



The effect of aerobic training on hepatic glycogen stores in prediabetes mice

Milad Abdollahi¹, Sayed Mohammad Marandi^{2*}

1. MSc in Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
2. Professor of Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Abstract

Background and Aim: Since many cellular and molecular pathways involved in diabetes are unknown, the aim of the present study was to study the effects of aerobic exercise on glycogen stores in pre-diabetic rats. **Materials and Methods:** Twenty-one homogenous male C57BL/6 mice were randomly divided into two groups including Mice fed standard diet (n=7) and Mice fed high fat diet (n=14). The mice were fed for 12 weeks and then the pre-diabetic conditions of the mice were assessed by fasting glucose and glucose tolerance tests. After confirmation of pre-diabetic conditions, mice fed a high-fat diet were divided into two groups as high-fat-sedentary diet, and high-fat diet-aerobic exercise. Mice in the training group were trained on a treadmill for 10 weeks, five days a week for 45 minutes in every session. Twenty-four hours after the last training session, the rats were killed and blood was drawn from the rats' hearts. Liver tissue was isolated and frozen to measure glycogen synthase gene expression (RT-Real time PCR) in liquid nitrogen. The independent t-test and one-way analysis of variance were used for statistical analysis at the $p \leq 0.05$ level. **Results:** The glycogen synthase levels in the aerobic exercise group were higher than the prediabetes group and had a significant effect on glycogen synthase expression ($p=0.001$). Also, liver glycogen showed significantly increase ($p=0.001$) in the amount of hepatic glycogen stores in the exercise group compared to the prediabetes group. **Conclusion:** Aerobic exercise can lead to the improvement of the condition from pre-diabetic to healthy condition.

Keywords: Pre-diabetes, High fat diet, Aerobic training, Glycogen synthase.

Cite this article:

Abdollahi, M., & Marandi, S.M. (2022). The effect of aerobic training on hepatic glycogen stores in prediabetes mice. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 10(23), 42-52.

*Corresponding Author, Address: HezarJerib Street, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan;
Email: smmarandi2001@yahoo.com

<https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4292.1635>



اثر تمرین هوازی بر ذخایر گلیکوژن کبدی موش‌های پیش‌دیابتی

میلاذ عبداللهی^۱، سید محمد مرندي^{۲*}

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: از آنجا که بسیاری از مسیرهای سلولی و مولکولی درگیر در دیابت ناشناخته هستند، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر تمرین هوازی بر ذخایر گلیکوژن کبدی در موش‌های پیش‌دیابتی به اجرا درآمد. روش تحقیق: تعداد ۲۱ سر موش نر هموزن نژاد C57BL/6 به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد (تعداد ۷ سر) و گروه دوم موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (تعداد ۱۴ سر). موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند و سپس شرایط پیش‌دیابتی، با آزمون گلوکز ناشتا و آزمون تحمل گلوکز بررسی شد. پس از تأیید شرایط پیش‌دیابتی، موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به دو گروه شامل رژیم غذایی پرچرب - بی‌تحرک و رژیم غذایی پرچرب - تمرین هوازی تقسیم گردیدند. موش‌های گروه تمرینی به مدت ۱۰ هفته، پنج روز در هفته و به مدت ۴۵ دقیقه در هر جلسه، بر روی نوار گردان تمرین کردند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، موش‌ها کشته شدند و نمونه خونی از قلب موش‌ها گرفته شد. بافت کبد جدا نیز گردید و برای اندازه‌گیری بیان ژن گلیکوژن سنتاز (که با روش RT-Real time PCR صورت گرفت) در نیتروژن مایع فریز شد. از آزمون t مستقل و تحلیل واریانس یک راهه در سطح $p \leq 0.05$ جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید. یافته‌ها: سطوح گلیکوژن سنتاز در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه پیش‌دیابتی بیشتر بود، بدین معنی که تمرین تأثیر معنی داری ($p=0.001$) بر بیان گلیکوژن سنتاز داشت. همچنین سنجش گلیکوژن کبد نشان داد که میزان ذخایر گلیکوژن کبدی در گروه تمرین نسبت به گروه پیش‌دیابتی افزایش معنی داری ($p=0.001$) داشته است. نتیجه‌گیری: انجام تمرین هوازی می‌تواند منجر به بهبود شرایط از وضعیت پیش‌دیابتی به وضعیت سالم شود.

واژه‌های کلیدی: پیش‌دیابت، رژیم غذایی پرچرب، تمرین هوازی، گلیکوژن سنتاز.

مقدمه

مستقیم انسولین بر کبد، به‌واسطه گلیکوژن سنتاز^۱ (GYS2) به‌عنوان آنزیم اصلی در فرآیند سنتز گلیکوژن است که با انسولین تنظیم می‌شود. نقش تنظیمی انسولین بر GYS2 هم از طریق آلوستریک^{۱۱} توسط زیر واحد دو کاتالیتیک گلوکز-۶ فسفات^{۱۱} (G6PC2) و هم از طریق تغییرات کووالان، با دفسفوریله نمودن GYS2 انجام می‌شود. انسولین با تسهیل جابه‌جایی گلوکوکیناز^{۱۲} از هسته به سیتوپلاسم و کنترل رونویسی ژن گلوکوکیناز، تولید G6PC2 را تسهیل می‌کند. افزایش بیان گلوکوکیناز توسط انسولین از دو جنبه حائز اهمیت است: اولاً این آنزیم با تولید G6PC2 به طور آلوستریک، موجب افزایش فعالیت GYS2 می‌شود و ثانیاً، با تولید G6PC2 به‌عنوان سوپسترای اولیه سنتز گلیکوژن، ذخیره گلوکز کبدی را کنترل می‌کند. انسولین تنظیم GYS2 را تا حدودی توسط فسفوریلاسیون پروتئین کیناز^{۱۳} (AKT) به‌پیش می‌برد. گلیکوژن سنتاز کیناز^{۱۳} (GSK3) به دنبال فسفریله شدن توسط AKT (به ترتیب سرین ۲۱ و ۹ در زیر واحدهای آلفا و بتا)، غیرفعال می‌شود. در نتیجه این تغییرات، آنزیم GYS2 در شکل فعال خود حفظ می‌گردد (پترسون^{۱۵} و دیگران^{۱۸}، ۲۰۱۸).

درمان پیش‌دیابت با مداخله در شیوه زندگی و به‌طور عمده از طریق توصیه‌های رژیم غذایی و دستورالعمل‌های فعالیت بدنی برای کاهش وزن صورت می‌گیرد. فعالیت بدنی به دلیل ایجاد کنترل وزن، بهبود ترکیب بدنی، بالا بردن آمادگی قلبی - عروقی، کنترل گلوکز خون و افزایش حساسیت به انسولین؛ یکی از مؤثرترین راه‌های پیشگیری و درمان دیابت است. ورزش هوازی با به‌کارگیری گروه‌های عضلانی بزرگ، باعث افزایش حساسیت به انسولین، کاهش مقاومت انسولین و بهبود عملکرد سلول‌های بتا در افراد دیابتی می‌شود. مدت‌زمان پیشنهادی تمرینات هوازی برای افراد، حداقل ۱۵۰ دقیقه فعالیت با شدت متوسط و یا ۷۵ دقیقه فعالیت با شدت بالا در طول یک هفته است (دلواتی^{۱۶} و دیگران^{۱۹}، ۲۰۱۹؛ خان و دیگران^{۱۹}، ۲۰۱۹؛ هوردن^{۱۷} و دیگران^{۱۲}، ۲۰۱۲؛ ونابلز^{۱۸} و دیگران^{۱۸}، ۲۰۱۸). از طرف دیگر، بعضی از مسیرهای سلولی و مولکولی درگیر در بیماری دیابت و ذخیره گلیکوژن هنوز شناخته نشده است و مطالعات انجام شده در این زمینه هم همسو نیستند. برای بررسی بیشتر این موضوع؛ محققین در صدد برآمدند که از دانش بیوانفورماتیک و مهندسی داده‌ها در این

امروزه با تغییر سبک زندگی افراد و افزایش بی‌تحركی، مشکلات متفاوتی از قبیل اضافه‌وزن و چاقی در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه ایجاد شده است. بیماری‌های مختلفی با اضافه‌وزن و چاقی در ارتباط هستند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها، دیابت نوع دو است (وانگ^۱ و دیگران^۱، ۲۰۱۶). آمارها نشان می‌دهد که تعداد بیماران دیابتی در سراسر جهان در سال ۲۰۱۴ حدود ۴۲۲ میلیون نفر بوده است و تخمین زده شده که تا سال ۲۰۳۰، حداقل ۵۹۲ میلیون مورد دیابت در سراسر جهان وجود داشته باشد (کومار^۲ و دیگران^۲، ۲۰۱۹؛ خان^۳ و دیگران^۳، ۲۰۱۹). دیابت نوع دو یک بیماری متابولیک است که با هایپرگلیسمی^۴ مزمن و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است و با کاهش حساسیت به اثرات متابولیک انسولین مشخص می‌شود (کومار و دیگران^۳، ۲۰۱۹). حالت پیش‌دیابت در سال ۲۰۰۲ توسط انجمن دیابت آمریکا معرفی شده و به وضعیتی با افزایش اندک قند خون بیش از حد طبیعی و کمتر از حد دیابت، اطلاق می‌شود. در پیش‌دیابت، اختلال در ترشح انسولین و افزایش مقاومت انسولینی ایجاد می‌شود و پیش از ایجاد دیابت نوع دو، بروز می‌نماید. علائم پیش‌دیابت به‌صورت احساس گرسنگی در همه زمان‌ها، کاهش و یا افزایش غیرقابل توجیه وزن، تشنگی شدید، حالت تهوع و خستگی، تغییر در درک بصری، فرد، تاری دید و درد پا بروز می‌کنند. از طرف دیگر، عواملی از جمله ژنتیک، سبک زندگی بی‌تحرك، چاقی، فشارخون بالا و خواب کمتر از ۵/۵ ساعت در شبانه‌روز؛ مهم‌ترین علل ایجاد پیش‌دیابت معرفی شده اند (پروین^۵، ۲۰۲۰). علت اصلی و اولیه پیش‌دیابت، مقاومت به انسولین است که در بافت‌های عضله، کبد و چربی اتفاق می‌افتد. در این فرآیند، برای مقابله با افزایش قند خون، پانکراس به ناچار تولید انسولین را افزایش می‌دهد. پس از مدتی مقاومت پیش‌رونده‌ای نسبت به انسولین ایجاد می‌شود که خود می‌تواند به تخریب سلول‌های بتا پانکراس و نقص کامل تولید انسولین و دیابت نوع دو منجر شود (ادگرتون^۶ و دیگران^۶، ۲۰۰۹). اهمیت انسولین در فرآیند سنتز گلیکوژن در کبد، به‌صورت تحریک ساخته شدن (سنتز) گلیکوژن، مهار گلیکوژنولیز^۷ و گلوکونئوزنز^۸ است. در تحریک سنتز گلیکوژن پس از صرف غذا، اثر اصلی و

1. Wang

2. Kumar

3. Khan

4. Hyperglycemia

5. Parveen

6. Edgerton

7. Glycogenolysis

8. Gluconeogenesis

9. Glycogen Synthase 2

10. Allosteric

11. Glucose-6-phosphate catalytic subunit-2

12. Glucokinase

13. Protein kinase B

14. Glycogen synthase kinase 3

15. Petersen

16. Delevatti

17. Hordern

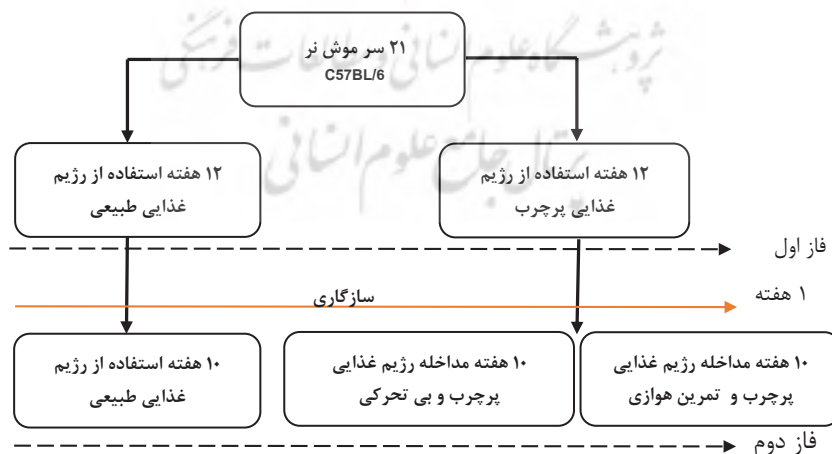
18. Venables

بدیاکو، ۲۰۲۰؛ بگنول و دیگران، ۲۰۱۲). طرح تحقیق حاضر کد اخلاق پژوهشی با شناسه IR.UI.REC.1398.065 را از کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان اخذ کرد. روش القای پیش دیابت برای موش ها از طریق رژیم غذایی پرچرب ۶۰ درصد صورت گرفت که در پژوهشگاه رویان با شماره ۹۷۰۳۵ ثبت اختراع گردیده است. یک هفته آشناسازی با شرایط تمرین بدین صورت انجام شد که موش های گروه تمرین هوازی با شدت ۱۰ متر بر دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه در روز اول، بر روی نوارگردان مخصوص حیوانات کار را آغاز کردند؛ اما در طول یک هفته، تمرین به شدت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه افزایش یافت و به تدریج شدت تمرین به حد مورد نظر رسید. این یک هفته بر اساس اصل اضافه بار تمرین بنا شده است تا موش ها بتوانند پنج روز در هفته فعالیت دویدن را به اجرا درآورند (شکل ۱). گروه پیش دیابتی خود به دو گروه تقسیم شدند. گروه بی تمرین (کنترل، ۷ سر) یا گروهی که تا انتهای طرح، هیچ گونه مداخله ای دریافت نکردند؛ و گروه پیش دیابتی تمرین (۷ سر) که موش ها به مدت ۱۰ هفته، پنج روز در هفته و روزانه ۴۵ دقیقه تمرین هوازی فزاینده را به اجرا درآوردند؛ به گونه ای که در هفته های اول و دوم با شدت ۱۵ متر در دقیقه، هفته های سوم و چهارم با شدت ۱۷ متر در دقیقه؛ هفته های پنجم و ششم با شدت ۱۹ متر در دقیقه؛ هفته های هفتم و هشتم با شدت ۲۱ متر در دقیقه؛ و هفته های نهم و دهم با شدت ۲۳ متر در دقیقه؛ پروتکل تمرین به اجرا درآمد (کازمی نسب و دیگران، ۲۰۱۸).

زمینه استفاده شود. با بررسی مطالعات موجود در پایگاه داده NCBI GEO و استفاده از کلمات کلیدی رژیم پرچرب و کبد در نژاد موش مورد نظر، سعی گردید مطالعات مشابه بررسی شوند. در همین راستا، پردازش داده های حاصل از مطالعه GSE160646 ژن گلیکوژن سنتاز به عنوان عامل کاهش یافته در رژیم پرچرب معرفی شده است. بر این اساس، محققین بر آن شدند تا در مطالعه حاضر ابتدا با به کارگیری رژیم غذایی پرچرب، موش های مدل پیش دیابت ایجاد نمایند و در ادامه، اثر ورزش هوازی را به صورت جداگانه و توأم، بر میزان ذخایر گلیکوژن کبدی، سطوح سفرفیلاسیون AKT و GYS2 در کبد این موش ها مورد بررسی قرار دهند.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی با طرح تحقیق سه گروهی بود. موش های آزمایشگاهی نژاد C57BL/6 چهار هفته ای با وزن متوسط ۱۲ تا ۱۴ گرم از پژوهشگاه رویان تهیه شدند. موش ها تحت شرایط استاندارد چرخه روشنایی - تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، رطوبت ۶۰-۵۰ درصد و درجه حرارت 21 ± 2 درجه سانتی گراد نگهداری شدند و آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. موش های همسان به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه طبیعی (۷ سر) و گروه پیش دیابتی (۱۴ سر). گروه طبیعی به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی استاندارد (۱۰٪ چربی، ۷۰٪ کربوهیدرات، و ۲۰٪ پروتئین)؛ و گروه پیش دیابتی از رژیم غذایی پرچرب^۱ (HFD) حاوی (۶۰٪ چربی، ۲۵٪ کربوهیدرات و ۱۵٪ پروتئین) برای القای پیش دیابت تغذیه شدند (اسریو



شکل ۱. طرح شماتیک مطالعه از روز نخست تا روز پایان.

مداخله (از طریق خراش دم حیوان) مورد اندازه گیری قرار گرفت و برای این منظور از دستگاه اندازه گیری گلوکز خون سانو^۴ ساخت شرکت Sinocare استفاده گردید. به علاوه،

گلوکز خون ناشتا^۲ (FBS) و تحمل گلوکز خوراکی^۳ (GTT) در هفته دوازدهم (سه ماه مرحله اول) جهت تأیید پیش دیابت و هفته بیست و سوم (۱۰ هفته مرحله دوم) جهت ارزیابی

1. High fat diet

2. Fasting blood sugar

3. Glucose tolerance test

4. Sannuo GA-3 Changsha

برای بررسی تأثیر تمرین بر متغیرهای وابسته استفاده شد. بررسی اختلاف زوجی بین گروه‌ها با آزمون تعقیبی توکی^{۱۵} صورت گرفت. کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ در سطح معنی داری $p \leq 0.05$ به اجرا درآمد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Prism 8.4.2 بهره برداری گردید.

یافته‌ها

بررسی گلوکز خون و تحمل گلوکز: نتایج نشان داد که بعد از اعمال مداخله اول که ۱۲ هفته به طول انجامید، گلوکز خون ناشتای موش‌های پیش‌دیابتی (گلوکز خون ۱۲۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) از موش‌های طبیعی (گلوکز خون ۹۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) بیشتر است و افزایش معنی‌داری داشته است ($p=0.002$). این بدین معناست که گلوکز خون ناشتا موش‌های پیش‌دیابت بعد از ۱۲ هفته در محدوده پیش‌دیابت قرار گرفته است و القای پیش‌دیابت رخ داده است (شکل ۲).

بعد از اعمال تغییرات میزان تحمل گلوکز در پایان مداخله اول در دو گروه پیش‌دیابتی (شکل ۴) و طبیعی و در پایان مداخله دوم، در گروه‌های طبیعی، پیش‌دیابتی و تمرین هوازی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که در گروه تمرین هوازی، آزمون تحمل گلوکز در پایان مداخله دوم (۱۰ هفته) به‌طور معنی‌داری ($p=0.008$) نسبت به گروه پیش‌دیابتی، بهبود یافته است (شکل ۵).

میزان آنزیم‌های کبدی: میزان آنزیم‌های کبدی ALT و AST در گروه پیش‌دیابتی نسبت به گروه طبیعی افزایش معنی‌داری داشت که از نشانه‌های ایجاد شرایط پیش‌دیابتی است. در گروه پیش‌دیابتی، آنزیم AST (۳۶۶ برابر برابر ۲۰۷ واحد/لیتر) و آنزیم ALT (۷۶ در برابر ۳۸ واحد/لیتر) نسبت به گروه طبیعی به‌طور معنی‌دار (به ترتیب با $p=0.007$ و $p=0.005$) بالاتر بود. از طرف دیگر، در گروه تمرین هوازی، آنزیم AST و ALT نسبت به گروه پیش‌دیابتی (به ترتیب با $p=0.003$ و $p=0.006$) به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کرد (شکل ۶ و ۷).

میزان ذخایر گلیکوژن کبدی: نتایج تحلیل هیستولوژی بافت کبد (شکل ۸) نشان داد که میزان ذخایر گلیکوژن کبدی در گروه پیش‌دیابتی (۲۴ درصد) نسبت به گروه طبیعی (۴۵ درصد)، کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. این بدین معناست که ذخایر گلوکز به جای ذخیره در کبد، در خون تجمع پیدا کرده و موجب افزایش گلوکز

سطح گلوکز خون در زمان‌های صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه برای GTT اندازه‌گیری شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌ها در حالتی که یک‌شب کامل ناشتا بودند (شش ساعت ناشتایی) از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بیهوشی که ترکیبی از کتامین^۱ و زایلازین^۲ بود، بی‌هوش شدند. پس از تأیید بیهوشی از طریق عقب‌نکشیدن پا، خون از بطن راست هر موش توسط سرنگ اخذ گردید و بلافاصله درون لوله‌های آزمایش ریخته شد. بافت کبد نمونه‌ها نیز جدا شد و وزن کل بافت‌ها توسط ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری گردید. سپس به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردید و در نیتروژن مایع قرار گرفت. سپس بافت منجمد شده جهت تلخیص ژن در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت‌ها بر اساس پروتکل تریزول^۳ برای استخراج RNA مورد پردازش قرار گرفتند. پس از انحلال RNA، غلظت آن با دستگاه نانو دراپ^۴ سنجیده شد و سنتز cDNA با کیت بایوتک ریت^۵ انجام گرفت. برای سنجش آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز^۶ (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز^۷ (AST)، کیت الیزا^۸ مورد استفاده قرار گرفت. برای آنالیز هیستوپاتولوژی^۹ بافت کبد، بخشی از بافت کبد در پارافرمالدئید^{۱۰} چهار درصد تثبیت شد و با استفاده از تکنیک پروبویک اسید - شیف^{۱۱} (PAS)؛ رنگ آمیزی صورت گرفت. ارزیابی کمی PAS در بافت کبد موش‌ها توسط یک متخصص پاتولوژی با تجربه انجام شد. تصاویر با استفاده از میکروسکوپ Olympus bx45 تهیه گردیدند. استخراج RNA و بررسی بیان ژن با روش Real-Time PCR بدین صورت انجام شد که به منظور جداسازی RNA از بافت کبد، از تریزول شرکت ساینترفیک ترمو^{۱۲} طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و RNA استخراج شده با استفاده از کیت DNase I شرکت ساینترفیک ترمو از هر گونه آلودگی به DNA پاک‌سازی گردید. از هر کدام از نمونه‌ها دو میکروگرم mRNA برای سنتز گرفته شد. در این پژوهش برای سنتز cDNA از کیت cDNA synthesis شرکت بایوتک رابیت استفاده شد؛ به این صورت که برای ساخت cDNA از آغازگر دو پرایمر رندوم هگزامر سه^{۱۳} بهره‌برداری گردید و سطح نسبی بیان گلیکوژن سنتاز کبدی با استفاده از روش Real-Time PCR تعیین گردید.

برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های گرایش مرکزی و انحراف استاندارد استفاده شد. از آزمون t مستقل برای مقایسه گروه طبیعی و پیش‌دیابتی؛ و از روش تحلیل واریانس یک راهه^{۱۴}

1. Ketamine

2. Xylazine

3. Ytzol

4. Nano Drop

5. Biotechrabbit™ cDNA synthesis kit

6. Alanine aminotransferase

7. Aspartate transaminase

8. Elisa Kit

9. Histopathology

10. Paraformaldehyde

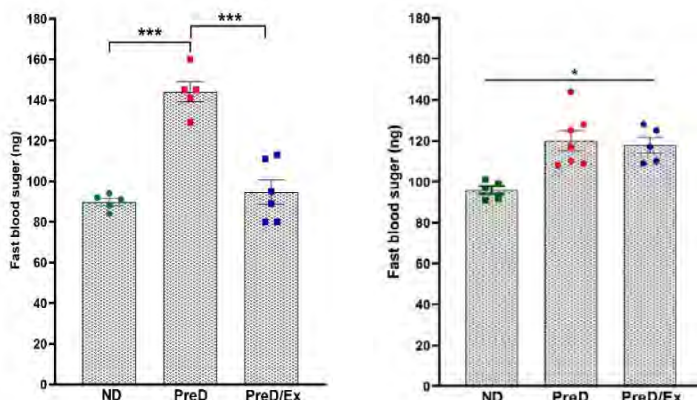
11. Periodic acid-Schiff

12. Scientific Thermo

13. Random hexamer 3

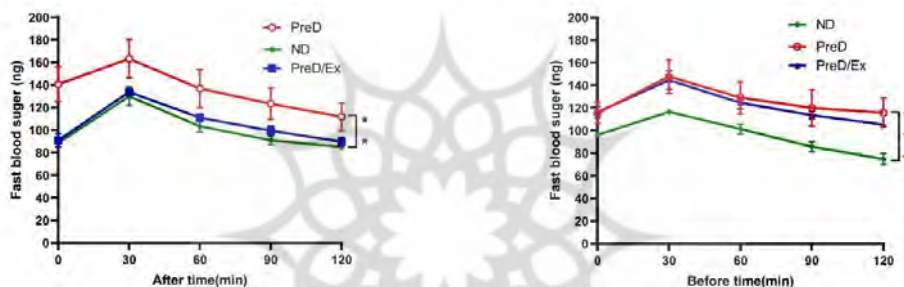
14. One-way analysis of variance

15. Tukey



شکل ۲. مقایسه گلوکز خون ناشتا در پایان مداخله اول. شکل ۳. مقایسه گلوکز خون ناشتا در پایان مداخله دوم؛

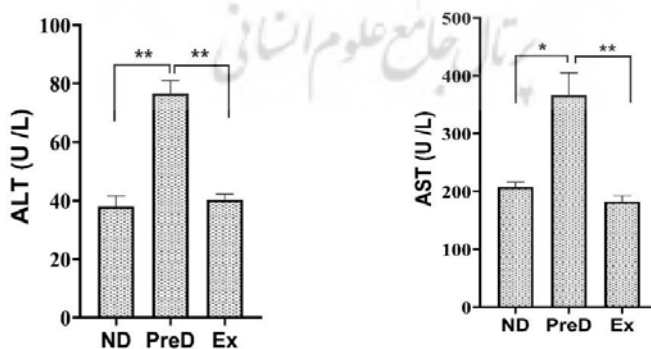
* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه طبیعی و پیش دیابتی تمرین در سطح $p \leq 0.05$; *** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه تمرین و پیش دیابت در سطح $p \leq 0.001$; *** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه طبیعی و پیش دیابت در سطح $p \leq 0.001$; ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. PreD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و فعالیت بدنی داشتند. PreD/Ex: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.



شکل ۴. آزمون تحمل گلوکز در پایان مداخله اول

شکل ۵. آزمون تحمل گلوکز در پایان مداخله دوم

*** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه طبیعی و پیش دیابت در سطح $p \leq 0.001$; ** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه طبیعی و پیش دیابت، تمرین در سطح $p \leq 0.01$; ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. PreD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند. PreD/Ex: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و فعالیت بدنی داشتند.



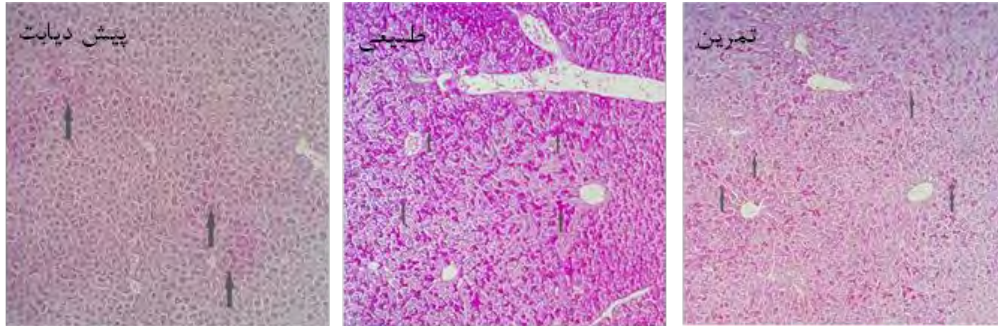
شکل ۶. مقایسه آنزیم ALT پلاسمایی گروه ها

شکل ۷. مقایسه آنزیم AST پلاسمایی گروه ها

* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه طبیعی و پیش دیابت در سطح $p \leq 0.05$; ** نشانه تفاوت معنی دار بین گروه تمرین و پیش دیابت در سطح $p \leq 0.01$; ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. PreD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند. PreD/Ex: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و فعالیت بدنی داشتند.

گلوکز خون به صورت گلیکوژن در کبد ذخیره شده و میزان گلوکز خون کاهش داشته است. بیان ژن گلیکوژن سنتتاز: بیان نسبی ژن GYS2 کبدی

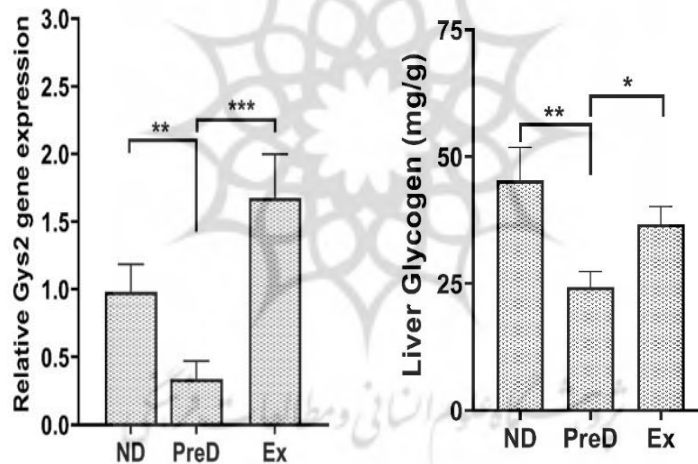
خون در شرایط پیش‌دیابتی شده است. از طرف دیگر، میزان ذخایر گلیکوژن کبدی در گروه تمرین هوازی (۳۴ درصد) نسبت به گروه پیش‌دیابتی (۲۴ درصد) افزایش معنی‌دار داشت که نشان می‌دهد



شکل ۸. رنگ آمیزی PAS در کبد. وسط: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. چپ: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند. راست: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و فعالیت بدنی داشتند.

در موش‌های پیش‌دیابتی (برابر با ۰/۳۳) به‌طور معنی‌دار (۱/۶۷) نسبت به گروه پیش‌دیابتی (برابر با ۰/۳۳) افزایش معنی‌داری (p=۰/۰۰۱) پیدا کرد (شکل ۹).

در موش‌های پیش‌دیابتی (برابر با ۰/۳۳) به‌طور معنی‌دار (۰/۱) کمتر از موش‌های طبیعی (برابر با ۰/۹۸) بود؛ در حالی که در گروه تمرین هوازی بیان GYS2 (برابر با



شکل ۹. مقایسه میزان ذخایر گلیکوژن کبدی (سمت راست) و بیان ژن GYS2 (سمت چپ) گروه‌ها. * نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه طبیعی و پیش‌دیابتی در سطح $p < 0.05$; ** نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین و پیش‌دیابتی در سطح $p < 0.05$; *** نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه تمرین و پیش‌دیابتی در سطح $p < 0.001$. ND: گروهی که رژیم غذایی معمولی دریافت کردند. PreD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند. Ex: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و فعالیت بدنی داشتند.

سلول‌های بتای پانکراس تخریب‌شده و ترشح انسولین مختل می‌شود و گلوکز خون بالا می‌ماند. با گذر زمان و عدم وجود انسولین کافی، وضعیت از حالت پیش‌دیابتی به سمت دیابتی شدن پیش می‌رود. محققان نشان داده‌اند که رژیم‌های غذایی سرشار از کربوهیدرات و چربی، باعث بالا رفتن انسولین، گلوکز خون و رسوب چربی در کبد می‌شود و در نهایت، افزایش مقاومت به انسولین در این بافت ایجاد می‌گردد. در تحقیق حاضر از رژیم پرچرب مشتمل بر ۶۰ درصد چربی برای القای پیش‌دیابت در

در تحقیق حاضر، اثر مثبت تمرین هوازی در موش‌های پیش‌دیابتی تحت رژیم غذایی پرچرب، نشان داده شد. نتایج اولیه ما در کاهش عوارض پیش‌دیابت در مدل موش مطلوب بود و شواهد امیدوارکننده‌ای برای کاهش عوارض پیش‌دیابت و جلوگیری از ابتلا به بیماری دیابت نوع دو بدست آمد. رژیم غذایی پرکالری و عدم فعالیت بدنی، سطح گلوکز خون را افزایش می‌دهد، در نتیجه انسولین چندین برابر حد معمول ترشح می‌شود تا گلوکز را از خون به درون سلول‌ها هدایت کند. به مرور زمان

شود (چونگ^۶ و دیگران، ۲۰۱۰؛ وان دیک^۷ و دیگران، ۲۰۰۹؛ مک کارتی^۸ و دیگران، ۲۰۰۵). فعالیت انسولین کبدی به طور گسترده از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ AKT تنظیم می‌شود. در یک فرد سالم، به دنبال ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس، انسولین به گیرنده خود در سطح هپاتوسیت‌ها متصل می‌شود. در نتیجه این فسفریلاسیون، مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT فعال می‌گردد. تحریک سنتز گلیکوژن پس از مصرف غذا، اثر اصلی و مستقیم انسولین بر روی کبد است (جفری^۹ و دیگران، ۲۰۱۸؛ کرفت^{۱۰} و دیگران، ۲۰۰۷). یکی از عوامل اصلی در پاتوفیزیولوژی^{۱۱} پیش‌دیابت و دیابت، اختلال در ذخیره گلیکوژن است. دو مرحله محدودکننده در متابولیسم گلوکز، انتقال گلوکز به بافت و تبدیل گلوکز به گلیکوژن توسط GYS2 است. GYS2 توسط دو ژن بیان می‌شود؛ یکی ژن GYS1 که بیان این آنزیم را در بافت عضله، مغز، قلب و کلیه بر عهده دارد؛ و دیگری ژن GYS2 که موجب بیان آن در کبد می‌شود. نقص در آنزیم GYS2 باعث بیماری مونوزنیک^{۱۲} ذخیره گلیکوژن می‌شود و با اختلال در فرآیند سنتز گلیکوژن، فرآیند گلوکونوژنز افزایش می‌یابد (ارمیا^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۰). تنظیم آنزیم GYS2 توسط انسولین از طریق فسفریلاسیون AKT و غیرفعال سازی GSK-3 می‌افتد. بنابراین با غیرفعال شدن گلیکوژن سنتاز کیناز-۳، گلیکوژن سنتاز فسفریله شده و افزایش می‌یابد (پترسن^{۱۴} و دیگران، ۲۰۱۸). مطالعات نشان می‌دهند که اگرچه مهار GSK-3 بر جذب گلوکز عضله اسکلتی تأثیر نمی‌گذارد، اما برای فعال کردن GYS2، بهبود تحمل گلوکز، بهبود حساسیت به انسولین و افزایش ذخیره گلیکوژن لازم است (مک آلی و وودگت^{۱۵}، ۲۰۰۸).

در تحقیق حاضر نشان داده شد که رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش گلوکز خون و کاهش فعالیت آنزیم گلیکوژن سنتاز می‌شود. در همین راستا، چندین مطالعه نیز گزارش کرده‌اند که مصرف غذای پرچرب منجر به افزایش گلوکز خون در انسان و حیوان می‌شود (هو^{۱۶} و دیگران، ۲۰۲۰؛ جنونگ^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۹؛ زو و دیگران، ۲۰۱۹؛ چئونگ و دیگران، ۲۰۱۴). در گروه تمرین هوازی با این که موش‌ها از رژیم غذایی پرچرب استفاده کردند، تمرین توانست باعث کاهش گلوکز خون، افزایش فعالیت آنزیم GYS2، و ذخیره گلوکز در کبد شود. ورزش هوازی یک استراتژی درمانی

موش‌ها استفاده شد، زیرا استفاده از رژیم پرکربوهیدرات برای القای حالت پیش‌دیابتی در موش‌ها به چهار تا شش ماه زمان نیاز دارد؛ روندی که موجب افزایش سن موش‌ها شده و روندهای متابولیکی مد نظر را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

مطالعه حاضر نشان داد که رژیم غذایی پرچرب بعد از مداخله اول (۱۲ هفته رژیم پرچرب برای القای پیش‌دیابت)، منجر به افزایش معنی‌دار گلوکز خون در موش‌های پیش‌دیابتی به نسبت موش‌های طبیعی می‌شود و گلوکز خون ناشتا را در محدوده پیش‌دیابت قرار می‌دهد. بعد از القای مداخله دوم (۱۰ هفته تمرین هوازی)، در گروه پیش‌دیابتی افزایش گلوکز خون نسبت به هفته ۱۲ مشاهده شد و گلوکز خون موش‌های گروه پیش‌دیابتی در مرز دیابتی شدن قرار گرفت. با این حال، تمرین هوازی باعث کاهش گلوکز خون ناشتا در موش‌ها شد. در مطالعه حاضر نشان داده شد که در گروه پیش‌دیابتی، گلوکز خون ناشتا در پایان مداخله دوم (۲۳ هفته رژیم غذایی و تمرین هوازی)، نسبت به مداخله اول (۱۲ هفته) بیشتر شده که خود نشان‌دهنده افزایش مقاومت انسولینی و ایجاد شرایط پیش‌دیابت در مدل حیوانی است. محققینی همچون هو^{۱۶} و دیگران (۲۰۲۰)، زو^{۱۷} و دیگران (۲۰۱۹)، و جانگ^{۱۸} و دیگران (۲۰۱۹) گزارش نموده‌اند که مصرف غذای پرچرب، منجر به افزایش گلوکز خون در موش‌ها می‌شود. در ادامه بررسی‌های نتایج بدست آمده باید به این نکته اشاره کرد که میزان آنزیم‌های کبدی که نشانگر شرایط پیش‌دیابتی و کبد چرب است، در گروه تمرین هوازی کاهش یافت؛ به حدی که در محدوده شرایط طبیعی قرار گرفت. به نظر می‌رسد تمرین هوازی می‌تواند در بهبود آنزیم‌های کبدی در شرایط پیش‌دیابتی مؤثر باشد. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که تمرین بدنی به‌عنوان یک استراتژی مهم می‌تواند از طریق به‌کارگیری مکانیسم‌های مولکولی مهم درگیر در کنترل پیش‌دیابت و دیابت، مانند افزایش فعالیت پروتئین AKT، افزایش انتقال عامل انتقال دهنده گلوکز-۴ (GLUT4) به سطح غشا، افزایش جذب گلوکز بعد از یک جلسه تمرین، و فعال شدن پروتئین TBC1D4^{۱۹} برای جذب گلوکز؛ در بهبود این شرایط اثربخش باشد. در همین راستا، مطالعاتی گزارش کرده‌اند که تمرین می‌تواند باعث بهبود تحمل گلوکز

1. Hou

2. Xu

3. Jeong

4. Glucose transporter 4

5. TBC1 domain family member 4

6. Cheong

7. Van Dijk

8. McCarty

9. Jafari

10. Kreft

11. Pathophysiology

12. Monogenic

13. Irimia

14. Petersen

15. MacAulay and Woodgett

16. Hou

17. Jeong

اساس نتایج، شاهد کاهش قابل توجه میزان گلوکز خون و بهبود تحمل گلوکز بعد از مداخله با تمرین هوازی (علیرغم استفاده از رژیم غذایی پرچرب تا پایان هفته بیست و سوم مداخله) بودیم. به طور کلی، تمرین بدنی می تواند باعث بهبود شرایط پیش دیابتی شود و با توجه به عدم اثر جانبی آن در مقایسه با داروهای شیمیایی، می تواند به طور گسترده برای درمان آسیب های ناشی از پیش دیابتی شدن یا جلوگیری از دیابتی شدن مورد استفاده قرار گیرد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ تضاد منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

بر خود لازم می دانیم که از پژوهشکده رویان اصفهان تشکر کنیم که فرصت لازم برای اجرای مطالعه را فراهم کردند.

برای درمان بسیاری از بیماری های مزمن، از جمله حالت پیش دیابتی و دیابتی شدن است. تحقیقات مشابه در مورد اثر تمرین بدنی بر ذخایر گلیکوژن کبدی نادر هستند و در مورد بیماری های متابولیکی از جمله دیابت و بیماری های کبدی، مسیرهای کبدی سلولی - مولکولی قابل اصلاح با تمرین بدنی، خوبی درک نشده است. از این رو، در تحقیق حاضر یکی از مکانیسم های کاهش قند خون پس از ورزش هوازی، یعنی تنظیم ذخایر گلیکوژن کبدی بررسی گردید. از آنجا که مطالعات دقیق و گسترده ای در این مورد انجام نشده است، نیاز است فرآیند ذخیره گلیکوژن کبدی تحت تاثیر تمرین هوازی در حالت پیش دیابتی دقیق تر بررسی شود.

نتیجه گیری: سعی شد در مطالعه حاضر مکانیسم های موثر در کاهش گلوکز خون توسط تمرین هوازی در موش های مدل پیش دیابتی بررسی و شناسایی شود. بر

منابع

- Alizadeh, M., Asad, M., & Naghibi, S. (2019). Effect of 8 weeks' endurance training on omentin-1 gene expression of visceral adipose tissue in Streptozotocin-induced diabetic male rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 7(13), 77-87. [In Persian]
- Cheong, J.L. K., Croft, K., Henry, P., Matthews, V., Hodgson, J., & Ward, N. (2014). 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*, 559, 46-52.
- Delevatti, R.S., Bracht, C.G., Lisboa, S.D.C., Costa, R.R., Marson, E.C., Netto, N., & Kruehl, L.F.M. (2019). The role of aerobic training variables progression on glycemic control of patients with Type 2 Diabetes: a systematic review with meta-analysis. *Sports Medicine-open*, 5(1), 1-17.
- Edgerton, D.S., Johnson, K., & Cherrington, A.D. (2009). Current strategies for the inhibition of hepatic glucose production in type 2 diabetes. *Frontiers in Bioscience*, 14, 1169-1181.
- Hordern, M.D., Dunstan, D.W., Prins, J.B., Baker, M.K., Singh, M.A.F., & Coombes, J.S. (2012). Exercise prescription for patients with type 2 diabetes and pre-diabetes: a position statement from exercise and sport science Australia. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 15(1), 25-31.
- Hou, D., Zhao, Q., Yousaf, L., Chen, B., Xue, Y., & Shen, Q. (2020). A comparison between whole mung bean and decorticated mung bean: beneficial effects on the regulation of serum glucose and lipid disorders and gut microbiota in high-fat diet and streptozotocin-induced prediabetic mice. *Food & Function*, 11(6), 5525-37.
- Irimia, J.M., Meyer, C.M., Peper, C.L., Zhai, L., Bock, C.B., Previs, S.F., . . . & Roach, P.J. (2010). Impaired glucose tolerance and predisposition to the fasted state in liver glycogen synthase knock-out mice. *Journal of Biological Chemistry*, 285(17), 12851-12861.
- Jafari, T., Mahmoodnia, L., Tahmasebi, P., Memarzadeh, M.R., Sedehi, M., Beigi, M., & Fallah, A.A. (2018). Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) essential oil supplementation on metabolic profile and serum leptin in pre-diabetic subjects: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Functional Foods*, 47, 416-422.

- Jeong, S., Cho, J. M., Kwon, Y.-I., Kim, S.-C., Shin, D. Y., & Lee, J. H. (2019). Chitosan oligosaccharide (GO2KA1) improves postprandial glycemic response in subjects with impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose and in healthy subjects: a crossover, randomized controlled trial. *Nutrition & Diabetes*, 9(1), 1-9.
- Karthikesan, K., Pari, L., & Menon, V.P. (2010). Protective effect of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid against streptozotocin–nicotinamide generated oxidative stress induced diabetes. *Journal of Functional Foods*, 2(2), 134-142.
- Kazeminasab, F., Marandi, S.M., Ghaedi, K., Safaeinejad, Z., Esfarjani, F., & Nasr-Esfahani, M.H. (2018). A comparative study on the effects of high-fat diet and endurance training on the PGC-1 α -FNDC5/irisin pathway in obese and non-obese male C57BL/6 mice. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 43(7), 651-662.
- Khan, R.M.M., Chua, Z.J.Y., Tan, J.C., Yang, Y., Liao, Z., & Zhao, Y. (2019). From pre-diabetes to diabetes: diagnosis, treatments and translational research. *Medicina*, 55(9), 546.
- Kreft, H., & Jetz, W. (2007). Global patterns and determinants of vascular plant diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(14), 5925-5930.
- Kumar, A.S., Maiya, A.G., Shastry, B., Vaishali, K., Ravishankar, N., Hazari, A., . . . & Jadhav, R. (2019). Exercise and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 62(2), 98-103.
- Ma, Y., Gao, M., & Liu, D. (2015). Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharmaceutical Research*, 32(4), 1200-1209.
- MacAulay, K., & Woodgett, J.R. (2008). Targeting glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) in the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 12(10), 1265-1274.
- McCarty, M.F. (2005). A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. *Medical Hypotheses*, 64(4), 848-853.
- Parveen, S., & Khan, A.A. (2020). An Insight of Prediabetes. *Journal of Pharmaceutical Research*, 1(01), 02-08.
- Petersen, M.C., & Shulman, G.I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133-2223.
- Sarani Maram, Y., Vahidian-Rezazadeh, M., & Fanaei, H. (2020). The interactive effects of resistance, endurance trainings and consumption of nettle extract on plasma apelin levels and weight changes in diabetic type 1 rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 8(16), 72-84. [Persian]
- Song, S.J., Choi, S., & Park, T. (2014). Decaffeinated green coffee bean extract attenuates diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 718379.
- Van Dijk, A.E., Olthof, M.R., Meeuse, J.C., Seebus, E., Heine, R.J., & Van Dam, R.M. (2009). Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care*, 32(6), 1023-1025.
- Venables, M.C., & Jeukendrup, A.E. (2008). Endurance training and obesity: effect on substrate metabolism and insulin sensitivity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40(3), 495-502.
- Wang, S., Ma, W., Yuan, Z., Wang, S.-m., Yi, X., Jia, H., & Xue, F. (2016). Association between obesity indices and type 2 diabetes mellitus among middle-aged and elderly people in Jinan, China: a cross-sectional study. *BMJ open*, 6(11), e012742.

Xu, D., Jiang, Z., Sun, Z., Wang, L., Zhao, G., Hassan, H. M., . . . & Zhang, L. (2019). Mitochondrial dysfunction and inhibition of myoblast differentiation in mice with high-fat-diet-induced pre-diabetes. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 7510-7523.

Xu, L., Lin, X., Guan, M., Zeng, Y., & Liu, Y. (2019). Verapamil attenuated prediabetic neuropathy in high-fat diet-fed mice through inhibiting TXNIP-mediated apoptosis and inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.

