Research Paper

Effects of aerobic training on expression of HNF-4α and G6pase genes in hepatocyte of *streptozotocin-nicotinamide* induced type-2 diabetic male rats

Mehri Ghahramani Dereshki[1], Abdol Ali Banaeifar[1]*, Sajad Arshadi[1], Shahram Soheily[2]

1. Department of Exercise Physiology, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Department of Physical Education and Sport Science, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

*** Corresponding author e-mail: alibanaeifar@yahoo.com**

Citation: Ghahramani Dereshki M, Banaeifar A, Arshadi S, Soheily Sh. Effects of aerobic training on expression of HNF-4α and G6pase genes in hepatocyte of streptozotocin-nicotinamide induced type-2 diabetic male rats. Daneshvar Medicine 2020; 28(2):14-27.

Abstract

Background and Objective: Regulation of hepatic gluconeogenesis genes is one of the important mechanisms for the treatment of type 2 diabetes. The purpose of the present study was to investigate the effects of aerobic training on the expression of HNF-4α and G6Pase genes in the liver tissue of Streptozotocin-Nicotinamide induced type-2 diabetic rats.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 18 male rats weighing mean 220±20 gr in aerobic diabetic and diabetic control groups for 10 weeks. Subjects became initially diabetic with Streptozotocin-Nicotinamide and then randomly assigned to either the diabetic control or aerobic diabetic groups. The training program was 5 times in week/10 weeks/for 15-50 minutes at a speed of 16-26 m/min, with a gradual increase in time and speed. The rats were anesthetized and operated 48 hours after the last training session. Blood sampling and measurement of research indicators were performed. The expression of HNF-4α and G6Pase proteins in liver rats was performed using RT-PCR method. Comparison with independent t-test was performed at the significant level $P < 0.05$.

Results: The expression changes of HNF-4α and G6Pase proteins between the two groups showed no significant difference between diabetic aerobic and control. Aerobic training also decreased serum glucose, significantly increased insulin levels and reduced HOMA-IR in the aerobic training group compared to the control group.

Conclusion: According to the results of this study, the mechanisms involved in improving glycemic profile with aerobic training in diabetic conditions can not be attributed to changes in the expression of HNF-4α and G6Pase genes.

Keywords: Aerobic exercise, HNF-4α, G6Pase, Type 2 diabetic, Streptozotocin-Nicotinamide

Received: 10 Mar 2020
Last revised: 08 June 2020
Accepted: 16 June 2020

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرینات هوازی بر بیان نسبی ژن‌های HNF-4 α و G6Pase بافت کبد موش های صحرایی نر دیابتی نوع ۲ ناشی از نیکوتین آمید-استرپتوزوتوسین

نویسندگان: مهری قهرمانی درشگی[۱]، عبدالعلی بنائی فر[۱*]، سجاد ارشدی[۱]، شهرام سهیلی[۲]

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: عبدالعلی بنائی فر **Email: alibanaeifar@yahoo.com**

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۰
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۹/۳/۱۹
پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۷

چکیده

مقدمه و هدف: تنظیم ژن‌های گلوکونئوژنز کبدی، یکی از سازوکارهای مهم برای درمان دیابت نوع ۲ است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تمرینات هوازی بر بیان ژن‌های HNF-4 α و G6Pase در بافت کبد موش‌های صحرایی نر دیابتی نوع ۲ ناشی از نیکوتین‌آمید-استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش ها: این طرح به صورت مطالعه مداخله‌ای تجربی روی ۱۸ سر موش صحرایی نر با میانگین وزن ۲۲۰±۲۰ گرم، در گروه‌های کنترل دیابتی و دیابتی هوازی به مدت ۱۰ هفته انجام شد. آزمودنی‌ها ابتدا با نیکوتین‌آمید- استرپتوزوتوسین دیابتی شدند سپس در دو گروه کنترل دیابتی و دیابتی هوازی به صورت تصادفی جایگزین شدند. برنامه تمرینی ۱۰ هفته و پنج روز در هفته، به مدت ۵۰-۱۵ دقیقه و سرعت ۲۶-۱۶ متر/دقیقه، با افزایش تدریجی زمان و سرعت بود. موش‌های صحرایی، ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، بی‌هوش و جراحی شدند. خون‌گیری و اندازه گیری شاخص های تحقیق صورت گرفت. میزان بیان پروتئین‌های HNF-4 α و G6Pase کبدی موش‌ها با روش RT-PCR انجام شد. مقایسه با آزمون تی مستقل و در سطح معنی‌داری P>۰/۰۵ انجام پذیرفت.

نتایج: تغییرات بیان پروتئین های HNF-4 α و G6Pase بین دو گروه دیابتی هوازی و کنترل دیابتی تفاوت معنی داری نداشت. همچنین تمرین هوازی باعث کاهش معنی دار گلوکز سرمی، افزایش معنی‌دار سطوح انسولین و کاهش شاخص مقاومت به انسولین در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج تحقیق، ساز و کارهای درگیر در بهبود نیم‌رخ گلیسمیک با تمرینات هوازی در شرایط دیابتی را نمی‌توان به تغییر در بیان ژن‌های HNF-4 α و G6Pase نسبت داد.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، دیابت نوع ۲، ژن HNF-4 α، ژن G6Pase، نیکوتین‌آمید-استرپتوزوتوسین

مقدمه

دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی مزمن بوده و شیوع آن به سرعت در سرتاسر جهان در حال افزایش است، زیرا توسعه اقتصادی و شهرنشینی منجر به تغییر شیوه زندگی می‌شود که با کاهش فعالیت بدنی و افزایش چاقی همراه است (۱). حدوداً ۹۰٪ بیماران مبتلا به دیابت را، بیماران دیابتی نوع ۲ تشکیل می‌دهد (۳،۲). بر اساس داده‌های سازمان بهداشت جهانی در دهه گذشته، یک افزایش جهانی در تعداد افراد مبتلا به دیابت از ۱۰۸ میلیون نفر به ٤٤٢ میلیون نفر وجود داشته است (٤). عوارض ناشی از آن، بار سنگینی را برای سیستم مراقبت‌های بهداشت عمومی به همراه می‌آورد (۵).

حفظ قند خون در محدوده باریک یک هدف مهم در درمان دیابت نوع ۲ است. استراتژی‌های فعلی برای درمان قند خون و مقاومت به انسولین به طور کافی مؤثر نیستند و اغلب با عوارض جانبی نامطلوب همراه هستند؛ بنابراین، روش‌های جدید درمانی برای کاهش قند خون و مقاومت به انسولین به سرعت مورد نیاز است. از مهم‌ترین مکانیسم‌های پاتولوژیک که در دیابت نقش دارند، اختلال در متابولیسم گلوکز کبدی است که متعاقباً منجر به دیابت نوع ۲ می‌شود (٦). از این رو، سرکوب گلوکونئوژنز کبدی و بهبود حساسیت به انسولین برای افزایش جذب گلوکز به بافت‌ها دو روش اصلی با هدف بازیابی سطح طبیعی گلوکز خون برای درمان دیابت نوع ۲ است. در این میان، کاهش تولید گلوکز کبدی با مهار مؤلفه‌های موجود در مسیر گلوکونئوژنز یک راهکار عملی برای کاهش قند خون در دیابت نوع ۲ است (۷). گلوکونئوژنز کبدی در سطوح مختلف، از جمله بیان ژن‌های کلیدی گلوکونئوژنیک، فعالیت آنزیمی و تغییرات پی در پی سوبسترا تنظیم می‌شود. ژن‌های PGC-1α و HNF-4α دو مورد از آنزیم‌های کلیدی و پایین دست داخل سلولی درگیر در گلوکونئوژنز هستند که بیان آنزیم‌هایی مانند G6Pase را تنظیم می‌کنند. گلوکاگن باعث تنظیم بیان PGC-1α می‌شود. PGC-1α می‌تواند باعث افزایش سرعت رونویسی چندین فاکتور رونویسی، از قبیل HNF-4α و FOXO1 شود (۸). به این ترتیب رونویسی آنزیم‌های گلوکونئوژنزی نظیر PEPCK و G6Pase را کنترل می‌کند. G6Pase یکی از آنزیم‌های کلیدی درگیر در گلوکونئوژنز هست که گلوکز ٦ فسفات را به گلوکز تبدیل می‌کند. حضور این آنزیم به بافت اجازه می‌دهد تا گلوکز را به خون بفرستد (۹). HNF-4α، متعلق به گیرنده هورمون استروئیدی و از عوامل رونویسی است که اولین بار با فعل و انفعال پروموتورهای ژنی ویژه رشته تنظیمی و پس از آن کبدی شناخته شد (۱۰). HNF-4α یک فاکتور رونویسی است که در کبد، روده، پانکراس و کلیه بیان می‌شود و نقش مهمی در تنظیم رونویسی کبد و پانکراس دارد (۱۱). انسولین با فسفریلاسیون AKT باعث مهار فعالیت PGC-1α می‌شود. این کار باعث تحریک سنتز گلیکوژن و مهار گلوکونئوژنز می‌شود (۸).

مدیریت سبک زندگی یکی از جنبه‌های اساسی در مراقبت از دیابت است (۱۲). تمرکز بر فعالیت بدنی یک استراتژی سالم در بهینه‌سازی سبک زندگی و تأثیرگذار برای جلوگیری و کاهش تغییرات منفی مرتبط با دیابت نوع ۲ است (۱۳). ورزش هوازی باید یکی از ویژگی‌های کلیدی برنامه‌های تمرینی در دیابت نوع ۲ باشد. هر چند مطالعات بیشتری برای ارزیابی جزئیات اثر نسبی ورزش ضروری است (١٤). شواهد نشان داده است فعالیت بدنی علاوه بر پیشگیری از هیپوگلیسمی در تنظیم اثر داروها در افراد دیابتی نیز می‌تواند کمک کند (۱۲). در بیماران دارای اضافه وزن مبتلا به دیابت نوع ۲ برای دستیابی به کاهش حدوداً هفت درصدی وزن، در کنار رژیم غذایی، فعالیت بدنی با شدت متوسط (مانند راه رفتن سریع) و حداقل ۱۵۰ دقیقه در هفته باید تجویز شود (۱۵). مکانیزم‌های سلولی مولکولی برای افزایش برداشت گلوکز با تمرین ورزشی را می‌توان تا حدودی به تغییرات در بیان و فعالیت پروتئین‌های کلیدی شناخته شده برای تنظیم متابولیسم

گلوکز در عضلات و کبد نسبت داد (۱۸- ۱۶). G6Pase از ژن‌های مهم سیگنالیگ انسولین در بافت کبد و درگیر در دیابت است، مطالعات انجام شده نشان داده است که نقش G6Pase تحت تأثیر PGC-1 α و HNF-4 α در تنظیم دیابت نوع ۲ است (۱۹). بنابراین درک بهتر از نقش HNF-4 α و G6Pase ممکن است افق روشنی از استراتژی درمانی کارآمد را باز کند. یادگاری و همکارانش (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای نشان دادند ورزش هوازی به مدت ۱۲ هفته، سیگنالینگ انسولین را در موش‌های صحرایی دیابتی، بهبود بخشیده و با کاهش بیان ژن HNF-4 α باعث بهبود هیپرگلیسمی ناشتا شد (۲۰).

در سال‌های اخیر، با این وجود که تحقیقات ژنی بسیاری روی موش‌های صحرایی دیابتی صورت گرفته شده است لیکن تأثیر انواع ورزش‌ها در سطح ژن‌ها و مولکول‌های موجود در سلول‌های کبد موش‌های صحرایی دیابتی و مسیرهای سیگنالینگ آن‌ها، کمتر بررسی شده است خصوصاً مسیرهای سیگنالینگ گلوکونئوژنز کبدی در افراد دیابتی در پاسخ به انواع تمرین ورزشی با شدت‌ها و مدت‌های مختلف به طور کامل روشن نیست و مطالعات انجام شده در سطح سلولی و مولکولی در این زمینه کافی نیست. لذا شناسایی اثر تمرینات ورزشی بر گلوکونئوژنز کبدی در افراد دیابتی و چگونگی تنظیم سلولی و مولکولی ژن‌های درگیر در آن و راه‌های ارتباط آن‌ها برای فهم فرآیندهای متابولیکی متعدد در این خصوص، جهت پیدا کردن نقطه عطفی در کمک به افراد دیابتی و افزایش احتمالی طول عمر در بین همه افراد جامعه یک ضرورت انکارناپذیر به نظر می‌رسد.

بنابراین، با توجه به پژوهش‌های اندک در زمینه فعالیت هوازی و ژن‌های درگیر در گلوکونئوژنز کبدی و نقش آن‌ها در دیابت نوع ۲ و ارتباط پیچیده آن‌ها در داخل سلول و پاسخ به برخی ابهامات موجود، با طراحی تحقیق حاضر می‌توان انتظار داشت که ضمن پاسخ به سؤالات مربوطه، گره کوچکی از ناشناخته‌های مسیر سیگنالینگ گلوکونئوژنز کبدی و تأثیرش در چگونگی بهبود گلیسمی افراد دیابتی باز شود. پژوهش حاضر درصدد پاسخگویی به این سؤال مهم است که تمرین هوازی چه تأثیری بر بیان ژن‌های HNF-4 α و G6Pase در کبد موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوسین دارد؟

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه در این تحقیق، مداخله‌ای تجربی است برای انجام پژوهش، تعداد ۱۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با میانگین وزن ۲۰±۲۲۰ گرم، از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهیه شد. از نظر سنی تمامی موش‌های صحرایی مورد مطالعه، یکسان بودند و در شروع پروتکل تحقیق از نظر وزنی نیز همگن‌سازی شدند، جهت جلوگیری از استرس، تغییر شرایط فیزیولوژیکی، سازگاری با محیط، القای دیابت و آشنایی با تمرین ورزشی در گروه تمرین، کلیه موش‌های صحرایی مورد مطالعه به مدت دو هفته در شرایط کنترل شده نور (چرخه‌ی روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته، شروع روشنایی شش صبح و شروع خاموشی شش عصر) با دمای (۳±۲۲ سانتی‌گراد) و رطوبتی در دامنه ۳۰ تا ۶۰ درصدی و تهویه مناسب در حیوان‌خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران نگهداری شدند. برای ایجاد تهویه مناسب، از دستگاه تهویه هوا و از دماسنج و رطوبت‌سنج برای پایش تغییرات شبانه روزی دما و رطوبت استفاده شد. برای نگهداری موش‌های صحرایی، قفس‌هایی از جنس پلکسی‌گلاس با درب توری تهیه شد، تعداد سه سر موش صحرایی در هر قفس به گونه‌ای نگهداری شد که آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشته باشند، غذای همه نمونه‌ها یکسان و به شکل پلت خریداری شده از شرکت خوراک دام پارس بود. برای حفظ نظافت قفس‌ها و جذب ادرار و مدفوع حیوانات از تراشه چوب استفاده شد. همچنین هر دو روز یک‌بار، تراشه‌های چوب تعویض و هر هفته یک بار نیز قفس‌ها مورد شستشو و نظافت قرار می‌گرفت. در سرتاسر دوره تحقیق موش‌ها توسط یک نفر جابجا و

دست‌کاری گردید. همه اصول اخلاقی مطالعه، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران (شماره مجوز: IR.SSRI.REC۱۳۹۷,۳۵۱.) رعایت شد.

ابتدا، القای دیابت نوع ۲ از طریق تزریق درون صفاقی نیکوتین آمید (NA) و استرپتوزوتوسین (STZ) روی موش‌های صحرایی صورت گرفت، برای این منظور، پس از یک شب ناشتایی (۱۲ ساعت)، ابتدا محلول نیکوتین آمید با دوز ۱۱۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن موش صحرایی، به صورت صفاقی تزریق شد؛ پس از ۱۵ دقیقه، محلول خنک تازه تهیه شده STZ در بافر سیترات با ٤/٥= PH نیز به صورت درون صفاقی با دوز ٦٠ میلی گرم بر کیلوگرم تزریق شد (۲۱). برای اطمینان از دیابتی شدن موش‌های صحرایی، ۷۲ ساعت پس از القای دیابت، یک قطره از خون وریدی دمی از موش‌های صحرایی گرفته شد و میزان گلوکز خون ناشتا توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim Corp.) اندازه‌گیری شد و قند خون بالای ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌های صحرایی به دیابت نوع ۲ در نظر گرفته شد (۲۳،۲۲).

در ادامه فرآیند مطالعه، موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در دو گروه کنترل دیابتی (CD) (9=n) (به عنوان مرجع گروه تمرین ورزشی در روش RT-PCR) و دیابتی هوازی (AD) (9=n) (به عنوان گروه با تمرین ورزشی) جایگزین شدند. در مرحله آشناسازی با پروتکل ورزشی، در روز اولِ آشنایی با تمرین، موش‌های صحرایی با سرعت بسیار پایین و یکنواخت (سرعت زیر ۱۰ متر بر دقیقه) شروع به تمرین کردند تا به نوع تمرین عادت کنند. یک هفته بعد از آشنایی، تمرین اصلی آغاز شد. گروه دیابتی هوازی از هفته دوازدهم در یک دوره تمرین هوازی، برای پنج روز در هفته (یکشنبه، دوشنبه، سه‌شنبه، پنج‌شنبه و جمعه) و به مدت ۱۰ هفته شرکت کردند. برنامه تمرینی به مدت ۱۰ هفته و هر هفته ۵ جلسه، با افزایش تدریجی سرعت (١٦ الی ٢٦ متر بر دقیقه) و زمان ۱۵ الی ۵۰ دقیقه، به صورت دویدن روی نوارگردان مطابق الگوی جدول ۱ انجام پذیرفت (٢٤). همه جلسات تمرینی شامل ۳ دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۰-۱۲ متر بر دقیقه، در قالب راه رفتن روی نوارگردان بود.

جدول ۱. پروتکل تمرینات هوازی بر حسب سرعت و زمان در ۱۰ هفته در آزمودنی‌ها

هفته‌های تمرینی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم	نهم	دهم
سرعت (m/min)	۱۶	۱۸	۲۰	۲۰	۲۲	۲۲	۲۴	۲۴	۲۶	۲۶
زمان دویدن (min)	۱۵	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۴۵	۴۵	۵۰	۵۰

لازم به ذکر است در طول جلسات آشنایی و تمرینات، در گروه‌های تجربی با افت آزمودنی‌ها مواجه شدیم (تعداد دو سر در گروه دیابتی هوازی و یک سر در گروه کنترل دیابتی) و تصمیم بر آن شد تا گروه‌های هفت‌تایی را به عنوان حجم نهایی نمونه برای انجام پروتکل در نظر بگیریم، لذا تعداد ١٤ موش در پایان دوره پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس، همه آزمودنی‌ها در هر دو گروه، ٤٨ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین (پس از یک شب ناشتایی حدود ۱۰ تا ۱۲ ساعت)، بیهوش، کشته و جراحی شدند. ابتدا آزمودنی‌ها از طریق تزریق درون صفاقی کتامین ۱۰ درصد، با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلوزین ۲ درصد، با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیهوش شدند و به دنبال آن نمونه‌گیری خون از قلب و استخراج بافت انجام گرفت، بطوری که قفسه سینه حیوان شکافته شد و نمونه خون بطور مستقیم از قلب حیوان گرفته شد. در ادامه بافت کبد موش‌های صحرایی برداشته شد و پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، برای بررسی mRNA پروتئین‌های HNF-4 α و G6Pase با روش RT-PCR، در میکروتیوب های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردید و

برای انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه منتقل شد.

غلظت گلوکز به روش آنزیمی رنگ‌سنجی با فن‌آوری گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت گلوکز شرکت پارس آزمون-تهران با ضریب تغییرات ۱/۸ درصد و حساسیت روش اندازه‌گیری ۵ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر، اندازه‌گیری شد. میزان انسولین سرم از روش الایزا و مطابق با استانداردهای کیت تجاری (Demeditec Diagnostic insulin ELIZA) ساخت آلمان و با ضریب تغییرات درون آزمون و برون آزمون انسولین به ترتیب ۲/٦ و ۲/۸۸ درصد و حساسیت اندازه‌گیری ۱,۷٦ µIU/ml، اندازه گیری شد (۲۵). برای ارزیابی شاخص مقاومت به انسولین، غلظت گلوکز و انسولین ناشتای پلاسمایی با توجه به فرمول مربوطه مورد استفاده قرار گرفت (۲٦).

HOMA-IR (mmol/l)= گلوکز ناشتا (mU/l)× انسولین ناشتا/۲۲/۵

RNA توسط کیت (Rneasy protect mini kit) از شرکت سازنده آلمانی QIAGEN، از سلول‌های کبدی مطابق با دستورالعمل شرکت، استخراج شد. پس از استخراج RNA، برای اطمینان از کافی بودن غلظت RNA در تهیه cDNA، OD آن توسط دستگاه نانودراپ چک شد. تعیین ژن‌های HNF-4 α mRNA و G6Pase mRNA توسط RT-Real time PCR به وسیله سیستم روتورژن ٦۰۰۰ با استفاده از کیت تک مرحله‌ای One Step SYBR TAKARA از شرکت ژاپنی تاکارا (SYBR-green Real Time RT-PCR, TAKARA)، طابق با دستور العمل شرکت انجام گردید. آنالیز منحنی ذوب در پایان چرخه PCR به منظور تعیین اعتبار محصول PCR مورد انتظار صورت گرفت. از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان ژن‌های مورد مطالعه استفاده گردید. جدول شماره ۲ الگوی توالی پرایمرها را نمایش می‌دهد.

جدول ۲. الگوی پرایمرهای ژن‌های HNF-4α و G6Pase و ژن کنترل (RNA Polymrasell) در مطالعه

Genes	Primer sequence	Product size	T m	Gene Bank
HNF4α	For: GCAGAGATGAGCCGTGTGTC Rev: TTGATCTTGCCTGGGTCACTC	159 bp	60	**NM_001191052.1**
G6Pase	For: GGTTGGGATACTGGGCTGTG Rev: TTGTAGATGCCCCGGATGTG	159 bp	60	**NM_001191052.1**
RNA PolymraseII	For: ACTTTGATGACGTGGAGGAGGAC Rev: GTTGGCCTGCGGTCGTTC	164 bp	60	**XM_008759265.1**

جهت کمی‌سازی بیان mRNA ژن‌ها و آنالیز داده‌ها از $\Delta\Delta CT$ استفاده شد.

پس از توصیف، تنظیم و طبقه‌بندی داده‌های خام، در بخش تجزیه و تحلیل استنباطی، از آزمون شاپیروویلک، برای اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد و از آزمون تی مستقل، جهت مقایسه میانگین‌های شاخص‌های مورد نظر، استفاده شد. داده‌های حاصل از تحقیق، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

جدول ۳ مقادیر مربوط به گلوکز سرمی، انسولین سرمی و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) آزمودنی‌ها پس از ۱۰ هفته تمرین هوازی در دو گروه کنترل دیابتی و دیابتی هوازی را نشان می‌دهد. همان طور که در جدول ۳ آورده شده است، میزان گلوکز خون در گروه دیابتی هوازی، حدود ۲۷,۹ درصد کمتر از گروه کنترل بود و نتایج آزمون تی مستقل نشان داد اختلاف معنی‌داری بین میزان گلوکز خون در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل دیابتی وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱) (جدول ۳).

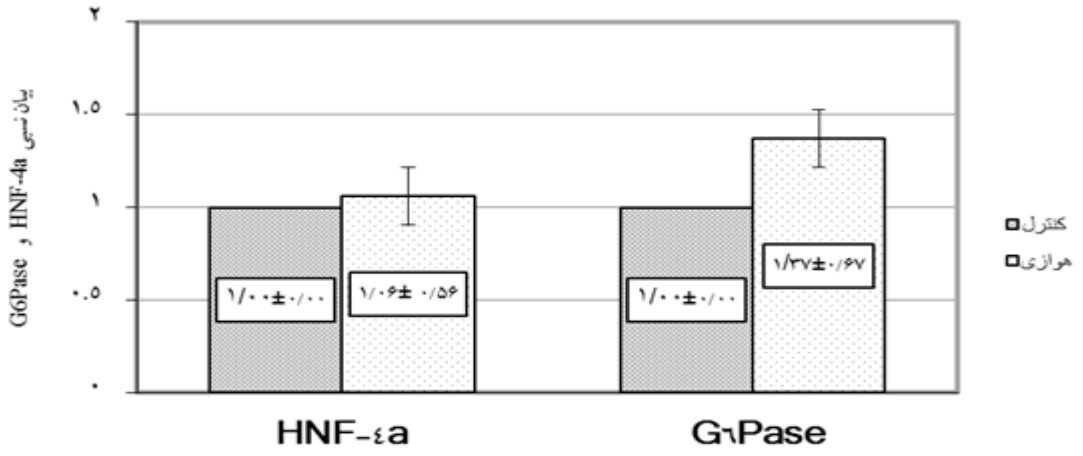
همچنین میزان انسولین خون در گروه دیابتی هوازی حدود ۲۸,۵ درصد بیشتر از گروه کنترل بود و بر پایه آزمون تی مستقل، ۱۰ هفته تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار سطح انسولین سرمی در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل دیابتی شد (P<۰/۰۰۰۱). (جدول ۳). میزان مقاومت به انسولین در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل دیابتی، حدود ۷,٤ درصد کمتر بود. علی‌رغم کاهش مقاومت به انسولین در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل، بر اساس نتایج آزمون تی مستقل، این کاهش معنی‌دار نبود (P= ۰/۲٦٦) (جدول ۳).

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار تغییرات شاخص‌های خون در دو گروه پژوهش، بعد از ۱۰ هفته تمرین هوازی

نتایج و یافته‌ها

شاخص‌ها	گروه کنترل دیابتی (n=۷)	گروه دیابتی هوازی (n=۷)	Sig (p value)
انسولین (μIU/ml)	۴/۳۱ ± ۰/۴۴	۵/۵۴ ± ۰/۴۵	۰/۰۰۱>
گلوکز (mg/dL)	۳۲۶ ± ۱۴	۲۳۵ ± ۱۸	۰/۰۰۱>
شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	۳/۴۸ ± ۰/۴۴	۳/۲۲ ± ۰/۳۹	۰/۲۶۶

مقادیر مربوط به بیان ژن‌های HNF-4 α و G6Pase آزمودنی‌ها پس از ۱۰ هفته تمرین هوازی در دو گروه کنترل دیابتی و دیابتی هوازی در نمودار ۱ ارائه شده است. داده‌های نمودار ۱ نشان می‌دهد میزان بیان ژن HNF-1 α متعاقب ۱۰ هفته تمرین هوازی در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل دیابتی، افزایش ٦ درصدی داشت. بر پایه آزمون تی مستقل، بین گروه‌های پژوهش در بیان ژن HNF-4α (P = ۰/۷۷۸) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. به عبارتی، ۱۰ هفته تمرین هوازی بیان ژن HNF-4 α را در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ متأثر نمی‌کند (نمودار ۱). در رابطه با بیان ژن G6Pase داده‌ها حاکی از آن است که میزان بیان ژن G6Pase در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. میزان بیان این ژن در گروه دیابتی هوازی با ۳۷ درصد افزایش نسبت به گروه کنترل دیابتی مواجه بود. بر پایه آزمون تی مستقل، بین گروه‌های پژوهش در بیان ژن G6Pase (P = ۰/۲۸۸) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. به عبارتی، ۱۰ هفته تمرین هوازی بیان ژن G6Pase را در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ متأثر نمی‌کند (نمودار ۱).



نمودار ۱: سطوح نسبی بیان HNF-4a و G6Pase در گروه دیابتی هوازی نسبت به کنترل دیابتی متعاقب ۱۰ هفته تمرین هوازی.

(تغییرات به صورت نسبی، نسبت به گروه کنترل دیابتی و بدون واحد می‌باشد)

بحث و نتیجه‌گیری

فعالیت ورزشی به عنوان یکی از روش‌های مؤثر شناخته شده در کنترل سطح گلوکز خون در افراد دیابتی است که این تأثیر در هوموستاز گلوکز، از طریق عوامل و مکانیسم‌های مختلفی از جمله کاهش در تولید گلوکز کبدی صورت می‌پذیرد (۲۹-۲۷). شناخت این مکانیسمها حائز اهمیت است. اولین یافته مطالعه حاضر بیانگر این بود که ۱۰ هفته تمرین هوازی در موش‌های صحرایی نر دیابتی باعث کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا و افزایش معنی‌دار میزان انسولین سرم موش‌های صحرایی دیابتی شد، همچنین باعث کاهش ۷,٤ درصدی میزان مقاومت به انسولین در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل شد که این کاهش معنی‌دار نبود.

همسو با مطالعه حاضر، اغلب تحقیقات افزایش معنی‌داری را در سطوح انسولین پلاسما و کاهش معنی‌داری در سطوح گلوکز ناشتا در بیماران مبتلا به دیابت را با مداخله تمرین ورزشی گزارش کرده‌اند (۱٤،۲۱،۲٤،۳۰و۳٤). ولی در برخی تحقیقات کاهش مقاومت به انسولین مثل مطالعه حاضر معنی‌دار نبود و این اختلاف ممکن است با نمونه‌های متفاوت اندازه‌گیری و همچنین نحوه دیابتی کردن آزمودنی‌ها، شرایط تمرینی، شدت و مدت زمان تمرین توجیه شود. دیابتی کردن موش‌های صحرایی با تزریق STZ به همراه مصرف غذای پر چرب از طریق بالا بردن مقاومت به انسولین باعث ایجاد دیابت نوع ۲ می‌شود ولی در تحقیق حاضر که از طریق تزریق نیکوتین‌آمید به همراه تزریق STZ، دیابت نوع ۲ ایجاد شده است دیابت نوع ۲ از طریق تحلیل ناقص سلول‌های بتای پانکراس ایجاد می‌شود یعنی افزایش مقاومت به انسولین عامل ایجاد دیابت نبوده و اغلب نمی‌توان علت کاهش گلوکز خون (با روش‌های مختلف) را به کاهش مقاومت به انسولین نسبت داد لذا در مطالعه حاضر نیز تغییرات مقاومت به انسولین معنی‌دار نبود.

گلوکونئوژنز کبدی در محدوده باریک توسط تعدادی از سیگنال‌های هورمونی که به سیگنال‌های مولکولی داخل سلولی منتقل می‌شود، تنظیم می‌گردد. PGC-1a، به عنوان یک فعال‌کننده رونویسی، از طریق HNF-4a و Foxo1 باعث هماهنگ کردن بیان PEPCK، فروکتوز-۱،٦ بیسفسفاتاز و G6Pase و تحریک گلوکونئوژنز کبدی می‌شود (۳۵). به طور خلاصه در حالت ناشتا، گلوکاگن از طریق مسیر سیگنالینگ PG/Adenylate cyclase/cAMP/PKA باعث آزادسازی زیر واحد کاتالیکی پروتئین کیناز (PKA) و انتقال آن به هسته شده، CREB در Ser 133 را فسفریله می‌کند. CREB فسفریله شده، CBP را به پروموتور PGC-1 α متصل کرده و بیان آن را تنظیم می‌کند. PGC-1 α می‌تواند از طریق HNF-4 α و FOKO1 رونویسی آنزیم‌های گلوکونئوژنزی نظیر PEPCK و PDHK4 و G6Pase را کنترل کند. با این‌حال پس از وعده غذایی، انسولین با فسفریلاسیون AKT، باعث فسفریلاسیون PGC-1 α شده و فعالیت آن را مهار می‌کند. این کار باعث تحریک سنتز گلیکوژن و مهار گلوکونئوژنز می‌شود (۸). یافته اصلی و برجسته مطالعه حاضر عدم تغییرات معنی‌دار در بیان ژن‌های HNF-4a و G6Pase در کبد موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه کنترل، متعاقب ۱۰ هفته تمرین هوازی بود، بر اساس نتایج مطالعاتی که قبلاً ذکر شده است دو ژن HNF-4a و G6Pase از ژن‌های مهم مسیر گلوکونئوژنز کبدی هستند و عدم تغییرات معنی‌دار در بیان آن‌ها با وجود کاهش گلوکز ناشتا و بهبود گلیسمی در این مطالعه، حاکی از عدم حساسیت این شاخص‌ها نسبت به ۱۰ هفته تمرین هوازی در موش‌های صحرایی دیابتی است. جدای از سایر عوامل مؤثر، کاهش گلوکز موش‌های صحرایی دیابتی در پاسخ به تمرینات هوازی در مطالعه حاضر را شاید بتوان به نوعی به تغییرات سایر ژن‌های درگیر در مسیر گلوکونئوژنز از قبیل ژن‌های PGC-1 α و PEPCK در بافت کبد نسبت داد، چراکه در مطالعه قهرمانی و همکارانش در سال ۲۰۲۰ که اثر ۱۰ هفته تمرین هوازی را روی بیان PGC-1 α و

PEPCK در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی بررسی کردند کاهش بیان ژن‌های مذکور مشاهده شد، کاهش بیان نسبی PGC-1 α و PEPCK در پاسخ به تمرینات هوازی در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشتند میزان گلوکز ناشتا را کاهش داد (۳٦)، البته در این مطالعه افزایش میزان انسولین سرمی نیز در گروه دیابتی هوازی نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود و می‌تواند یکی از علل کاهش گلوکز خون باشد، هر چند یکسری از مطالعات بیان کرده‌اند سطوح بالاتر آمادگی جسمانی تحت تأثیر تمرینات ورزشی و مستقل از عملکرد انسولین، اثر ویژه‌ای در کاهش و تنظیم قند خون دارند (۳۸،۳۷). یادگاری و همکارانش در سال ۲۰۱۷ در تحقیقی تأثیر تمرین هوازی به مدت ۱۲ هفته، هر هفته ۵ جلسه با زمان ۱۰ تا ۵۰ دقیقه و سرعت ۱۸ تا ۲٦ متر در دقیقه را بر بیان HNF-4 α کبدی در موش‌های صحرایی نر دیابتی بررسی کردند و مشاهده کردند بیان HNF-4 α پس از تمرین هوازی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت، به عبارتی بر اساس نتایج مطالعه مذکور می‌توان گفت کاهش بیان ژن HNF-4 α باعث کاهش هیپرگلیسمی ناشتا شد که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد و این تناقض می‌تواند احتمالاً ناشی از مدت و شدت تمرین هوازی باشد (۲۰). این تناقضات در پاسخ به یک دوره تمرینی خاص، نشان دهنده تداخل پیچیده در میان مسیرهای سیگنالینگ است. یادگاری و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در تحقیقی روی موش‌های صحرایی دیابتی، تأثیر ۱۲ هفته تمرین HIIT را بر میزان بیان ژن HNF-4 α کبدی بررسی کردند و نشان دادند ۱۲ هفته تمرین HIIT موجب کاهش معنی‌دار میزان قند خون ناشتا و افزایش قابل ملاحظه انسولین و همچنین کاهش بیان ژن HNF-4 α در موش‌های صحرایی گروه HIIT نسبت به گروه کنترل شد (۳۹). تناقض در نتایج بیان ژن HNF-4 α تحت تأثیر تمرین ورزشی در مطالعه یادگاری با تحقیق حاضر می‌تواند به علت تنوع در نوع تمرین ورزشی و مدت زمان آن باشد. تحقیق حاضر تأثیر تمرینات هوازی را روی گلوکونئوژنز موش‌های صحرایی دیابتی بررسی کرده و یادگاری تأثیر تمرین HIIT را روی گلوکونئوژنز موش‌های صحرایی دیابتی مطالعه کرده است ولیکن مغایرت در نتایج به دست آمده را می‌توان به نوع تمرین ورزشی نسبت داد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که تمرین ورزشی حاد، می‌تواند حساسیت به انسولین در عضله موش‌های چاق را بهبود بخشیده و با کاهش بیان HNF-4 α در کبد موش‌های مقاوم به انسولین، هوموستاز گلوکز را بهبود بخشد (٤۰). شاید علت این تناقض را در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر بتوان به وجود مقاومت به انسولین در آزمودنی‌ها نسبت داد، احتمال دارد در صورتی‌که علت دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین باشد حساسیت بیان این ژن حتی با فعالیت حاد ورزشی هم تحت تأثیر قرار بگیرد که خود این موضوع نیاز به انجام مطالعات بیشتری را می‌طلبد.

در اهمیت فیزیولوژیک اختلال در تنظیم ژن‌های گلوکونئوژنز کبدی بیان شده است که افزایش گلوکز از طریق گلوکونئوژنز، یا از طریق بیان بیش از حد PEPCK و G6Pase برای خلاصه کردن نقایص متابولیک مشاهده شده در دیابت نوع ۲ کافی است (٤۱). تحقیقی که تأثیر ورزش بر بیان G6Pase در بافت کبد افراد دیابتی را بررسی کند نادر هست ولی در سایر تحقیقات انجام شده بدون حضور تمرین ورزشی ارتباط G6Pase با سایر ژن‌ها بیان شده است. در مطالعه‌ای که ری و همکارانش در سال ۲۰۰۳ در هپاتوسیت‌های موش‌های صحرایی انجام دادند نشان دادند منطقه بین ۱۸۰ و ۲۹۸ از پروموتر G6Pase حاوی چندین سایت اتصال HNF-4 α است که مسئول فعال‌سازی G6Pase تحت تأثیر PGC-1 α می‌باشد (٤۲). جالب توجه است، در همان سال، گزارش شده است که HNF-4 α این فعال‌سازی را به وسیله اتصال به منطقه بین ٦٤ و ۷٦ از پروتئین G6Pase موش عهده‌دار شده است (٤۳). علاوه بر سایت اتصال HNF-

α 4 بین ٦٣ و ٧٦، یک توالی bp٣ هم توسط همان تیم کشف شد که یک سایت حیاتی برای فعالیت HNF-4 α است. علاوه بر این، بسیاری از پروتئین‌های رونویسی دیگر مانند DAX-1 (حساس به دوز)، HNF-6 و FOXO1 نیز به تنظیم رونویسی ژن گلوکونئوژنیک توسط PGC-1 α / HNF-4 α کمک می‌کنند (٨). بر اساس این مطالعات شاید علت احتمالی عدم تغییرات معنی‌دار در بیان ژن G6Pase در بافت کبد موش‌های صحرایی نر دیابتی را بعد از ١٠ هفته تمرین هوازی، بتوان به نبود تغییرات معنی‌دار در HNF-4a بافت کبدی همان آزمودنی‌ها نسبت داد.

با توجه به نتایج، مشاهده می‌شود هر یک از انواع تمرینات، بر اساس برونده عملکردهای مختلف با سازگاری‌ها و مکانیسم‌های ملکولی مختلفی، باعث فعال سازی یا مهار مسیرهای ویژه و زیرمجموعه‌های خاصی می‌شود ولی می‌توان گفت افرادی که شیوه زندگی فعال دارند، می‌توانند از بروز خطرات ابتلا به اختلال تحمل گلوکز، مقاومت به انسولین و دیابت نوع ٢ جلوگیری کنند. شواهد کافی وجود دارد که ورزش هوازی یک روش ورزشی مناسب برای کنترل و جلوگیری از دیابت نوع ٢ است (٤٤). در خصوص تعمیم‌پذیری نتایج مطالعه، پیشنهاد می‌شود که تمرینات هوازی می‌تواند در بررسی اثربخشی و بهبود گلوکونئوژنز در موش‌های صحرایی دیابتی استفاده شود. در تحقیق حاضر فقط از یک نوع تمرین (تمرین هوازی پنج روز در هفته، به مدت ٥٠-١٥ دقیقه و سرعت ٢٦-١٦ متر/دقیقه) استفاده شده است که می‌تواند از محدودیت‌های این مطالعه باشد. با این حال به نظر می‌رسد برای درک بیشتر و بهتر واکنش‌های سیگنالینگ گلوکونئوژنز کبدی باید از تحقیقات حیوانی و بیان ژنی بیشتری تحت تأثیر انواع تمرینات بهره جست.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ١٠ هفته تمرین هوازی، می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار گلوکز ناشتا و افزایش انسولین خون شود و این تنظیم و کنترل گلیسمی و بهبود مقادیر گلوکز و انسولین خون را بدون تأثیرپذیری در بیان ژن‌های HNF-4a و G6Pase انجام داده است. لذا برای چینش ژن‌های مختلف و ارتباط پیچیده آن‌ها در مسیر گلوکونئوژنز کبدی تحت تأثیر انواع تمرینات ورزشی با شدت‌های مختلف، نیاز به بررسی‌های بیشتری می‌باشد. نتایج به دست آمده آگاهی ما را در مورد سازوکارهای ناشی از گلوکز حاصل از گلوکونئوژنز کبدی در دیابت و تمرین هوازی افزایش می‌دهد و این مطلب را بیان می‌سازد که در این نوع شدت تمرین هوازی باید دنبال مسیر دیگری از گلوکونئوژنز بود تا بتوان در اهداف احتمالی درمانی برای کاهش گلوکز خون در دیابت نوع ٢ از آن استفاده نمود. با این حال با توجه به تحقیقات و بررسی‌های اندک در حیطه سلولی و مولکولی دیابت و تمرین ورزشی و به دلیل محدود بودن مطالعه حاضر در این حوزه، برای روشن شدن سایر سازوکارهای درگیر، باید مطالعات آزمایشگاهی و میدانی بیشتری صورت گیرد که احتمالاً می‌تواند پازل‌های چیده نشده مولکولی و ژنی که به دیابت در بافت‌های هدف انسولین کمک می‌کند را شناسایی کند و باعث تکامل درک ما از ارتباط بین ورزش و بهبود دیابت برسد. تحقیقاتی که در آینده برای فهم مکانیزم‌های درگیر در انواع ورزش‌ها با رویکرد کنترل گلیسمی صورت خواهد گرفت، ممکن است باعث ایجاد راهکارهای جدیدی در تنظیم وضعیت حساسیت به انسولین در افراد مبتلا به دیابت نوع ٢ شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر، مستخرج از رساله‌ی دکترای فیزیولوژی ورزشی به کد شناسایی ١٤١٢١٤٠٧٩٧١٠٠٩ مصوب گروه فیزیولوژی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب می‌باشد، لذا بدین وسیله از مسئولین و اساتید محترم دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد تهران جنوب خصوصاً گروه فیزیولوژی و همچنین تمامی افرادی که زمینه انجام تحقیق حاضر را فراهم نمودند، تقدیر و تشکر می‌کنم.

منابع

1. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice 2011; 94(3): 311-21.
2. Xu Y, Wang L, He J, Bi Y, Li M, Wang T, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. Journal of the American Medical Association 2013; 310(9): 948-59.
3. Wang L, Gao P, Zhang M, Huang Z, Zhang D, Deng Q, et al. Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013. Journal of the American Medical Association 2017; 317(24): 2515-23.
4. Organization WH. World malaria report 2015: World Health Organization 2016.
5. Li B, Fan J, Chen N. A novel regulator of type II diabetes: MicroRNA-143. Trends in Endocrinology & Metabolism 2018; 29(6): 380-8.
6. Cam ME, Hazar-Yavuz AN, Yildiz S, Ertas B, Adakul BA, Taskin T, et al. The methanolic extract of Thymus praecox subsp. skorpilii var. skorpilii restores glucose homeostasis, ameliorates insulin resistance and improves pancreatic β-cell function on streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 2019; 231: 29-38.
7. Moore MC, Coate KC, Winnick JJ, An Z, Cherrington AD. Regulation of hepatic glucose uptake and storage in vivo. Advances in Nutrition 2012; 3(3): 286-94.
8. Wu H, Deng X, Shi Y, Su Y, Wei J, Duan H. PGC-1α, glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus. Paediatric Endocrinology 2016; 229(3): R99-R115.
9. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. Cell 1998; 92(6): 829-39.
10. Sladek FM, Zhong W, Lai E, Darnell J. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. Genes & Development 1990; 4(12b): 2353-65.
11. Odom DT, Zizlsperger N, Gordon DB, Bell GW, Rinaldi NJ, Murray HL, et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. Science 2004; 303(5662): 1378-81.
12. Association AD. Standards of medical care in diabetes—2018 abridged for primary care providers. Clinical Diabetes 2018; 36(1): 14.
13. Marmett B, Nunes R. Resistance and aerobic training in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes, Metabolic Disorders & Control 2017; 4(5): 00126.
14. Baker M, George J, Johnson N, Keating SE, O'Connor H, Sabag A, et al. Exercise and ectopic fat in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Journal of Diabetes and Metabolism 2017; 43: 195-2.10.
15. Association AD. Standards of medical care in diabetes—2019 abridged for primary care providers. Clinical Diabetes 2019; 37(1): 11-34.

16. Aoi W, Ichiishi E, Sakamoto N, Tsujimoto A, Tokuda H, Yoshikawa T. Effect of exercise on hepatic gene expression in rats: a microarray analysis. Life Sciences 2004; 75(26): 3117-28.

17. Chibalin AV, Yu M, Ryder JW, Song XM, Galuska D, Krook A, et al. Exercise-induced changes in expression and activity of proteins involved in insulin signal transduction in skeletal muscle: differential effects on insulin-receptor substrates 1 and 2. Proceedings of the National Academy of Sciences 2000; 97(1): 38-43.

18. Ropelle ER, Pauli JR, Prada PO, De Souza CT, Picardi PK, Faria MC, et al. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. Journal of Physiology 2006; 577(3): 997-1007.

19. Corona JC, Duchen MR. PPARγ and PGC-1α as therapeutic targets in Parkinson's. Neurochemical Research 2015; 40(2): 308-16.

20. Yadegari E, Banaeifar AA, Azarbayjani MA, Arshadi S. The Effects of Aerobic Training on HNF-4 α Gene Expression and HOMA-IR of Type 2 Diabetic Male Wistar Rats. Sport Physiology & Management Investigations 2017; 10(2): 73-84. (Persian)

21. Rashidi M, Soori R, Choobineh S, Ravasi AA, Baesi K. The effect of an aerobic exercise on MTNR1B gene expression, insulin and glucose levels in pancreas of induced diabetic rat with streptozotocin-nicotinamide. Knowledge and health 2016; 11(3): 40-48.

22. de Bem GF, da Costa CA, Cordeiro VdSC, Santos IB, de Carvalho LCRM, de Andrade Soares R, et al. Euterpe oleracea Mart.(açaí) seed extract associated with exercise training reduces hepatic steatosis in type 2 diabetic male rats. Journal of Nutritional Biochemistry 2018; 52: 70-81.

23. Gundala NK, Naidu VG, Das UN. Amelioration of streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in Wistar rats by arachidonic acid. Biochemical and Biophysical Research Communications 2018; 496(1): 105-13.

24. Soori R, Sohrabi F, Choobineh S, RAVASI A, Baesi K, Abbasian S. The Effect of 12-Week Aerobic Training on Protein Tyrosine Phosphatase 1B Gene Expression and Insulin Resistance in Diabetic Rats. Arak Medical University Journal 2017; 19(116): 57-67.

25. Nazem F, Farhangi N, Neshat-Gharamaleki M. Beneficial effects of endurance exercise with Rosmarinus officinalis labiatae leaves extract on blood antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. Canadian Journal of Diabetes 2015; 39(3): 229-34.

26. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 1985; 28(7): 412-9.

27. Salehi OR, Hoseini A. The effects of endurance trainings on serum bdnf and insulin levels in streptozotocin-

induced diabetic rats. Shefaye Khatam 2017; 5(2): 52-61.

28. Stephanie-May R, John WS, Tuomo R, Claude B, Marie-Claude V, Louis P. Interaction between HNF4A polymorphisms and physical activity in relation to type 2 diabetes-related traits: results from the Quebec Family Study. Diabetes Res Clin Pract 2009; 84(3): 211-8.

29. Hoene M, Lehmann R, Hennige AM, Pohl AK, Häring HU, Schleicher ED, et al. Acute regulation of metabolic genes and insulin receptor substrates in the liver of mice by one single bout of treadmill exercise. Journal of Physiology 2009; 587(1): 241-52.

30. Cocks M, Shaw CS, Shepherd SO, Fisher JP, Ranasinghe A, Barker TA, et al. Sprint interval and moderate-intensity continuous training have equal benefits on aerobic capacity, insulin sensitivity, muscle capillarisation and endothelial eNOS/NAD (P) Hoxidase protein ratio in obese men. Journal of Physiology 2016; 594(8): 2307-21.

31. Matin Homaee H, Piri M. The effect of eight weeks of aerobic training on the expression of mir-126 and capillary density in the cardiac tissue of diabetic male rats. Iranian Journal of Diabetes and Metabolism 2016; 15(6): 339-50.

32. Nojima H, Yoneda M, Watanabe H, Yamane K, Kitahara Y, Sekikawa K, et al. Association between aerobic capacity and the improvement in glycemic control after the exercise training in type 2 diabetes. Diabetology & Metabolic Syndrome 2017; 9(1): 63.

33. Slentz CA, Tanner CJ, Bateman LA, Durheim MT, Huffman KM, Houmard JA, et al. Effects of exercise training intensity on pancreatic β-cell function. Diabetes Care 2009; 32(10): 1807-11.

34. Alaca N, Uslu S, Gulec Suyen G, Ince U, Serteser M, Kurtel H. Effects of different aerobic exercise frequencies on streptozotocin–nicotinamide-induced type 2 diabetic rats: Continuous versus short bouts and weekend warrior exercises. Journal of Diabetes 2018; 10(1): 73-84.

35. Kalhan SC, Ghosh A. Dietary iron, circadian clock, and hepatic gluconeogenesis. Diabetes 2015; 64(4): 1091-3.

36. Ghahramani M, Banaeifar A, Arshadi S, Soheily S. Effects of Aerobic training on expression of PGC-1α & PEPCK genes in hepatocyte of streptozotocin-induced diabetic male rats. Journal of Urmia University of Medical Sciences 2020; 30(10): 791-802. (Persian)

37. Church TS, Cheng YJ, Earnest CP, Barlow CE, Gibbons LW, Priest EL, et al. Exercise capacity and body composition as predictors of mortality among men with diabetes. Diabetes Care 2004; 27(1): 83-8.

38. Wei M, Gibbons LW, Kampert JB, Nichaman MZ, Blair SN. Low cardiorespiratory fitness and physical inactivity as predictors of mortality in men with type 2 diabetes. Annals of Internal Medicine 2000; 132(8): 605-11.

39. Yadegari E, Banaeifar AA, Azarbayjani MA, Arshadi S. The Effects of High Intensity Interval

Training on HNF-4 α Gene Expression in Liver Tissue of Type 2 Diabetic Male Wistar Rats. Iranian Journal of Diabetes and Obesity 2018; 10(4): 210-5.

40. De Souza CT, Frederico MJ, Da Luz G, Cintra DE, Ropelle ER, Pauli JR, et al. Acute exercise reduces hepatic glucose production through inhibition of the Foxo1/HNF-4α pathway in insulin resistant mice. Journal of Physiology 2010; 588(12): 2239-53.

41. Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. Diabetes & Metabolism 2004; 30(5): 398-408.

42. Rhee J, Inoue Y, Yoon JC, Puigserver P, Fan M, Gonzalez FJ, et al. Regulation of hepatic fasting response by PPARγ coactivator-1α (PGC-1): requirement for hepatocyte nuclear factor 4α in gluconeogenesis. Proceedings of the National Academy of Sciences 2003; 100(7): 4012-7.

43. Boustead JN, Stadelmaier BT, Wiebe PO, Svitek CA, Oeser JK, O'brien RM. Hepatocyte nuclear factor-4alpha mediates the stimulatory effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator-1alpha (PGC-1alpha) on glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene transcription in H4IIE cells. Biochemical Journal 2003; 369(1): 17-22.

44. Kirwan Jp, Sacks J, Nieuwoudt S. The essential role of exercise in the management of type 2 diabetes. Cleveland Clinic Journal of Medicine 2017; 84(7 Suppl 1): S15.