مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۵، شماره ۱
فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۱، صفحه ۱۱۵-۱۰۱

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 65, No.1, P: 101-115
Apr-May 2022

مقاله اصلی

تأثیر تمرین تناوبی و عسل آویشن بر مسیر miR-423-5p - FAM3A– AKt2 در بافت کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۷- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۶

مرجان عبدی اردکانی [۱]
عبدالعلی بنایی فر [۲*]
سجاد ارشدی [۳]
حسین عابدنطنزی [۴]

[۱]دانشجوی دکتری، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران جنوب، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲] هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشیار
[۳] هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، استادیار
[۴]گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه ازاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران.

Email: banaeifar_a@iau.ac.ir

خلاصه

مقدمه: میکرو RNAها در ایجاد دیابت نوع ۲ و بروز عوارض آن دخالت دارند. هدف پژوهش حاضر مطالعه تأثیر تمرین تناوبی و عسل آویشن بر چگونگی بیان ژن‌های مسیر miR-423-5P- FAM3A-AKt2 کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ بود.

روش کار: در این پژوهش،۳۶ سرموش نرویستار پس از۲۰هفته تغذیه با رژیم غذایی پرچرب و سپس تزریق استرپتوزتوسین به میزان ۲۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم برای القا دیابت نوع ۲، به چهار گروه دیابتی با کبد چرب: کنترل، تمرین تناوبی، عسل آویشن و تمرین همراه با عسل تقسیم شدند. هشت هفته تمرین تناوبی، پنج جلسه در هفته برای گروه‌های تمرینی انجام و عسل آویشن روزانه با دُز ۳ گرم/ کیلوگرم به روش گاواژ به موش‌های گروه مداخله تغذیه‌ای خورانده شد. میزان بیان ژن‌های miR-423-5P، mRNA FAM3Aو mRNA AKt2 کبد با استفاده از روش RT-PCR و بکارگیری کیت‌های مخصوص اندازه گیری و یافته‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و آزمون تعقیبی بونفرونی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

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

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تناوبی و مصرف عسل آویشن هر دو به تنهایی وبه صورت تعاملی با تأثیر بیشتر، بتوانند به ایجاد تغییرات مطلوب در بیان ژن‌های مذکور کبد موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۲ کمک کنند.

کلمات کلیدی: دیابت نوع ۲، miR-423-5P-FAM3A-AKt2، تمرین تناوبی، عسل آویشن

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن در سراسر جهان است و بر اساس تخمین فدراسیون بین‌المللی دیابت از هر ۱۱ نفر بزرگسال ۱ نفر دارای دیابت ملیتوس است که ۹۰ درصد آنان به نوع ۲ این بیماری مبتلا هستند. کارشناسان پیش‌بینی می‌کنند که شیوع دیابت تا سال ۲۰۴۰ از ۴۱۵ میلیون نفر به ۶۴۲ میلیون افزایش یابد(۱). دیابت نوع ۲ 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 (۳،۲).کبد مرکز متابولیسم و واسطه هموستاز انرژی است (۴). در طی این بیماری این عضو و بسیاری دیگر از اندام‌ها درگیر و در مسیرهای پیام رسانی او توالی DNA تغییراتی ایجاد می‌شود(۶،۵). علاوه بر عوامل ژنتیکی و سابقه خانوادگی که زمینه ساز شروع دیابت نوع ۲ می‌شود (۸،۷،۲) چاقی و عدم فعالیت بدنی به عنوان عوامل محیطی ناشی از سبک رفتار و شیوه زندگی (۷،۶) در گسترش این بیماری نقش مهمی‌ایفا می‌کنند. علاوه بر این‌ها مطالعات نیز نشان داده اند که میکرو RNA ها۲و چگونگی بیان آنها نیز در بروز دیابت ایفاگر نقش می‌باشند(۹-۱۳). miRNA ها، گروه کوچکی از RNAهای غیر کد شونده (با طول حدود ۲۲ نوکلئوتید) هستند که در تنظیم بیان ژن مولکول‌های هدف‌شان با مهار ترجمه یا تجزیه mRNA آن‌ها نقش ایفا می‌کنند. (۱۵،۱۴،۱۲) آنها علاوه بر نقش مهاری، دارای نقش‌های القایی و تحریکی نیز هستند (۱۰). میکروRNAها می‌توانند به صورت پایدار در سرم و بافت‌ها مثل کبد، عضلات اسکلتی، قلب، آدیپوز و بتاسل‌ها به خاطر توانایی‌شان در اجتناب از هضم توسط آنزیم‌های RNAآز ، حضور داشته باشند (۱۶) همچنین حضور آنها در مایعات دیگر بدن نظیر ادرار، بزاق، اشک و شیر مادر نیز نشان داده شده است (۱۷). از آنجا که پروفایل بیان miRNAها در شرایط پاتولوژیکی مختلف، متفاوت است از این رو می‌توان از آن‌ها به عنوان بیو مارکرهای جدید در تشخیص و همچنین اهداف درمانی استفاده نمود (۱۸). میکروRNAها در تعداد زیادی از عملکردهای بیولوژیکی از قبیل تکامل، آپوپتوز، متابولیسم سلولی، ایمنی و بیماری‌ها درگیرند (۱۰). اهمیت اولیه miRNAها در بیماری‌ها، اولین بار در سرطان‌ها مشخص شد و سپس در بیماری‌های دیگر مانند آلزایمر، پارکینسون، عفونت‌های ویروسی و میوپاتی‌ها نیز اثبات گردید (۱۸) و شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند که miRNAها در بیماری زایی دیابت نقش داشته (۹) و اخیرا از این بیماری به عنوان یک بیماری مرتبط با میکروRNAها یاد می‌شود (۱۷). همچنین گفته می‌شود که میکروها علاوه بر نقش آفرینی در ایجاد دیابت نوع ۲ در بروز عوارض آن نیز دخالت دارند (۱۹،۱۱). miR-423-5P یکی از میکرو RNA هاست که نقش آن در رابطه با دیابت نوع ۲، 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 جیره چرب افزایش یافته و فعالیت آن با القا 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 قراردادنmRNA FAM3A۳ به صورت مستقیم و با سرکوبی بیان آن، در مسیر FAM3A-ATP-AKt در هپاتوسیت‌ها اخلال ایجاد می‌کند. از آنجا که افزایش بیان miR-423-5P باعث افزایش گلوکونئوژنز و هایپرگلیسمی‌و 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 گلیسمی‌و چربی کبد را به دنبال دارد. شایان ذکر است

[1] Signaling pathway
[2] miRNA=MicroRNAs
[3] A members of family with sequence similarity 3

که میزان و تغییر در بیان این میکروRNA در بافت کبد و سطوح گردشی آن طی بیماری دیابت دارای همبستگی منفی است و چندین مطالعه کلینیکی نشان داده اند که سطوح گردشی(خون) miR-423-5P در بیماران دارای اختلال تحمل گلوکز، در دیابت نوع ۲ و در چاقی بیمارگونه کاهش یافته است. همچنین سطوح miR-423-5P با سطوح مولکول FAM3A در کبد دارای همبستگی منفی است(۲۰). FAM3A عضو A از خانواده ژنی با توالی مشابه ۳، یک پروتئین جدید میتوکندریایی است (۲۱) و گرچه عملکرد این مولکول پروتئینی هنوز بطور کامل و به روشنی شناخته نشده است اما بر اساس نتایج حاصل از مطالعات چندین عملکرد متفاوت از آن در سلول‌های مختلف، شناسایی شده است؛ به طور مثال: افزایش تولید و ترشح آدنوزین تری فسفات (ATP) در میتوکندری ها(۲۲)،تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی درکبد با سرکوبی گلوکونئوژنز کبدی و لیپوژنز و کاهش رسوب چربی در سلول‌های کبدی(۲۳،۲۰)، ممانعت از تمایز پری آدیپوسیت‌ها به آدیپوسیت‌های بالغ در بافت آدیپوز (۲۴) وکنترل PDX_1 و بیان ژن انسولین در سلول‌های بتا پانکراس(۲۵).تحت شرایط چاقی و دیابت، بیان miR-423-5p در کبد افزایش می‌یابد که با کاهش بیان FAM3A و سطح ATP سلولی همراه می‌باشد(۲۰). FAM3A در میتوکندری‌ها تولید و رها سازی ATP را برای بالا بردن فعالیت AKt در گونه‌های مختلف سلولی افزایش می‌دهد و موش‌های دارای کمبود FAM3A، دارای کاهش محتوای ATP و کاهش فعالیت و فسفریلاسیون AKt هستند(۲۶). پروتئین کیناز بی (PKB) همان(AKt) ، پروتئین کیناز اختصاصی سرین/ترئونین[1] در چندین مسیر پیام رسانی سلولی نقش ایفا می‌کند(۲۷) و ایزوفرم AKt_2 آن، اساساً در بافت‌های حساس به انسولین مثل عضلات اسکلتی، بافت چربی و کبد بیان می‌شود و در مسیرهای پیام رسانی انتقال گلوکز در گیر است(۲۸). شواهد قوی وجود دارد که FAM3A می‌تواند فسفوریلاسیون AKt را از طریق مسیرATP- PI3K۲ مستقل از انتقال مسیر پیام رسانی وابسته به گیرنده انسولین۳(IR) در هپاتوسیت‌ها تحریک کرده و یک نقش حیاتی را در تنظیم فعالیت AKt ایفا کند(۲۱). با توجه به عملکرد میکروها (miRNAها) و شرایط آن در بافت بیمار دو راه استفاده از آنتاگونیست ها۴جهت مهار و استفاده از مقلدها۵جهت حفاظت آز آنها برای ایجاد درمان بر پایه miRNAها وجود دارد (۱۸) از طرف دیگر با توجه به اهمیت طب مکمل وبهره گیری از راهکارهای غیر دارویی مثل ورزش و اصلاح تغذیه به موازات دارو درمانی می‌تواند در بهبود و درمان بسیاری از بیماری هاکمک کننده باشد. فعالیت ورزشی و رژیم غذایی، عوامل کلیدی در علت شناسی و پیشگیری از بیماری‌های مزمن هستند (۲۹) و امروزه مزایای استفاده از تمرینات مناسب به منظور بهبود و درمان غیر دارویی بیماری‌های متابولیکی تا حدودی شناخته شده است. بنابراین یکی از مهمترین چالش‌های پیش رو، شناسایی مکانسیم‌های اثرات شبه دارویی تمرین در متابولیسم بدن است (۳۰). تمرینات ورزشی منظم، استراتژی مناسبی برای درمان بسیاری از اختلالات متابولیکی از جمله دیابت نوع ۲ ، چاقی و کبد چرب است (۳۱) و مطالعات زیادی بر نقش اصلاح الگوی زندگی با تصحیح رژیم غذایی و انجام فعالیت بدنی برای پیشگیری و مدیریت دیابت نوع ۲ و کبد چرب تاکید می‌کنند (۱ و ۳۲). تمرینات ورزشی از نوع هوازی با شدت متوسط و تناوبی شدید همچنین تمرین مقاومتی همگی موثر بوده (۳۳) و بخشی از اثرات مفید آنها کاهش چربی و گلیکوژن در عضله اسکلتی است و کبد است (۳۱). در سال‌های اخیر علاوه بر تاکید بر فعالیت بدنی و ورزش ، توجه به برخی گیاهان

[1] Serin/threonine kinase
[2] Phosphatidyl inositol kinase 3
[3] Insulin receptor
[4] Antagonist
[5] Mimic

دارویی و مکمل‌های غذایی نیز برای درمان دیابت رو به گسترش است که در این بین اقبال زیادی به استفاده از عسل دیده شده است (۳۴). عسل یک غذا- دارو است و در آن در حدود ۱۸۰ تا ۳۰۰ نوع ماده گوناگون شامل قندها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، امینواسیدها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، ترکیبات پلی فنلی و فیتوکمیکال‌ها شناسایی شده است(۳۵-۳۷). قندهای موجود در عسل عمدتا فروکتوز و گلوکز و دیگر قندها شامل سوکروز و مالتوز می‌باشد (۳۸) و همچنین مواد زیست فعال مانند ترکیبات فنولیک، فلانوئید و ارگانیک اسیدها و مشتقات کارتنوئیدی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند (۳۹). مستندات و شواهد علمی‌زیادی نشان می‌دهند که عسل دارای چندین خاصیت و اثر مفید سلامتی از جمله محافظت کنندگی از کبد (۴۱،۴۰)، پایین آورنده قند خون (۴۳،۴۲)، ضد دیابت (۴۴-۴۶) و ضدچاقی (۴۸،۴۷،۴۳) می‌باشد که البته می‌توان با وارد نمودن برخی مواد به جیره غذایی زنبورهای عسل بر ارزش تغذیه‌ای عسل به عنوان یک محصول طبیعی افزود و خواص بیولوژیکی آن را تقویت کرد (۴۹) به طور مثال می‌توان به استفاده از عصاره گیاه آویشن در جیره غذایی زنبورها اشاره کرد. روغن و عصاره گیاه آویشن به عنوان اجزای اصلی این گیاه حاوی تیمول، پیکمن، کاروکرول و گاماترپنین هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند (۵۱،۵۰). عسل آویشن یکی از انواع عسل‌های تک گل است که در طب سنتی برای درمان دیابت توصیه می‌شود و در مطالعات مختلف شاخص گلیسمی‌آن مورد بررسی قرار گرفته که به طور مثال در یک تحقیق داخلی نمایه قند عسل آویشن ۶۵/۹ به دست آمده که در مقایسه با گلوکز به طور معنی داری کمتر است (۵۲). گرچه استفاده از عسل به دلیل ارزش تغذیه‌ای و درمانی آن تاریخ بسیار طولانی دارد و در متون علمی‌به رسمیت شناخته شده است، اما استفاده از آن در طب مدرن بحث برانگیز بوده است (۵۳). با توجه به شیرین بودن عسل تصور عمومی‌بر این است که مصرف آن توسط افراد دیابتی مشکل زا باشد اما مطالعات مختلف در این مورد با توجه به ترکیبات و نوع قند آن، استفاده از آن را توصیه میکنند(۳۴) که در این مورد مباحث و چالش‌های علمی‌وجود دارد و از طرفی به جهت اثر بخشی انجام تمرینات ورزشی در کاهش گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین به نظر میرسد انجام تمرینات ورزشی مناسب به هنگام مصرف عسل می‌تواند ضمن بهره‌مندی از فواید فیزیولوژیکی و روانی تمرین ورزشی و خواص متعدد عسل به بهبودی بیماران مبتلا به دیابت و عوارض آن کمک کند، لذا محقق در این مقاله در نظر دارد به جهت تأثیرات مناسب گزارش شده ی تمرین تناوبی و نیز فوائد و خواص عسل آویشن در نمونه‌های دیابتی، تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی و مصرف عسل آویشن را بر تغییرات بیان ژن‌های مسیر سیگنالینگ miR-423-5P- FAM3A -AKt در موش‌های دیابتی نوع ۲ که بخشی از نتایج مطالعه پژوهشی می‌باشد را گزارش و بحث نماید.

روش کار

در این پژوهش بنیادی و تجربی، تعداد ۳۶ سر موش نر ویستار با دامنه سنی ۳۵ تا ۴۵ روز با میانگین وزنی ۱۰±۱۱۰ گرم از موسسه رویان خریداری و به حیوان‌خانه آزمایشگاه رازی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال داده شدند. برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس هایی با جنس پلی کربنات شفاف و با قابلیت اتوکلاو استفاده شد.دمای مطلوب محل نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۵ تا ۶۵ درصد بود. چرخه روشنایی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور سالنِ نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. جهت تغذیه موش‌های صحرایی از رژیم پر چرب استاندارد استفاده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به صورت نامحدود وآب در بطری ۵۰۰ میلی لیتری در تمامی‌قفس‌ها وجود داشت. برای چاق کردن موش‌ها پس از آشناسازی و سازگاری با محیط جدید، تمامی‌رت‌ها به مدت ۲۰ هفته تحت رژیم غذایی پرچرب تهیه شده توسط پژوهشکده زیست فناوری رویان قرار گرفتند که شامل ۴۵

درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم) و ۶۰ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ۳۵ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۲۶ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم) بود. رژیم پر چرب ۴۵ درصد به مدت ۳ ماه و رژیم پر چرب ۶۰ درصد به مدت ۲ ماه داده و شد (۵۴). برای القای دیابت از رژیم غذایی پر چرب به مدت ۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ درسرم فیزیولوژیکی قابل تزریق به صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) استفاده شد (۵۵) و جهت بررسی و اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت، یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی آنها با ایجاد یک جراحت کوچک در دم و گرفتن یک قطره خون با استفاده از نوار گلوکومتری، توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم/ دسی‌لیتر به عنوان معیار دیابتی شدن رت‌ها درنظر گرفته شد (۵۵) و برای اطمینان بیشتر و دقت کار، به طور تصادفی از دم ده سر از موش‌ها خونگیری به عمل آمد و گلوکز، انسولین، شاخص مقاومت به انسولین، آنزیم‌های کبدی پلاسما و نیمرخ‌های چربی آنها اندازه گیری شد که اطلاعات آن‌ها در جداول ۱و۲ آمده است. برنامه هشت هفته تمرین هوازی، ۵ جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد Vo_2max) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد Vo_2max) و زمان ۱۵ الی ۳۴ دقیقه به صورت دویدن روی تردمیل انجام شد، به طوری که زمان دویدن از ۱۶ دقیقه در هفته اول، به ۳۴ دقیقه در هفته هشتم افزایش یافت که اطلاعات مربوط به آن در جدول شماره ۳ آورده شده است. البته رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور 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 به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند(۵۶،۵۷). طی دوره آزمایش به موش‌های گروه عسل آویشن، وگروه عسل آویشن همراه با تمرین تناوبی، عصاره عسل آویشن با دوز ۳ گرم بر کیلوگرم، رقیق شده در آب مقطر، به روش گاواژ خورانده شد. (۵۸) قابل ذکر است که برای تهیه عصاره عسل آویشن شیرازی جهت تغذیه زنبورهای عسل به منظور استحصال عسل آویشن خالص، به میزان ۳ کیلوگرم از گیاه آویشن از مزارع شیراز خریداری و در آب مقطر ریخته شد. عصاره حاصل پس از ۴۸ ساعت ماندن در دستگاه شیکر، دوبار از صافی رد و عصاره فیلتر شده و از طریق تبخیر در دمای ۳۵۸ درجه سانتی گراد به یک خمیر غلیظ تبدیل گردید. عصاره آبی آویشن در آب حل شده و در اختیار زنبورها در کندو قرار داده شد (۵۹). در پایان دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، موش‌ها توسط ماده بی هوشی اتر بیهوش و قربانی شدند. سپس کبد حیوان برداشته و بلافاصله توسط ازت مایع منجمد و به فریزر ۸۰- منتقل شد. در فرآیند بررسی بیان ژن، از ۲۵ میلیگرم بافت کبد و با استفاده از کیت استخراج Rneasy protect mini kit (QIAGEN) RNA ساخت کشور آلمان و بر اساس دستورالعمل آن استفاده گردید.برای ساخت cDNA از کیت شرکت PARSTOUS با Cat. No: A101161(50reactions) استفاده شد. پروتکل ساخت cDNA بدین صورت بود که هر نمونه را ورتکس و اسپین نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه ساتیگراد انکوبه گردید سپس در دستگاه ترموسایکر به ترتیب در دمای ۴۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت و ۸۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. برای انجام Real Time-PCR از مستر میکس سایبر گرین AMPLIQON با Cat. No: A324402 استفاده شد. از RNA Polymrasell به عنوان ژن کنترل جهت تعیین بیان ژن‌های مورد مطالعه استفاده گردید. CTهای مربوط به واکنش‌ها

توسط نرم افزار دستگاه Real time-PCR استخراج ، ثبت و جهت کمی‌سازی بیان TCFmRNA، از روش ΔΔCT مقایسه‌ای استفاده گردید. پرایمر ژن‌های مورد استفاده در جدول ۴ آورده شده است.

برای تجزیه و تحلیل یافته‌ها در قسمت آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. برای تشخیص طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیر ویلک، و برای آزمون همگنی واریانس متغیرها از آزمون لوین استفاده گردید. سپس جهت تجزیه و تحلیل فرضیه‌های پژوهش ازتحلیل واریانس دو عاملی و تعیین اندازه اثر و برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معناداری در تمام اندازه‌گیری‌ها P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. کلیه محاسبات آماری از طریق نرم افزار آماریSPSS22 انجام و همچنین نمودار نیز با کمک نرم افزار EXCEL2020 رسم گردید.

جدول ۱- اطلاعات توصیفی اولیه وزن، گلوکز و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی پس از رژیم پر چرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع ۲

وزن شروع پروتکل (گرم)	وزن پس از چاقی	گلوکز(mg/dl)	انسولین (µUI/ml)	HOMA.IR
۱۹۷/۷ ± ۱۹/۴۶	۴۰۲/۷۵ ± ۵۱/۶۹	۳۶۳ ± ۱۲۴/۵	۳/۹۲ ± ۰/۴۹	۳/۵۶ ± ۱/۴۳

جدول ۲- اطلاعات توصیفی نیمرخ‌های چربی و آنزیم‌های کبدی پس از رژیم پر چرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع ۲

LDL(mg/dl)	HDL(mg/dl)	TG(mg/dl)	CHOL(mg/dl)	SGOT.AST.P(u/l)	SGPT.ALT.P(u/l)	ALKP.P(u/l)
۴۰/۹۵ ± ۱۱/۳۱	۳۵/۷۲ ± ۴/۵۶	۲۲۴/۴۲ ± ۱۴۲/۰۷	۸۰/۲۸ ± ۱۰/۹۶	۱۸۵/۸۵ ± ۵۰/۰۱	۱۴۰/۷۱ ± ۳۰/۰۷	۵۶۳/۵۷ ± ۱۲۷/۴۴

جدول ۳- پروتکل تمرین تناوبی

هفته	شدت‌گرم کردن ۵ دقیقه	تعداد تناوب شدید	زمان تناوب شدید	سرعت تناوب شدید	زمان‌تناوب استراحت	شدت تناوب استراحت	شدت‌سرد کردن ۵ دقیقه	زمان‌کل (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
۴ و ۳	۱۰ متر در دقیقه	۴ تناوب	۲ دقیقه	۸۵٪ سرعت بیشینه (۳۲ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۲ ٪ سرعت بیشینه (۱۸ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۲۲
۶ و ۵	۱۰ متر در دقیقه	۶ تناوب	۲ دقیقه	۹۰ ٪ سرعت بیشینه (۳۴ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۴ ٪ 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 (۳۶ متر در دقیقه)	۱ دقیقه	۵۶ ٪ سرعت بیشینه (۲۲ متر در دقیقه)	۱۰ متر در دقیقه	۳۴

* برای تعیین سرعت بیشینه از پروتکل رودریگز و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. (۶۰)

جدول ۴- 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

*ژن مرجع برای mir-423

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش توسط کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی مورد تایید قرار گرفت و کد اخلاق به شماره IR.SSRC.REC.1398.079 برای آن صادر گردید.

نتایج

یافته‌های پژوهش حاضر (جداول ۵ و ۶) که بر روی ۳۶ سر موش دیابتی با کبد چرب در ۴ گروه کنترل، تمرین تناوبی، عسل آویشن و تعاملی تمرین تناوبی- عسل آویشن انجام شد؛ نشان داد که تغییرات بیان ژن miR-423-5p در گروه‌های تجربیِ تمرین تناوبی (M=0.09, P=0.0001, Eta=0.925)، عسل آویشن (M=0.13, P=0.0001, Eta=0.906) و تعاملی تمرین - با عسل (M=0.24, P=0.0001, Eta=0.953) نسبت به گروه کنترل، معنی دار است. نتایج نشان داد بیان ژن miR-423-5P بافت کبدی در گروه تمرین تناوبی (M=0.090, P=0.0001)، گروه عسل آویشن (M=0.13, P=0.0001) و گروه تعاملی تمرین - عسل (M=0.24, P=0.0001) نسبت به گروه کنترل (M=1) کاهش معنی دار داشته است. بین گروه تمرین تناوبی وگروه تعامل تمرین- عسل و نیز بین گروه عسل و گروه تمرین - عسل نیز تفاوت بیان ژن miR-423-5P معنی دار است و در گروه تمرین miR-423-5P کمتر بیان شده است. همچنین نتایج نشان داد بیان ژن FAM3A بافت کبدی در گروه‌های تجربی تمرین تناوبی (M=14.42)، گروه تعاملی تمرین- عسل (M=12.90) و گروه عسل (M=10.99) نسبت به کنترل (M=1) افزایش داشته اما بین آنها معنی داری مشاهده نشد. همچنین یافته‌ها نشان داد بیان ژن AKt2 در گروه تمرین (M=21.12, P=0.028) و گروه تعاملی تمرین- عسل (M=19.76, P=0.055) نسبت به کنترل (M=1) افزایش معنی دار داشته و در گروه عسل (M=10.65) نسبت به گروه کنترل نیز افزایش داشته ولی معنی دار نبوده است. بین بقیه گروه‌ها تفاوت معنی دار نبود.

جدول ۵- نتایج آزمون تحلیل واریانس دوعاملی بیان ژن‌های کبدی موش‌های صحرایی

متغیر	گروه	میانگین ± انحراف استاندارد	آزمون ANOVA	
			به دست آمده F	سطح معنا داری
miR-423-5P gene fold change	کنترل دیابتی	۰±۱		
	تمرین تناوبی	۰/۰۷±۰/۰۹	F = ۲۷۰/۹۵	P = ۰/۰۰۱
	عسل آویشن	۰/۰۳±۰/۱۴	F = ۲۱۲/۱۳	P = ۰/۰۰۱
	تمرین + عسل	۰/۰۷±۰/۲۵	F = ۴۲۴/۷۱	P = ۰/۰۰۱
FAM3A gene fold change	کنترل دیابتی	۰±۱		
	تمرین تناوبی	۲۹/۲۷±۱۴/۴۲	F = ۰/۵۵۲	P = ۰/۴۶۸
	عسل آویشن	۲۱/۷۰±۱۰/۹۹	F = ۰/۱۶۹	P = ۰/۶۸۷
	تمرین + عسل	۱۱/۱۴±۱۲/۹۰	F = ۰/۳۱۲	P = ۰/۵۸۴
AKt_2	کنترل دیابتی	۰±۱		

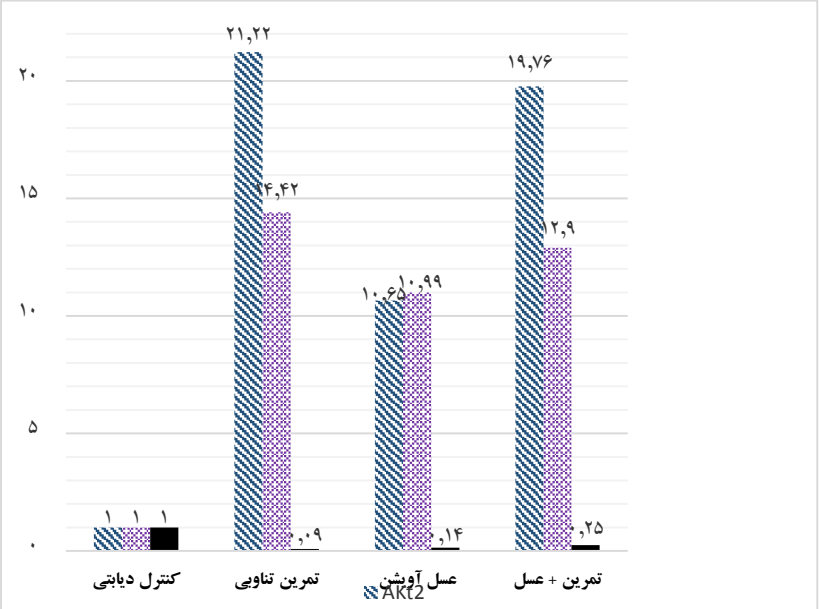
gene fold change	تمرین تناوبی	۱۷/۴۶±۲۱/۲۲	F = ۴/۸۰۹	P = ۰/۰۴
	عسل آویشن	۱۷/۲۸±۱۰/۶۵	F = ۰/۳۷۵	P = ۰/۵۴۸
	تمرین + عسل	۱۴/۷۹±۱۹/۷۶	F = ۰/۶۹۱	P = ۰/۴۱۸

معناداری در سطح خطای آلفای ۵ درصد (P<۰/۰۵)

جدول ۶- نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی مقایسه بیان ژن‌ها در گروه‌های چهارگانه

گروه/متغیر	miR-423-5P	FAM3A	AKt_2
کنترل دیابتی	M = 1	M = 1	M = 1
تمرین تناوبی	M = 0/09 P = 0/0001	M = 14/42 P = 0/335	M = 21/22 P = 0/028
عسل آویشن	M = 0/13 P = 0/0001	M = 10/99 P = 0/531	M = 10/65 P = 0/342
تمرین + عسل	M = 0/24 P = 0/0001	M = 12/90 P = 0/457	M = 19/76 P = 0/055

سطح معناداری P <۰/۰۵



نمودار ۱- تغییرات بیان ژن‌های کبدی در گروه‌های کنترل و تجربی مورد مطالعه

بحث

یافته‌های بدست آمده از این پژوهش نشان داد که پس از هشت هفته تمرین هوازی تناوبی و دریافت عسل آویشن، بیان ژن miR-423-5P بافت کبدی درگروه‌های تجربی تعاملی تمرین تناوبی و عسل آویشن ،گروه تمرین تناوبی و گروه عسل آویشن نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار داشته و در مقایسه بین گروه تعاملی تمرین تناوبی و عسل آویشن با گروه تمرین تناوبی و با گروه عسل آویشن نیز این تفاوت معنی دار 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 عسل آویشن ،گروه تمرین تناوبی و گروه عسل آویشن نسبت به کنترل افزایش داشته اما بین گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی داری مشاهده نشد و بیان ژن AKt_2 در گروه تعاملی تمرین تناوبی و عسل آویشن و در گروه تمرین تناوبی نسبت به گروه کنترل ا فزایش معنی دار و در گروه عسل نسبت به گروه کنترل نیز

افزایش داشته ولی معنی دار نبود و بین دیگر گروه‌ها تفاوت معنی دار نبوده است. مطالعه بر روی پروفایل بیانی و چگونگی عملکرد میکرو RNAها در رابطه با چاقی به عنوان یک عامل خطر افزایش بروز دیابت نوع ۲ و کبد چرب مورد توجه بسیاری از محققین در این سال‌ها بوده است. در مطالعه ارتگا[1] و همکاران (۲۰۱۳)، ۹ میکروRNA گردشی (خون) در بیماران مبتلا به چاقی بیمار گونه شناسایی شدند که برخی با افزایش میزان غلظت در خون و برخی دیگر از جمله miR-423-5P با کاهش مقدار در خون همراه بوده اند که همگی ارتباط قوی با میزان توده چربی داشته و از بین آن‌ها، miR-520-3P، miR-15a و miR-423-5P ارتباط قوی‌تر و اختصاصی‌تر را نشان دادند (۶۱). بیماری کبد چرب غیر الکلی همراه با تغییر در متابولیسم کبدی است و مکانیسم‌های اپی ژنتیک به ویژه همراه با بد تنظیمی‌بیان و عملکرد میکروRNA ها، نقش مهمی‌را در اختلالات متابولیکی مرتبط با آن و پیشرفت آن‌ها به سمت و سوی مراحل شدیدتر بیماری، ایفا می‌کند (۶۲). لیو[2] و همکاران (۲۰۱۸) در یک مطالعه مروری سیستماتیک و متاآنالیز، به بررسی ۴۳ پژوهش مرتبط با میکرو RNAها و کبد چرب که چگونگی بیان و عملکرد ۷۵ میکروRNA مختلف از جمله miR-423-5P را مورد توجه قرار داده بودند؛ پرداختند. نتایج این بررسی نشان داد که ارتباط بین بیان میکروRNAها در سرم و در بافت کبد متباین و یا حتی معکوس مشاهده گردیده است (۶۳).miR-423-5P از جمله میکروRNAهای 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 مقدارATP 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- ۶ فسفاتاز (G-6ase) را در پی دارد که نتیجه آن سرکوبی تولید گلوکز کبدی و تعدیل هایپرگلیسمی‌است. طی مطالعات، کاهش محتوای ATP و AKt فسفوریله شده (pAKt) در کبد موش‌های مبتلا به دیابت ۲ گزارش شده است(۶۳). عدم تنظیم (بد تنظیمی) پیام رسانی AKt، با بسیاری از بیماری‌های انسان مرتبط است و از این روست که مسیرهای وابسته به آن، به عنوان یک هدف درمانی جذاب برای مداخلات درمانی، محسوب می‌شود (۶۵) و شواهد رو به رشدی وجود دارد که نشان می‌دهد کاهش مقاومت انسولینی چه به وسیله داروها و چه با فعالیت بدنی همراه با افزایش فعالیت AKt در کبد است (۲۱). در این رابطه نتایج حاصل از مطالعه کویی[3] و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که ورزش شنای ۸ هفته‌ای مقاومت انسولینی ناشی از رژیم غذایی پرچرب را از طریق کاهش پروتئین خانواده ۷۲ (TRIM72) در عضله اسکلتی و افزایش انتقال سیگنال AKt بهبود می‌بخشد (۶۶). اطلاعات موجود نشان می‌دهدکه miRNAها به سرعت در واکنش به فعالیت بدنی بیان خود را تغییر می‌دهند (۶۷) و در بررسی لی[4] 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 (۶۸). در مطالعه طاهری گندمانی و همکاران (۱۳۹۷) تأثیر دو نوع تمرین تناوبی و تداومی‌بر MicroRNAهای مرتبط با انتقال معکوس کلسترول در موش‌های سالمند بررسی شد. بعد از دورهٔ تمرین (تمرین تداومی‌و تناوبی هشت هفته ای، پنج روز در هفته) بیان miR-33a و miR-144 و بیان ژن ABCA1 به روش RT –PCR اندازه‌گیری و یافته‌ها نشان داد که هر دو پروتکل تمرین استقامتی تناوبی و تداومی‌باعث کاهش بیان miR-33a و به‌دنبال آن، افزایش بیان mRNA ژن

[1] Ortega
[2] Liu
[3] Qi
[4] Li

ABCA1 شده اما این افزایش در تمرین تناوبی نسبت به تمرین تداومی‌بیشتر بوده است (۶۹) و در پژوهش پاریزاس[1] و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شد که سطوح گردشی miR-192 و miR-193b در حالت پیش دیابتی (و نه در حالت ابتلا به دیابت) و در پلاسمای موش‌های تغذیه شده با جیره چرب و دارای اختلال عدم تحمل گلوکز به طور معنی داری افزایش یافته و پس از اجرای یک برنامه تمرین هوازی به مدت ۱۶ هفته، ۲ بار در هفته برای افراد دارای علائم پیش دیابتی و ۵ هفته همراه با محدودیت کالری برای موش ها، یافته‌ها حاکی از بازگشت مقادیر این دو میکروRNA به حدود اولیه و طبیعی خود در هر دو گروه مورد مطالعه –افراد و موش ها- در مقایسه با گروه‌های کنترل و موفقیت در متعادل سازی پارامترهای متابولیکی مانند میزان تری گلیسیرید خون و وزن بدن بود و پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که ورزش در به تاخیر انداختن و یا پیشگیری از توسعه دیابت در افراد در معرض موثر است (۷۰). در تحقیق لیو[2] و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان داده شد که ورزش از طریق واسطه محور lncRNA MALAT1 / MicroRNA-382-3p / Resistin مقاومت انسولینی را در دیابت نوع ۲ کاهش می‌دهد (۷۱) و در یک پژوهش دیگر توسط زنگ[3] 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 پر چرب باعث افزایش محتوای چربی احشایی، اسیدچرب آزاد سرم، افزایش میزان miR-423-5P وکاهش mRNA FAM3A و پروتئین آن،کاهش محتوای ATP وکاهش فسفوریلاسیون AKt در کبد وکاهش شاخص حساسیت انسولینی گردیده و در مقابل ورزش هم بصورت طولانی مدت (شامل تمرین شنا در جلسات یک ساعته همراه با وزنه ی معادل ۵ درصد وزن موش ها، ۵ جلسه در هفته به مدت ۸ هفته) و هم بصورت حاد یک وهله‌ای (شامل ۲ دوره ی ۳ ساعته تمرین شنا با فاصله ۴۵ دقیقه بین دو دوره) باعث تغییرات معکوس و مطلوب مارکرهای ذکر شده در کبد و در کل بدن گردیده بود (۲۱). نتایج این تحقیق با یافته‌های مطالعه اخیر همسو می‌باشد و در هر دو مورد اثرات مفید ورزش بر بیان مطلوب ژن‌های کبدی تنظیم کننده متابولیسم قند و چربی را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که به دلیل 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 موثر بر آنها مانند تمرینات ورزشی و مصرف مکمل‌های تغذیه‌ای و مخصوصا معدود بودن این دسته از مطالعات و در نتیجه محدود بودن داده‌های حاصل از آنها جهت مقایسه یافته‌ها با هم، ادامه پژوهش‌ها در این زمینه بسیار ضروری و نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش معنی دار در بیان miRNA-423-5P و به دنبال آن افزایش معنی دار در بیان mRNA FAM3A در هرسه گروه تجربیِ تمرین ، عسل آویشن و تمرین – عسل نسبت به گروه کنترل و افزایش معنی دار در بیان mRNA AKt_2 در گروه‌های تمرین و تمرین - عسل نسبت به گروه کنترل، پس از هشت هفته اجرای مداخله تمرینی و تغذیه‌ای می‌تواند اثر محافظتی بر کبد در مقابل آسیب بافتی و عملکردی ناشی از دیابت داشته باشد و براین اساس به نظر می‌رسد که بتوان با انجام تمرین تناوبی و مصرف عسل آویشن از فواید سلامتی این دو در مدیریت بیماری دیابت نوع ۲ و عوارض کبدی آن در مبتلایان بهره گرفت. البته با توجه به تازگی موضوع پژوهش حاضر، هنوز

[1] Parrizas
[2] Liu
[3] Zhang

سوالات متعددی وجود دارد که شایسته توجه بیشتر در مطالعات آتی می‌باشد.

تضاد منافع

هیچگونه تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد..

References

1. Sapra A, Bhandari P. Diabetes Mellitust. In: Eberhardt M, Blepharitis RG, Editors. StatPearls. Treasure Island (FL). Massachusetts: StatsPearls Publishing. (2020).
2. Adulcikas J, Sonda S, Norouzi Sh, Sohal S S, Myers S. Targeting the Zinc Transporter ZIP7 in the Treatment of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. Nutrients. (2019). Feb 15;11(2):408. doi: 10.3390/nu11020408.
3. Pescatello LS, Riebe D, Thompson PD. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. (2014)
4. Miller 2015. Physiology and physiopathology of gastrointestinal tract and liver Nutrition and anesthesia considerations in liver surgery.translated by bb Mona Razavi, Tehran. Artin Teb. (2016). V19.p:57-59.
5. 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)
6. Wackerhage H. Molecular Exercise Physiology An Introduction to, translated by Farhad Darianush, .Tehran, Hatami Publications.(2016).p:278
7. Kramer W J, Flek, S J. Desgenes, M R. 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).
8. Tidos P M, Russell Topling E, Houston, M E. Biochemistry primer for exercise sciences. translated by Abbas Ali Gaini and Ali Samadi Tehran, Hatami Publications.(2015).p:368
9. Guay C, Roggli E, Nesca V, Jacovetti C, Regazzi R. Diabetes mellitus, a microRNA-related disease. Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine. (2011). 157(4), 253-64.
10. Ferland-McCollough D, Ozanne S E, Siddle K, Willis A E, Bushell M. (2010). The involvement of microRNAs in Type 2 diabetes. Biochemical Society transactions. (2010). 38(6), 1565-70.
11. Joglekar M V, Parekh V S, Hardikar A A. Islet-specific microRNAs in pancreas development, regeneration and diabetes. Indian journal of experimental biology. (2011). 49(6), 401-8.
12. 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
13. Osmai M, Osmai Y, Bang-Berthelsen C H, Pallesen E M, Vestergaard A L, Novotny G W, Mandrup-Poulsen T. MicroRNAs as regulators of beta-cell function and dysfunction. Diabetes/metabolism research and reviews. (2016). 32(4), 334-49.
14. Agarwal P, Srivastava R, Srivastava A K, Ali S, Datta, M. miR-135a targets IRS2 and regulates insulin signaling and glucose uptake in the diabetic gastrocnemius skeletal muscle. Biochimica et biophysica acta. (2013). 1832(8), 1294-303.
15. Elton T S, Selemon H, Elton S M, Parinandi N L. Regulation of the MIR155 host gene in physiological and pathological processes. Gene. (2013). 532(1), 1-12.
16. 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.

17. Chien H Y, Lee T P, Chen C Y, Chiu Y H, Lin Y C, Lee L S, Li W C. Circulating microRNA as a diagnostic marker in populations with type 2 diabetes mellitus and diabetic complications. Journal of the Chinese Medical Association : JCMA. (2015).78(4), 204-11.
18. Aghaiee Bakhtiari H, Arefian E, Hosseine Rad M A & et al. MiRNAs and their role in biological and pathological pathways. Electronic version of the Stem Cell Research and Technology Center. Date of creation: November (2017).P:251&26. www.bonbiotech.ir
19. Wang C, Wan S, Yang T, Niu D, Zhang A, Yang C, Wang J. Increased serum microRNAs are closely associated with the presence of microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. Scientific reports. (2016). 6, 20032.
20. 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.
21. 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.
22. Xu W, Liang M , Zhang Y , Huang K , Wang C. Endothelial FAM3A positively regulates post-ischaemic angiogenesis, EBioMedicineMay .(2019) 43:32-42.
23. Chen Z, Liu X, Luo Y, Wang J, Meng Y, Sun L, Yang, J. Repurposing Doxepin to Ameliorate Steatosis and Hyperglycemia by Activating FAM3A Signaling Pathway. Diabetes. (2020). 69(6), 1126-39.
24. Kang T, Peng D, Bu G, Gu H, Zhang F, Zhang R.Transcriptional regulation analysis of FAM3A gene and its effect on adipocyte differentiation.Gene.(2019). Dec 20; 595(1):92-98.
25. Yang W, Chi Y, Meng Y, Chen Z, Xiang R, Yan H, Yang J. FAM3A plays crucial roles in controlling PDX1 and insulin expressions in pancreatic beta cells. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. (2020). 34(3), 3915-31.
26. Chen Z, Wang J, Yang W, Chen J, Meng Y, Geng B, Cui Q, Yang J. FAMA mediates PPARS protection in liver ischemia- reperfusion injury by activating AKt survival pathway and repressing inflammation and oxidative stress.Oncotarget.(2017).Jul 25;8(30):49882-49896.
27. Kandel E S, Hay N. The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB. Experimental cell research. (1999). 253(1), 210-29.
28. Qarekhanlu R, Molanouri Shamsi M .A Look at Cellular and Molecular Adaptations to Exercise. First Edition, Tehran, Hatami Publications.(2015).p:128
29. Roberts CK, Barnard RJ. Effects of exercise of Applied Physiology. 2005; 98 (1): 3-30.
30. Timmons JA, Baar K, Davidson PK, Atherton PJ. IS irisin a human exercise gene? Nature. 2012; 488 (7413): E9-10.
31. Wackerhage H. Molecular exercise physiology: and introduction. London: Routledge; 2014.
32. Akshintala D, Chugh R, Amer F, Cusi K &et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Overlooked Complication of Type 2 Diabetes.2019. In: Endotext [Internet]. South Dartmouth : NBK544043. Free Books & Documents.
33. Borhade BM. Singh SH. Diabetes Mellitus And Exercise. 2020.In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. NBK526095. Free Books & Documents
34. Erejuwa OO. Effect of honey in diabetes mellitus: matters arising J Diabetes Metab Disord.2014. Jan 29;13(1):23. doi: 10.1186/2251-6581-13-23
35. Alvarez-Suarez JK, Tulpani S, Romandini S, Bertoli E, Battino M. human health: a review. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism. 2010; 3(1): 15-23.
36. Ajibola A. Novel Insights into the Health Importance of Natural Honey. Malays J Med Sci.2015. Sep;22(5):7-22
37. Bobiş O, D Dezmirean DS, Moise AR. Honey and Diabetes: The Importance of Natural Simple Sugars in Diet for Preventing and Treating Different Type of Diabetes. Oxid Med Cell Longev.2018. Feb 4:4757893. doi: 10.1155/2018/4757893

38. Al Aamri ZM, Ali BH. Does honey have any salutary effect against streptozotocin - induced diabetes in rats? J Diabetes Metab Disord.2017. Jan 24;16:4. doi: 10.1186/s40200-016-0278
39. Vallinou NG.Gounari P.Skourtis A.Panagos J.Kazazis CH.Honey and its anti-inflammatory. Anti-bacterial and anti-oxidant properties.General Medicine.2014.2:2
40. Korkmaz A, Kolankaya D. Anzer honey prevents N-ethylmaleimide-induced liver damage in rats. Exp Toxicol Pathol.2009. Jul;61(4):333-7. doi: 10.1016/j.etp.2008.07.005
41. Xiao J, Liu Y, Xing F, Leung TM, Liong C, Tipoe GL. Bee's honey attenuates non-alcoholic steatohepatitis-induced hepatic injury through the regulation of thioredoxin-interacting protein-NLRP3 inflammasome pathway. E urJ Nutr.2016. Jun;55(4):1465-77 doi: 10.1007/s00394-015-0964-4
42. Erejuwa OO, Gurtu S, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KN, Salzihan MD .Salleh MD. Hypoglycemic and antioxidant effects of honey supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. nt J Vitam Nutr Res.2010. Jan;80(1):74-82. doi: 10.1024/0300
43. Ramli NZ, Chin KY, Zarkasi KA, Ahmad F. A Review on the Protective Effects of Honey against Metabolic Syndrome. Nutrients.2018. Aug 2;10(8):1009. doi: 10.3390/nu10081009
44. Nasrolahi O, Heidari R, Rahmani F, Farokhi F. Effect of natural honey from Ilam and metformin for improving glycemic control in sterptozotocin induced diabetic rats. Avicenna J Phytomed.2012. Fall 2012;2(4):212-21
45. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey: a novel antioxidant. Molecules.2012. Apr 12;17(4):4400-23. doi: 10.3390/molecules17044400
46. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P& et al. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. Molecules.2018.Sep11;23(9):2322.doi:10.3390/molecules23092322
47. Bahrami M, Jafari AA, Hosseini S, ForuzanfarMH,& et al. Effects of natural honey consumption in diabetic patients: an 8-week randomized clinical trial. Int J Food Sci Nutr.2009. Nov;60(7):618-26
48. Nemoseck TM, Carmody EG, Evanson AF, Gleason M& et al. Honey promotes lower weight gain, adiposity, and triglycerides than sucrose in rats. Nutr Res.2011. Jan;31(1):55-60. doi: 10.1016/j.nutres.2010.11.002
49. Selavaziyan A.Abdolahpour F.Esmaeili A.Sepahvand F.Azadpour MAntioxidant activity and antimicrobial properties of two types of honey due to changes in the diet of bees in comparison with other honeys produced in Abestan region of Khorramabad city. Journal of Lorestan University of Medical Sciences.2015. Vo 17. No 3. Series 65. .(In Persian)
50. Preedy VR.Essential oils in food preservation, flavor and safty.Science Direct book.2016.Chapter 94- Thyme oils.pp.825-834
51. Farnam S. The effect of thyme species on animal and poultry nutrition, The Third National Conference on Environmental and Agricultural Research in Iran.2015. Tehran. August22
52. Shishebor F.Tehrani M.Jalali MT.Latifee SM. Comparison of blood sugar index of two types of Iranian honey with different fructose to glucose ratio. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism.2012. Vol. 14. No. 5. pp: 479-483.(In Persian).
53. Meo SA, Ansari MJ, Sattar K, Chaudhary HU, Hajjar W, Alasiri S. Honey and diabetes mellitus: Obstacles and challenges - Road to be repaired. Saudi J Biol Sci.2017. Jul;24(5):1030-1033. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.12.020. Epub 2017 Jan 11
54. 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 Aug 8; 79(11): 1100–1107
55. Srinivasan. K, Viswanad .B, Lydia Asrat, C.L. Kaul, P. Ramarao. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. Pharmacological Research 52 (2005) 313–320
56. Akbarzad.A, Fattahi Bafghi. A, The effect of high intensity interval training and corcomin supplement on plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. Shahid Sadoughi Journal of Medical Sciences, Yazd. Volume 25, Number 12, March 2017. [In Persian)

57. Thomas C, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J. Effects of high intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. American Journal of Physiology- Endocrinology and Metabolism.2007; 293(4):E916-E22
58. Erejuwa OO, Nwobodo NN, Akpan JL, Okorie YA.& et all. Nigerian Honey Ameliorates Hyperglycemia and Dyslipidemia in Alloxan-Induced Diabetic Rats. Nutrients 2016, 8, 95; doi: 10.3390/nu8030095
59. Mehran M, Safaei A, Taghizadeh M, Hatami A, Hosseini. H, A study of the essential oils of seven types of thyme and a comparison of their antioxidant properties. Journal of Medicinal Plants. 15(2), 58(2).page 134-140.2016. (In Persian)
60. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Amgelis K. Maximal exercise test is useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiocascular Diabetology. 2007; 6(1): 38.
61. Ortega F J, Mercader J M, Catalán V, Moreno-Navarrete J M, Pueyo N, Sabater M, Fernández-Real J M. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clinical chemistry. (2013). 59(5), 781-92.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. Risso G, Blaustein M, Pozzi B, Mammi P, Srebrow A. Akt/PKB: one kinase, many modifications. The Biochemical journal. (2015). 468(2), 203-14.
66. Qi J, Yang B, Ren C, Fu J, Zhang J. Swimming Exercise Alleviated Insulin Resistance by Regulating Tripartite Motif Family Protein 72 Expression and AKT Signal Pathway in Sprague-Dawley Rats Fed with High-Fat Diet. Journal of diabetes research. (2016), 1564386.
67. 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.
68. 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.
69. Taheri Gandmani M, Faramarzi M, Bani Talebi I, Hemmati, R. Evaluation of eight weeks of intermittent and continuous endurance training on MicroRNAs associated with reverse cholesterol transfer in elderly Wistar rats. Sports Physiology ,(2018).Fall, 39, 185 – 201.
70. Párrizas M, Brugnara L, Esteban Y, González-Franquesa A, Canivell S, Murillo S, Novials ACirculating miR-192 and miR-193b are markers of prediabetes and are modulated by an exercise intervention. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. (2015). 100(3), E407-15.
71. Liu S X, Zheng F , Xie K L , Xie M R , Jiang L J , Cai Y. Exercise Reduces Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus via Mediating the lncRNA MALAT1/MicroRNA-382-3p/Resistin Axis, Mol Ther Nucleic Acids, .(2019) . Dec 6;18:34-44.

Original Article

Effect of High Intensity Interval Training and Thyme Honey on Hepatic miR-423-5P- FAM3A- Akt2 Pathway of Type ll Diabetic rats

Received: 08/07/2021 - Accepted: 26/04/2022

marjan abdi ardekani [1]
Abdol Ali Banaei Far [2*]
Sajjad Arshadi [3]
Hossein Abednatanzi [4]

[1] PhD student, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran. Iran.
[3] Department of Sports Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, South Tehran Branch, Tehran. Iran.
[4] Department of Physical Education and Sport Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email: banaeifar_a@iau.ac.ir

Abstract

Introduction: Micro-RNAs are effective in inflicting diabetes type II and its side effects. The Purpose of this study was to evaluate the effect of High Intensity Interval Training & thyme honey on expression of the genes of the hepatic miR-423-5P - FAM3A-AKt2 pathway in rats.

Materials and Methods: A total of 36 male rats were fed with high-fat diets for 20 weeks and were then injected streptozotocin (25 mg/kg) in order to inflict diabetes type II. The 36 rats were then divided into four groups: Control, regular exercise group, nutritional intervention group and exercise with nutritional intervention group. Regular exercise included five sessions a week for eight weeks and nutritional intervention was done at a dosage of 3 g/kg of thyme honey using a gauge method. The amount of expression of miR-423-5P, mRNA FAM3A and mRNA AKt2 genes of the liver were assessed using RT-PCR and evaluation kits. The obtained findings were analyzed using the two-way analysis of variance and Bonferroni post hoc test.

Results: 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. (p value<0.05).

Conclusion: It seems that HIIT & consumption of thyme honey, both alone and interactively with greater effectiveness, can change in expression of the mentioned gene in liver of rats with diabetes type II.

Key words: Diabetes Type II, miR-423-5P- FAM3A- AKt2, HIIT, Thyme Honey

Acknowledgement: There is no conflict of interest