

## Research Paper

## The Effect of an Aerobic Exercise Course on the Activity of MondoA Transcription Factor and its Target Genes in Skeletal Muscle of Prediabetes Mice

N. Sadeghian Renani<sup>1</sup>, S. M. Marandi<sup>2</sup>, J. Reisi<sup>3</sup>,  
Z. Safaiejad<sup>4</sup>, M. H. Nasr Esfahani MH<sup>5</sup>

1. Ph.D. Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
2. Professor in Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran (Corresponding Author)
3. Assistance Professor of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
4. PhD in Cell and Developmental Biology, Department of Animal Biotechnology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
5. Professor in Biology, Department of Animal Biotechnology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran

Received: 2023/07/02

Accepted: 2023/12/20

### Abstract

Objectives: Skeletal muscles play an important role in the homeostasis of the whole body. Any dysfunction of skeletal muscles can cause problems such as prediabetes, and type 2 diabetes. MondoA is a transcription factor that is activated under normal conditions by increasing the amount of glucose inside the cell and transcribes its target genes (TXNIP/ARRDC4). The purpose of this study is to investigate the effect of aerobic training on the level of MondoA transcription factor activity and the expression of its target genes in the skeletal muscle of pre-diabetic model rats. Methods & Materials: 15 C57BL/6 male mice were randomly divided into two groups. Mice were fed with normal diet (control group 5) and high fat diet (10). Mice were fed for 12 weeks. After induction of prediabetes, mice were divided into two groups of high-fat diet (5 mice/ no exercise) and aerobic training group (5 mice / 10 weeks of aerobic training). The aerobic exercise protocol was performed in the form of running on a treadmill 5 days a week and 45 minutes a day. The velocity also increased from 15 to 23 m/min with moderate intensity. Results:

1. Email: smmarandi2001@yahoo.com
2. Email: n.sadeghianrenani@gmail.com
3. Email: j.reisi@spr.ui.ac.ir
4. Email: safayinejad@yahoo.com
5. Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org



The results showed a significant decrease ( $p < 0.001$ ) in blood glucose level and insulin resistance in the PD-Ex group compared to PD. Moreover, exercise training decreased the relative level of expression of TXNIP ( $p < 0.01$ ) and ARRDC4 ( $p < 0.05$ ) genes, the presence of transcription factor MondoA in the nucleus, and increased the expression of Glut4 protein in the cell membrane ( $p < 0.01$ ). Conclusion: In general, aerobic exercise can be effective in lowering blood sugar by decreasing the activity of MondoA in the nucleus and increasing the presence of Glut4 in the cell membrane.

**Key words:** Aerobic Exercise, MondoA, TXNIP, ARRDC4, Skeletal Muscles, Prediabetes.

---

## Extended Abstract

### Background and Purpose

PD has been defined by two primary indicators, namely, impaired fasting glucose (IFG) and impaired glucose tolerance (IGT) (1). The major cause of PD is insulin resistance (IR) in the muscle, liver, and adipose tissues, followed by an upsurge in insulin production by the pancreatic beta ( $\beta$ )-cells (2). As metabolic balance and homeostasis in the human body heavily depend on skeletal muscles. Improving understanding of the molecular mechanisms of muscle energy homeostasis and IR may accordingly help in discovering novel methods for combating metabolic disorders, like T2D (3). The IR development in the skeletal muscles and the PD emergence due to a high-fat diet (HFD) likely imply an upstream mechanism in the skeletal muscles. Recent studies have further demonstrated MondoA as a negative modulator of insulin sensitivity in such muscles (4). This transcription factor is responsible for the transcriptional alterations brought on by glucose. MondoA is a transcription factor that transcript TXNIP and ARRDC4 genes (5). TXNIP and ARRDC4 also seem to prevent hypoglycemia and limit glucose absorption in myocytes and adipocytes during fasting by boosting the GLUT4 endocytosis. Moreover, they regulate the insulin sensitivity of the muscle and adipose tissues (6). As evidenced, the MondoA-MLX complex is typically activated in response to a proliferation in glucose within the cell, followed by a rising trend in glucose 6-phosphate (7). Consequently, it reaches the cell nucleus and controls the expression of its target genes (8). Under normal cellular conditions, this transcription factor further inhibits the flow of surplus energy into catabolic pathways in the skeletal muscles. On the other hand, abnormal cellular conditions, such as an HFD and excess food, lead to the constant activation of MondoA. Thus, a vicious cycle of IR and muscle fat deposition begins (9). Improving lifestyle and doing regular physical activity are among the effective methods for preventing and treating some disorders, like T2D and PD



(10). Hence, exercise seems to be a useful non-pharmaceutical treatment for Metabolic disorders (11). Against this background, the main objective of the present study was to examine the effects of aerobic exercise on the MondoA activity and the expression of its target genes in the skeletal muscles of a high-fat diet-induced PD mouse model.

### Materials and Methods

Fifteen male C57 black 6 (C57BL/6) mice, aged four weeks and weighing between 12 and 14 g were used in this study. The mice were kept at  $23\pm 3$  °C with the cycle of 12-h light and 12-h darkness and had ad libitum access to food and water. The animals were randomized into a control group (Con n=5) and (HFD n=10). The Con group had a regular diet, whereas the other mice received HFD. Upon the PD development, the HFD group was divided into two subgroups (with five mice in each group), viz, prediabetic mice (PD group) and the PD mice treated with Exe. The animals were subjected to Aerobic exercise for 10 weeks. The Exercise routine was carried out as follows, low-to-moderate intensity=50-60%, maximal aerobic velocity (MAV)/45 min each day, five days per week for 10 weeks. Afterward, the metabolic data, i.e., FBS, GTT, HOMA-IR, plasma insulin levels, together with protein expression and the cellular localization of MondoA and GLUT4, as well as the TXNIP and ARRDC4 expression in the myocytes from various groups were evaluated. Data were analyzed using the one-way analysis of variance (ANOVA) and  $P < 0.05$  was considered as a significant change.

### Results

Aerobic exercise modified the PD parameters induced by an HFD. In this line, the mice were given a 60% HFD for 12 weeks to produce a PD model, as previously described. Compared with the Con group, the parameters of prediabetes in the PD group significantly increased; however, aerobic exercise could lower fasting blood glucose, plasma insulin levels, the HOMA-IR index, and AUC as compared with the PD model mice. Mondo A was localized to an increased degree in the cell membrane in the PD group compared with the Con group. The protein expression of MondoA in myocytes was reduced by (Exe) ( $p < 0.01$ ). The expression of TXNIP and ARRDC4 in the HFD-fed mice rose dramatically compared with the animals having a normal diet, and Exe reduced the TXNIP ( $p < 0: 01$ ) and ARRDC4 ( $p < 0:05$ ) expression. GLUT4 was localized to a reduced degree in the cell membrane in the PD group compared with the Con group. Exe also enhanced the membrane localization and protein expression of GLUT4 caused by an HFD.



## Conclusion

In summary, the results of the present study show that a high-fat diet leads to weight gain, increased insulin, blood glucose, and ultimately leads to prediabetes. In addition, the expression of Mondo A protein and the expression of its downstream genes increased due to a high-fat diet. On the other hand, 10 weeks of aerobic exercise improves the parameters of induced PD by HFD, reducing the presence of Mondo A in the cell nucleus and reducing the expression of TXNIP and ARRDC4.

## Article Message

To come to the point, the study results established that aerobic exercise might help modify the alterations produced by PD Through the MondoA-TXNIP/ARRDC4-GLUT4 axis. Accordingly, a novel mechanism was found to improve PD via aerobic exercise.

## Ethical Considerations

### Compliance with Research Ethical Guidelines

The animal study protocol was approved by the Ethics Committee University of Isfahan (ethics Code IR.Ul.REC.1400.080).

### 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

### Acknowledgment

This article is extracted from the thesis of the Doctoral course in Sports Physiology at Isfahan University. The authors thank and appreciate all the people who participated in this research.

## References

1. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrami A, et al. Diabetes in Iran: prospective analysis from first nationwide diabetes report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016). Scientific reports. 2017;7(1):1-10.
2. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. Diabetes care. 2009;32(suppl\_2):S157-S63.



3. Ahn B, Wan S, Jaiswal N, Vega RB, Ayer DE, Titchenell PM, et al. MondoA drives muscle lipid accumulation and insulin resistance. *JCI insight*. 2019;4(15):1-16.
4. Stoltzman CA, Peterson CW, Breen KT, Muoio DM, Billin AN, Ayer DE. Glucose sensing by MondoA: Mlx complexes: a role for hexokinases and direct regulation of thioredoxin-interacting protein expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(19):6912-7.
5. Richards P, Ourabah S, Montagne J, Burnol A-F, Postic C, Guilmeau S. MondoA/ChREBP: The usual suspects of transcriptional glucose sensing; Implication in pathophysiology. *Metabolism*. 2017;70:133-51.
6. Yoshihara E. TXNIP/TBP-2: a master regulator for glucose homeostasis. *Antioxidants*. 2020;9(8):765.
7. Waldhart AN, Dykstra H, Peck AS, Boguslawski EA, Madaj ZB, Wen J, et al. Phosphorylation of TXNIP by AKT mediates acute influx of glucose in response to insulin. *Cell reports*. 2017;19(10):2005-13.
8. Zhang X, Fu T, He Q, Gao X, Luo Y. Glucose-6-phosphate upregulates Txnip expression by interacting with MondoA. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2020;6:147.
9. Song Z, Yang H, Zhou L, Yang F. Glucose-sensing transcription factor MondoA/ChREBP as targets for type 2 diabetes: opportunities and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(20):5132.
10. Stevanović J, Beleza J, Coxito P, Ascensão A, Magalhães J. Physical exercise and liver “fitness”: Role of mitochondrial function and epigenetics-related mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular metabolism*. 2020;32:1-14.
11. Stanford KI, Goodyear LJ. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Advances in physiology education*. 2014;38(4):308-14.

پښتونخواه علمي انساني و مطالعات فرانسې  
بريال جامع علوم انساني



## اثر یک دوره تمرین هوازی بر فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و ژن‌های هدف آن در عضله اسکلتی موش‌های پیش‌دیابت

ناهید صادقیان رنانی<sup>۱</sup>، سید محمد مرندی<sup>۲</sup>، جلیل رئیسی<sup>۳</sup>، زهرا صفایی‌نژاد<sup>۴</sup>،  
محمدحسین نصر اصفهانی<sup>۵</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. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۴. دکتری تخصصی سلول تکوینی جانوری، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست فناوری جانوری، اصفهان، ایران
۵. استاد جنین‌شناسی، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست فناوری جانوری، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۱

### چکیده

عضلات اسکلتی نقش مهمی در هومئوستاز کل بدن دارند. هرگونه اختلال در عملکرد عضلات اسکلتی می‌تواند زمینه‌ساز بروز مشکلات متابولیک از جمله پیش‌دیابت و دیابت نوع دو شود. MondoA یک فاکتور رونویسی است که در شرایط طبیعی با افزایش میزان گلوکز داخل سلول فعال می‌شود و ژن‌های TXNIP و ARRDC4 را رونویسی می‌کند. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثر تمرین هوازی بر میزان فعالیت فاکتور رونویسی MondoA و بیان ژن‌های هدف آن در عضله اسکلتی موش‌های مدل پیش‌دیابت بود. تعداد ۱۵ سر موش نر نژاد C57BL/6 به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. موش‌های تغذیه‌شده با رژیم غذایی طبیعی (گروه کنترل ۵ عدد) و رژیم غذایی پرچرب (۱۰ عدد). موش‌ها به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. پس از القای پیش‌دیابت، موش‌ها به دو گروه رژیم غذایی پرچرب (۵ موش / بدون تمرین) و گروه تمرین هوازی (۵ موش /

1. Email: smmarandi2001@yahoo.com
2. Email: n.sadeghianrenani@gmail.com
3. Email: j.reisi@spr.ui.ac.ir
4. Email: safayinejad@yahoo.com
5. Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org



۱۰ هفته تمرین هوازی) تقسیم شدند. پروتکل تمرین هوازی به صورت دویدن روی تردمیل پنج روز در هفته و ۴۵ دقیقه در روز با سرعت فزاینده از ۱۵ تا ۲۳ متر بر دقیقه با شدت متوسط انجام شد. یافته‌ها نشان داد، تمرین ورزشی می‌تواند گلوکز خون و مقاومت انسولینی را کاهش دهد ( $P < 0.001$ ). همچنین تمرین ورزشی سطح نسبی بیان ژن‌های TXNIP ( $P < 0.01$ )، ARRDC4 ( $P < 0.05$ ) و حضور فاکتور رونویسی MondoA در هسته را کاهش داد ( $P < 0.01$ ). همچنین بیان پروتئین Glut4 در غشای سلول افزایش یافت ( $P < 0.01$ ). کلی نتایج نشان می‌دهد که تمرین هوازی می‌تواند از طریق کاهش فعالیت MondoA در هسته و افزایش حضور Glut4 در غشای سلول در کاهش قند خون مؤثر باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین هوازی، MondoA، TXNIP، ARRDC4، عضلات اسکلتی، پیش‌دیابت.

## مقدمه

شیوع دیابت نوع دو در قرن اخیر به شدت در حال افزایش است. مواردی از قبیل نبود تحرک کافی و تغذیه ناسالم در ابتدا فرد را مستعد پیش‌دیابت (PD)<sup>۱</sup> می‌کند (۱). دیابت نوع دو با پیش‌دیابت آغاز می‌شود (۲). در واقع پیش‌دیابت به یک مرحله میانی از اختلال در قند خون (مرحله‌ای بین قند خون نرمال تا دیابت) اشاره دارد و با دو شاخص اصلی اختلال در وضعیت گلوکز ناشتا (IFG)<sup>۲</sup> و اختلال در تحمل گلوکز (IGT)<sup>۳</sup> شناخته می‌شود (۳)؛ به عبارت دیگر، در افراد PD، میزان گلوکز خون (FBG)<sup>۴</sup> بعد از هشت ساعت ناشتایی بین ۱۰۰-۱۲۵ mg/dl است (۴). همچنین میزان تست تحمل گلوکز، دو ساعت پس از تزریق گلوکز (h-GTT)<sup>۵</sup> بین ۱۹۹-۱۴۵ mg/dl است (۵). تشخیص زود هنگام، پیشگیری یا به تأخیر انداختن بیماری از طریق برنامه‌های غربالگری موجب کاهش عوارض و مرگ‌ومیر ناشی از پیش‌دیابت می‌شود (۶). اگر اقدامی برای پیشگیری از پیش‌دیابت انجام نشود، اکثر افراد مبتلا به اختلال گلوکز طی یک دوره ده ساله به دیابت نوع دو مبتلا خواهند شد (۵).

علت اولیه پیش‌دیابت، مقاومت به انسولین در بافت‌های عضله اسکلتی، کبد و بافت چربی است که با افزایش تولید انسولین توسط سلول‌های بتای پانکراس دنبال می‌شود (۷). مقاومت به انسولین پیش‌رونده در نهایت منجر به نقص در سلول‌های بتا و اختلال در تولید انسولین شده و دیابت نوع دو

1. Pre-Diabetes
2. Impaired Fasting Glucose
3. Impaired Glucose Tolerance
4. Fasting Blood Glucose
5. 2-h Posted Blood Glucose



ایجاد می‌شود (۸). بافت عضله اسکلتی حدود ۴۰ درصد از توده بدن را تشکیل می‌دهد، اما تقریباً ۸۰ درصد گلوکز بدن توسط آن جذب می‌شود؛ بنابراین هرگونه اختلال در عملکرد عضلات می‌تواند زمینه‌ساز بروز مشکلاتی از جمله سندرم متابولیک، استئاتوز کبدی و دیابت نوع دو شود (۹). درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی تنظیم‌کننده هومئوستاز انرژی عضلانی و مقاومت انسولینی ممکن است استراتژی‌های جدیدی را برای مبارزه با بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع دو آشکار کند. همچنین نقش عوامل رونویسی مهم در عضلات اسکلتی که در تنظیم متابولیسم کل بدن دخیل هستند، کاملاً شناخته‌شده نیست (۱۰). احتمالاً ایجاد مقاومت به انسولینی در عضلات اسکلتی و بروز پیش‌دیابت ناشی از چاقی یا رژیم غذایی پرچرب، مکانیسم بالادستی مشترک را در عضلات اسکلتی مشخص می‌کند (۱۱). MondoA یک فاکتور رونویسی است که ژن‌های درگیر در گلیکولیز، سنتز اسیدچرب و تولید سازی اسیدهای چرب را تنظیم می‌کند (۱۲). Mondo A برای انجام رونویسی ژن‌های هدف خود باید به پروتئین دیگری به نام  $MLX^1$  متصل شود. این فاکتور رونویسی نقشی کلیدی در هومئوستاز گلوکز در عضله اسکلتی ایفا می‌کند، اما در سایر بافت‌ها نظیر بافت چربی سفید نیز بیان می‌شود (۱۳).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد، Mondo A تنظیم‌کننده منفی حساسیت به انسولین در عضلات اسکلتی است که توسط گلوکز و متابولیت‌های آن فعال می‌شود. در واقع، با افزایش متابولیت‌هایی مانند گلوکز ۶ فسفات<sup>۲</sup> (G6P) ورود کمپلکس Mondo A-MLX از موقعیت غیرفعال خود یعنی غشای خارجی میتوکندری به هسته سلول تسهیل می‌شود. کمپلکس Mondo A-MLX به دنبال تحریک گلوکز، با اتصال به عناصر پاسخ کربوهیدرات<sup>۳</sup> (ChoRE) در پروموتور ژن‌ها، رونوشت ژن‌ها را القا می‌کند (۱۴). TXNIP<sup>۴</sup> و ARRDC4<sup>۵</sup> دو ژن از خانواده آلفا آرستین هستند که به‌عنوان ژن‌های سرکوبگر ورود گلوکز شناخته می‌شوند و توسط Mondo A رونویسی می‌شوند. این ژن‌ها از طریق تسهیل آندوسیتوز ناقل گلوکز<sup>۶</sup> (Glut) فعالیت آن را سرکوب می‌کنند و مانع ورود گلوکز اضافی به درون سلول می‌شوند؛ بدین ترتیب از هیپوگلیسمی خون جلوگیری می‌کنند (۱۵). درمقابل، وقتی میزان گلوکز سلول کاهش می‌یابد، سیگنالینگ انسولین برای ورود گلوکز به درون سلول فعال می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد،

1. Max-Like Protein X
2. Glucos -6-Phosphate
3. Carbohydrate Response Element
4. Thioredoxin-Interacting protein
5. Arrestin Domain Containing 4
6. Glucose Transpoter



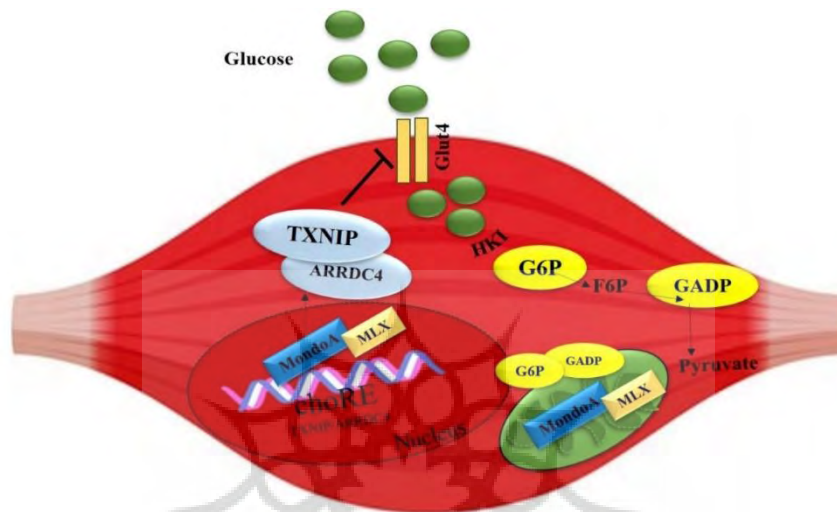


انسولین به‌طور طبیعی باعث جدا شدن این ژن‌ها از Glut4 می‌شود و بدین ترتیب ناقل گلوکز از عمق غشا به سطح غشا می‌رود و جذب گلوکز به درون سلول افزایش می‌یابد؛ در نتیجه میزان گلوکز درون سلول و میزان قند خون در محدوده نرمال حفظ می‌شود (۱۶). در واقع، Mondo A به‌وسیله مکانیسم بازخورد منفی به هومئوستاز گلوکز سلول عضلانی کمک می‌کند (شکل شماره یک) (۱۷). از طرفی مطالعات نقش این فاکتور رونویسی را در توسعه مقاومت انسولینی نیز تأیید می‌کند. افزایش بیش از حد Mondo A در عضله اسکلتی در حیوانات دیابتی شده گزارش شده است. به‌طور کلی، در شرایط غیرطبیعی سلول، به‌طور مثال دریافت انرژی مازاد یا رژیم غذایی پر چرب، مکانیسم بازخورد منفی به‌واسطه Mondo A، به‌طور مداوم فعال می‌شود. افزایش بیان و فعالیت Mondo A در این شرایط، به مقاومت انسولین و در نتیجه توسعه دیابت نوع دو منجر می‌شود (۹). مطالعات تأیید کرده‌اند که از دست دادن انتخابی Mondo A در عضله، باعث بهبود تحمل گلوکز ناشی از رژیم غذایی پرچرب و مقاومت انسولینی می‌شود (۱۸). همچنین استفاده از SBI-993 به‌عنوان مولکول بازدارنده Mondo A، باعث کاهش تجمع چربی و بهبود سیگنالینگ انسولین عضلانی و تحمل گلوکز سیستمیک در شرایط تغذیه پرچرب می‌شود (۱۹). تحقیقات نشان می‌دهند که در بافت‌های محیطی، بیان بیش از حد TXNIP به مهار جذب گلوکز منجر می‌شود؛ در حالی که ناکدوان TXNIP، جذب گلوکز به درون سلول را افزایش می‌دهد (۲۰). در سلول‌های فاقد TXNIP، جذب گلوکز در عضلات و سلول‌های چربی افزایش یافته و سطح گلوکز و انسولین خون کاهش می‌یابد (۲۱).

سبک زندگی فاقد تحرک کافی، عامل بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت نوع دو است و اصلاح سبک زندگی یکی از راهکارهای مؤثر در بهبود شرایط پیش‌دیابت و جلوگیری از رسیدن فرد به این نوع دیابت است. در همین راستا، یکی از عواملی که در اصلاح سبک زندگی و به دنبال آن بهبود پیش‌دیابت مؤثر است، فعالیت بدنی و تمرینات منظم ورزشی است (۲۲). ورزش نیز مانند تحریک انسولین با انتقال Glut4 به غشای پلاسمایی و لوله‌های عرضی، سرعت انتقال گلوکز به عضله اسکلتی منقبض شده را افزایش می‌دهد. در واقع، جابه‌جایی Glut4 تحریک‌شده با ورزش در شرایط مقاومت انسولینی مانند بیماری دیابت نوع دو و چاقی مختل نمی‌شود (۲۳). در افراد مبتلا به دیابت نوع دو، فعالیت انتقال گلوکز به‌شدت مختل می‌شود. بافت عضلانی افراد دیابتی نوع دو دارای سطوح نرمال یا افزایش بیان Glut4 mRNA و سطح طبیعی پروتئین Glut4 است؛ بنابراین در تنظیم رونویسی و ترجمه‌های Glut4 اختلال وجود ندارد. از آنجاکه تعداد ناقلان Glut4 در عضله افراد دیابتی طبیعی است، اختلال در جابه‌جایی Glut4 و کاهش فعالیت ذاتی ناقل گلوکز باید مسئول نقص در انتقال گلوکز عضلانی در شرایط مقاومت به انسولینی و دیابت نوع دو باشد (۲۴). تمرین هوازی باعث افزایش جذب



گلوکز، افزایش اکسیداسیون چربی و گلوکز و افزایش حساسیت انسولینی می‌شود. همچنین تمرین هوازی از مسیر فعال‌سازی AMPK<sup>۱</sup> به انتقال گلوکز تحریک شده به عضله اسکلتی منجر می‌شود (۲۶، ۲۵).



شکل ۱- تنظیم فعالیت Mondo A توسط مواد مغذی

در شرایط گلوکز بالا، گلوکز داخل سلولی به گلوکز-۶-فسفات فسفریله می‌شود. پس از آن G6P و مشتقات آن باعث ایجاد تغییر ساختار Mondo A می‌شوند و به دنبال آن کمپلکس Mondo A-MLX تشکیل می‌شود. سپس کمپلکس وارد هسته شده و رونویسی بسیاری از ژن‌ها از جمله TXNIP و ARRDC4 (ژن‌های سرکوبگر ورود گلوکز) فعال می‌شود.

#### Figure 1- Regulation of Mondo A activity by nutrients

Under high glucose conditions, intracellular glucose is phosphorylated to glucose-6-phosphate. hereafter, G6P and its certain derivatives, cause conformational change of Mondo A, followed by the formation of Mondo A-MLX complex, then the complex enters the nucleus. and the transcription of many genes including TXNIP and ARRDC4 (insulin pathway suppressor genes) is activated.

از طرفی تحقیقات نشان می‌دهند، بی‌حرکتی به سرعت بیان ژن و پروتئین TXNIP را همراه با مقاومت به انسولین در عضله موش‌ها القا می‌کند؛ بنابراین ممکن است افزایش بیان پروتئین TXNIP ناشی از بی‌حرکتی به‌طور مستقیم با تسهیل اندوسیتوز GLUT4 و متعاقباً کاهش مقدار آن در سطح سلول، انتقال گلوکز را در غشای پلاسمایی مهار کند (۲۷، ۲۸). همچنین مطالعات تأیید کرده‌اند که

1. 5' AMP-Activated Protein Kinase



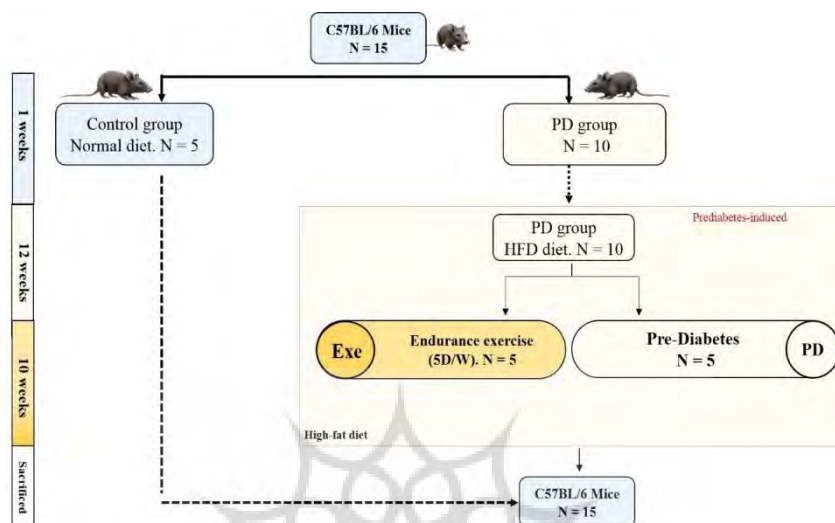
متفورمین به‌عنوان داروی ضد‌دیابت، به‌طور چشمگیری بیان mRNA و پروتئین TXNIP را مهار می‌کند. درواقع، متفورمین از اتصال کمپلکس فاکتور رونویسی Mondo A:MLX به پروموتور ژن TXNIP جلوگیری می‌کند و به‌طور مستقیم رونویسی آن را تنظیم می‌کند (۳۰، ۲۹). این نتایج نشان می‌دهد که هدف قرار دادن این فاکتور رونویسی و ژن‌های هدف آن می‌تواند در تعدیل شرایط پیش‌دیابت مؤثر باشد. همچنین به‌رغم اینکه تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که متابولیت‌های خاصی می‌توانند بر فعالیت سلولی و موقعیت مکانی Mondo A اثر بگذارند، اثر رژیم غذایی پرچرب بر این فاکتور کمتر شناخته شده است؛ بدین ترتیب در این مطالعه از رژیم غذایی پرچرب حاوی (۶۰٪ چربی، ۲۵٪ کربوهیدرات و ۱۵٪ پروتئین) استفاده شده است تا بررسی شود آیا رژیم غذایی پرچرب می‌تواند بر فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و سلامت متابولیک در موش‌ها اثر بگذارد یا خیر. همچنین موش‌ها تحت یک دوره تمرین هوازی قرار گرفتند تا اثر تمرین ورزشی نیز بر فعالیت Mondo A و بهبود شرایط متابولیک بررسی شود.

## روش پژوهش

**طراحی مطالعه:** در این پژوهش از ۱۵ موش نر ۴ هفته‌ای از نژاد C57BL/6 با وزن تقریبی ۱۲-۱۴ گرم استفاده شد. موش‌ها در دمای  $23 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و با چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذا کنترل شدند. بعد از یک هفته سازگاری، موش‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه کنترل (تعداد پنج موش) و گروه رژیم غذایی پرچرب (HFD)<sup>۱</sup> (تعداد ۱۰ موش) برای القای پیش‌دیابت تقسیم شدند. رژیم غذایی برای گروه کنترل، رژیم غذایی استاندارد (کربوهیدرات ۴۷٪، چربی ۱۲٪، پروتئین ۲۰٪) و برای سایر موش‌ها رژیم غذایی پرچرب (کربوهیدرات ۲۵٪، چربی ۶۰٪، پروتئین ۱۵٪) از نوع چربی اشباع بود (۳۲، ۳۱). بعد از اطمینان از ظهور پیش‌دیابت و انجام تست‌های تشخیصی (با توجه به اینکه محدوده سطح پیش‌دیابت در موش‌های C57BL/6، ۱۰۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر گلوکز خون است) (۳۲) و مقایسه دو گروه، القای پیش‌دیابت در گروه رژیم پرچرب در مقایسه با گروه کنترل اثبات شد. سپس گروه رژیم غذایی پرچرب به دو زیرگروه تقسیم شد (هر گروه شامل ۵ موش): موش‌های پیش‌دیابت که هیچ‌گونه مداخله نشدند و موش‌هایی که تحت درمان با تمرین هوازی (Exe) قرار گرفتند (شکل شماره دو).

## 1. High Fat Diet





شکل ۲- طرح تحقیق

مداخله اول: القای پیش‌دیابت (ابتدا به مدت ۱۲ هفته موش‌ها به گروه‌های کنترل Con و پیش‌دیابت PD تقسیم شدند). مداخله دوم: درمان (۱۰ هفته، گروه پیش‌دیابت به‌طور تصادفی به دو زیرگروه تقسیم شدند: موش‌های پیش‌دیابت که هیچ‌گونه مداخله‌ای را دریافت نکردند و موش‌هایی که تحت درمان با تمرین هوازی (Exe) قرار گرفتند).

### Figure 2- Study plan

The first intervention: PD induction (first, the mice were divided into Con and PD groups for 12 weeks). The second intervention: Treatment (10 weeks, the PD group was randomly divided into two subgroups): prediabetic mice (PDgroup) the PD mice treated with Exe. At the end of the 23rd week, the mice were euthanized.

**مداخله ورزشی:** حیوانات به مدت ۱۰ هفته (پنج روز در هفته) تحت تمرین هوازی قرار گرفتند. همه موش‌ها با انجام یک هفته دویدن با تردمیل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت‌های مختلف به تمرین عادت کردند. همچنین در روز اول شوک الکتریکی اعمال شد تا موش‌ها شروع به دویدن کنند. پروتکل تمرین هوازی به صورت زیر انجام شد: شدت کم تا متوسط ۵۰٪-۶۰٪ /MAV ۴۵ دقیقه در روز /پنج روز در هفته/ ۱۰ هفته. اتاق تمرین، ساکت و دارای تهویه مناسب با رطوبت کم و دمای  $18 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد بود. موش‌های گروه کنترل نیز به صورت نامنظم در شرایط تمرین قرار گرفتند؛ بدین صورت که هرچند روز یک‌بار به مدت ۲۰ دقیقه روی تردمیل خاموش قرار گرفتند تا از نظر

### 1. Maximum Aerobic Velocity



استرس شرایط تمرین بین گروه‌ها تفاوتی ایجاد نشود. هر جلسه تمرین شامل سه دقیقه گرم کردن، چهل دقیقه تمرین اصلی و دو دقیقه ریکاوری بود. شدت اولیه تمرینات ۱۵ متر بر دقیقه بود که هر دو هفته به میزان دو متر بر دقیقه به شدت تمرین افزوده می‌شد؛ به طوری که در هفته آخر شدت تمرین به ۲۳ متر بر دقیقه رسید (۳۳، ۳۴). این مطالعه در کمیته اخلاق در پژوهش زیست پزشکی دانشگاه اصفهان با شناسه IR.UI.REC.1400.080 تأیید شد. شایان ذکر است همه ملاحظات و موازین اخلاقی در این مطالعه رعایت شده است؛ از جمله نگهداری حیوانات در شرایط مطلوب محیطی، توجه به تغذیه حیوانات، رعایت اخلاق در روش‌های بی‌هوشی حیوانات و کمک گرفتن از افراد ماهر در همه مراحل پژوهش.

**جمع آوری نمونه‌ها:** در طول دوره موش‌ها هر هفته وزن شدند. در پایان نیز حیوانات بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی تحت بی‌هوشی زایلازین و کتامین قرار گرفتند. سرم و بافت عضله دوقلو جمع آوری شد. شایان ذکر است که عضله دوقلو برای تجزیه و تحلیل‌های بیشتر در فریزر با دمای  $-۸۰^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد و همچنین به صورت بافت پرافینه نگهداری شد.

**اندازه‌گیری شاخص‌های مرتبط با پیش‌دیابت (اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی):** تست قند خون ناشتا (FBS) و تست تحمل گلوکز (GTT) در پایان هفته‌های دوازدهم و بیست و دوم با استفاده از گلوکومتر (گلوکومتر آلفا TRAK، Zoetis، ایالات متحده) از طریق ایجاد خراش روی دم موش‌ها انجام شد. برای GTT، موش‌ها شش ساعت ناشتا بودند و سپس با ۲۰۰ میکرولیتر محلول گلوکز گاوآژ شدند. گلوکز خون در صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد اندازه‌گیری شد. سطح انسولین پلاسمایی با کیت الیزا انسولین (USA, Keewaydin Drive, ALPCO 80-INSMS-E01) فوق حساس ( $۰/۰۶$  نانوگرم در میلی‌لیتر) موش طبق دستورالعمل سازنده تعیین شد.

**استخراج RNA و آنالیز RT-qPCR:** جداسازی کل RNA از بافت عضله دوقلو با استفاده از روش Trizol (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) انجام شد. سپس خلوص و غلظت RNA استخراج‌شده توسط دستگاه نانو دراپ بررسی شد. برای حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج‌شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA با آنزیم (DNase I) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای  $۳۷^{\circ}\text{C}$  تیمار شد. به منظور خنثی کردن آنزیم DNase I هر نمونه با  $۱\mu\text{M}$  EDTA تیمار شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای  $۶۵^{\circ}\text{C}$  انکوبه شد. در نهایت، ساخت cDNA از روی RNA الگو و با آنزیم رونوشت بردار معکوس انجام می‌شود. برای ساخت cDNA از کیت (Biotechrabbit, Germany, Berlin) استفاده شد. برای بررسی بیان ژن‌ها، پرایمرهای اختصاصی هر ژن توسط نرم‌افزار Beacon designer



(Version 7.2, USA) طراحی شد و از شرکت Micro-gene کره خریداری شد. توالی پرایمرها در جدول شماره یک نشان داده شده است. از (ABI Applied Bio systems, USA) Real time PCR به منظور سنجش کمی سطح بیان ژن‌ها با استفاده از سایبر گرین (TaKaRa, Japan) استفاده شد. بعد از محاسبه  $\Delta ct$  نسبت بیان ژن هدف در هر نمونه نسبت به گروه کنترل با فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  محاسبه شد؛ بر این اساس، بیان ژن نسبی با توجه به 18 s rRNA به عنوان ژن کنترل داخلی محاسبه شد.

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

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

دما Annealing g temperat ure (°C)	پرایمر معکوس Reverse primer (5'-3')	پرایمر پیشرو Forward primer (5'-3')	ژن Gene
60	CTTGAGAGTCGTCCACA TCGTC	ACCTAAACATCCCAGATA CCCCA	TXNIP
52	TTCTCCGTTACAGTAGC CCTT	CACCGCCCTTATTGACTC C	ARRD C4
60	TCGTCCACCAACTAAGA AC	CGGACACGGACAGGATT G	18SRN A

**تکنیک ایمونوهیستوشیمی:** موقعیت قرارگیری و بیان پروتئین‌های Glut4 و Mondo A با روش ایمونوهیستوشیمی (IHC)<sup>1</sup> و با استفاده از کیت‌های (Santa Cruz Bio Technology, INC) ساخت کشور آمریکا بررسی شد. ابتدا بافت عضله دوقلو به کمک فرمالین فیکس شد و سپس در پارافین غوطه ور شد. در مرحله بعدی بافت در اتانول ۷۰٪، ۹۰٪ و ۱۰۰٪ قرار گرفت و آب‌گیری انجام شد. سپس از زایلین برای شست‌وشو استفاده شد و پس از سفت شدن بافت، با استفاده از دستگاه میکروتوم بافت به قطعات پنج تا پانزده میکرومتر برش داده شد. بافت با استفاده از زایلین و اتانول استریل شد، با بافر شست‌وشو داده شد و پارافین از بافت جدا شد. نمونه بافت‌ها در بافر سیترات قرار داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه با قدرت متوسط ۶۰۰ وات با استفاده از دستگاه اتوکلاو حرارت داده شد. مقدار مناسبی از بلاکینگ بافر روی هر لام ریخته شد و سپس به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و بعد از آن با TBS شسته شد. برای اطمینان از فعالیت پراکسیداز درونی بافت، ماده DAB به

## 1. Immunohistochemistry



بافت اضافه شد. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> که بهترین ماده بلاک‌کننده است، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به بافت اضافه شد. بافت با آنتی‌بادی اولیه (P-14) Mondo A (purified rabbit polyclonal antibody) و Glut4 (H-61) (purified rabbit polyclonal antibody)، به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از اتمام زمان انکوباسیون، اسلایدها با بافر TBS و TritonX-100 به مدت ۱۰ دقیقه شست‌وشو داده شد. آنتی‌بادی ثانویه (Goat biotinylated polyvalent) اضافه شد و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس اسلایدها با بافر TBS و TritonX-100 به مدت ۱۰ دقیقه شست‌وشو داده شد. لام‌ها دو تا سه دقیقه در هماتوکسیلین قرار گرفت. در مرحله بعدی با بافر TBS و TritonX-100 به مدت ۱۰ دقیقه شست‌وشو داده شد. در نهایت، لام‌ها آب‌زدایی شد. در آخر لام‌ها زیر میکروسکوپ نوری (BM-600 LED. EPI FLUORESCENT/Germany-AXIOM) بررسی شد. سپس به وسیله دوربین (Microscop Camera/ Mshot/ Chinese) از آن‌ها عکس‌برداری شد. برای تجزیه تحلیل تصاویر و همچنین تعیین موقعیت مکانی پروتئین‌ها و میزان بیان آن‌ها از نرم‌افزار Image J استفاده شد. این نرم‌افزار بیان پروتئین‌ها را براساس درصدی از تصویر نشان می‌دهد. اعداد به‌دست‌آمده از این نرم‌افزار توسط آزمون‌های آماری تحلیل شدند.

در بخش آمار توصیفی برای توصیف داده‌ها از شاخص گرانش مرکزی و انحراف استاندارد استفاده شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته، آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه<sup>۱</sup> به کار رفت. به‌منظور مقایسه گروه‌ها از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار گراف پد پریم نسخه هشت تجزیه تحلیل شدند. سطح معناداری  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

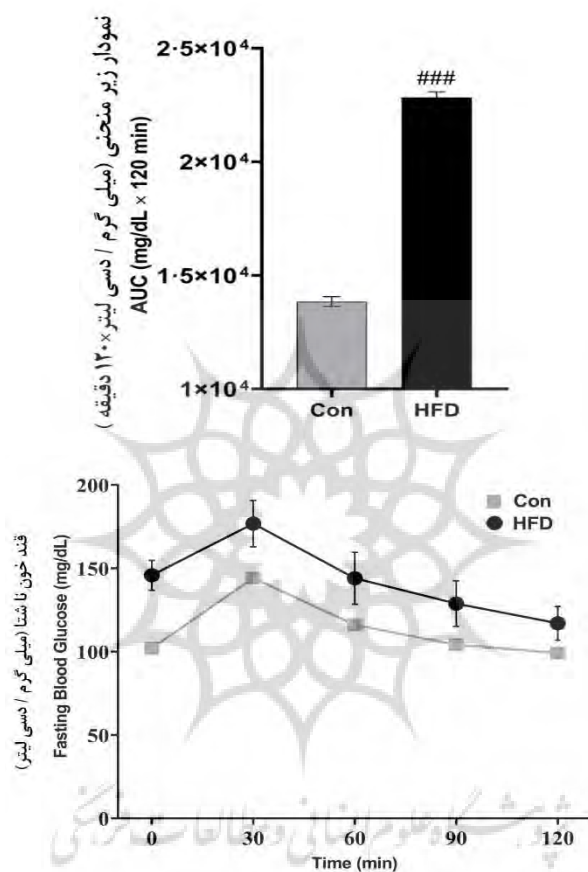
### اثر رژیم غذایی پرچرب بر تست تحمل گلوکز در موش‌ها

برای بررسی اینکه آیا تغذیه با رژیم پرچرب توانایی تغییر جریان و بار گلوکز دارد، آزمایش تحمل گلوکز (GTT) پس از ۱۲ هفته از شروع مداخله اول (القای پیش‌دیابت) انجام شد. براساس طرح تحقیق، موش‌ها ابتدا باید به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب به پیش‌دیابت مبتلا شوند. شکل شماره سه (الف: سطح گلوکز ناشتا در زمان‌های مختلف، ب: نمودار سطح زیر منحنی) تست تحمل گلوکز پس از ۱۲ هفته اول مطالعه را بین گروه کنترل نرمال و گروه پیش‌دیابت نشان می‌دهد. براساس

#### 1. One Way-ANOVA



نمودارها تفاوت معناداری بین موش‌های گروه نرمال و پیش‌دیابت وجود دارد ( $P < 0.001$ ) و موش‌ها به پیش‌دیابت مبتلا شده‌اند.



شکل ۳- اثر رژیم غذایی پرچرب بر تست تحمل گلوکز در موش‌ها

(الف) تست تحمل گلوکز و (ب) سطح زیر منحنی نمودار را نشان می‌دهد. تمام نمودارها براساس (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) ارائه شده‌اند. (###  $p < 0.001$ ) نشان می‌دهد میزان قند خون گروه دریافت‌کننده رژیم غذایی پرچرب به‌طور معناداری در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است. Con: گروهی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند. HFD: گروهی که رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند.

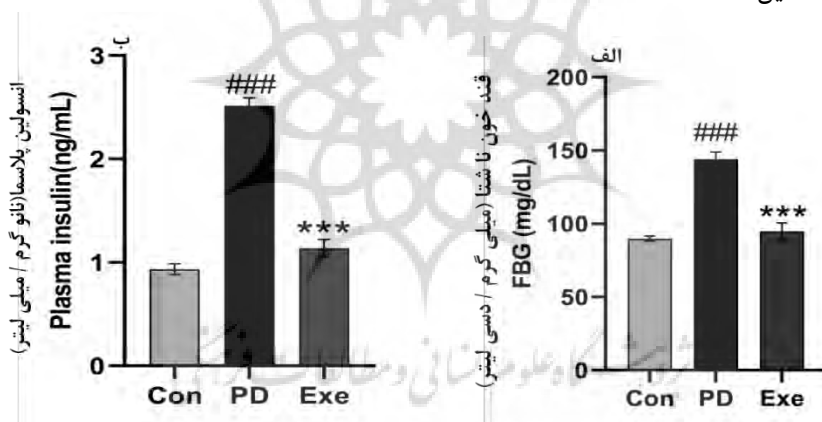
**Figure 3..Effect of high-fat diet on glucose tolerance test in rats**

(a) Glucose tolerance test and (b) area under the curve graph. All graphs are presented as (mean  $\pm$  standard error of the mean) as well as significance levels. ### ( $p < 0.001$ ) Con: group that received standard diet. HFD: group that received a high-fat diet.



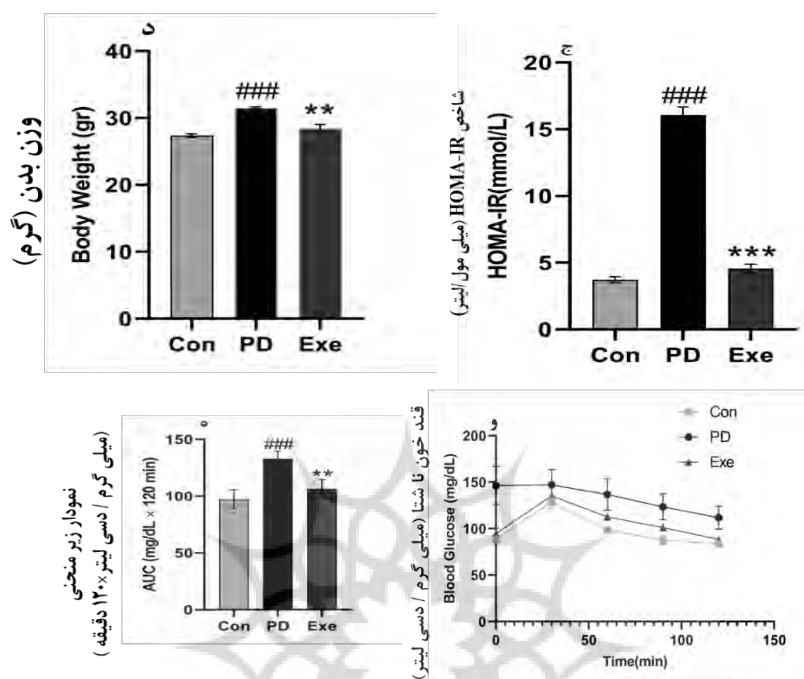


اثر تمرین هوازی بر پارامترهای پیش‌دیابت القاشده با رژیم غذایی پرچرب و وزن موش‌ها همان‌گونه که گفته شد، برای ایجاد مدل پیش‌دیابت، موش‌ها با رژیم غذایی حاوی ۶۰ درصد چربی به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. در ادامه، موش‌های پیش‌دیابت به مدت ۱۰ هفته تمرین هوازی را دریافت کردند. در شکل شماره چهار، سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی خون شامل قند خون (شکل ۴-۴-الف)، انسولین پلاسما (شکل ۴-۴-ب)، شاخص HOMA-IR<sup>۱</sup> (شکل ۴-۴-ج)، وزن بدن (شکل ۴-۴-د) تست تحمل گلوکز (شکل ۳-۳-و) و شکل زیرمنحنی (شکل ۳-۳-ه) ارائه شده است. در گروه پیش‌دیابت، در مقایسه با گروه کنترل در همه شاخص‌های مذکور افزایش در خورتوجهی مشاهده شد ( $P < 0.001$ ) که نشان‌دهنده اختلال در حساسیت انسولینی و ایجاد مقاومت انسولین در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب بود. ۱۰ هفته تمرین ورزشی توانست سطح قند و انسولین پلاسما و شاخص HOMA-IR و AUC<sup>۲</sup> را به صورت معناداری در مقایسه با موش‌های مدل پیش‌دیابت که هیچ‌گونه تمرینی دریافت نکردند، کاهش دهد ( $P < 0.001$ ). وزن بدن موش‌ها نیز در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت تعدیل شد ( $P = 0.002$ ).



1. Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance
2. Area Under the Curve





شکل ۴- اثر تمرین هوازی بر پارامترهای پیش‌دیابت القا شده با رژیم غذایی پرچرب و وزن موش‌ها (الف) اندازه‌گیری قند خون ناشتا (FBS)، (ب) اندازه‌گیری غلظت انسولین پلاسما، (ج) شاخص HOMA، (د) وزن نهایی موش‌ها (و) تست تحمل گلوکز (GTT) و (ه) ناحیه زیر منحنی (AUC) در همه گروه‌ها در پایان هفته بیست و دوم. همه مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  میانگین خطای استاندارد ارائه شده است.  $p < 0.01$  : \*\* و  $p < 0.001$  : \*\*\* نشان‌دهنده تفاوت آماری قابل توجهی در موش‌های درمان شده در مقایسه با موش‌های پیش‌دیابت است.  $p < 0.001$  : ### نشان‌دهنده تفاوت آماری قابل توجهی در موش‌های پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل است. Con: گروهی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند، PD: گروهی که فقط رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و Exe: گروهی که رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی دریافت کردند.

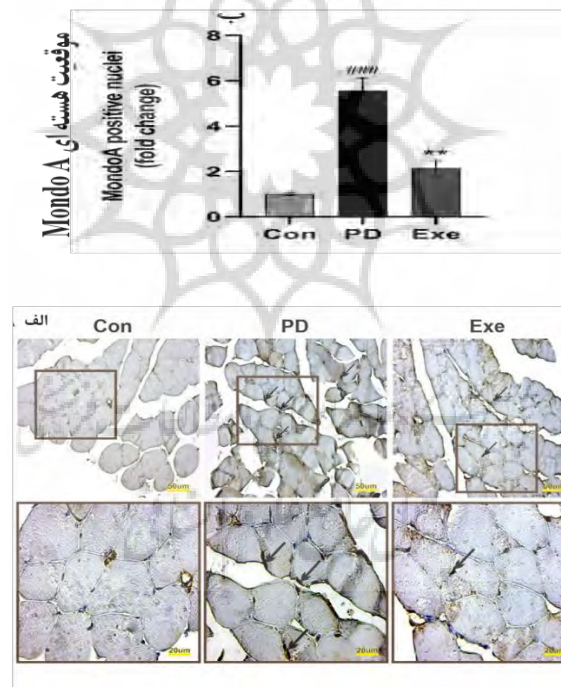
**Figure 4. Effect of aerobic exercise on PD parameters induced by high-fat diet and weight of mice**

(A) Evaluation of FBS. (B) Assessment of plasma insulin concentration, (C) the HOMA index, (D) Mice's final weight, (E) GTT, and (F) AUC in all groups at the end of the 22nd week. All values are presented as mean  $\pm$  SEM. \*\*:  $P < 0.01$ , and \*\*\*:  $P < 0.001$  indicate a statistically significant difference in the treated mice compared with the PD ones. As well, ###= $P < 0.001$  shows a statistically significant difference in the PD mice compared with the Con group. Con: group that received a regular diet. PD: Pre-diabetic group. PD-Ex: Pre-diabetic group with endurance training.



### اثر تمرین هوازی بر موقعیت مکانی Mondo A

تمرین هوازی، بیان پروتئین و لوکالیزه شدن هسته‌ای فاکتور رونویسی Mondo A را در سلول عضله کاهش داد. برای بررسی نقش احتمالی فاکتور رونویسی MondoA در پیش‌دیابت، میزان حضور این فاکتور رونویسی در هسته سلول‌های عضله دوقلوی موش‌های پیش‌دیابت و موش‌های درمان‌شده با مداخله تمرین هوازی توسط تکنیک ایمنوهیستوشیمی ارزیابی شد. نتایج کیفی و کمی مربوط به این رنگ‌آمیزی به ترتیب در شکل‌های ۵-الف و ۵-ب ارائه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، حضور فاکتور رونویسی Mondo A در هسته سلول عضلانی گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل بیشتر است ( $p=0.0003$ ) (با فلش نشان داده شده است). در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت، کاهش معناداری در سطح هسته‌ای این فاکتور رونویسی مشاهده می‌شود ( $P=0.0016$ ).



شکل ۵- اثر تمرین هوازی بر بیان پروتئین و موقعیت مکانی Mondo A

Figure 5- The effect of aerobic exercise on the protein expression and location of Mondo A.

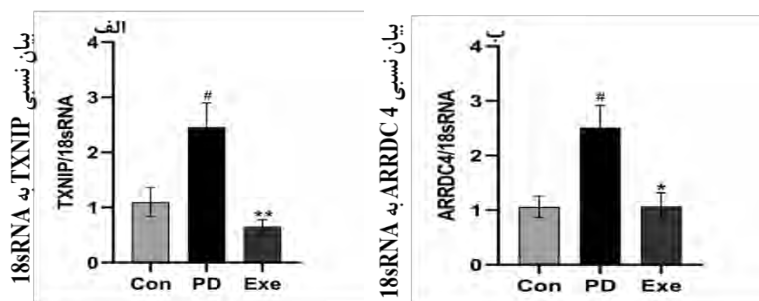
(الف) تصاویر IHC تغییرات حضور Mondo A را در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت نشان می‌دهد و (ب) تجزیه تحلیل کمی نتایج ایمونوهیستوشیمی تغییرات Mondo A در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت را نشان می‌دهد. همه مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه شده است.  $P < 0.001$ : ### نشان‌دهنده تفاوت آماری قابل توجهی در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل است.  $P < 0.01$ : \*\* نشان‌دهنده تفاوت آماری قابل توجهی در گروه تمرین هوازی در مقایسه با گروه پیش‌دیابت است. Con: گروهی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند، PD: گروهی که فقط رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و Exe: گروهی که رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی دریافت کردند.

(A) IHC images show the altered presence of MondoA in the PD group compared with the Con one, and in the treated group compared with the PD one. (B) Quantitative immunohistochemical examination displays the MondoA alterations in the PD group compared with the Con group, and in the treated group compared with the PD one. All values are illustrated as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). ###:  $p < 0.001$  indicates a statistically significant difference in the PD mice compared with the Con group. \*\*:  $p < 0.01$  denote a statistically significant difference in the treated mice compared with the PD ones.

### اثر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های TXNIP و ARRDC4

تمرین هوازی بیان ژن‌های TXNIP و ARRDC4 را کاهش داد. باتوجه به اینکه Mondo A از طریق القای بیان TXNIP و ARRDC4 موجب مقاومت به انسولین می‌شود، میزان بیان این دو عضو از خانواده آلفا - آرسین در گروه‌های مختلف با استفاده از real time PCR ارزیابی شد. نتایج مربوط به تغییرات بیان این دو ژن در شکل ۶-الف (TXNIP) و در شکل ۶-ب (ARRDC4) نشان داده شده است. بیان TXNIP و ARRDC4 در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل به صورت معناداری افزایش یافت (به ترتیب  $P=0:0236$ ,  $P=0:0213$ ). از طرفی تمرین هوازی بیان این دو ژن را در مقایسه با گروه پیش‌دیابت کاهش داد (به ترتیب  $P=0:0018$ ,  $P=0:0158$ ).





شکل ۶- اثر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های TXNIP و ARRDC4

تمرین هوازی بیان ژن‌های TXNIP و ARRDC4 را در سطح mRNA در موش‌های پیش‌دیابت کاهش داد. تغییرات بیان ژن‌ها در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت نشان داده شده است. همه مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه شده است. # :  $P < 0.05$  نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل است. \* :  $P < 0.05$  و \*\* :  $P < 0.01$  نشان‌دهنده تفاوت آماری در گروه درمان شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت است. Con: گروهی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند، PD: گروهی که فقط رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و Exe: گروهی که رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی دریافت کردند.

#### Figure 6- The effect of aerobic exercise on the expression of TXNIP and ARRDC4 genes

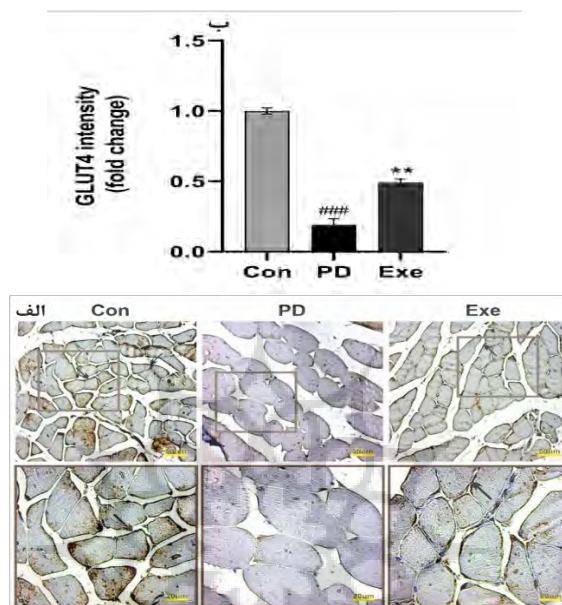
Aerobic exercise reduced the expression of TXNIP and ARRDC4 genes at the mRNA level in PD mice. Gene expression changes are displayed in the PD group compared with the Con one, and in the treated group compared with the PD one. All values are presented as mean  $\pm$  SEM #:  $P < 0.05$ . Indicates statistical differences in the PD group compared to the control group. \*:  $P < 0.05$  indicates a statistical difference in the treated group compared to the PD group. Con: the group that received a standard diet, PD: the group that received only a high-fat diet, and Exe: the group that received a high-fat diet and aerobic exercise.

#### اثر تمرین هوازی بر بیان پروتئین و موقعیت مکانی Glut4

تمرین هوازی لوکالیزه شدن غشایی GLUT4 را در سلول عضلانی افزایش داد. به نظر می‌رسد تمرین هوازی از طریق انتقال ترانسپورتر ۴ گلوکز از سیتوپلاسم به غشای سلول عضله، موجب بهبود شرایط پیش‌دیابت می‌شود. برای بررسی درستی این فرضیه، جایگاه سلولی Glut4 در گروه‌های مختلف با تکنیک ایمونوهیستوشیمی بررسی شد. نتایج این تست در شکل ۶- الف آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل، Glut4 به میزان کمتری در غشای سلول لوکالیزه شده است ( $P < 0.001$ ) (با فلش نشان داده شده



است). در مقابل در گروه تمرین هوازی افزایش قابل توجهی در میزان GLUT4 در غشای سلول عضلانی مشاهده شد (P=0:0013).



شکل ۷- اثر تمرین هوازی بر بیان پروتئین و موقعیت مکانی GLUT4

**Figure 7- Effect of aerobic exercise on the protein expression and GLUT4 localization**  
تمرین هوازی آندوسیتوز GLUT4 را در سلول عضله موش‌های پیش‌دیابت کاهش داد. (الف) تصاویر IHC تغییرات حضور GLUT4 را در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت نشان می‌دهد. (ب) تجزیه و تحلیل کمی نتایج ایمونوهیستوشیمی تغییرات GLUT4 در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه پیش‌دیابت را نشان می‌دهد. همه مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SEM ارائه شده است.  $p < 0.001$ : ### نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری قابل توجهی در گروه پیش‌دیابت در مقایسه با گروه کنترل است.  $p < 0.01$ : \*\* نشان‌دهنده تفاوت آماری در گروه مداخله در مقایسه با گروه پیش‌دیابت است. Con: گروهی که رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند، PD: گروهی که فقط رژیم غذایی پرچرب دریافت کردند و Exe: گروهی که رژیم غذایی پرچرب و تمرین هوازی دریافت کردند.

Aerobic exercise reduced GLUT4 endocytosis in myocytes of PD mice. (A) IHC images show the changes in the presence of GLUT4 in the PD group compared with the Con one, and in the treated groups compared with the PD one. (B) Quantitative analysis of immunohistochemistry results reveals some changes in GLUT4 in the PD group compared with the Con one, and in the treated group compared with the PD one. All values are described as mean  $\pm$  SEM. ###:  $P < 0.001$  indicates a statistically significant difference in the PD mice compared with the Con group. ns=. shows no significant difference, and



\*\*: $P < 0.01$  imply a statistically significant difference in the treated mice compared with the PD ones. Con: the group that received a standard diet, PD: the group that received only a high-fat diet, and Exe: the group that received a high-fat diet and aerobic exercise.

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، اثرات تمرین هوازی در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب، مدل پیش‌دیابت، بررسی شد. قرارگرفتن بدن در شرایط مازاد انرژی مانند رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش سطح گلوکز خون می‌شود و بدن در پاسخ به این شرایط، انسولین خون را چندین برابر حد معمول افزایش می‌دهد تا سطح گلوکز خون به محدوده نرمال بازگردد، اما بعد از مدتی با تخریب سلول‌های بتای پانکراس، ترشح انسولین مختل می‌شود و سطح قند خون بالاتر از حد نرمال باقی می‌ماند. بررسی‌های بیوشیمیایی نشان داد که رژیم غذایی پرچرب پارامترهای پیش‌دیابت از جمله قند خون ناشتا، میزان انسولین و شاخص HOMA را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب موش‌ها بعد از مصرف رژیم غذایی پرچرب به پیش‌دیابت مبتلا شدند. این نتایج با تحقیقات بیک و همکاران (۳۵)، قرقانی و همکاران (۳۶) و ما و همکاران (۳۷) همسو بود. تیمار استفاده‌شده در این مطالعه (تمرین استقامتی) به مدت ۱۰ هفته توانست سطح قند و انسولین پلاسما و شاخص HOMA-IR و AUC را به صورت معناداری در مقایسه با موش‌های مدل PD کاهش دهد. این نتایج با مطالعات اوکی و همکاران (۳۸)، وانگ و همکاران (۳۹)، یانگ و همکاران (۴۰) و لی و همکاران (۴۱) همسو بود.

کاهش جذب گلوکز عضلانی یکی از رویدادهای اولیه در پاتوژنز مقاومت به انسولین و پیش‌دیابت است. به نظر می‌رسد، یکی از عوامل مهم در بروز این وضعیت، افزایش فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و در پی آن افزایش بیان ژن‌های سرکوبگر ورود گلوکز مانند TXNIP و ARRDC4 باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در پی مصرف ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب و القای پیش‌دیابت، فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و بیان دو ژن پایین‌دست آن یعنی TXNIP و ARRDC4 در سلول عضلانی افزایش می‌یابد. در مطالعه جوئیس و همکاران، رژیم غذایی پرچرب فاکتور رونویسی Mondo A را افزایش داد (۴۲)، اما این تغییرات به شدت این مطالعه گزارش نشده است. تفاوت رژیم غذایی پرچرب در دو مطالعه (۴۵٪ از انرژی از چربی در مقابل ۶۰٪ در این مطالعه) می‌تواند این تفاوت را توجیه کند؛ در نتیجه این نتایج با مطالعات جوئیس و همکاران (۴۲) و آهن و همکاران (۱۱) همسو بود؛ در صورتی که تمرین هوازی با کاهش فعالیت Mondo A علائم پیش‌دیابت را در موش‌های مصرف‌کننده رژیم غذایی پرچرب کاهش داد. در واقع با کاهش اتصال این فاکتور رونویسی به پروموتور ژن‌های TXNIP و ARRDC4 رونویسی آن‌ها کاهش یافت؛ در نتیجه مهار اگزوسیتوز Glut4 برداشته



شده و ورود گلوکز به درون سلول تسهیل می‌شود. Mondo A یک فاکتور رونویسی در عضله اسکلتی است که در بروز اختلالات متابولیک مختلف از جمله دیابت نوع دو، پیش‌دیابت و مقاومت به انسولین نقش دارد (۴۳). Mondo A یک فاکتور پاسخ‌دهنده به گلوکز است؛ به همین دلیل به تغییرات ترکیب رژیم غذایی حساس است (۴۴). تغییر نرخ جریان گلیکولیتی، در شرایط پیش‌دیابت و دیابت نوع دو می‌تواند یکی از عوامل مؤثر بر فعالیت Mondo A باشد (۱۸). همان‌طور که چیا<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند، در شرایط مزاد انرژی مانند رژیم غذایی پرچرب، تجمع اسیدهای چرب داخل سلول عضلانی افزایش پیدا می‌کند و همین امر باعث مهار فعالیت آنزیم گلیسرید ۳ فسفات دهیدروژناز<sup>۲</sup> می‌شود. این آنزیم مرحله ششم گلیکولیز را کاتالیز می‌کند و مهار آن باعث تجمع متابولیت‌های پایین‌دست آن نظیر G6P و GADP می‌شود؛ در نتیجه سوبسترای لازم برای حرکت کمپلکس Mondo A-MLX به سمت هسته سلول افزایش می‌یابد (۲۹). ارتباط بین نرخ گلیکولیتیک و فعالیت Mondo A ممکن است یک مسیر مرتبط دیگر را نیز توضیح دهد. افزایش متابولیت‌ها به دلیل عرضه بیش از حد سوبسترا به میتوکندری، در رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش تولید ATP<sup>۳</sup> می‌شود. یکی از مکانیسم‌هایی که به دنبال تولید بیش از حد ATP سلول اتفاق می‌افتد، مهار آنزیم اصلی گلیکولیز یعنی فسفوفروکتوکیناز-۱<sup>۴</sup> است؛ در نتیجه میزان گلیکولیز کاهش می‌یابد و این امر به تجمع گلوکز ۶ فسفات منجر می‌شود و سوبسترای لازم برای فعال شدن Mondo A در دسترس قرار می‌گیرد (۴۵). مطالعات، استرس شبکه سارکوپلاسمی را به‌عنوان یکی از علل ایجاد دیابت نوع دو معرفی می‌کنند. هیروسومی<sup>۵</sup> و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که رژیم غذایی پرچرب حاوی ۵۰٪ چربی، باعث فعال شدن بیش از حد JNK<sup>۶</sup> می‌شود که با مهار فسفوریلاسیون گیرنده انسولین، به مقاومت انسولینی منجر می‌شود. رژیم غذایی پرچرب با ایجاد استرس شبکه سارکوپلاسمی باعث فعال شدن JNK می‌شود؛ در نتیجه این کیناز به‌طور مستقیم گیرنده انسولینی را در باقی‌مانده‌های سرین و ترئونین فسفریله می‌کند که به کاهش تیروزین فسفوریلاسیون منجر می‌شود؛ در نتیجه سیگنالینگ انسولین مهار شده و ورود گلوکز به درون سلول با اختلال مواجه می‌شود و شرایط مقاومت به انسولینی و پیش‌دیابت

1. Chia
2. Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
3. Adenosine Triphosphate
4. Phosphofruktokinase-1
5. Hirosumi
6. c-Jun N-Terminal Kinase1





وخیم‌تر می‌شود (۴۶). از طرفی کاواموتو<sup>۱</sup> و همکاران در مطالعه‌ای اثر بی‌حرکتی را بر فعالیت JNK و TXNIP بررسی کردند و دریافتند تیرویدوکسین از طریق مهار فعالیت کیناز تنظیم‌کننده سیگنال آپوپتوز ۱ (ASK1)<sup>۲</sup> از فعال شدن JNK جلوگیری می‌کند. از آنجا که ژن TXNIP مهارکننده طبیعی تیرویدوکسین است، می‌توان چنین فرض کرد که یکی از مکانیسم‌های ایجاد مقاومت انسولینی و افزایش قندخون به دنبال ۱۲ هفته رژیم غذایی پرچرب در این مطالعه، از طریق اثرگذاری TXNIP بر مکانیسم JNK باشد؛ بدین صورت که افزایش فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و به دنبال آن افزایش بیان ژن TXNIP می‌تواند اثر مهاری تیرویدوکسین بر JNK را غیرفعال کند؛ در نتیجه حرکت ناقل گلوکز به سطح غشا و در نتیجه ورود گلوکز به درون سلول مهار می‌شود (۲۷). در شرایط نرمال، پروتئین‌های TXNIP و ARRDC4 جذب گلوکز را به‌طور مستقیم با اتصال به ناقلین گلوکز و القای آندوسیتوز آن‌ها سرکوب می‌کنند تا از افزایش بیش از حد گلوکز در درون سلول، جلوگیری کنند (۴۷). به دنبال ترشح انسولین، پروتئین‌های مذکور از ناقلین گلوکز جدا شده و با قرارگیری GLUT4 بر غشای سلول ورود گلوکز به درون سلول تسهیل می‌شود؛ بر این اساس، هرگونه اختلال در قرارگیری GLUT4 در غشای سلول عضلانی به افزایش گلوکز خون مرتبط با پیش‌دیابت و دیابت نوع ۲ منجر می‌شود (۴۸).

نتایج ایمونوهیستوشیمی در این مطالعه تأیید کرد، آندوسیتوز GLUT4 در پی مصرف رژیم غذایی پرچرب و القای پیش‌دیابت افزایش می‌یابد. در تأیید یافته‌های پژوهش حاضر، آهن<sup>۳</sup> و همکاران نشان دادند، در شرایط پیش‌دیابت و پاسخ‌گونی سلول به انسولین، فعال شدن بیش از حد Mondo A و ژن‌های پایین‌دست آن، فعالیت GLUT4 و جذب گلوکز به درون سلول عضلانی را کاهش می‌دهد (۱۱). در این مطالعه پارامترهای پیش‌دیابت از جمله قند و انسولین خون، شاخص HOMA-IR و AUC به دنبال ۱۰ هفته تمرین هوازی کاهش یافت. همچنین نشان دادیم تمرین هوازی بیان ژن‌های TXNIP و ARRDC4 را مهار می‌کند. با ارزیابی میزان حضور فاکتور رونویسی Mondo A در هسته، می‌توان چنین فرض کرد که تمرین ورزشی از طریق کاهش هسته‌ای شدن Mondo A و در نتیجه کاهش اتصال آن به پروموتور ژن‌های هدف، بیان ژن‌ها را کاهش می‌دهد. استنفورد<sup>۴</sup> و همکاران نشان دادند، تمرین هوازی از طریق فعال‌سازی AMPK به افزایش ورود گلوکز به درون هسته سلول

1. Kawamoto
2. Apoptosis Signal- Regulating Kinase 1
3. Ahn
4. Stanford



عضلانی منجر می‌شود. AMPK یک حسگر انرژی است که همئوستاز سلولی و متابولیسم گلوکز و لیپید را از طریق تنظیم بیان ژن و فسفوریلاسیون پروتئین‌های کلیدی درگیر در این مسیرها تنظیم می‌کند (۲۳). کاواماتو<sup>۱</sup> و همکاران پس از شش ساعت بی‌حرکتی در اندام عقبی موش، با تجویز اکتینومایسین D<sup>2</sup> که فعال‌کننده AMPK است، کاهش بیان ژن و بیان پروتئین TXNIP را گزارش کردند. یکی از اهداف مهم AMPK، آنزیم فسوفروکتوکیناز است. فعال‌سازی وابسته به AMPK این آنزیم به افزایش نرخ گلیکولیز منجر می‌شود؛ در نتیجه سوبسترای لازم برای فعال‌سازی Mondo A در دسترس نخواهد بود. این مکانیسم می‌تواند علل اثرگذاری مداخلات این پژوهش بر کاهش ورود هسته‌ای Mondo A را نیز توجیه کند (۲۷). به‌علاوه والدرهارت<sup>۳</sup> و همکاران بیان کردند، افزایش فعالیت AKT ناشی از انجام فعالیت ورزشی هوازی و ورود بیشتر گلوکز به درون سلول به صورت بازخورد منفی فعالیت Mondo A را کاهش می‌دهد (۱۶). در واقع با افزایش نرخ گلیکولیتیک و گلیکولیز سلولی، میزان سوبستراهایی نظیر G6P و GADP که تشکیل کمپلس Mondo A-MLX و ورود آن را به هسته تسهیل می‌کنند، کاهش یافته و در نتیجه رونویسی ژن‌های سرکوبگر ورود گلوکز نیز کاهش می‌یابد. افزایش فعالیت فاکتور رونویسی فاکتور ۱-آلفا القاشونده توسط هیپوکسی (-HIF-1a) یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی اثرگذاری تمرین هوازی بر کاهش بیان ژن‌های سرکوبگر ورود گلوکز است. HIF-1a یک فاکتور رونویسی کلیدی برای متابولیسم گلوکز و عملکرد انسولین در عضلات اسکلتی است. گورجنس<sup>۵</sup> و همکاران گزارش کردند که تمرین ورزشی با کاهش سطح اکسیژن داخل عضلانی، به القای HIF-1a در عضلات موش‌های C57BL/6J منجر شد. این فاکتور رونویسی باعث کاهش اتصال Mondo A به پروموتور ژن‌های هدف نظیر TXNIP و ARRDC4 می‌شود و از این طریق نیز آندوسیتوز ناقل گلوکز را کاهش می‌دهد و ورود گلوکز به درون سلول را تسهیل می‌کند (۴۹).

بسیاری از مطالعات پیشنهاد کرده‌اند، مداخلاتی که باعث کاهش و تعدیل فعالیت Mondo A و ژن‌های تحت اثر آن می‌شوند، ممکن است در پیشگیری، مدیریت و کاهش پیشرفت پیش‌دیابت و دیابت مفید و مؤثر باشد؛ در نتیجه هدف قرار دادن Mondo A-MLX و ژن‌های TXNIP و ARRDC4 به‌عنوان یک هدف درمانی برای مدیریت مقاومت به انسولین و دیابت ضروری به نظر می‌رسد.

1. Kawamoto
2. Actinomycin D
3. Waldhart
4. Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha
5. Görgens



### پیام مقاله

به‌طور خلاصه، ورزش منظم، استراتژی غیردارویی مؤثری برای پیشگیری یا بهبود پیش‌دیابت است. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تمرین هوازی با کاهش پارامترهای پیش‌دیابت از جمله کاهش سطح قند خون و انسولین پلاسما می‌تواند به بهبود شرایط متابولیک بدن کمک کند. در واقع، تمرین هوازی قادر است تغییرات متابولیک ناشی از پیش‌دیابت را از طریق محور Mondo A- TXNIP / ARRDC4 - Glut4 تعدیل کند؛ بر این اساس، مکانیسم جدیدی برای بهبود شرایط پیش‌دیابت از طریق انجام تمرینات هوازی آشکار شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رساله دوره دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه اصفهان است. نویسندگان از تمام افرادی که در این پژوهش مشارکت کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

### منابع

1. Khetan AK, Rajagopalan S. Prediabetes. *Canadian Journal of Cardiology*. 2018;34(5):615-23.
2. 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.
3. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrani A, et al. Diabetes in Iran: prospective analysis from first nationwide diabetes report of National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2016). *Scientific Reports*. 2017;7(1):1-10.
4. Andes LJ, Cheng YJ, Rolka DB, Gregg EW, Imperatore G. Prevalence of prediabetes among adolescents and young adults in the United States, 2005-2016. *JAMA Pediatrics*. 2020;174(2):e194498-e.
5. Echouffo-Tcheugui JB, Selvin E. Prediabetes and what it means: the epidemiological evidence. *Annual Review of Public Health*. 2021;42:59-77.
6. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease Primers*. 2015;1(1):1-22.
7. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(suppl\_2):S157-S63.
8. Li M, Li X, Zhang H, Lu Y. Molecular mechanisms of metformin for diabetes and cancer treatment. *Frontiers in Physiology*. 2018;9:1039-46.
9. Song Z, Yang H, Zhou L, Yang F. Glucose-sensing transcription factor MondoA/ChREBP as targets for type 2 diabetes: opportunities and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(20):5132.



10. Cade WT. The manifold role of the mitochondria in skeletal muscle insulin resistance. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2018;21(4):267.
11. Ahn B, Wan S, Jaiswal N, Vega RB, Ayer DE, Titchenell PM, et al. MondoA drives muscle lipid accumulation and insulin resistance. *JCI Insight*. 2019;4(15):1-16.
12. Peterson CW, Ayer DE. An extended Myc network contributes to glucose homeostasis in cancer and diabetes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 2011;16(6):2206-23.
13. Stoltzman CA, Peterson CW, Breen KT, Muoio DM, Billin AN, Ayer DE. Glucose sensing by MondoA: Mlx complexes: a role for hexokinases and direct regulation of thioredoxin-interacting protein expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(19):6912-7.
14. Zhang X, Fu T, He Q, Gao X, Luo Y. Glucose-6-phosphate upregulates Txnip expression by interacting with MondoA. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2020;6:147.
15. Yoshihara E. TXNIP/TBP-2: a master regulator for glucose homeostasis. *Antioxidants*. 2020;9(8):765.
16. Waldhart AN, Dykstra H, Peck AS, Boguslawski EA, Madaj ZB, Wen J, et al. Phosphorylation of TXNIP by AKT mediates acute influx of glucose in response to insulin. *Cell Reports*. 2017;19(10):2005-13.
17. Richards P, Ourabah S, Montagne J, Burnol A-F, Postic C, Guilmeau S. MondoA/ChREBP: the usual suspects of transcriptional glucose sensing; Implication in pathophysiology. *Metabolism*. 2017;70:133-51.
18. Imamura M, Chang BH-J, Kohjima M, Li M, Hwang B, Taegtmeier H, et al. MondoA deficiency enhances sprint performance in mice. *Biochemical Journal*. 2014;464(1):35-48.
19. Ahn B, Soundarapandian MM, Sessions H, Peddibhotla S, Roth GP, Li J-L, et al. MondoA coordinately regulates skeletal myocyte lipid homeostasis and insulin signaling. *The Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(9): 3567-3579.
20. Mohammad Alhawiti N, Al Mahri S, Azhar Aziz M, Shafi Malik S, Mohammad S. TXNIP in metabolic regulation: physiological role and therapeutic outlook. *Current Drug Targets*. 2017;18(9):1095-103.
21. Parikh H, Carlsson E, Chutkow WA, Johansson LE, Storgaard H, Poulsen P, et al. TXNIP regulates peripheral glucose metabolism in humans. *PLoS Medicine*. 2007;4(5):e158.
22. Stevanović J, Beleza J, Coxito P, Ascensão A, Magalhães J. Physical exercise and liver "fitness": Role of mitochondrial function and epigenetics-related mechanisms in non-alcoholic fatty liver disease. *Molecular Metabolism*. 2020;32:1-14.



23. Stanford KI, Goodyear LJ. Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Advances in Physiology Education*. 2014;38(4):308-14.
24. Richter EA, Hargreaves M. Exercise, GLUT4, and skeletal muscle glucose uptake. *Physiological Reviews*. 2013;93(3):993-1017.
25. Park SS, Seo Y-K. Excess accumulation of lipid impairs insulin sensitivity in skeletal muscle. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(6):1949.
26. Chaves AB, Miranda ER, Mey JT, Blackburn BK, Fuller KN, Stearns B, et al. Exercise reduces the protein abundance of TXNIP and its interacting partner REDD1 in skeletal muscle: potential role for a PKA-mediated mechanism. *Journal of Applied Physiology*. 2022;132(2):357-66.
27. Kawamoto E, Tamakoshi K, Ra S-G, Masuda H, Kawanaka K. Immobilization rapidly induces thioredoxin-interacting protein gene expression together with insulin resistance in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2018;125(2):596-604.
28. Ra SG, Kawamoto E, Koshinaka K, Iwabe M, Tomiga Y, Iizawa H, et al. Acute bout of exercise downregulates thioredoxin interacting protein expression in rat contracting skeletal muscles. *Physiological Reports*. 2020;8(11):e14388.
29. Chai TF, Hong SY, He H, Zheng L, Hagen T, Luo Y, et al. A potential mechanism of metformin-mediated regulation of glucose homeostasis: inhibition of Thioredoxin-interacting protein (Txnip) gene expression. *Cellular Signalling*. 2012;24(8):1700-5.
30. Johnson ML, Distelmaier K, Lanza IR, Irving BA, Robinson MM, Konopka AR, et al. Mechanism by which caloric restriction improves insulin sensitivity in sedentary obese adults. *Diabetes*. 2016;65(1):74-84.
31. Choi B-K, Park S-B, Lee D-R, Lee HJ, Jin Y-Y, Yang SH, et al. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2016;9(7):635-43.
32. Akbarian F, Rahmani M, Tavalae M, Abedpoor N, Taki M, Ghaedi K, et al. Effect of different high-fat and advanced glycation end-products diets in obesity and diabetes-prone C57BL/6 mice on sperm function. *International Journal of Fertility & Sterility*. 2021;15(3):226.
33. 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;2022:1-14.
34. 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.



35. Baek K-W, Gim J-A, Park J-J. Regular moderate aerobic exercise improves high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease via monoacylglycerol O-acyltransferase 1 pathway suppression. *Journal of Sport and Health Science*. 2020;9(5):472-8.
36. Ghareghani P, Shanaki M, Ahmadi S, Khoshdel AR, Rezvan N, Meshkani R, et al. Aerobic endurance training improves nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) features via miR-33 dependent autophagy induction in high fat diet fed mice. *Obesity research & Clinical Practice*. 2018;12(1):80-9.
37. Ma Y, Gao M, Liu D. Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharmaceutical Research*. 2015;32:1200-9.
38. Ok D-P, Ko K, Bae JY. Exercise without dietary changes alleviates nonalcoholic fatty liver disease without weight loss benefits. *Lipids in Health and Disease*. 2018;17:1-7.
39. Wang T-Y, Wang X-H. Effects of aerobic exercise on PPAR $\alpha$  signaling in diabetes rats and its association with PPAR $\gamma$ . *Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi= Chinese Journal of Applied Physiology*. 2020;36(4):312-7.
40. Yang J, Sáinz N, Félix-Soriano E, Gil-Iturbe E, Castilla-Madrigal R, Fernández-Galilea M, et al. Effects of long-term DHA supplementation and physical exercise on non-alcoholic fatty liver development in obese aged female mice. *Nutrients*. 2021;13(2):501.
41. Li H, Dun Y, Zhang W, You B, Liu Y, Fu S, et al. Exercise improves lipid droplet metabolism disorder through activation of AMPK-mediated lipophagy in NAFLD. *Life Sciences*. 2021;273:119314.
42. Jois T, Howard V, Youngs K, Cowley MA, Sleeman MW. Dietary macronutrient composition directs ChREBP isoform expression and glucose metabolism in mice. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168797.
43. Ran H, Lu Y, Zhang Q, Hu Q, Zhao J, Wang K, et al. MondoA is required for normal myogenesis and regulation of the skeletal muscle glycogen content in Mice. *Diabetes & Metabolism Journal*. 2021;45(3):439-51.
44. Havula E, Hietakangas V, editors. Glucose sensing by ChREBP/MondoA–Mlx transcription factors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2012;23(6):640-7.
45. Han K-S, Ayer DE. MondoA senses adenine nucleotides: transcriptional induction of thioredoxin-interacting protein. *Biochemical Journal*. 2013;453(2):209-18.
46. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. 2002;420(6913):333-6.
47. Zhu X, Zhang F, Chen J, Zhao Y, Ba T, Lin C, et al. The effects of supervised exercise training on weight control and other metabolic outcomes in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2022;1(aop):1-9.



48. Havula E, Teesalu M, Hyötyläinen T, Seppälä H, Hasygar K, Auvinen P, et al. Mondo/ChREBP-Mlx-regulated transcriptional network is essential for dietary sugar tolerance in *Drosophila*. *PLoS Genetics*. 2013;9(4):e1003438.
49. Görgens SW, Benninghoff T, Eckardt K, Springer C, Chadt A, Melior A, et al. Hypoxia in combination with muscle contraction improves insulin action and glucose metabolism in human skeletal muscle via the HIF-1 $\alpha$  pathway. *Diabetes*. 2017;66(11):2800-7.

#### استناد به مقاله

صادقیان‌رنانی ناهید، مرندی سیدمحمد، رئیسی جلیل، صفایی‌نژاد زهرا، نصرافهانی محمدحسین. اثر یک دوره تمرین هوازی بر فعالیت فاکتور رونویسی Mondo A و ژن‌های هدف آن در عضله اسکلتی موش‌های پیش‌دیابت. فیزیولوژی ورزشی. تابستان ۱۴۰۲؛ ۱۵(۵۸): ۸۰-۱۴۹. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2023.15165.2268

N. Sadeghian Renani, M. Marandi, J. Reisi, Z. Safaeinejad, M. H. Nasr Esfahani. The Effect of an Aerobic Exercise Course on the Activity of MondoA Transcription Factor and its Target Genes in Skeletal Muscle of Prediabetes Mice. *Summer 2023*; 15(58): 149-80. (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2023.15165.2268

