مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۳؛ دوره ۲۴ (شماره ۱) ۴۶-۳۴

مقاله پژوهشی

مطالعهٔ آسیب کبدی از مسیر miR-423-5p و AKt2 -FAM3a متعاقب تمرین تناوبی شدید و ژل رویال در موش‌های دیابتی نوع دو

سحر ریاستی[۱]، حسین عابد نطنزی*[۱]، ماندانا غلامی[۱]

چکیده

مقدمه: هدف پژوهش حاضر مطالعهٔ تأثیر تمرین تناوبی شدید و ژل رویال بر بیان ژن‌های مسیر miR-423-5P- FAM3A-AKt2 کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها: در این پژوهش ۳۶ سرموش نر ویستار به‌عنوان نمونهٔ آماری انتخاب و پس از دو هفته سازگاری و رسیدن به وزن ۲۰±۱۹۳ گرم برای مدت ۵ ماه با رژیم پُرچرب تغذیه شدند و پس از رسیدن به میانگین وزنی حدود ۵۰±۴۰۹ گرم با تزریق درون صفاقی ۲۵ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) دیابتی شدند. یک هفته پس از القای دیابت، گلوکز خون ناشتا اندازه‌گیری و قند خون بالای ۱۵۰ تا ۴۰۰ mg/dl به‌عنوان معیاری برای دیابت نوع دو در نظر گرفته شد. موش‌های دیابتی نوع دو در ٤ گروه (کنترل، تمرین تناوبی، ژل رویال و گروه تمرین-ژل) قرار گرفتند.گروه تجربی که تمرین داشتند تمرین تناوبی شدید را با شدت ۲۰ تا ۳۶ متر در دقیقه برای ۱۶ تا ٤۵ دقیقه در هر جلسه و ۵ جلسه در هفته برای ۸ هفته انجام دادند. وگروه‌های تجربی مصرف ژل رویال مقدار ۱۰۰ mg/kg وزن موش‌ها ژل رویال به‌صورت گاواژ مصرف کردند. ٤۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین و ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها با اتر بی‌هوش و خون‌گیری از قلب و بافت برداری از کبد برای مطالعات بعدی انجام شد. نمونهٔ بافتی نیز بلافاصله پس از جداسازی در نیتروژن مایع به دمای ۸۰- فریزر انتقال یافت. اندازه‌گیری‌های سرمی گلوکز توسط دستگاه اتوآنالیزر انجام شد. انسولین توسط کیت الایزا اندازه‌گیری شد و شاخص مقاومت به انسولین با فرمول اندازه‌گیری شد. میزان بیان ژن‌های miR-423-5P، mRNA FAM3A و mRNA AKt2 کبد با استفاده از روش RT-PCR و به‌کارگیری کیت‌های مخصوص اندازه‌گیری و یافته‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل بیان ژن miR-423-5P کاهش معنی‌دار و بیان mRNA FAM3A افزایش داشت اما معنی‌دار نبود و بیان mRNA AKt2 در گروه‌های تمرین و تمرین همراه با ژل رویال نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار و در گروه ژل رویال نیز افزایش داشت که از نظر آماری معنی‌دار نبود (سطح معناداری P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف ژل رویال هر دو به تنهایی و به‌صورت تعاملی با تاثیر بیشتر، بتوانند به ایجاد تغییرات مطلوب در بیان ژن‌های مذکور کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو کمک کنند.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، miR-423-5P - FAM3A - AKt2، تمرین تناوبی شدید، ژل رویال

۱- گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

***نشانی:** تهران، انتهای بزرگراه شهید ستاری، میدان دانشگاه ، بلوار شهدای حصارک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکدهٔ علوم انسانی و اجتماعی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، کُدپستی: ۱٤۷۷۸۹۳۸۵۵، تلفن: ٤٤۸٦۵۱۵٤-۸، پست الکترونیک: abednazari@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۲/۰۸/۲۷** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۰**

مقدمه

دیابت نوع دو یک بیماری چند عاملی و پیچیده است که ریشه در مقاومت به انسولین درعضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد و اختلال در ترشح انسولین دارد و کبد مرکز متابولیسم و واسطهٔ هموستاز انرژی است [۱]. این بیماری متابولیسم درون سلولی اغلب بافت‌ها از جمله کبد را متأثر می کند و به‌عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی نیز محسوب می‌شود. حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره‌سازی گلوکز از وظایف کبد به شمار می‌رود. دیابت نوع دو ریشه در مقاومت انسولینی عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد و اختلال در ترشح انسولین دارد و ابتلا به آن باعث ایجاد تغییرات ساختمانی و عملکردی در کبد در نتیجهٔ تغییر در میزان انسولین می‌گردد. کبد در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله تنظیم قند، سنتز پروتئین و لیپیدهای پلاسما و نیز سنتز اسیدهای صفراوی و ذخیره ویتامین‌ها (A-D-E-K-B12) نقش محوری دارد [۲، ۳]. در طی این بیماری این عضو و بسیاری دیگر از اندام ها درگیر و در مسیرهای پیام‌رسانی[1] و توالی DNA تغییراتی ایجاد می‌شود [۴، ۵]. علاوه بر عوامل ژنتیکی و سابقهٔ خانوادگی که زمینه‌ساز شروع دیابت نوع دو می‌شود [۶، ۷] مطالعات نشان داده‌اند که میکرو RNAها[2] و چگونگی بیان آنها نیز در بروز دیابت نقش دارند [۸–۱۰]. miRNAها، گروه کوچکی از RNAهای غیر کد شونده هستند که در تنظیم بیان ژن مولکول‌های هدف‌شان با مهار ترجمه یا تجزیه mRNA آنها نقش ایفا می‌کنند. آنها علاوه بر نقش مهاری، دارای نقش‌های القایی و تحریکی نیز هستند [۱۰]. میکروRNAها می‌توانند به‌صورت پایدار در سرم و بافت‌ها مثل کبد، عضلات اسکلتی، قلب، آدیپوز و بتاسل‌ها به خاطر توانایی‌شان در اجتناب از هضم توسط آنزیم‌های RNA آز، حضور داشته باشند. همچنین حضور آنها در مایعات دیگر بدن نظیر ادرار، بزاق، اشک وشیر مادر نیز نشان داده شده است. شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند که miRNAها در بیماری‌زایی دیابت نقش داشته و اخیراً از این بیماری به‌عنوان یک بیماری مرتبط با میکروRNAها یاد می‌شود که علاوه بر نقش آفرینی در ایجاد دیابت نوع دو در بروز عوارض آن نیز دخالت دارند [۱۱].

miR-423-5P یکی از میکروRNAهاست که نقش آن در رابطه با دیابت نوع دو، مقاومت انسولینی و کبد چرب مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده که بیان آن در کبد و بافت آدیپوز موش‌های چاق دیابتی و در کبد موش‌های تغذیه شده با جیرهٔ چرب افزایش یافته و فعالیت آن با القاء مقاومت انسولینی در بدن و افزایش لیپولیز بافت آدیپوز، افزایش سطح اسید چرب آزاد در خون و روانه شدن این اسیدهای چرب به سمت کبد، ذخیره و رسوب هر چه بیشتر چربی در کبد را در پی دارد. MiRNA-423-5P با هدف قراردادن mRNA FAM3A[3] به‌صورت مستقیم و با سرکوبی بیان آن، در مسیر FAM3A-ATP-AKt در هپاتوسیت ها اخلال ایجاد می‌کند. از آنجا که افزایش بیان miR-423-5P باعث افزایش گلوکونئوژنز و هایپرگلیسمی و افزایش چربی کبدی در موش‌ها می‌شود، مهار آن نیز باعث فعال شدن مسیر FAM3A-ATP-AKt و در نتیجه سرکوبی بیان ژن‌های گلوکوژنیک و لیپوژنیک در کبد موش‌ها شده و بهبود در مقاومت انسولینی و کاهش هایپر گلیسمی و چربی کبد را به‌دنبال دارد. شایان ذکر است که میزان و تغییر در بیان این میکرو RNA در بافت کبد و سطوح گردشی آن طی بیماری دیابت دارای همبستگی منفی است و مطالعات بالینی نشان داده‌اند که سطوح miR-423-5P خون بیماران دارای اختلال تحمل گلوکز، در دیابت نوع دو و در چاقی مفرط کاهش یافته است. همچنین سطوح miR-423-5P با سطوح مولکول FAM3A در کبد دارای همبستگی منفی است. تحت شرایط چاقی و دیابت، بیان miR-423-5p در کبد افزایش می‌یابد که با کاهش بیان FAM3A و سطح ATP سلولی همراه است [۱۲]. شواهد قوی وجود دارد که FAM3A می‌تواند فسفوریلاسیون AKt را از طریق مسیر ATP-PI3K[4] مستقل از انتقال مسیر پیام‌رسانی وابسته به گیرنده انسولین[5] (IR) در هپاتوسیت‌ها تحریک کرده و یک نقش حیاتی را در تنظیم فعالیت AKt ایفا کند [۱۳].

با توجه به نقش انجام تمرین‌ها و فعالیت‌های ورزشی در پیشگیری و کنترل چاقی و دیابت، اتخاذ شیوه‌های مختلف

[1] Signaling pathway
[2] miRNA=MicroRNAs
[3] A members of family with sequence similarity 3
[4] Phosphatidyl inositol kinase 3
[5] Insulin receptor

تمرینی برای پیشگیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند چاقی و عوارض ناشی از آن مانند بیماری‌های کاردیومتابولیک مانند کبد چرب و دیابت و... در مطالعات ضرورت پیدا می‌کند. تمرین‌های تناوبی شدید که معمولاً با شدت‌های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دورهٔ استراحت‌های کم و مدت زمان تمرینی کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می‌گیرد، با به‌کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی‌تر ارگان‌های سوخت‌وسازی و متابولیکی می‌تواند از طریق سازِکار سلولی مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت مثبت تحت تأثیر قرار دهد [۲].

در طب سنتی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت و کبد چرب از داروهای گیاهی و سنتی استفاده می‌شود. در همین زمینه، مصرف عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مؤثر باشد ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد معتبری یافت نشده است [۱٤]. ژل رویال (Royal Jelly) مادهٔ سفید مایل به زرد است که توسط غدد تحت فکی زنبورهای کارگر ترشح و توسط زنبور ملکه در تمام عمر و لاروها در طول دوره رشد مصرف می‌شود. ژل رویال RJ و ترکیبات فعال زیستی آن به‌دلیل داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد باکتریایی، ضد دیابتی، ضد سرطان، ضد التهابی، ضد فشار خون، و داروهای سیستم ایمنی بدن، داروهای گسترده‌ای را به نمایش می‌گذارند [۱۵]. ژل رویال به‌طور عمده از ترکیبات مهم با فعالیت‌های بیولوژیکی و تقویت کنندهٔ سلامتی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، قندها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای آمینه آزاد تشکیل شده است و حاوی ویتامین‌هایی مانند ریبوفلاوین، تیامین، نیاسین، اسید فولیک، بیوتین، و پیریدوکسین و مقادیر کمتری از ویتامین‌های A، D، C و E و علاوه بر این، کلسیم، سدیم، پتاسیم، مس، آهن، روی و منگنز مواد معدنی اصلی RJ هستند [۱۶، ۱۷] علاوه بر این، RJ فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی از قبیل اثر فشار خون، عملکرد شبیه انسولین دارد. بنابراین، ممکن است که RJ تأثیراتی در مقاومت به انسولین داشته باشد که به‌عنوان علت اصلی DM در نظر گرفته می‌شود [۱۸]. به‌طور مثال، در یک مطالعه روی موش‌ها، مکمل یاری دوزهای مختلف ژل رویال (۱۰، ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به کاهش فشار خون سیستولیک و سطح انسولین سرم و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی، ضدالتهابی و محافظت کنندهٔ عصبی ژل رویال نیز به اثبات رسیده است [۲۰، ۱۹]. اما تاکنون گزارشی مبنی بر اثرات تعاملی تمرین تناوبی شدید و اثرات ضد دیابتی ژل رویال بر تغییرات بیان ژن‌های مسیر سیگنالینگ MiR-423-5P- FAM3A -AKt و شاخص مقاومت به انسولین موش‌های مدل چاق شده با رژیم پُرچرب و دیابتی شده نوع دو با دوز پایین استرپتوزوتوسین (STZ) مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا در این مطالعه در نظر است تأثیرات تمرینی تناوبی شدید به‌همراه ژل رویال n کروموزومی بر تغییرات این ژن‌ها و شاخص مقاومت به انسولین موش‌های مدل چاق شده با رژیم پُرچرب و دیابتی شده نوع دو گزارش گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی ژل رویال در کنار طراحی برنامهٔ ورزشی تناوبی متناسب با رژیم غذایی برای کاهش عوارض کبدی افراد دیابتی‌ها کمک گرفت. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به‌عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از دیابت مانند آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش‌ها

جامعهٔ آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دهند و نمونه‌های پژوهش ۳٦ سر رت نر نژاد ویستار جوان با دامنهٔ سنی ۳۵ تا ٤۵ روز و میانگینی وزنی ۱۱۰±۱۰ گرم بودند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن میانگین ۳۰± ۱۷۰ تحت رژیم پُرچرب قرار گرفتند. پس از ۲۰ هفته (۵ ماه) تغذیه با رژیم پُرچرب و دسترسی آزاد به مواد غذایی و آب، به ٤ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) تقسیم شدند که در پایان پروتکل ۲۹ سر در ٤ گروه کنترل دیابتی (٦ سر)، تمرین تناوبی شدید (۸)، ژل رویال (۷)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۸ سر) باقی‌ماندند.

شیوهٔ نگه‌داری و تغذیهٔ موش‌های صحرایی: برای نگه‌داری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پُلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو استفاده شد. دمای مطلوب محل نگه‌داری حیوانات ۲۰ تا ۲٤ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵

تا ٦٥ درصد بود چرخهٔ روشنایی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به‌طور دقیق توسط تنظیم کنندهٔ الکترونیکی نور سالن نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. جهت تغذیهٔ موش‌های صحرایی از رژیم پُرچرب استاندارد استفاده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به‌صورت نامحدود بود و آب در بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری در تمامی قفس‌ها وجود داشت.

روش چاق کردن رت‌ها با رژیم پُرچرب: برای این منظور، پس از آشناسازی و سازگاری با محیط جدید، تمامی رت‌ها به‌مدت ۲۰ هفته (۵ ماه) تحت رژیم غذایی پُرچرب تهیه شده توسط پژوهشکدهٔ زیست فناوری رویان قرار گرفتند که شامل ٤٥ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ٢٤ گرم چربی، ٢٤ گرم پروتئین و ٤١ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم است رژیم پُرچرب ٤٥ درصد به‌مدت ۳ ماه و رژیم پُرچرب ٦٠ درصد به‌مدت ۲ ماه داده شد (جدول ۱) [۲۲، ۲۱].

جدول ۱- ترکیب امولسیون پُرچرب جهت گاواژ به موش‌های صحرایی

ماده	غذای رایج	غذای پُرچرب ٤٥٪	غذای پُرچرب ٦٠٪
کربوهیدرات (٪)	۵۰/۰۳	٤١	٢٦
پروتئین (٪)	۲۳	٢٤	٢٤
چربی (٪)	۵/۱	٢٤	۳۵
چربی (Kcal%)	-	٤٥	٦٠
کالری (Kcal/g)	۳/۱	٤/٨	۵/۲

روش دیابتی کردن رت‌ها از طریق تزریق استرپتوزتوسین (STZ)

برای القای دیابت از رژیم غذایی پُرچرب به‌مدت۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی قابل تزریق و به‌صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحت کوچک در دم رت‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرارگرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ٤۰۰ میلی گرم/ دسی‌لیتر به‌عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت درنظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۱۰ سر موش به‌طور تصادفی خون‌گیری از دم به‌عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین آنها اندازه‌گیری شد که اطلاعات آن در جداول یافته‌ها آمده است [۲۳].

پروتکل مصرف ژل رویال n کروموزومی: در طی دورهٔ آزمایش به موش‌های گروه ژل رویال، وگروه ژل رویال و تمرین تناوبی شدید، ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۱۰۰ mg/kg) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاواژ ۵ روز در هفته برای گروه ژل رویال و تمرین– ژل قبل از شروع تمرین خورانده شد. ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آنها می‌توان کوئرستین، کامفرول، آپیژنین و لوتئولین را نام برد. ژل رویال آنالیز شده و در دمای منفی ۲۰ و به‌صورت سرد نگه‌داری شده و هنگام گاواژ طبق دوز لازم با توجه به پروتکل رفرنس‌ها در آب مقطر حل و گاواژ شد [۲۵، ٢٤].

آزمون تمرین دویدن با سرعت حداکثر برای تعیین شدت تمرین Maximal Exercise Running Test (MERT): برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل Rodrigues و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO2max) به‌دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقّت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهلهٔ تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به‌مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت افزوده

شد تا این‌که هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به‌عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT در نظر گرفته شد که خلاصه پروتکل در جدول ۲ آمده است. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO2max رت‌ها وجود دارد (r=0.94- 0.98.p<0.05). از این‌رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO2max رت‌ها را برآورد کرد [۲۶].

پروتکل تمرین تناوبی شدید: برنامهٔ هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد Vo2max) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد vo2max) زمان ۱۵ الی ۳۴ دقیقه به‌صورت دویدن روی تردمیل انجام شد، به‌طوری که زمان دویدن از ۱۶ دقیقه در هفتهٔ اول، به ۳۴ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت. رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به‌منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شیب صفر درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به‌همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند [۲۷، ۲۸] (جدول ۲).

جدول ۲- پروتکل تمرین تناوبی

هفته	شدت گرم کردن ۵ دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت سرد کردن ۵ دقیقه	زمان کل (دقیقه)
۲ و ۱	۱۰ متر در دقیقه	۲ تناوب	۲ دقیقه	٪۸۰ سرعت بیشینه* (۳۰ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	٪۵۰ سرعت بیشینه (۱۶ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۱۶
٤ و ۳	۱۰ متر در دقیقه	٤ تناوب	۲ دقیقه	٪۸۵ سرعت بیشینه (۳۲ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	٪۵۲ سرعت بیشینه (۱۸ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۲۲
٦ و ۵	۱۰ متر در دقیقه	٦ تناوب	۲ دقیقه	٪۹۰ سرعت بیشینه (۳٤ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	٪۵٤ سرعت بیشینه (۲۰ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۲۸
۸ و ۷	۱۰ متر در دقیقه	۸ تناوب	۲ دقیقه	٪۹۵ سرعت بیشینه (۳٦ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	٪۵٦ سرعت بیشینه (۲۲ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۳٤

جدول ۳- پرایمرهای ژن‌های مورد مطالعه

نام پرایمر	توالی پرایمر
miR-423-5P	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUUU
miR-423-F	GTCAGTGAGGGGCAGAGAG
miR-16*	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG
miR-16-F	CAGCCTAGCAGCACGTAAAT
FAM3A	F: TGTGGGCTGGAGATGTCAAT R: GATGCCACAAACACCAAGGT
Akt_2	F: GATGATGGAGGTAGCGGTCA R: TGCCAAGGTCTGAAGATCCC

* اطلاعات ژن مرجع

نمونه‌گیری

با خاتمهٔ دوره تمرینی و ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین گروه‌های تجربی-تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی‌هوشی اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- نگه‌داری شد. آنزیم‌های کبدی و گلوکز با

استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد [۲].

= مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

٤٠٥/ (گلوکز (mg/dl) * انسولین (µUI/ml)

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 تجزیه‌وتحلیل شدند برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد.آزمون شاپیرو ویلک جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بن فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی وشاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسهٔ میزان تأثیر هر یک از متغییرهای مستقل استفاده گردید. سطح معنی‌داری $p\leq$ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

طرح تحقیق حاضر موفق به اخذ کُد اخلاق به شمارهٔ IR.SSRC.REC.1401.012 از پژوهشگاه تربیت بدنی شد.

یافته‌ها

اطلاعات توصیفی وزن و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین موش‌های مورد مطالعه پس از رژیم پُرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم که بر روی ۷ سر از موش‌ها به‌طور تصادفی اندازه‌گیری شد در جدول ۳ گزارش شده است. این جدول نشان می‌دهد وزن بعد ازاعمال رژیم پُرچرب افزایش قابل مشاهده داشته است. اطلاعات توصیفی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها که پس از خون‌گیری از دُم اندازه‌گیری شده نیز در جدول ۳ مشاهده می‌شود که حاکی از دیابتی شدن موش‌ها است. جدول ٤ نیز اطلاعات توصیفی متغییرها را در گروه‌های مختلف به تفکیک نشان می‌دهد. جدول ۵ نیز نتایج آمار توصیفی بیان ژن‌های کبدی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف را نشان می دهد.

جدول ۳- اطلاعات توصیفی موش‌های صحرایی پس از رژیم پُرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم

وزن شروع پروتکل (گرم)	وزن پس از چاقی (گرم)	گلوکز(mg/dl)	انسولین (µUI/ml)	HOMA.IR
۱۹۳/۳٤ ± ۱۹/٤٦	٤۰۹/۰۳ ± ۵۱/٦۹	۳٦۳ ± ۱۲٤/۵	۳/۹۲ ± ۰/٤۹	۳/۵٦ ± ۱/٤۳

جدول ۴ - توصیف متغییرهای پژوهش در گروه‌های مختلف

متغییر/ گروه	کنترل (٦ سر)	تمرین تناوبی(۸ سر)	ژل رویال (۷ سر)	تمرین و ژل رویال (۸ سر)
وزن پس از رژیم پُرچرب (گرم)	۳۸٦/٦٦ ±٤۸/٤۲	٤۰۷/۳۷ ± ٦٤/٦٤	٤۱۷/٤۲ ± ۳۳/٦۹	٤۲۰/٤۲ ± ۵٦/۰۵
وزن پس از هشت هفته (گرم)	۳۱۷ ±۷۱/۳	۳۷۳/۱۲ ± ۵٤/۲۸	۳٤٤/۵۷ ± ۳۵/۱۷	۳۳٤/۲۵ ±۳۲/۲۷
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۳۳/۸۳ ±۳۹/۳۹	۱۳۸/۲۵ ± ٤۰/۰٤	۱۳۱/۵۷ ± ۱۵/۷٤	۱۳٤ ± ۱٤/۸۷
انسولین (µUI/ml)	۰/۵۳ ± ۳/۸۹	۱/۳۵ ±٦/۲۲	۲/۸۷ ± ۷/۳٦	۰/۸۹ ± ۵/۱۲
HOMA.IR	۰/۳۳ ± ۳/۱۸	۰/۳۵ ± ۲/۰٤	۰/٦۸ ± ۲/۳۱	۰/۳٦ ± ۱/٦۹

جدول ۵- توصیف بیان ژن‌های کبدی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

متغییر/گروه	کنترل (٦ سر)	تمرین تناوبی (۸ سر)	ژل رویال (٦ سر)	تمرین و ژل رویال (۷ سر)
AKt2.gen.Fold.cheng	۱±۰	۷/۵۹±٤/۳٤	۲/۸۳±۲/۲۳	۳/۹۵±۰/۹٤
FAM3a.gen.Fold.cheng	۱±۰	۳/۳,٦۱٦۱±۲/۵۱	۸/٤۰±۵/۹۰	۷/۵۹±٤/۳٤
Mir423-5p.gen.Fold.cheng	۱±۰	۰/۰۹±۰/۰۷	۰/۲۰±۰/۰٦	۰/٤۷±۰/۲٤

در جدول ٦ نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه (F) و تعقیبی شاخص وزن و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف را مشاهده میکنید . جدول ۷-۱ تا ۷-۳ نیز نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه (F) و آزمون تعقیبی بیان ژن های کبدی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف را نشان می دهد. جداول ۸-۱ تا ۸-۳ نیز نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن های مختلف بافت کبدی موش‌های نر دیابتی را نشان می دهد.

جدول ۶- نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه (F)

متغیر	F	معنی‌داری	معنی‌داری تعقیبی
وزن پس از هشت هفته (گرم)	۱,۹۲	۰/۱۵	--
گلوکز(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷۱,٤٤	۰/۰۰۰۱	بین همهٔ گروه‌ها ۰/۰۰۰۱
انسولین (µUI/ml)	٦,۷۷	۰/۰۰۰۱	بین کنترل و تمرین(۰/۰۹) بین کنترل و ژل (۰/۰۰٦)
HOMA.IR	۱۲,۸۰	۰/۰۰۰۱	بین کنترل و تمرین(۰/۰۰۰۱) بین کنترل و ژل (۰/۰۱۳) بین کنترل و تعاملی (۰/۰۰۰۱)

جدول ۷-۱- نتایج آزمون تحلیل واریانس (F) و تعقیبی جهت مقایسهٔ تغییرات بیان ژن AKT بافت کبدی موش‌ها

متغیر	F	sig		گروه	تغییرات میانگین	سطح معناداری
بیان ژن AKT	۸/۳۹	۰/۰۰۰۱	کنترل M= ۱/۰۰	تمرین تناوبی	-٦/۵	۰/۰۰۰۱
				ژل رویال	-۱/۸۳	
				تمرین-ژل رویال	-۲/۳	
			تمرین تناوبی M= ۷/۵۹	ژل رویال	٤/۷٦	۰/۰۰۹
				تمرین- ژل رویال	٤/۲	۰/۰۲
			ژل رویال M= ۲/۸۳	تمرین -ژل رویال M= ۳/۹۹	-۰/۵٦	

*p< ۰/۰۵ **p< ۰/۰

جدول ۷-۲ نتایج آزمون تحلیل واریانس (F) تعقیبی بنفرونی جهت مقایسه تغییرات بیان ژن FAM3a بافت کبدی موش‌ها

متغیر	F	sig		گروه	تغییرات میانگین	سطح معناداری
بیان ژن FAM3a	۲/۹۹	۰/۰۵	کنترل M= ۱/۰۰	تمرین تناوبی	-۲/٦۱	۰/۰٤
				ژل رویال	-۷/٤	
				تمرین-ژل رویال	-۲/٤	
			تمرین تناوبی M= ۳/٦۱	ژل رویال	-٤/۷	
				تمرین- ژل رویال	۰/۱۷	
			ژل رویال M= ۸/٤	تمرین-ژل رویال M= ۳/٤٤	٤/۹۵	

جدول ۷-۳ نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی جهت مقایسهٔ تغییرات بیان ژن Mir423.5p بافت کبدی موش‌ها

متغیر	F	sig		گروه	تغییرات میانگین	سطح معناداری
بیان ژن Mir423.5p	۵۵/۸۶	۰/۰۰۰۱	کنترل M= ۱/۰۰	تمرین تناوبی	۰/۹۱	۰/۰۰۰۱
				ژل رویال	۰/۷۹	۰/۰۰۰۱
				تمرین-ژل رویال	۰/۵۲	۰/۰۰۰۱
			تمرین تناوبی M= ۰/۰۹	ژل رویال	-۰/۱۱	
				تمرین- ژل رویال	-۰/۳۸	۰/۰۰۰۱
			ژل رویال M= ۰/۲	تمرین-ژل رویال M= ۰/۴۷	-۰/۲۶	۰/۰۰۶

*p< ۰/۰۵ **p< ۰/۰۱

جدول ۸-۱ نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن AKT بافت کبدی موش‌های نر دیابتی

منبع	F	سطح معنی‌داری	نتیجه	اندازه اثر
تمرین تناوبی	۱۳/۵۹	۰/۰۰۱	**	۰/۳۵۲
ژل رویال	۱/۴۹	۰/۲۳		۰/۰۵۶
تمرین تناوبی- ژل رویال	۹/۶۴	۰/۰۰۵	**	۰/۲۷۸

*p< ۰/۰۵ **p< ۰/۰۱

جدول ۸-۲ نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن FAM3a بافت کبدی موش های نر دیابتی

منبع	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر
تمرین تناوبی	۰/۴۵	۰/۵		۰/۰۱۸
ژل رویال	۴/۳۶	۰/۰۴	*	۰/۱۴۹
تمرین تناوبی- ژل رویال	۴/۷۹	۰/۰۳	*	۰/۱۶۱

*p< ۰/۰۵ **p< ۰/۰۱

جدول ۸-۳ نتایج آزمون تحلیل واریانس دو عاملی جهت تعیین اثرات تمرین تناوبی و ژل رویال بر بیان ژن Mir423.5p بافت کبدی موش‌های نر دیابتی

منبع	F	سطح معنی داری	نتیجه	اندازه اثر
تمرین تناوبی	۳۸/۰۷	۰/۰۰۰۱	**	۰/۶۰۴
ژل رویال	۱۶/۰۰	۰/۰۰۰۱	**	۰/۳۹۰
تمرین تناوبی- ژل رویال	۱۲۸/۴۴	۰/۰۰۰۱	**	۰/۸۳۷

*p< ۰/۰۵ **p< ۰/۰۱

یافته‌ها

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تعامل تمرین تناوبی- ژل رویال بربیان AKT گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. ولی گروه ژل رویال بر بیان AKT گروه‌های مورد مطالعه معنی‌دار نبود. شاخص اندازه اثر گروه تمرین – ژل هم بیشتر بود. نتایج نشان داد بین گروه کنترل و تمرین تناوبی تفاوت معنی‌دار وجود دارد و با مقایسهٔ تفاضل میانگین‌ها مشاهده می‌شود تفاضل گروه تمرین تناوبی بیشتر است و بیان ژن AKT را به نسبت بیشتر افزایش داده است و با دو گروه دیگر هم تفاوت معنی‌دار دارد. نتایج بیان ژن FAM3A بافت کبدی نیز نشان داد گروه ژل رویال و تعامل تمرین تناوبی- ژل رویال بربیان FAM3a گروه‌های مورد مطالعه معنادار است. ولی گروه تمرین تناوبی بر بیان FAM3a گروه‌های مورد مطالعه معنادار نیست. با مقایسهٔ تفاضل میانگین‌ها مشاهده می‌شود تفاضل گروه ژل رویال بیشتر است و بیشتر بیان ژن FAM3 را افزایش داده است و پس از آن هم گروه تمرین تناوبی است که افزایش را نشان می‌دهد اما معنی‌دار نیست.

همچنین نتایج بیان ژن miR-423-5P بافت کبدی نشان داد گروه تمرین تناوبی و ژل رویال و تعامل تمرین تناوبی- ژل رویال بربیان Mir423.5p گروه‌های مورد مطالعه معنی‌دار است و بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی تفاوت معنی‌دار وجود دارد و با مقایسه تفاضل میانگین‌ها مشاهده می‌شود تفاضل گروه تمرین تناوبی بیشتر است و بیان ژن Mir423 را به نسبت بیشتر کاهش داده است و پس از آن دو گروه دیگر ژل و تمرین تناوبی – ژل هم بیان ژن این میر را به‌طور معنی‌داری کاهش داده است.

بحث

یافته‌های به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که بیان ژن miR-423-5P بافت کبدی درگروه‌های تجربیِ تعاملی تمرین تناوبی و ژل رویال و گروه تمرین تناوبی و گروه ژل رویال نسبت به کنترل کاهش معنی‌دار داشته و در مقایسه بین گروه تعاملی تمرین تناوبی و ژل رویال با گروه تمرین تناوبی و با گروه ژل رویال نیز این تفاوت معنی‌دار است و در گروه تمرین تناوبی این ژن کمتر بیان شده است همچنین بیان ژن FAM3A بافت کبدی در گروه‌های تجربی تعاملی تمرین تناوبی و ژل رویال و گروه تمرین تناوبی و گروه ژل رویال نسبت به کنترل افزایش داشته اما بین گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و بیان ژن AKt2 در گروه تعاملی تمرین تناوبی و ژل رویال و در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار و در گروه ژل رویال نسبت به گروه کنترل نیز افزایش داشته ولی معنی‌دار نبوده و بین بقیهٔ گروه‌ها تفاوت معنی‌دار نبوده است.

مطالعه بر روی پروفایل بیانی و چگونگی عملکرد میکرو RNAها در رابطه با چاقی به‌عنوان یک عامل خطر افزایش بروز دیابت نوع دو و کبد چرب مورد توجه بسیاری از محققین در این سال‌ها بوده است.

در مطالعهٔ Ortega و همکاران (۲۰۱۳)، تعداد نه [۹] میکروRNA در بیماران مبتلا به چاقی مفرط شناسایی شدند که برخی با افزایش میزان غلظت در خون و برخی دیگر از جمله miR-423-5P با کاهش مقدار در خون همراه بوده‌اند که همگی ارتباط قوی با میزان تودهٔ چربی داشته و از بین آنها، miR-520-3P، miR-15a و miR-423-5P ارتباط قوی‌تر و اختصاصی‌تر را نشان دادند [۲۹]. بیماری کبد چرب غیر الکلی همراه با تغییر در متابولیسم کبدی است و سازکارهای اپی ژنتیک به‌ویژه همراه با بد تنظیمی بیان و عملکرد میکروRNAها، نقش مهمی را در اختلالات متابولیکی مرتبط با آن و پیشرفت آنها به سمت و سوی مراحل شدیدتر بیماری، ایفا می‌کند [۳۰].

miR-423-5P از جمله میکرو RNAهای دخیل در تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی، به هنگام بروز چاقی و دیابت در کبد با افزایش بیان مواجه است که هم‌زمان کاهش بیان FAM3A و کاهش مقدار ATP سلولی نیز دیده می‌شود [۲۰]. افزایش محتوای درون و برون سلولی ATP توسط افزایش بیان زیر واحد بتا آنزیم ATP سنتاز (ATPSB) افزایش فسفوریلاسیون AKt و کاهش بیان آنزیم‌های فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز (PEPCK) و گلوکز- ٦ فسفاتاز (G-6ase) را در پی دارد که نتیجهٔ آن سرکوبی تولید گلوکز کبدی و تعدیل هایپرگلیسمی است. طی مطالعات، کاهش محتوای ATP و AKt فسفوریله شده (pAKt) در کبد موش‌های مبتلا به دیابت دو گزارش شده است [۳۱]. تنظیم نامناسب پیام‌رسانی AKt، با بسیاری از بیماری‌های انسان مرتبط است و از این‌روست که مسیرهای وابسته به آن، به‌عنوان یک هدف درمانی جذاب برای مداخلات درمانی، محسوب می‌شود و

شواهد رو به رشدی وجود دارد که نشان می‌دهد کاهش مقاومت انسولینی چه به‌وسیلهٔ داروها و چه با فعالیت بدنی همراه با افزایش فعالیت AKt در کبد است [۳۲، ۳۳]. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که miRNAها به‌سرعت در واکنش به فعالیت بدنی بیان خود را تغییر می‌دهند [۳٤] و در بررسی Li و همکاران دیده شد که ورزش طولانی مدت توانسته است که پروفایل بیان میکرو RNAهای گردشی را در پلاسمای خون زنان جوان ورزشکار تغییر دهد [۳۵].

در یک پژوهش دیگر توسط Zhang و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر فعالیت miR-423-5P بر مسیر FAM3A-ATP-AKt در کبد و کاهش مقاومت انسولینی مرتبط با چاقی ناشی از رژیم غذایی، طی ورزش مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته نشان داد که رژیم غذایی پُرچرب باعث افزایش محتوای چربی احشایی، اسیدچرب آزاد سرم، افزایش میزان miR-423-5P و کاهش mRNA FAM3A و پروتئین آن، کاهش محتوای ATP وکاهش فسفوریلاسیون AKt در کبد و کاهش شاخص حساسیت انسولینی گردیده و در مقابل ورزش هم به‌صورت طولانی مدت شامل تمرین شنا در جلسات یک ساعته همراه با وزنهٔ معادل ۵ درصد وزن موش‌ها، ۵ جلسه در هفته به‌مدت ۸ هفته و هم به‌صورت حاد یک وهله‌ای شامل ۲ دورهٔ ۳ ساعته تمرین شنا با فاصلهٔ ٤۵ دقیقه بین دو دوره باعث تغییرات معکوس و مطلوب مارکرهای ذکر شده در کبد و در کل بدن گردیده بود [۱۳].

نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعهٔ اخیر همسو است و در هر دو مورد اثرات مفید ورزش بر بیان مطلوب ژن‌های کبدی تنظیم کننده متابولیسم قند و چربی را نشان می‌دهد.

ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آنها می‌توان کوئرستین، کامفرول، آپیژنین و لوتئولین را نام برد [۳٦]. فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می‌گذارند، این ترکیبات موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس لیپیدمی و مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ممانعت می‌کنند. فلاونوئیدها به‌خصوص کوئرستین از کاهش وزن در دیابت نیز جلوگیری می‌کنند [۳۷، ۳۸] ژل رویال با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، در برابر گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید مبارزه می‌کند [۳۹] و به میزان قابل توجهی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت پانکراس بیماران دیابتی نوع دو می‌شود که با توجه به مطالب ذکر شده، بخشی از این اثرات احتمالاً به‌علت وجود فلاونوئیدها در ژل رویال ایجاد شده است. اثر هیپوگلیسمیک ژل رویال را به ویتامین‌های موجود در آن نیز می‌توان نسبت داد [٤۰، ٤۱].

مطالعات نشان داده است که ویتامین‌های B، C، D، E، بیوتین و نیاسین به فراوانی در ژل رویال یافت می‌شود. ویتامین C سطح گلوکز سرم را در دیابت نوع دو کاهش می‌دهد [٤۲] و در بسیاری از واکنش های شیمیایی به‌صورت رقابتی جانشین گلوکز میشود و از گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها به‌خصوص هموگلوبین و لیپوپروتئین‌ها ممانعت می‌کند. ویتامین‌های B1، B6، B12، D و E، بیوتین و نیاسین نیز عملکرد سلول‌های بتا را تقویت می‌کنند و با تحریک تولید گلیکوژن و مهار گلوکونئوژنز، سطح گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌دهد [٤۳]. بنابراین بخشی از نقش مصرف ژل رویال بر کاهش گلوکز را می‌توان به ترکیبات ویتامینی موجود در آن نسبت داد.لازم به ذکر است که به‌دلیل جدید بودن نسبی مطالعات مربوط به میکرو RNAها و اثرات آنها بر مارکرهای مختلف در بافت‌های بدن از جمله miRNA-423-5P و تأثیر آن بر پروتئین میتوکندریایی FAM3A و پروتئین AKt در بافت کبد و عوامل مؤثر بر آنها مانند تمرین‌های ورزشی و مصرف مکمل‌های تغذیه‌ای و مخصوصاً معدود بودن این دسته از مطالعات و در نتیجه محدود بودن داده‌های حاصل از آنها جهت مقایسهٔ یافته‌ها با هم، ادامهٔ پژوهش‌ها در این زمینه بسیار ضروری و نیازمند تحقیقات بیشتر است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش معنی‌دار در بیان miR-423-5P و به‌دنبال آن افزایش معنی‌دار در بیان mRNA FAM3A در هرسه گروه تجربیِ تمرین، ژل رویال و تمرین – ژل نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی‌دار در بیان mRNA AKt_2 در گروه‌های تمرین و تمرین – ژل نسبت به گروه کنترل، پس از هشت هفته اجرای مداخلهٔ تمرینی و تغذیه‌ای می‌تواند اثر محافظتی بر کبد در مقابل آسیب بافتی و عملکردی ناشی از دیابت داشته باشد و براین اساس به‌نظر می‌رسد که بتوان با انجام تمرین تناوبی و مصرف ژل رویال از فواید سلامتی این دو در مدیریت بیماری دیابت نوع دو و عوارض کبدی آن در

مبتلایان بهره گرفت. البته با توجه به تازگی موضوع پژوهش حاضر، هنوز سؤالات متعددی وجود دارد که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

تضاد منافع

هیچگونه تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از رسالهٔ دکتری بود و با کُد اخلاق IR.SSRC.REC.1401.012 در کمیتهٔ اخلاق پزشکی پژوهشگاه تربیت بدنی وزارت علوم تأیید شد. از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

مآخذ

1. Sapra A, Bhandari P. *Diabetes Mellitust*. In: Eberhardt M, Blepharitis RG, Editors. StatPearls. Treasure Island (FL). Massachusetts: StatsPearls Publishing. (2020).
2. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. RJMS. 2020; 27 (8) (In Persian).
3. Shokrolahi Ardakani A, Abednatanzi H, and et.all. The Effect of Resistance Training on G6Pase Gene Expression in Liver Hepatocytes, Glucose and Insulin Resistance Levels in Type 2 Diabetic Rats. *Iranian Journal of Diabetes and Obesity*. 2020; 12:14 (1).
4. Masoudi H, khanegie K .Comparison of the effects of nettle and white nettle on the expression of genesLiver and kidney cyclooxygenase-2 and caspase-3 in streptozotocin-induced diabetic rats. *Research project. East Gilan Paramedical School (Medical Biotechnology Research Center). (*2014). (In Persian).
5. Wackerhage H. *Molecular Exercise Physiology an Introduction*. translated by Farhad Darianush, Tehran, Hatami Publications, 2016; P: 278.
6. Kramer WJ, Flek SJ. Desgenes MR. *Exercise physiology integrating theory and application*. translated by Farhad Darianush and Abbas Ali Gaini, Tehran, Etmanat Publications, 2015; P:424 (Date of publication of the work in the orignal language, 2012).
7. Ferland-McCollough D, Ozanne SE, Siddle K, Willis AE, Bushell M. The involvement of microRNAs in Type 2 diabetes. *Biochemical Society transactions*. 2010; 38(6):1565-70.
8. Joglekar MV, Parekh VS, Hardikar AA. Islet-specific microRNAs in pancreas development, regeneration and diabetes. *Indian journal of experimental biology*. 2011; 49(6):401-8.
9. Vatandoost N, Momenzadeh S, Kamali S, Salehi R. Evaluation of relative expression of miR103 in peripheral blood mononuclear cells of rats with type 2 diabetes and pre-diabetes. *Isfahan Medical School Journal*. 2014; 32, 306:1756-174.
10. Osmai M, Osmai Y, Bang-Berthelsen CH, Pallesen EM, Vestergaard AL, Novotny GW, Mandrup-Poulsen T. MicroRNAs as regulators of beta-cell function and dysfunction. *Diabetes/metabolism research and reviews*. 2016; 32(4):334-49.
11. Huang Y, Yan Y, Xv W, Qian G, Li C, Zou H, Li Y. A New Insight into the Roles of MiRNAs in Metabolic Syndrome. *BioMed research international*. 2018; 2018: 7372636.
12. Yang W, Wang J, Chen Z, Chen J, Meng Y, Chen L, Yang, J. NFE2 Induces miR-423-5p to Promote Gluconeogenesis and Hyperglycemia by Repressing the Hepatic FAM3A-ATP-Akt Pathway. *Diabetes*. 2017; 66(7):1819-32.
13. Zhang Y, Wan J, Liu S, Hua T, Sun Q. Exercise induced improvements in insulin sensitivity are concurrent with reduced NFE2/miR-432-5p and increased FAM3A. *Life sciences*. 2018; 207: 23-9.
14. Khajehlandi A, Abed Natanzi H, Nikbakht H. The Effect of Swimming Training and Aloe Vera Extract on Lipid Profile of Male Diabetic Rats. *Journal of Isfahan Medical School*. 2017; 34(411). [In Persian].
15. Khazaei M, Ansarian A, Ghanbari E. New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: a review. *J Diet Suppl*. 2018; 15(5):757-75.
16. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complement Altern Med*. 2009; 26:9(4).
17. Nagai T, Inoue R. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chem*. 2004; 84(2):181-6.
18. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: a review. *J Funct Foods*. 2012; 4:39–52.
19. Shidfar F, Jazayeri Sh, Musavi SN, Malek M, and et al. Does Supplementation with Royal Jelly Improve Oxidative Stress and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Patients? *Iran J Public Health*. 2015; 44(6):797-803.

20. Nomura M, Maruo N, Zamami Y, Takatori S, Kawasaki H. Effect of long-term treatment with royal jelly on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. Yakugaku zasshi: *J Pharm Soc Jpn*. 2007; 127(11):1877-82.24.
21. Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci, 2006; 8; 79(11): 1100–1107.
22. Gheibi S, Bakhtiari Zadeh F, Ghasemi AA. review of the high-fat diet model - Streptozotocin for type 2 diabetes in rats. Journal of Endocrinology and Metabolism of Iran. *Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services* 2016; 18 (2):135-148 [In Persian].
23. Moeini Fard M, Hedayati M. Aluxan and Streptozotocin, Diabetes Research Tool. *Journal of Applied Sports Physiology*. 2014; 10(20):13-22. [In Persian].
24. Asgari M, Asle-Rousta M, Sofiabadi M, Effect of Royal Jelly on Blood Glucose and Lipids in Streptozotocin Induced Type 1 Diabetic Rats. *Arak Med Uni J*. 2017; 20(122):48-56.
25. Baburao Waykar B. and Alqadhi YA, Administration of Honey and Royal Jelly Ameliorate Cisplatin Induced Changes in Liver and Kidney Function in rats. *Biomed Pharmacol J*. 2018; 11(4):2191-2199.
26. Rodrigues B, Diego MF, and etal. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in Streptozotocin -diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology*. 2007; 6:38.
27. Akbarzadeh A, Fattahi Bafghi A. The effect of high intencity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *JSSU*. 2018; 25(12):961-969 [In Persian].
28. Rezaei R, Norshahi M, Bigdeli. MR, Khodagholi F, Haghparast A. Effect of eight weeks of continuous and interval intense aerobic exercise on VEGFR-2 and VEGF-A values in the brain tissue of wistar rats. Journal of Exercise Physiology and Physical Activity. *Physiology of Exercise and Physical Activity*. 2015; 8(2): 1213-1221 [In Persian].
29. Ortega FJ, Mercader JM, Catalán V, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Sabater M, Fernández-Real JM. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clinical chemistry. 2013; 59(5):781-92.
30. Gjorgjieva M, Sobolewski C, Dolicka D, Correia de Sousa M, Foti M. miRNAs and NAFLD: from pathophysiology to therapy. *Gut*. 2019; 68(11), 2065-79.
31. Liu CH Ampuero J, Gil-Gómez A, Montero-Vallejo R, Rojas Á, Muñoz-Hernández R, Romero-Gómez M. miRNAs in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*. 2018; 69(6):1335-1348.
32. Wang C, Chen Z, Li S, Zhang Y, Jia S, Li J, Yang J. Hepatic overexpression of ATP synthase β subunit activates PI3K/Akt pathway to ameliorate hyperglycemia of diabetic mice. Diabetes. 2014; 63(3):947-59.
33. Risso G, Blaustein M, Pozzi B, Mammi P, Srebrow A. Akt/PKB: one kinase, many modifications. The Biochemical *journal*. 2015; 468(2):203-14.
34. Oliveira-Carvalho V, da Silva M M, Guimarães G V, Bacal F, & Bocchi E A. MicroRNAs: new players in heart failure. *Molecular biology reports*. 2013; 40(3):2663-70.
35. Li F, Bai M, Xu J, Zhu L, Liu C, Duan R. Long-Term Exercise Alters the Profiles of Circulating Micro-RNAs in the Plasma of Young Women. *Frontiers in physiology*. 2020; 11; 372.
36. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. J Food Sci. 2008; 73(9): 117-24.
37. Kocot J, Kiełczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 1-29.
38. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of Diabetic Complic. *Nutr*. 2016; 8(5):310.
39. Nagai T, Inoue R, Suzuki N, Nagashima T. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. *J Med food*. 2006; 9(3):363-7.
40. Amirshahi T, Nejati V, Najafi G. Biochemical and Histological Evaluation of Protective Effect of Royal Jelly on PancreasInduced Oxidative Stress in Male Rat Pancreas. *J Mazandaran Uni Med Sci*. 2013; 23(107).
41. Afkhami-Ardekani M, Shojaoddiny Ardekani A. Effect of vitamin C on blood glucose, serum lipids & serum insulin in type 2 diabetes patients. *Indian J Med Res*. 2007; 126(5): 471.
42. Dakhale GN, Chaudhari HV, Shrivastava M. Supplementation of vitamin C reduces blood glucose and improves glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind study. *Adv Pharmacol Sci*. 2011; 1-5.
43. Xiang X, Liu Y, Zhang X, Zhang W, Wang Z. Effects of biotin on blood glucose regulation in type 2 diabetes rat model. *J Hyg Res*. 2015; 44(2): 185- 9.

Study of Liver Damage From Mir-423-5p and Akt2-FAM3a Pathway HIIT and Royal Jelly in Type 2 Diabetic Rats

Sahar Riasati[1], Hossein Abednatanzi*[1], Mandana Gholami[1]

1. Department of Physical Education and Sports Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: The Purpose of this study was to evaluate the effect of High Intensity Interval Training & Royal Jelly on expression of the genes of the hepatic miR-423-5P - FAM3A-AKt2 pathway in rats.
Methods: The statistical population was 36 male Wistar rats and reaching a weight of 193 ± 20 grams, they were subjected to a high-fat diet diet and intraperitoneal injection of 25 mg STZ. Blood sugar above 150 to 400 mg/dl was considered as a criterion to ensure that the mice had type 2 diabetes. Then divided into 4 groups (diabetic control group, intermittent exercise, Royal Jelly and exercise-Royal Jelly group). The experimental group of did HIIT with a 20 to 36 m/min. for 8 weeks. Royal jelly experimental groups consumed 100 mg/kg royal Jelly. 48 hours after the last training session, the mice were anesthetized with ether and blood was taken from the heart and tissue was removed, including liver tissue, and the tissue sample was transferred to a freezer temperature of -80. Serum glucose measurements were performed by an Auto analyzer. Insulin was measured by an ELISA kit, and the insulin resistance index was measured by formulas. The expression level of miRNA-423-5P, FAM3A and AKt genes in liver tissue was measured using Real Time-PCR method .the data, analyzed by one-way analysis of variance and Bonferroni's post hoc and univariate and effect size. The significance level was considered to be $p \geq 0.05$.
Results: The findings showed that the expression of the hepatic miR-423-5P gene in the experimental groups of intermittent exercise with royal jelly and the exercise group and the gel group significantly decreased compared to the control group, and the expression of the FAM3A gene increased in the experimental groups compared to the control group. Non-significant and the expression of AKt2 gene in the training group and the training group with gel increased significantly compared to the control group, and in the gel group only compared to the control group, there was a non-significant increase, Also, there was a significant decrease in glucose in the experimental groups of HIIT exercise and HIIT- Royal jelly compared to the diabetic control group ($p < 0.05$).Expression of the miR-423-5P gene was significantly lower in all groups compared to control, expression of mRNA FAM3 had insignificant increase and expression of mRNA AKt2 had a significant increase in groups of regular exercise and exercise with nutritional intervention. This gene had an insignificant increase of expression in the group with only nutritional intervention.
Conclusion: It seems that HIIT and royal jelly consumption, both alone and in combination, although with greater effect, can create favorable changes in the expression of Mir 4235p. FAM3A and AKt2 help to improve the condition of the liver.

Keywords: Type 2 diabetes, Liver, miR-423-5P, FAM3A and AKt2 genes, HIIT, Royal jelly

* Science and Research Branch, Faculty of Humanities. Department of Physical Education and Sports Science Daneshgah Blvd, Simon Bulivar Blvd, Tehran, Postal Code: 1477893855.Post Office Box: 14515/775, Phone Number: 44865179-82 & 44865154-8. Email: abednazari@gmail.com

Copyright © 2024 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.