مجله دیابت و متابولیسم ایران. مهر و آبان ۱۴۰۰؛ دوره ۲۱ (شماره ۴) ۲۴۹-۲۴۰

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی و مصرف عصاره‌ی گزنه بر بیان پروتئین و ژن AKT و GLUT4 عضله‌ی نعلی رت‌های نر مبتلا به دیابت

مهدی مقامی[1] سعید کشاورز[1*]، روح الله حق شناس[2]، الهام افتخاری[1]

چکیده

مقدمه: از جمله شایع‌ترین بیماری‌های مزمن در جوامع امروزی دیابت است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مصرف گزنه بر بیان پروتئین و ژن AKT و GLUT4 عضله‌ی نعلی رت‌های نر دیابتی بود.

روش‌ها: تعداد ٤٠ سر رت نر نژاد ویستار، بعد از سازگاری با محیط به ۵ گروه: کنترل (C)، دیابت (D)، گزنه+دیابت (UD)، دیابت+تمرین (ED) و گروه گزنه+ دیابت+تمرین (EUD) تقسیم شدند. پس از ایجاد و تأیید مدل دیابت با تزریق STZ، رت‌های گروه های تمرین، هشت هفته پروتکل تمرین استقامتی را اجرا کردند و رت‌های گروه‌های گزنه، ۵ روز در هفته، عصاره‌ی گزنه را مصرف کردند. پس از اتمام پروتکل و استخراج عضله‌ی نعلی، از روش RT-PCR جهت اندازه گیری بیان ژن، از روش وسترن بلات و ایمو نوهیستوشیمی به‌ترتیب برای اندازه‌گیری بیان پروتئین GLUT4 و AKT و از روش الایزا برای اندازه‌گیری گلوکز و انسولین استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیان پروتئین و ژن GLUT4 و AKT در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری کاهش یافته بود (P<۰/۰۰۱) درحالی‌که بیان این دو متغیر در گروه‌های ED و EUD به‌طور معناداری افزایش یافته بود (P<۰/۰۰۱) که این افزایش در گروه EUD بیشتر بود. تأثیر گزنه به تنهایی بر بیان این دو متغیر نیز معنادار نبود. گلوکز، انسولین و مقاومت انسولین به‌طور معناداری در گروه دیابت افزایش یافت، درحالی‌که در گروهای ED و EUD به‌طور معناداری کاهش یافته بود (P<۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: هم افزایی ترکیب گزنه و ورزش به‌طور معناداری بر بهبود روند دیابت مؤثر است درحالی‌که هر کدام به تنهایی اثر چندانی بر متغیرهای مرتبط با دیابت ندارند.

واژگان کلیدی: دیابت، تمرین استقامتی، بیان ژن، انتقال دهنده گلوکز-٤

۱-گروه علوم ورزشی و مرکز تحقیقات طب ورزش، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

۲- گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

* ***نشانی:*** اصفهان، نجف آباد، خیابان دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد، گروه علوم ورزشی و مرکز تحقیقات طب ورزش، تلفن: ۰۹۱۳۲۷۰٤٦٨٣، نمابر: ۰۹۸۳٦۷۰۲۷۰۸، پست الکترونیک: keshavarz1357@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۵ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۰/۰۶/۲۹** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۰**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

مقدمه

دیابت یک بیماری وابسته به قند و انسولین است که شیوع بسیار بالایی در جوامع امروزی دارد. از این‌رو بررسی سازوکارهای مرتبط با دیابت و همچنین روش‌های درمان و پیشگیری از این بیماری دارای اهمیت به‌سزایی است. چاقی و سبک زندگی بی تحرک به‌عنوان یک عامل خطر قابل تغییر برای دیابت نوع دو بوده و ورزش برای افراد مبتلا به دیابت یک درمان اساسی است [۱-۳]. مطالعات مختلف تأثیر انواع تمرینات ورزشی بر بهبود دیابت نوع دو [٤] و دیابت نوع یک [٥] را گزارش کرده‌اند [٧ ،٦]. از طرفی رعایت رژیم غذایی و مصرف برخی گیاهان دارویی نیز بر کنترل و بهبود دیابت گزارش شده است [٩ ،٨]. اختلال متابولیک در دیابت محصول کاهش اثر گلوکز و یا جذب گلوکز است که ناشی از تغییرات مقاومت انسولین در بافت‌هایی نظیر کبد، عضله، کلیه و چربی است و بنابراین درمان‌هایی که جذب گلوکز را هدف قرار می‌دهند و گلوکونئوژنز را کاهش می دهند در مدیریت بیماری دیابت بسیار مهم هستند [۱۰]. جذب گلوکز محیطی به عضله‌ی اسکلتی را از طریق دو مسیر می‌توان افزایش داد، مسیر وابسته به انسولین که از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT عمل می‌کند و مسیر غیروابسته به انسولین که بیشتر انقباض عضلانی از طریق آن عمل می‌کند [۱۱]. مطالعات اثر کاهنده‌ی گیاهان دارویی متنوع بر قند خون را در رابطه با دیابت مورد مطالعه و بررسی قرار داده‌اند [۱۲] و به‌نظر می‌رسد بتوان با ترکیب گیاهان دارویی و ورزش به نتایج چشم‌گیری دست یافت. مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT به‌دلیل ویژگی‌های آن برای متابولیسم طبیعی مورد نیاز است و عدم تعادل آن منجر به ایجاد چاقی و دیابت نوع دو می‌شود. پیام‌رسانی PI3K/AKT با واسطه ی سیگنال‌های فاکتور رشد در طی رشد ارگانیسم و فرآیندهای حیاتی سلولی مانند هموستاز گلوکز، متابولیسم لیپید، سنتز پروتئین و تکثیر سلول و بقا نقش اصلی در فیزیولوژی سلولی دارد. Akt، یک پروتئین کیناز سرین/ترئونین است که به‌عنوان پروتئین کیناز B[1] (PKB) نیز شناخته می‌شود، عامل اصلی پروتئین در پایین دست مسیر پیام‌رسانی PI3K است. Akt با تنظیم عملکرد بیولوژیکی انسولین با جابجایی انتقال دهنده‌ی گلوکز-٤ (GLUT4)[2]، به غشای پلاسما، نقش مهمی در متابولیسم گلوکز دارد و بدین‌ترتیب واسطه‌ی جذب گلوکز و فسفریلات‌ها برای مهار فعالیت گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ می‌شود و گلیکوژن سنتاز و سنتز گلیکوژن را تقویت می‌کند [١٤ ،١٣]. اثر انسولین بر جذب گلوکز در بافت‌های محیطی از طریق Akt/PKB و از طریق توانایی آن در انتقال GLUTها به غشای سلول است و در نتیجه جذب گلوکز را تسهیل می کند [١٥]. GLUT4 از جمله متغیرهای مؤثر در رابطه با دیابت است که در مطالعات متعددی تحت بررسی قرار گرفته است و در دیابت به شدت بیان آن کاهش می‌یابد و گزارش شده است که گیاهان دارویی توانسته‌اند بیان GLUT4 را در عضله‌ی سولئوس رت های مبتلا شده به دیابت با استرپتوزوسین افزایش و سطح قند خون را کاهش دهد [١٦]. همچنین افزایش بیان ژن و پروتئین GLUT4 در عضله‌ی نعلی رت‌ها در اثر تمرینات استقامتی هم در دیابت نوع یک و هم نوع دو نیز گزارش شده است [١٧]. ولی ترکیب ورزش و استفاده از گیاهان دارویی کمتر مورد توجه قرار گرفته و به نظر می‌رسد با ترکیب این دو می‌توان به نتایج بهتری دست یافت. از جمله گیاهان دارویی که احتمال داده می شود بر قند خون و دیابت اثر گذار باشد گیاه گزنه با نام علمی nettle[3] است و نشان داده شده است که می‌توان از آن برای درمان و بهبود بیماری دیابت استفاده نمود [١٨]. از این‌رو در پژوهش حاضر محقق قصد دارد تا با ترکیب ورزش و مصرف گیاه گزنه تأثیر آن را بر بیماری دیابت بررسی نماید و بنابراین هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی و مصرف گزنه را بر بیان پروتئین و ژن AKT و GLUT4 عضله‌ی نعلی رت‌های نر مبتلا به دیابت است.

روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع تجربی است که پس از تصویب و تأیید در کمیته‌ی اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی به

[1] Protein kinase B
[2] Glucose transporter type 4
[3] Urtica dioica

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

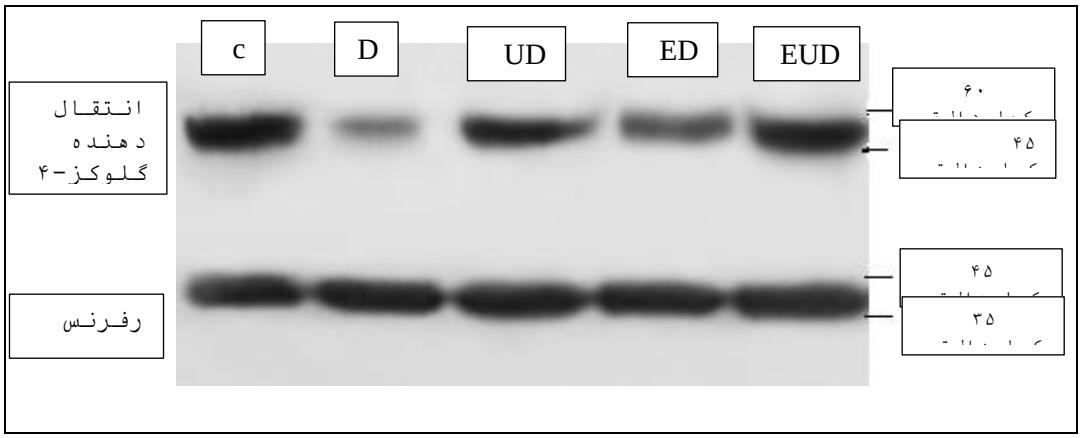
شماره‌ی IR.SSRC.REC.1400.026، تعداد ٤٠ سر رت نر نژاد ویستار، با وزن ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم از مؤسسه رازی تهران خریداری و بعد از سازگاری با محیط آزمایشگاه، مدل دیابت در رت‌ها با تزریق درون صفاقی STZ به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد. از اندازه‌گیری قند خون ۳ روز بعد از تزریق برای تعیین و تشخیص مدل ایجاد شده دیابت، استفاده گردید. پس از تأیید مدل دیابت، رت‌ها به ۵ گروه کنترل (n=۸) (C)، گروه دیابت (n=۸) (D)، گروه گزنه+دیابت (n=۸) (UD)، گروه دیابت+تمرین (n=۸) (ED) و گروه گزنه+ دیابت+تمرین (n=۸) (EUD) تقسیم شدند. رت‌ها در قفس پلی‌کربنات شفاف و تحت چرخه‌ی روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۵± ٦٥٪ و درجه حرارت ۲±۲۵°C نگه‌داری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. جهت آشناسازی با پروتکل تمرین رت‌های گروه تمرین به‌مدت دو هفته بر روی نوارگردان قرار گرفتند و آموزش‌های لازم به آنها داده شد. سپس رت‌ها به مدت هشت هفته پروتکل تمرین هوازی طراحی شده را اجرا کردند. عمل بافت‌برداری، در پایان هفته هشتم و ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، پس از بیهوشی و خونگیری از قلب حیوان، عضله‌ی نعلی رت‌ها استخراج و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال یافته و سپس در دمای منفی ۸۵ درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش، نگه‌داری شد.

جهت بررسی‌های مولکولی در سطح بیان ژن، ابتدا استخراج RNA از بافت عضله‌ی سولئوس طبق پروتکل شرکت سازنده و پرایمر طراحی شده انجام گرفت (جدول ۱). به‌منظور جداسازی mRNA، از کیت RNA-PLUS از شرکت CinnaGen، طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و سپس محلول RNA استخراج شده، با استفاده از کیت RNAseDnaseI از شرکت Fermentas آلمان، از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب کننده‌ی RNA پاکسازی شد. با استفاده از خاصیت جذب نور در طول موج ۲٦۰ نانومتر، درجه‌ی خلوص نمونه‌ی RNA به‌صورت کمی به‌دست آمد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بسیار بالا در مورد تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا پرایمرهای طراحی شده، مربوط به ژن AKT و glut4 مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱)، و سپس بررسی بیان ژن AKT و GLUT4 با استفاده از روش کمی Q-RT PCR انجام شد. برای اندازه‌گیری سطح پروتئین AKT از روش ایمونوهیستوشیمی و برای اندازه‌گیری سطح پروتئین GLUT4 (شکل ۱) از روش وسترن بلات استفاده شد. گلوکز خون نیز با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون اندازه گیری شد. برای سنجش مقاومت انسولین نیز از فرمول HOMA-IR استفاده شد.

جدول ۱- توالی پرایمر glut4 و AKT

rGap R	CAT ACT CAG CAC CAG CAT CAC C
rGap F	AAG TTC AAC GGC ACA GTC AAG G
Akt1 F	CCC TTC CTT ACA GCC CTC AAG
Akt1 R	ACA CAA TCT CCG CAC CGT AG
GLUT4-F	GAGCCTGAATGCTAATGGAG
GLUT4-R	GAGAGAGAGCGTCCAATGTC

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]



شکل ۱- تصاویر مربوط به باند پروتئین glut4 در گروه‌های مورد مطالعه

شماره‌ی آنتی بادی GLUT-4: ab216661، GAPDH: ab181602

پروتکل تمرین

بعد از تأیید دیابت، به‌منظور آشناسازی با پروتکل تمرین، رت های گروه های تمرین، به‌مدت دو هفته ۵ جلسه در هفته با راه رفتن به‌مدت ۵ الی ۱۵دقیقه و سرعت ۵-۱۰ متر بر دقیقه بر روی نوارگردان به تمرین پرداختند. در ادامه پروتکل تمرین هوازی را به‌مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته ساعت ۱۰ الی ۱۲ صبح اجرا کردند. برای رعایت اصل اضافه بار به‌صورت هفتگی به‌طور میانگین ٦ دقیقه (هر روز یک دقیقه) به‌مدت تمرین و ۲ متر در دقیقه به شدت تمرین اضافه شد تا با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن، کل زمان تمرین در هفته هشتم به ۵۹ دقیقه و حداکثر سرعت ۲٦ متر بر دقیقه برسد. شدت تمرین در طول دوره‌ی تمرینی به‌صورت فزاینده از ۱۰ متر بر دقیقه در هفته اول به ۲٦ متر بر دقیقه در هر جلسه در هفته هشتم رسید [۲۰، ۱۹]. مدت تمرین نیز در هفته‌ی اول با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۳ دقیقه سرد کردن ۲۳ دقیقه و در هفته هشتم ۵۹ دقیقه بود. هر جلسه تمرین پس از گرم کردن (با سرعت ۵ الی ۱۰ متر بر دقیقه) ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع می شد و هر ۳ دقیقه، ۲ متر در دقیقه به‌سرعت دستگاه اضافه شد تا به‌سرعت مورد نظر تعیین شده‌ی هفتگی برسد و با همان سرعت تمرین خاتمه می‌یافت و به‌مدت ۳ دقیقه به آرامی سرعت دستگاه کاهش می‌یافت [۲۱].

نحوه‌ی تهیه و مصرف عصاره‌ی گزنه

بعد از خرید گیاه گزنه، گیاه خشک شده تا مرحله تشکیل پودر خرد و آسیاب پیش برده شد. جداسازی چربی دانه به روش سوکسله[1] و با استفاده از حلال هگزان انجام گرفت، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم پودر گیاه گزنه در داخل کاغذ صافی ریخته و در دستگاه سوکسله قرار داده شد و عمل سوکسلاسیون ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به‌مدت یک ساعت انجام گرفت، در ادامه عصاره‌ی هگزانی تهیه شده با دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تغلیظ و سپس در آرکون و در همان دما خشک گردید. پودر حاصل به روش سوکسله با استفاده از حلال متانول با دو بارتکراروصاف کردن توسط کاغذ صافی پردازش و درنهایت برای جدا کردن عصاره از حلال متانول محلول متانولی حاوی عصاره در محیط خلاء و دمای ٤۰ درجه‌ی سانتی‌گراد توسط دستگاه اواپراتور خشک شد و بعد از تبخیر متانول، عصاره‌ی خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع‌آوری، دور از نور و رطوبت نگه داری شد. میزان مصرف عصاره پنج روز در هفته، به‌مدت ۸ هفته و هر جلسه بـه میزان ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ داخل معده بود [۲۲].

روش آماری

پس از جمع آوری داده‌ها و تأیید نرمال بودن داده و پیش فرض های تحلیل واریانس، از نرم‌افزار SPPS نسخه‌ی ۲۵ و آزمون

[1] Soxhlet extractor

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

تحلیل کواریانس و آزمونی تعقیبی توکی جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. همچنین از نرم‌افزار Graph Pad Prism جهت ترسیم نمودارها استفاده گردید. سطح معناداری در کلیه‌ی مراحل P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

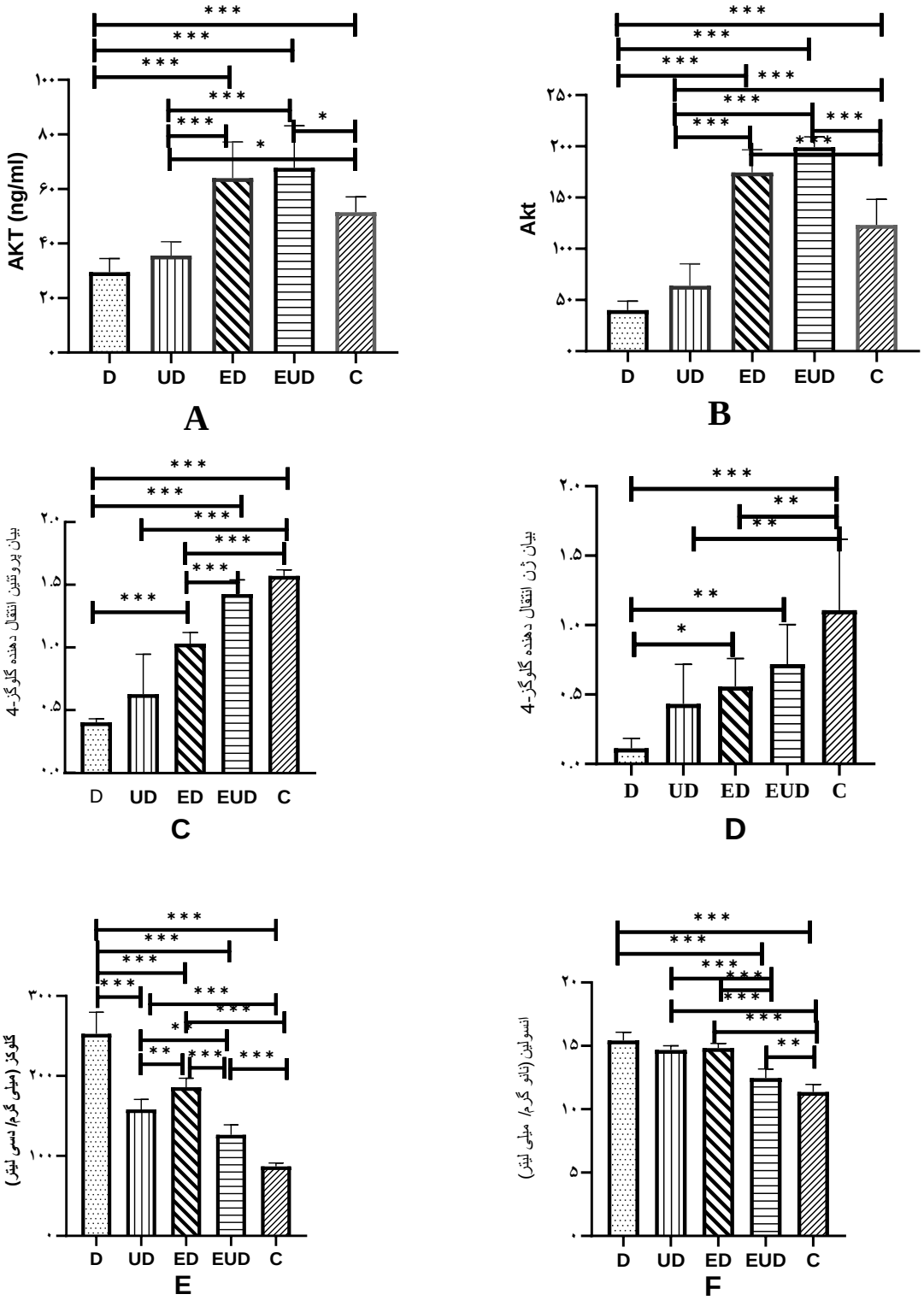
پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس نتایج تحلیل کواریانس تفاوت معناداری را بین گروه‌های مورد مطالعه در سطح پروتئین GLUT4 (P<۰/۰۰۱، F=۱۳۵/۲۱) و بیان ژن GLUT4 (P<۰/۰۰۱، F=۱۱/۵۳)، بیان پروتئین AKT (P<۰/۰۰۱، F=۲۲/۹۵)، بیان ژن Akt (P<۰/۰۰۱، F=۱۰۷/۷۲)، گلوکز پلاسما (P<۰/۰۰۱، F=۱۳۰/۶۹)، انسولین پلاسما (P<۰/۰۰۱، F=۷۹/۱۵) و مقاومت انسولین (P<۰/۰۰۱، F=۲۰۲/۹۱) نشان داد (جدول ۲). در ادامه برای مقایسه دو به دو گروه‌ها و مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید که نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- نتایج آزمون تحلیل کوواریانس برای بیان پروتئین و ژن AKT و انتقال دهنده گلوکز-۴

متغیر	گروه	(انحراف معیار) میانگین	برآورد پارامتر‡		اندازه‌ی اثر*
بیان ژن Akt	دیابت	۴۰/۰ (۸/۸)	†-۸۳/۳		۰/۷
	ورزش+دیابت	۱۷۴/۵ (۲۱/۹)	†۵۱/۲		۰/۵
	گزنه+دیابت	۶۳/۹ (۲۱/۵)	†-۵۹/۴		۰/۵
	ورزش+گزنه+دیابت	۱۹۹/۱ (۱۰/۱)	†۷۵/۸		۰/۷
	کنترل#	۱۲۳/۳ (۲۴/۹)		مرجع	
بیان پروتئین AKT	دیابت	۲۹/۵ (۵/۰)	†-۲۱/۹		۰/۴
	ورزش+دیابت	۶۳/۹ (۱۳/۲)	†۱۲/۵		۰/۲
	گزنه+دیابت	۳۵/۵ (۵/۱)	†-۱۵/۹		۰/۲
	ورزش+گزنه+دیابت	۶۷/۷ (۱۵/۵)	†۱۶/۳		۰/۲
	کنترل	۵۱/۴ (۵/۷)		مرجع	
بیان ژن Glut4	دیابت	۰/۱ (۰/۰)	†-۰/۹		۰/۶
	ورزش+دیابت	۰/۶ (۰/۲)	†-۰/۶		۰/۳
	گزنه+دیابت	۰/۴ (۰/۳)	†-۰/۷		۰/۴
	ورزش+گزنه+دیابت	۰/۷ (۰/۳)	†-۰/۴		۰/۲
	کنترل	۱/۱ (۰/۵)		مرجع	
بیان پروتئین GLUT4	دیابت	۰/۴ (۰/۰)	†-۱/۲		۰/۹
	ورزش+دیابت	۱/۰(۰/۱)	†-۰/۵		۰/۶
	گزنه+دیابت	۰/۶ (۰/۳)	†-۰/۹		۰/۸
	ورزش+گزنه+دیابت	۱/۴ (۰/۱)	-۰/۲		۰/۱
	کنترل	۱/۶ (۰/۱)		مرجع	

‡ ضریب B * Partial eta squared † معنادار نسبت به گروه مرجع # در جدول برآورد پارامتر، گروه کنترل به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شده است و سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل مقایسه شده‌اند.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]



شکل ۲- مقایسه‌ی دو به دو گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی

A: بیان پروتئین AKT، **B:** بیان ژن Akt **C:** بیان پروتئین انتقال دهنده‌ی گلوکز-٤، **D:** بیان ژن انتقال دهنده گلوکز-٤، **E:** گلوکز، **F:** انسولین (علائم گروه‌ها شامل(D): گروه دیابت، (UD): گروه گزنه+دیابت، (ED): گروه دیابت+تمرین، (EUD): گروه گزنه+ دیابت+تمرین و (C): گروه کنترل، تعداد رت در هر گروه ۸ عدد، *** P<۰/۰۰۱، ** ۰/۰۰۱<P<۰/۰۱، * ۰/۰۱<P<۰/۰۵)

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دیابت سطح بیان پروتئین و ژن Akt و GLUT4 را در عضله‌ی نعلی رت‌های نر ویستار کاهش می‌دهد. تمرین استقامتی منجر به افزایش بیان پروتئین و ژن این دو متغیر در عضله‌ی نعلی می‌شود و مصرف گزنه به تنهایی اثر معناداری بر بیان پروتئین و ژن Akt و GLUT4 ندارد. از طرفی ترکیب تمرین و مصرف گزنه بیشترین تأثیر را بر بهبود بیان ژن و پروتئین Akt و GLUT4 دارد (جدول ۲ و شکل ۲). براساس نتایج جدول ۲ و مقدار پارامتر برآورد شده مشاهده می شود که ابتلا به دیابت بیشترین تأثیر را بر تمامی متغیرهای مورد مطالعه در این تحقیق نسبت به گروه کنترل دارد و از طرفی بیشترین میزان بهبودی در اثر تمرین و مصرف گزنه ایجاد شده است. همسو با نتایج پژوهش حاضر افزایش در Akt و GLUT4 در اثر تمرینات ورزشی در عضله‌ی اسکلتی گزارش شده است [۲۳]. اما مصرف عصاره‌ی گزنه و ورزش با همدیگر به میزان بیشتری بیان پروتئین و ژن Akt و GLUT4 را افزایش داده در حدی که دیگر تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه ورزش+گزنه+دیابت مشاهده نمی‌شود و حتی در مورد Akt از گروه کنترل نیز بیشتر می‌شود. مصرف گزنه به تنهایی اثر معناداری بر بیان پروتئین و ژن انتقال دهنده‌ی Akt و GLUT4 ندارد ولی مصرف آن به همراه ورزش اثرگذاری تمرینات ورزشی را نیز افزایش می‌دهد. آنچه به‌نظر می‌رسد اهمیت هم افزایی ورزش و مصرف مکمل‌ها و مواد غذایی همراه با ورزش است که نیاز به تنظیم مناسب و درست شدت و مدت تمرین و استفاده دوز مناسب مکمل‌ها، غذاها و گیاهان دارویی است که می‌تواند ضمن کمک به بهبود وضعیت سلامتی در درمان بسیاری از بیماری‌های مزمن نیز مؤثر واقع شود و این یافته هم‌راستا با دیگر تحقیقات در این زمینه نیز هست [۲۴-۲۶]. در رابطه با نقش مثبت ورزش بر بهبود سلامت کلی قلب و عروق هیچ ابهامی وجود ندارد اما در خصوص بیماران مبتلا به دیابت چالش هایی در خصوص حفظ تعادل قند خون به‌خصوص برای بیمارانی که تجویز انسولین یا داروی‌های تنظیم کننده‌ی قند خون دارند، وجود دارد و ترس از افت قند خون بزرگترین مانع ورزش برای بسیاری از این بیماران است. از این‌رو در این موارد بهبود سریع‌تر بیمار و همچنین روش‌های کنترل قند خون می‌تواند کارایی بیشتری داشته باشد [۲۷]. همسو با نتایج پژوهش حاضر تأثیر گزنه بر کاهش قند خون و عدم تأثیر آن بر انسولین گزارش شده است [۱۸]. در مجموع پیشینه‌ی تحقیق و یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که هم گزنه و هم ورزش از طریق مسیر Akt و GLUT4 تأثیر مثبتی بر روند بهبود جذب گلوکز در عضله ی اسکلتی دارند که این رویداد مستقل از انسولین رخ می‌دهد. در برخی از مطالعات پیشنهاد شده است که افزایش در فسفوریلاسیون Akt در اثر ورزش به‌دلیل افزایش غلظت انسولین است [۲۸]. اما همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد ورزش و یا گزنه به تنهایی تأثیر چندانی بر انسولین ندارند و ترکیب این دو حتی غلظت انسولین را به‌طور معناداری کاهش می‌دهد. که در همین راستا Tsuzuki و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کردند که وضعیت فسفوریلاسیون Akt بسیار حساس به دما است و بنابراین تغییرات دما در هنگام ورزش ممکن است از عوامل مهم برای فعال سازی Akt و اهداف پایین دست آن باشد و آنها پیشنهاد داده‌اند که ترکیبی از افزایش درجه‌ی حرارت بدن و ورزش با تحریک هم‌زمان مسیرهای Akt و AMPK می تواند یک راهبرد مؤثر برای نگه‌داری گلوکز در افراد دیابتی نوع دو باشد [۲۹]. همچنین در مطالعه دیگری افزایش جذب گلوکز و تنظیم گلوکز پس از ورزش را مربوط به ترانسلوکیشن GLUT4 و نه محتوی آن دانسته‌اند و این تغییر را مستقل از افزایش حساسیت انسولین گزارش کرده‌اند [۳۰]. در پژوهش حاضر و در رابطه با قند خون، هم ورزش و هم گزنه موفق‌تر عمل نموده است و این یافته‌ها هم‌سو با پژوهش Ghalavand و همکاران (۲۰۱۷) است که گزارش کردند تمرینات اینتروال و مکمل گزنه روشی مؤثر برای کنترل قند خون و فشار خون است [۲۶]. البته کاهش اینترلوکین-۶ و پروتئین واکنشگر c در بیماران دیابت نوع دو در اثر مصرف عصاره‌ی هیدروالکلی گزنه نیز گزارش شده است [۳۱] که هر دو این عوامل در اثر تمرینات استقامتی نیز اتفاق می‌افتند و این موضوع را تأیید می‌کند که هم ورزش و هم گزنه در یک راستا عمل کرده و استفاده‌ی هم‌زمان این دو می‌تواند تأثیرگذاری بیشتری ایجاد کند. اینکه به جز Akt

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

و GLUT4 چه متغیر و مسیرهای دیگری نقش دارند هنوز جای سوال بوده و از محدودیت‌های پژهش حاضر است. چرا که با اندازه‌گیری سایر مولکول‌های هم‌راستا در این مسیر احتمالاً می توان به نتایج برجسته‌تری دست یافت و گامی مؤثر در درمان بیماری دیابت برداشت.

در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین استقامتی منجر به افزایش بیان پروتئین و ژن Akt و GLUT4 در عضله‌ی نعلی می‌شود و مصرف گزنه به تنهایی اثر معناداری بر بیان پروتئین و ژن Akt و GLUT4 ندارد. از طرفی ترکیب تمرین و مصرف گزنه بیشترین تأثیر را بر بهبود بیان ژن و پروتئین Akt و GLUT4 دارد و نشان از اثر هم‌افزایی ورزش و گیاهان دارویی در بهبود دیابت دارد. از این‌رو به‌نظر می‌رسد بررسی سایر مولکول‌های درگیر در این مسیر می‌تواند راهگشای خوبی برای تهیه‌ی داروهای ضد دیابت و کنترل این بیماری همه‌گیر باشد و نیاز به تحقیقات بیشتر و استفاده از داروهای ترکیبی در این زمینه احساس می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از شرکت بافت و ژن پاسارگارد به خاطر انجام امور آزمایشگاهی و حمایت‌هایشان کمال سپس و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

مآخذ

1. Cai H, Li G, Zhang P, Xu D, Chen L. Effect of exercise on the quality of life in type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *QLRes* 2017; 26(3):515-0.
2. Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Yazdani J. Comparison of Marginal Logistic Model with Repeated Measures and Conditional Logistic Model in Risk Factors Affecting Hypertension. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2011; 21(82):27-5.
3. Gilani N, Kazemnejad A, Zayeri F, Hadaegh F, Azizi F, Khalili D. Anthropometric indices as predictors of coronary heart disease risk: Joint modeling of longitudinal measurements and time to event. *Iran J Public Health* 2017; 46(11):1546.
4. Sigal RJ, Armstrong MJ, Bacon SL, Boule NG, Dasgupta K, Kenny GP, et al. Physical activity and diabetes. *Can J Diabetes* 2018; 42:S54-3.
5. Houlder SK, Yardley JE. Continuous glucose monitoring and exercise in type 1 diabetes: past, present and future. *Biose* 2018; 8(3):73.
6. Eskandari Mehrabadi M, Salemi Z. Comparison of serum nesfatin-1 level in type 1 and 2 diabetic rats. *J Arak Uni Med Sci* 2016; 19(8):1-7.
7. Esmaeili S, Minasian V, Bayat M, Karami H. Effect of Exercise Training on Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor Gene Expression in Cardiac Tissue of Type 2 Diabetic Rats. *J Arak Uni Med Sci* 2018; 21(3):14-3.
8. Sobhani F, Haghshenas R, Rahimi M. Effect of eight weeks aerobic training and supplementation of green tea on apelin plasma levels and insulin resistance in elderly women with type 2 diabetes. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2019; 28(170):84-3.
9. Hillson R. Herbs and diabetes. *Pract Diabetes Int* 2019; 36(5):159-0.
10. Mackenzie RW, Elliott BT. Akt/PKB activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2014; 7:55.
11. Sriwijitkamol A, Coletta DK, Wajcberg E, Balbontin GB, Reyna SM, Barrientes J, et al. Effect of acute exercise on AMPK signaling in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes: a time-course and dose-response study. *Diabetes* 2007; 56(3):836-8.
12. Yeh GY, Eisenberg DM, Kaptchuk TJ, Phillips RS. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes care* 2003; 26(4):1277-4.
13. Sui L, Wang J, Li B-M. Role of the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of the rapamycin signaling pathway in long-term potentiation and trace fear conditioning memory in rat medial prefrontal cortex. *Learning & memory* 2008; 15(10):762-6.
14. Bathina S, Das UN. Dysregulation of PI3K-Akt-mTOR pathway in brain of streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in Wistar rats. *Lipids Health Dis* 2018; 17(1):1-1.
15. Sakamoto K, Holman GD. Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(1):E29-7.
16. Kim J-O, Lee G-D, Kwon J-H, Kim K-S. Anti-diabetic effects of new herbal formula in neonatally

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm* Bull 2009; 32(3):421-6.
17. Lee J, Bruce C, Tunstall R, CAMERON-SMITH D, Hügel H, Hawley J. Interaction of exercise and diet on GLUT-4 protein and gene expression in Type I and Type II rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2002; 175(1):37-4.
18. Ziaei R, Foshati S, Hadi A, Kermani MAH, Ghavami A, Clark CC, et al. The effect of nettle (Urtica dioica) supplementation on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Phytother Res* 2020; 34(2):282-4.
19. Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M, et al. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17(4):237.
20. Haghshenas R, Gilani N, Jafari M. Effect of 16 weeks endurance training and high fat diet on plasma level of interleukins-6, 10 and nesfatin-1 of rats. *Sport Physiol* 2015; 6(24):49-1.
21. Haghshenas R, Ravasi A, Kordi M, Hedayati M, Shabkhiz F, Mohammad Shariatzadeh M. The Effect of a 12-Week Endurance Training on IL-6, IL-10 and Nesfatin-1 Plasma Level of Obese Male Rats. *Sport Biosci* 2013; 5 (4): 109-2.
22. Daher CF, Baroody KG, Baroody GM. Effect of Urtica dioica extract intake upon blood lipid profile in the rats. *Fitoterapia* 2006; 77(3):183-8.
23. Sakamoto K, Arnolds DE, Ekberg I, Thorell A, Goodyear LJ. Exercise regulates Akt and glycogen synthase kinase-3 activities in human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 319(2):419-5.
24. Gilani N, Haghshenas R, Esmaeili M. Application of multivariate longitudinal models in SIRT6, FBS, and BMI analysis of the elderly. *Aging Male* 2019; 22(4):260-5.
25. Toldy A, Stadler K, Sasvári M, Jakus J, Jung KJ, Chung HY, et al. The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. *Brain Res Bull* 2005; 65(6):487-3.
26. Ghalavand A, Motamedi P, Delaramnasab M, Khodadoust M. The effect of interval training and nettle supplement on glycemic control and blood pressure in men withtype 2 diabetes. *Int J Basic Sci Med* 2017; 2(1):33-0.
27. Zaharieva DP, Riddell MC. Insulin management strategies for exercise in diabetes. *Can J Diabetes* 2017; 41(5):507-6.
28. Esbjörnsson M, Rundqvist HC, Mascher H, Österlund T, Rooyackers O, Blomstrand E, et al. Sprint exercise enhances skeletal muscle p70S6k phosphorylation and more so in females than in males. *Acta Physi* 2011.
29. Tsuzuki T, Yoshihara T, Ichinoseki-Sekine N, Kakigi R, Takamine Y, Kobayashi H, et al. Body temperature elevation during exercise is essential for activating the Akt signaling pathway in the skeletal muscle of type 2 diabetic rats. *PloS one* 2018; 13(10):e0205456.
30. Hansen PA, Nolte LA, Chen MM, Holloszy JO. Increased GLUT-4 translocation mediates enhanced insulin sensitivity of muscle glucose transport after exercise. *J Appl Physiol* 1998; 85(4):1218-2.
31. Namazi N, Esfanjani A, Heshmati J, Bahrami A. The effect of hydro alcoholic Nettle (Urtica dioica) extracts on insulin sensitivity and some inflammatory indicators in patients with type 2 diabetes: a randomized double-blind control trial. Pakistan journal of biological sciences: *PJBS* 2011; 14(15):775-9.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]

The Effect of Endurance Training and Nettle Consumption on Protein and Gene Expression of AKT and GLUT4 in Soleus Muscle of Diabetic Male Rats

Mahdi Maghami[1], Saeed Keshavarz*[1], Rouhollah Haghshenas[2], Elham Eftekhari[1]

1. *Department of Sports Sciences and Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran*
2. *Department of Sport Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran*

ABSTRACT

Background: Diabetes is one of the most common chronic diseases in today's society. The aim of this study was to investigate the effect of endurance training and nettle consumption on the protein and gene expression of AKT, GLUT4 and insulin in male of muscle soleus of diabetic rats.

Methods: After adaptation to the environment, 40 male Wistar rats were divided into 5 groups: control (C), diabetes (D), nettle+diabetes (UD), exercise+diabetes (ED) and exercise+nettle+diabetes (EUD). After developing and confirming the diabetes model by injection of STZ, rats in the exercise groups performed an endurance training protocol for eight weeks and rats in the nettle groups consumed nettle extract 5 days a week. After completion of the protocol and extraction of soleus muscle, RT-PCR method was used to measure gene expression, Western blot and immunohistochemically method was used to measure protein expression of glut-4 and AKT respectively and ELIZA method was used to measure glucose and insulin.

Results: The results showed that the protein and genes expression of GLUT4 and AKT in the diabetic group compared to the control group was significantly reduced ($P<0.001$) while the expression of these two variables was significantly increased in the ED and EUD groups ($P<0.001$) that this increase was greater in the EUD group. The effect of nettle alone on the expression of these two variables was not significant. Glucose, insulin and insulin resistance increased significantly in the diabetes group, while these decreased significantly in the ED and EUD groups ($P<0.001$).

Conclusion: The synergist of the combination of nettle and exercise significantly improves the improve of diabetes, while each alone has little effect on diabetes-related variables.

Keywords: Diabetes, Endurance Training, Gene expression, Glut-4

* Department of Sports Sciences and Sport Medicine Research Center, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran. Tel: +989132704683, Fax: +9836702708, E-mail: keshavarz1357@gmail.com

Copyright © 2021 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

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-02-02]