-Esfahani MH. A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 $\alpha$ -FNDC5/irisin pathway in obese and nonobese male C57BL/6 mice. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2018;43(7):651-62.
23. Abdollahi M, Marandi SM, Ghaedi K, Safaeinejad Z, Kazeminasab F, Shirkhani S, et al. Insulin-Related Liver Pathways and the Therapeutic Effects of Aerobic Training, Green Coffee, and Chlorogenic Acid Supplementation in Prediabetic Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022;2022.
24. Riccardi G, Giacco R, Rivellese A. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clinical nutrition*. 2004;23(4):447-56.
25. Cheong JLK, Croft K, Henry P, Matthews V, Hodgson J, Ward N. Green coffee polyphenols do not attenuate features of the metabolic syndrome and improve endothelial function in mice fed a high fat diet. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2014;559:46-52.
26. Church T. Exercise in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. *Progress in cardiovascular diseases*. 2011;53(6):412-8.
27. Motahari-Tabari N, Shirvani MA, Shirzad-e-Ahoodashty M, Yousefi-Abdolmaleki E, Teimourzadeh M. The effect of 8 weeks aerobic exercise on insulin resistance in



- type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Global journal of health science*. 2015;7(1):115.
28. Li T, Ruan D-G, Lin Z-M, Liu T-Y, Wang K, Xu X-Y, et al. Endurance Training Counteracts the High-Fat Diet-Induced Profiling Changes of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids in Skeletal Muscle of Middle-Aged Rats. *Frontiers in physiology*. 2019:971.
  29. Li T, Ruan D-G, Gao J-J, Wang H, Xu X-Y. Role of skeletal muscle fat ectopic deposition in insulin resistance induced by high-fat diet. *Sheng li xue bao:[Acta Physiologica Sinica]*. 2018;70(4):433-44.
  30. Touati S, Meziri F, Devaux S, Berthelot A, Touyz RM, Laurant P. Exercise reverses metabolic syndrome in high-fat diet-induced obese rats. *Medicine and science in sports and exercise*. 2011;43(3):398-407.
  31. Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1967;71(2 3):129-39.
  32. Jensen J, Lai Y-C. Regulation of muscle glycogen synthase phosphorylation and kinetic properties by insulin, exercise, adrenaline and role in insulin resistance. *Archives of physiology and biochemistry*. 2009;115(1):13-21.
  33. Damsbo P, Vaag A, Hother-Nielsen O, Beck-Nielsen H. Reduced glycogen synthase activity in skeletal muscle from obese patients with and without type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1991;34(4):239-45.
  34. Johnson A, Webster J, Sum C-F, Heseltine L, Argyraki M, Cooper B, et al. The impact of metformin therapy on hepatic glucose production and skeletal muscle glycogen synthase activity in overweight type II diabetic patients. *Metabolism*. 1993;42(9):1217-22.
  35. Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *New England Journal of Medicine*. 1990;322(4):223-8.
  36. Kim Y-B, Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Henry RR, Kahn BB. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 1999;104(6):733-41.
  37. Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzkes N, et al. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(12):3587-93.
  38. He J, Kelley DE. Muscle glycogen content in type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2004;287(5):E1002-E7.
  39. Hickner R, Fisher J, Hansen P, Racette S, Mier C, Turner M, et al. Muscle glycogen accumulation after endurance exercise in trained and untrained individuals. *Journal of Applied Physiology*. 1997;83(3):897-903.



40. Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *Journal of applied physiology*. 2005.
41. Bergström J, Hultman E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man. *Nature*. 1966;210(5033):309-10.
42. Houmard JA, Shaw CD, Hickey MS, Tanner CJ. Effect of short-term exercise training on insulin-stimulated PI 3-kinase activity in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1999;277(6):E1055-E60.
43. Christ-Roberts CY, Pratipanawatr T, Pratipanawatr W, Berria R, Belfort R, Kashyap S, et al. Exercise training increases glycogen synthase activity and GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2004;53(9):1233-42.
44. Frøsig C, Rose AJ, Treebak JT, Kiens B, Richter EA, Wojtaszewski JF. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle: interactions at the level of phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and AS160. *Diabetes*. 2007;56(8):2093-102.
45. Wadley GD, Konstantopoulos N, Macaulay L, Howlett KF, Garnham A, Hargreaves M, et al. Increased insulin-stimulated Akt pSer473 and cytosolic SHP2 protein abundance in human skeletal muscle following acute exercise and short-term training. *Journal of Applied Physiology*. 2007;102(4):1624-31.

#### استناد به مقاله

رحیمی سیدغلامحسین، مرندی سیدمحمد، نصرافهانی محمدحسین. تأثیر تمرین استقامتی بر سازوکار ذخایر گلیکوژن عضلانی در موش‌های C57BL/6 پیش دیابتی. *فیزیولوژی ورزشی*. زمستان ۱۴۰۱؛ ۱۴(۵۶): ۴۴-۱۰۵. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2022.12736.2189

S. Gh. H. Rahimi, S. M. Marandi, M. H. Naser Esfahani. The Effect of Endurance Training on the Mechanism of Muscle Glycogen Storage in Pre-diabetic C57BL/6 Mice. *Winter 2023*; 14(56): 105-44. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2022.12736.2189







پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
پرتال جامع علوم انسانی

