



تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و ژل رویال n کروموزومی بر بیان ژن G6Pase هیپاتوسیت‌های کبدی و سطوح گلوکز و مقاومت به انسولین رت‌های دیابتی نوع دو

محمد رضا بیلاقی اشرفی: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده ادبیات، علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

حسین عابد نطنزی: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (✉ نویسنده مسئول) abednazari@gmail.com

فرشاد غزالیان: استادیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین تناوبی شدید،

دیابت نوع دو،

انسولین، ژل رویال،

ژن G6Pase

زمینه و هدف: دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری غدد درون ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز در اثر برهم‌خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. هدف پژوهش تأثیر تعاملی تمرین تناوبی شدید و ژل رویال n کروموزومی بر بیان ژن G6Pase هیپاتوسیت‌های کبدی و سطوح گلوکز و مقاومت به انسولین رت‌های دیابتی نوع دو بود.

روش کار: جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر (۳۵-۴۵ روزه) تشکیل می‌دادند. پس از ۲۰ هفته تغذیه با رژیم پرچرب با تزریق درون صفاقی ۲۵ میلی‌گرم STZ به ازای کیلوگرم وزن موش‌ها دیابتی شدند. موش‌هایی که گلوکز ناشتای آنها بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود دیابتی نوع دوم در نظر گرفته شد. موش‌های دیابتی در ۴ گروه کنترل (۶ سر)، تمرین تناوبی (۸ سر)، ژل رویال (۷ سر)، تمرین تناوبی شدید-ژل رویال (۸ سر) گروه بندی و پروتکل تمرینی و گاوژ ژل رویال روی آنها اجرا شد. هشت هفته تمرین تناوبی شدید، پنج جلسه در هفته با تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای ۸۰ تا ۹۰ درصد VO_2max و تناوب استراحت یک دقیقه‌ای با ۵۰ تا ۵۶ درصد VO_2max اجرا شد. ژل رویال بصورت گاوژ به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۵ روز در هفته داده شد. داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک‌راهه و تحلیل واریانس دوراهاه تحلیل شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید به کاهش معنی دار گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. تمرین تناوبی شدید و ژل رویال همچنین به افزایش بیان G6Pase در سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد. **نتیجه‌گیری:** بهبود نیرمخ گلیسیمیک در پاسخ به تمرینات تناوبی شدید و ژل رویال در رت‌های دیابتی را می‌توان به تغییرات سطوح گلوکز و انسولین و نیز تغییر در بیان ژن G6Pase کبدی نسبت داد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. Razi J Med Sci. 2020;27(10):135-150.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با [CC BY-NC-SA 3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/) صورت گرفته است.

The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats

Mohammad Reza Yeylaghi Ashrafi: PhD Student, Department of Physical Education, Faculty of Literature, Humanity and Social Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Hossein Abednatanzi: Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Literature, Humanity and Social Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (*Corresponding author) abednazari@gmail.com

Farshad Ghazalian: Assistant Professor, Department of Physical Education, Faculty of Literature, Humanity and Social Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: The aim of this study was the interactive effect of High Intensity Exercise Training (HIIT) and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in liver hepatocytes and glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. Intense interval training is usually performed with intensities above 90% of the maximum heart rate and short rest periods and a training duration of less than 20 minutes. Royal Jelly is a yellowish white substance secreted by the submandibular glands of worker bees and by the queen bee is consumed throughout its life and the larvae during the growing period. Due to their anti-oxidant and anti-diabetic, anti-cancer, anti-inflammatory effects, various drugs are obtained from gellular. Evidence from studies shows that the possibility of increased glucose-6-phosphatase expression plays an important role in increasing hepatic glucose production. Therefore, this article intends to report the interactive effect of HIIT and consumption of n-chromosomal royal jelly on glucose regulatory factors.

Methods: The statistical population of the present study consisted of rats. After 20 weeks of high-fat diet, rats became diabetic by intraperitoneal injection of 25 mg STZ per kg body weight. Mice with fasting glucose between 150 and 400 mg / dL were considered to have type 2 diabetes. Mice were treated in 4 groups: 6-head diabetic control, 8-period periodic training, 7-head Royal Jelly, 8-head Periodic Exercise, and 8-head Royal Jelly training group and training protocol and gel-royal gavage. The HIIT protocol consisted of eight weeks of aerobic exercise, five sessions per week with a gradual increase in extreme frequency from 22 to 38 meters per minute and a rest period of 16 to 22 meters per minute for 15 to 34 minutes by running on a treadmill. Running time increased from 16 minutes in the first week to 34 minutes in the eighth week. At the end of the training period and 48 hours after the last training session, the experimental training groups and after 12 hours of fasting, the rats were anesthetized and sacrificed by ether anesthetic. Blood samples were collected from the heart. Glucose was measured using an auto-analyzer. Insulin measured by a special kit of Pars Azmoun Company. The insulin resistance index was calculated using the formula and gene expression was also determined by PCR. To describe the data, descriptive statistics and inferential statistics of one-way analysis of variance and Ben Feroni post hoc test were used to compare the differences between groups and two-factor analysis of variance and

Keywords

Intensity Interval Training,
Type 2 Diabetic,
Insulin,
Royal Jelly,
G6pase Gene

Received: 22/09/2020

Published: 31/12/2020

effect size index were used to compare the effect of each of the independent variables. Significance level it was considered $p \leq 0.05$.

Results: 1. Mean glucose concentration (mg / dL) in the exercise group (138.25) compared to the control (333.83) was significantly reduced ($p = 0.005$) and in the exercise-royal gel group (134) compared to the royal gel group (131.57) had no significant difference ($p = 0.992$) and had a significant decrease compared to the control in the gel exercise group ($p = 0.001$). 2. Mean mean insulin concentration (IUI / ml) in the exercise group (6.22) was significantly increased compared to the control (3.89) ($P = 0.005$) and in the exercise-royal gel group (5.12) compared to the royal gel group (7.36) $p = 0.992$) but the royal jelly group had a significant increase compared to the control. And in the exercise group, Royal Jelly had a non-significant increase compared to control. 3. The mean insulin resistance index in the exercise group (2.04) was significantly lower than the control group (3.18) and gelrivial (2.31) ($p = 0.044$). 4. The mean ratio of G6pase gene expression in the exercise group (1.43) and in the exercise-gel-royal group (2.74) increased significantly compared to the control (1) and compared to gel-royal (0.45) but the expression of G6pase gene in the group Royal jelly decreased compared to control, but the difference was not significant.

Conclusion: Since increasing glucose production from non-carbohydrate pathways in the process of hepatic gluconeogenesis as well as accelerating the glycolysis process ultimately leads to increased hepatic glucose release, especially in diabetic patients. The findings of the present study revealed that the expression of genes involved in gluconeogenesis the liver is affected by exercise combined with royal jelly. Eight weeks of HIIT alone, in interaction with n-chromosomal royal jelly, increased G6Pase expression in the hepatocytes of type 2 diabetic rats compared with controls who did not participate in the exercise program, but the gel only decreased expression. The gene was compared to the control group. The possibility of increased liver G6Pase expression during acute exercise is due to the fact that this gene is positively regulated by prolonged fasting in rodents. On the other hand, it is also noted that insulin signaling pathways it plays an important role in controlling the expression of gluconeogenic genes such as G6Pase, which regulates the rate of hepatic gluconeogenesis. It has been suggested that G6Pase encoding is strongly mediated by transcription of some key hormones, especially insulin, glucagon, adrenaline, and glucocorticoids. Insulin is the most important regulatory factor in inhibiting gluconeogenesis and hepatic glucose production in post-meal conditions. In other words, although free fatty acids, glucocorticoids, and glucagon increase G6Pase expression, insulin strongly inhibits the expression of these genes. Based on the available evidence, the decrease in G6Pase gene expression in the Royal Jelly group can be attributed to a further increase in insulin levels in response to long-term use of Royal Jelly. Compared to the control group, intermittent aerobic exercise led to a significant reduction in glucose and insulin resistance index. Improvement of glycemic profile in response to periodic exercise and royal jelly in diabetic rats can be attributed to changes in glucose levels and beta cell function as well as changes in the expression of hepatic gluconeogenic genes.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *Razi J Med Sci.* 2020;27(10):135-150.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری غدد درون‌ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز در اثر برهم‌خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. این بیماری متابولیکی با هیپرگلیسمی ناشی از نقصان ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و یا ترکیبی از هر دو مشخص می‌شود (۱). این بیماری متابولیسم درون سلولی اغلب بافت‌ها از جمله کبد را متأثر می‌کند و به‌عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی نیز محسوب می‌شود. حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره‌سازی گلوکز از وظایف کبد به‌شمار می‌رود (۲). شواهد حاصل از مطالعات نشان‌دهنده این است که احتمالاً افزایش بیان گلوکز ۶-فسفاتاز در افزایش تولید گلوکز کبدی نقش به‌سزایی دارد (۳). کبد یکی از ارگان‌های کلیدی حفظ و تعادل هموستاز گلوکز سیستمیک در بدن می‌باشد (۴). سرعت گلوکونئوزن به واسطه فعالیت برخی آنزیم‌ها نظیر فسفوآنول پیرووات کربوکسی کیناز (PCPCK)، فروکتوز ۱ و ۶ دی فسفاتاز و گلوکز ۶-فسفاتاز (G6Pase) کنترل و تنظیم می‌شود (۵) هم‌چنین کدگذاری ژنتیکی این پروتئین‌ها به شدت توسط رونویسی برخی هورمون‌های کلیدی به‌ویژه انسولین، گلوکاگون، آدرنالین (اپی نفرین) و گلوکوکورتیکوئیدها کنترل می‌شود (۶). گلوکز ۶ فسفاتاز (G6Pase) آنزیم گلوکونئوزن کبدی است که بیان آن توسط انسولین مهار می‌شود. از طرفی بیان این آنزیم در بیماران دیابتی نوع ۲ افزایش می‌یابد که به‌نوعی ریشه در مقاومت انسولین کبدی دارد (۷). علاوه بر این، G6Pase آنزیم نهایی درگیر در گلوکونئوزن و گلیکوژنولیز است که توانایی تولید گلوکز اندوزن را در بافت کبد فراهم می‌کند (۸). با این‌وجود، تعیین ارتباط بین بیان این آنزیم با دیابت و نیمرخ قندی در انسان همواره بحث برانگیز بوده است (۹). محققان زیادی در سراسر دنیا در تلاش هستند تا با استفاده از روش‌های گوناگون از بیماری دیابت پیش‌گیری کنند و یا آن را درمان کنند و یا عوارض بیماری دیابت را کاهش دهند. امروزه استفاده از گیاهان دارویی و عصاره‌ها برای درمان بیماری‌ها افزایش یافته است. فعالیت ورزشی یکی از عوامل مهم اصلی کنترل قند خون است و هم‌چنین از ابزارهای درمانی کارآمد

در افراد مبتلا به دیابت به‌شمار می‌آید (۱۰). با توجه به نقش انجام تمرینات و فعالیت‌های ورزشی در پیش‌گیری و کنترل چاقی و دیابت، اتخاذ شیوه‌های مختلف تمرینی برای پیش‌گیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند چاقی و عوارض ناشی از آن مانند بیماری‌های کاردیومتابولیک مانند کبد چرب و دیابت در جامعه ضرورت پیدا می‌کند. تمرین استقامتی با حجم بالا کنترل قند خون را در دیابت نوع دو بهبود می‌بخشد، اما بسیاری از افراد "کمبود وقت" را به‌عنوان مانعی برای مشارکت منظم ذکر می‌کنند. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) در نهایت یک روش با زمان کارآمد برای ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژیکی می‌باشد، اما در مورد تأثیر HIIT در دیابت نوع دو کمتر شناخته شده است. تمرینات تناوبی شدید که معمولاً با شدت‌های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دوره استراحت‌های کم و مدت زمان تمرینی کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می‌گیرد، با به‌کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی‌تر ارگان‌های متابولیکی می‌تواند از طریق سازوکار سلولی مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت مثبت تحت تأثیر قرار دهد (۱۱). از این‌رو با انجام تمرینات تناوبی شدید، با فعال کردن متابولیسم عضلانی بسیاری از مسیرهای مربوط به متابولیسم چربی و جذب گلوکز خون را افزایش و باعث بالا رفتن هرچه بهتر متابولیسم می‌شود (۱۲).

در طب سنتی برای پیش‌گیری و درمان بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت و کبد چرب از داروهای گیاهی و سنتی استفاده می‌شود (۱۳). در این مورد مطالعات نشان داده، عسل آپیشن با توجه به خواصی که دارد در تنظیم قند خون به‌عنوان یک ضد دیابت نقش مهمی ایفا می‌کند. پژوهش‌ها درباره عسل حاکی از این است که عسل اثرات ضد دیابتی را در مدل‌های حیوانی گرفته تا آزمایشات بالینی نشان داده است و محققان از آن به‌عنوان یک عامل ضد دیابتی بالقوه استفاده کرده‌اند (۱۴، ۱۵). ژل رویال (Royal Jelly) ماده سفید مایل به زرد است که توسط غدد تحت فکی زنبورهای کارگر ترشح و توسط زنبور ملکه در تمام عمر و لاروها در طول دوره رشد مصرف می‌شود (۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹). ژل رویال RJ و ترکیبات فعال زیستی آن به دلیل داشتن

استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به‌عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از دیابت مانند قلب دیابتی و آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش‌های صحرایی نر تشکیل می‌دهند و نمونه‌های پژوهش ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار جوان با دامنه سنی ۳۵ تا ۴۵ روز و میانگینی وزنی 110 ± 10 گرم بودند. پس از دو هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به وزن میانگین 170 ± 30 تحت رژیم پر چرب قرار گرفتند. پس از ۲۰ هفته (۵ ماه) تغذیه با رژیم پرچرب و دسترسی آزاد به مواد غذایی و آب، به ۴ گروه کنترل دیابتی (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید (۱۰ سر)، ژل رویال (۸ سر)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۱۰ سر) تقسیم شدند که در پایان پروتکل ۲۹ سر در ۴ گروه کنترل دیابتی (۶ سر)، تمرین تناوبی شدید (۸)، ژل رویال (۷)، تمرین تناوبی شدید و ژل رویال (۸ سر) باقیماندند.

شیوه نگهداری و تغذیه موش‌های صحرایی:

برای نگهداری موش‌های صحرایی از قفس‌های جنس پلی کربنات شفاف با قابلیت اتو کلاو 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 سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. جهت تغذیه موش‌های صحرایی از رژیم پر چرب استاندارد استفاده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به‌صورت نامحدود بود و آب در بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری در تمامی قفس‌ها وجود داشت.

روش چاق کردن رت‌ها با رژیم پر چرب: برای

این منظور، پس از آشناسازی و سازگاری با محیط جدید، تمامی رت‌ها به مدت ۲۰ هفته (۵ ماه) 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 و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر

اثرات آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد باکتریایی، ضد دیابتی، ضد سرطان، ضد التهابی، ضد فشار خون، و داروهای سیستم ایمنی بدن، داروهای گسترده‌ای را به‌نمایش می‌گذارند. هم‌چنین نقش مهمی در محافظت از کبد و کلیه، بهبود زخم و سیستم تناسلی دارد و در بیماران دیابتی، اثرات کاهش‌دهنده روی قند خون و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT، GSH-PX و SOD را نشان داد (۱۶). ژل رویال به‌طور عمده از ترکیبات مهم با فعالیت‌های بیولوژیکی و تقویت‌کننده سلامتی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، قندها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای آمینه آزاد تشکیل شده است (۱۹) و حاوی ویتامین‌هایی مانند ریبوفلاوین، تیامین، نیاسین، اسید فولیک، بیوتین، و پیریدوکسین و مقادیر کمتری از ویتامین‌های C، D، E (۲۰) و علاوه بر این، کلسیم، سدیم، پتاسیم، مس، آهن، روی و منگنز مواد معدنی اصلی RJ هستند (۲۱). علاوه بر این، RJ فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی از قبیل اثر فشار خون، عملکرد شبیه انسولین دارد. بنابراین، ممکن است که RJ تأثیراتی در مقاومت به انسولین داشته باشد که به‌عنوان علت اصلی DM در نظر گرفته می‌شود. به‌طور مثال، در یک مطالعه روی موش‌ها، مکمل یاری دوزهای مختلف ژل رویال (۱۰، ۳۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به کاهش فشار خون سیستولیک و سطح انسولین سرم و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. اثرات آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریایی، ضدالتهابی و محافظت‌کننده عصبی ژل رویال نیز به اثبات رسیده است (۲۲، ۲۳). اما تاکنون گزارشی مبنی بر اثرات تعاملی تمرین تناوبی شدید و اثرات ضد دیابتی ژل رویال و مصرف طولانی مدت این ماده بر وزن بدن، سطح گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین و بیان ژن‌های گلوکونئوزنیک کبدی موش‌های مدل چاق شده با رژیم پر چرب و دیابتی شده نوع دو با دوز پایین استرپتوزوتوسین (STZ) مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا این مقاله در نظر دارد اثر تعاملی تمرین تناوبی شدید و مصرف ژل رویال n کروموزومی را بر عوامل تنظیمی گلوکز با هم گزارش کند تا شاید بتوان از اثر بخشی ژل رویال در کنار طراحی برنامه ورزشی تناوبی شدید متناسب با رژیم غذایی برای دیابتی‌ها

جدول ۱- ترکیب امولسیون پر چرب گاوآژ به موش های صحرایی

| غذای پرچرب ۶۰٪ | غذای پرچرب ۴۵٪ | غذای رایج | ماده |
|----------------|----------------|-----------|----------------|
| ۲۶ | ۴۱ | ۵۰/۰۳ | کربوهیدرات (%) |
| ۲۴ | ۲۴ | ۲۳ | پروتئین (%) |
| ۳۵ | ۲۴ | ۵/۱ | چربی (%) |
| ۶۰ | ۴۵ | - | چربی (Kcal%) |
| ۵/۲ | ۴/۸ | ۳/۱ | کالری (Kcal/g) |

تعیین شدت تمرین (MERT Maximal Exercise Running Test): برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل رودریگرز و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردند و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا این که هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به‌عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد و سرعت حداکثر برای شدت تمرین بین ۸۰ تا ۹۵ درصد MERT در نظر گرفته شد که خلاصه پروتکل در جدول ۲ آمده است. با توجه به پژوهش‌های صورت گرفته، ارتباط بالایی بین سرعت نوارگردان و VO_2max رت‌ها وجود دارد ($r=0.94-0.98, p<0.05$). از این رو می‌توان با توجه به سرعت دویدن، میزان VO_2max رت‌ها را برآورد کرد (۳۱).

پروتکل تمرین تناوبی شدید: برنامه هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد VO_2max) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد VO_2max) 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. رت‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به‌منظور آشنایی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شیب صفر

۱۰۰ گرم می باشد رژیم پر چرب ۴۵ درصد به مدت ۳ ماه و رژیم پر چرب ۶۰ درصد به مدت ۲ ماه داده شد (جدول ۱) (۲۴، ۲۵).

روش دیابتی کردن رت‌ها از طریق تزریق استرپتوزتوسین (STZ): برای القای دیابت از رژیم غذایی پر چرب به مدت ۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی قابل تزریق و به‌صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشتایی با ایجاد جراحت کوچک در دم رت‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم/دسی لیتر به‌عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای رت‌ها به دیابت در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۱۰ سر موش به‌طور تصادفی خون‌گیری از دم به‌عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت به انسولین آن‌ها اندازه گیری شد که اطلاعات آن در جداول یافته‌ها آمده است (۲۶، ۲۷، ۲۸).

پروتکل مصرف ژل رویال n کروموزومی: در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه ژل رویال، و گروه ژل رویال و تمرین تناوبی شدید، ژل رویال با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (100mg/kg) رقیق شده در آب مقطر و به روش گاوآژ خورانده شد (۲۹ و ۳۰). ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آنها می‌توان کوئرستین، کامفرول، آپیزین و لوتئولین را نام برد. ژل رویال آنالیز شده و در دمای منفی ۲۰ و به‌صورت سرد نگهداری شده و هنگام گاوآژ طبق دوز لازم با توجه به پروتکل رفرنس‌ها در آب مقطر حل و گاوآژ شد.

آزمون تمرین دویدن با سرعت حداکثر برای

جدول ۲- پروتکل تمرین تناوبی شدید

| هفته | شدت گرم | تعداد | زمان تناوب | سرعت تناوب شدید | زمان تناوب | شدت تناوب | شدت سرد |
|-------------|-----------------|---------|------------|-----------------------------------|------------|-----------|-----------------|
| اول و دوم | ۱۰ متر در دقیقه | ۲ تناوب | ۲ دقیقه | ۸۰٪ سرعت بیشینه (۳۰ متر در دقیقه) | ۱ دقیقه | استراحت | ۱۰ متر در دقیقه |
| سوم و چهارم | ۱۰ | ۴ تناوب | ۲ دقیقه | ۸۵٪ (۳۲ متر در دقیقه) | ۱ دقیقه | استراحت | ۱۰ دقیقه |
| پنجم و ششم | ۱۰ | ۶ تناوب | ۲ دقیقه | ۹۰٪ (۳۴ متر در دقیقه) | ۱ دقیقه | استراحت | ۱۰ دقیقه |
| هفتم و هشتم | ۱۰ | ۸ تناوب | ۲ دقیقه | ۹۵٪ (۳۶ متر در دقیقه) | ۱ دقیقه | استراحت | ۱۰ دقیقه |

جدول ۳- پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

| NM_013098.2 | Sequence | Product size (bp) |
|----------------|----------------------|-------------------|
| Forward G6Pase | GTCTGTCTGTCCCGGATCT | 127 |
| Reverse G6Pase | TCTGGAGGCTGGCATTGTA | |
| Forward GAPDH | GCCTGGAGAAACCTGCCA | 137 |
| Reverse GAPDH | GGAAGAATGGGAGTTGCTGT | |

درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل بهمین ترتیب روی تردمیل راه رفتند (۳۲،۳۳) (جدول ۲).
نمونه‌گیری: با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی هوشی اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- نگهداری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد (۲۲).

درصد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل بهمین ترتیب روی تردمیل راه رفتند (۳۲،۳۳) (جدول ۲).

با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گروه‌های تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌ها توسط ماده بی هوشی اتر بی‌هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خون‌گیری از قلب جمع‌آوری شد و در دمای ۲۰- نگهداری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیزر و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد (۲۲).

$$405 / (\text{mg/dl}) * (\text{UI/ml}) = \text{HOMA-IR}$$

مقاومت به انسولین (HOMA-IR)

روش بیان ژن G6pase بافت کبد: بافت کبد نیز به منظور اندازه‌گیری بیان ژن جدا و بلافاصله توسط ازت مایع به فریزر منفی ۸۰ منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS²² تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنف جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بن‌فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیر هر یک از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز آماری ژن G6Pase با استفاده از نرم‌افزار SPSS²² انجام شد.

(۳۷۳/۱۲)، ژل رویال (۳۴۴/۵۷) و تمرین - ژل رویال (۳۳۴/۲۵) نسبت به کنترل (۳۱۷) افزایش غیر معنی دار داشت.

۲. میانگین غلظت گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) در گروه تمرین (۱۳۸/۲۵) نسبت به کنترل (۳۳۳/۸۳) کاهش معنی دار داشت (C&E. P=۰/۰۰۵) و در گروه تمرین - ژل رویال (۱۳۴) نسبت به گروه ژل رویال (۱۳۱/۵۷) تفاوت معنی داری نداشت داشت (G&EG. P=۰/۹۹۲) و در گروه تمرین ژل نسبت به کنترل کاهش معنی دار (C&EG. P=۰/۰۰۱) داشت.

۳. میانگین غلظت انسولین ($\mu\text{UI/ml}$) در گروه تمرین (۶/۲۲) نسبت به کنترل (۳/۸۹) افزایش معنی دار داشت (C&E. P=۰/۰۰۵) و در گروه تمرین - ژل رویال (۵/۱۲) نسبت به گروه ژل رویال (۷/۳۶) تفاوت معنی داری نداشت (G&EG. P=۰/۹۹۲) اما گروه ژل رویال نسبت به کنترل افزایش معنی داری داشت. و در گروه تمرین ژل رویال نسبت به کنترل افزایش غیر معنی دار داشت.

۴. میانگین شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در گروه تمرین (۲/۰۴) نسبت به گروه کنترل (۳/۱۸) و ژل رویال (۲/۳۱) کاهش معنی دار داشت (E&H. P=۰/۰۴۴).

۵. میانگین نسبت بیان ژن G6pase (Fold cheng) در گروه تمرین (۱/۴۳) و در گروه تمرین - ژل رویال (۲/۷۴) نسبت به کنترل (۱) افزایش معنی دار و نسبت به ژل رویال (۰/۴۵) افزایش معنی دار داشت اما بیان

در اینجا گروه شاهد به عنوان رفرنس سایر گروه‌ها می‌باشد و برحسب این گروه P-Value سایر گروه‌ها به دست آورده شد. سطح معنی داری $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین وزن موش‌های مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است.

در جدول ۴ نیز میانگین وزن موش‌ها (گرم) قبل و پس از رژیم پر چرب را نشان می‌دهد. این جدول نشان می‌دهد وزن بعد از اعمال رژیم پرچرب افزایش قابل مشاهده داشته است. اطلاعات توصیفی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها که پس از خون‌گیری از دم اندازه‌گیری شده نیز در جدول ۴ مشاهده می‌شود که حاکی از دیابتی شدن موش‌ها می‌باشد.

جدول ۵ وزن پس از رژیم پرچرب، وزن پس از هشت هفته، گلوکز، انسولین، HOMA.IR و G6pas.gen.Fold.cheng را در گروه کنترل، تمرین تناوبی شدید، ژل رویال و گروه ترکیبی تمرین و ژل رویال نشان می‌دهد.

یافته‌های بیان ژن: شکل ۱ منحنی تکثیر G6pase در نمونه‌های دیابتی کنترل و تجربی (ژل رویال و تمرین تناوبی شدید) را نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۶ نتایج زیر به دست آمد:

۱. میانگین وزن (گرم) در گروه‌های تجربی تمرین

جدول ۴- اطلاعات توصیفی اولیه وزن و گلوکز و مقاومت به انسولین موش‌های صحرایی پس از رژیم پر چرب HFD و القای دیابت با STZ برای

تشخیص دیابت نوع دوم

| HOMA.IR | انسولین ($\mu\text{UI/ml}$) | گلوکز (mg/dl) | وزن پس از چاقی (گرم) | وزن شروع پروتکل (گرم) |
|-----------------|-------------------------------|-----------------|----------------------|-----------------------|
| 3.56 ± 1.43 | 3.92 ± 0.49 | $363 \pm 124/5$ | $409.03 \pm 51/69$ | $193/34 \pm 19/46$ |

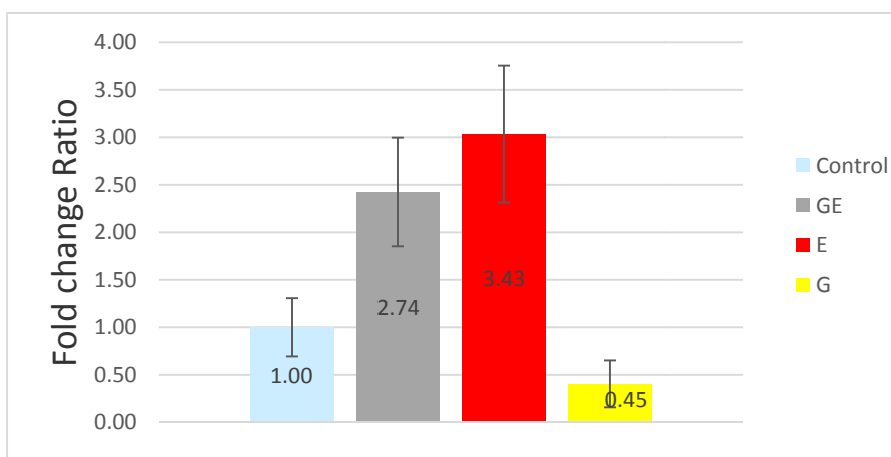
جدول ۵- توصیف وزن و گلوکز، انسولین و شاخص مقاومت به انسولین و بیان ژن G6pase کبدی موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف

| متغیر / گروه | کنترل (۶ سر) | تمرین تناوبی (۸ سر) | ژل رویال (۷ سر) | تمرین و ژل رویال (۸ سر) |
|-------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|
| وزن پس از رژیم پر چرب (گرم) | $386/66 \pm 48/42$ | $407/37 \pm 64/64$ | $417/42 \pm 33/69$ | $420/420 \pm 56/05$ |
| وزن پس از هشت هفته (گرم) | $317 \pm 71/3$ | $374/12 \pm 54/28$ | $344/57 \pm 35/17$ | $334/25 \pm 32/27$ |
| گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) | $333/83 \pm 39/39$ | $138/25 \pm 40/04$ | $131/57 \pm 15/74$ | $134/00 \pm 14/87$ |
| انسولین ($\mu\text{UI/ml}$) | $0.53 \pm 3/89$ | $1/35 \pm 6/22$ | $2/87 \pm 7/36$ | $0.89 \pm 5/12$ |
| HOMA.IR | $0.33 \pm 3/18$ | $0.35 \pm 2/04$ | $0.68 \pm 2/31$ | $0.36 \pm 1/69$ |
| G6pas.gen.Fold.cheng | ۱ | $2/17 \pm 3/43$ | $0.27 \pm 0/45$ | $1/63 \pm 2/74$ |

جدول ۶- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثر گروه‌ها

| متغیر/شاخص آماری | گروه | گروه | F | Sig. | اندازه اثر | معنی داری |
|-----------------------------------|----------------|----------------|-------|--------|------------|------------------|
| وزن (گرم) | کنترل | تمرین | ۰/۹۴۳ | ۰/۳۴۱ | ۰/۰۳۶ | P= ۰/۶۲۷ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۰/۳۳۴ | ۰/۵۶۹ | ۰/۰۱۳ | |
| | تمرین*ژل رویال | تمرین*ژل رویال | ۴/۲۹ | ۰/۰۴۹ | ۰/۱۴۷ | |
| گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر) | کنترل | تمرین | ۷۵/۷۰ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۷۵۲ | C&E. P= ۰/۰۰۰۱ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۸۶/۵۳ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۷۷۶ | E & EG. P= ۰/۹۹۲ |
| انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر) | کنترل | تمرین | ۰/۰۰۵ | ۰/۹۴۶ | ۰/۰۰۰۱ | C&EG. P= ۰/۰۰۰۱ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۳/۶۲ | ۰/۰۶۹ | ۰/۱۲۷ | C&G. P= ۰/۰۰۱ |
| شاخص مقاومت به انسولین | کنترل | تمرین | ۲۶/۲۳ | ۰/۰۱۲ | ۰/۰۰۰۱ | C&E. P= ۰/۰۰۱ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۱۲/۷۸ | ۰/۱۶۷ | ۰/۰۰۱ | C&G. P= ۰/۰۰۱ |
| | تمرین*ژل رویال | تمرین*ژل رویال | ۲/۲۶ | ۰/۳۹۴ | ۰/۱۴۵ | E&EG. P= ۰/۰۰۱ |
| بیان ژن G6pase (Fold Cheng) | کنترل | تمرین | ۱۵/۷۶ | ۰/۰۰۱ | ۰/۴۰۷ | C&E. P= ۰/۰۰۴ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۱/۳۹ | ۰/۳۴۹ | ۰/۰۵ | G&E. P= ۰/۰۰۷ |
| | تمرین*ژل رویال | تمرین*ژل رویال | ۰/۰۰۰ | ۰/۹۹۰ | ۰/۰۰۰ | G&E. P= ۰/۰۰۷ |
| | ژل رویال | ژل رویال | ۰/۰۰۰ | ۰/۹۹۰ | ۰/۰۰۰ | |

تمرین و ژل رویال=EG، ژل رویال=G، تمرین=E، کنترل=C



شکل ۱- مربوط به منحنی تکثیر G6pase در نمونه‌های دیابتی کنترل و تجربی (ژل رویال و تمرین تناوبی شدید)

مشخص دیابت نوع دو افزایش تولید گلوکز درون‌زا، عمدتاً به دلیل افزایش تولید گلوکز کبدی است (۳۵) در طول ناشتایی، گلوکونئوز کبدی منبع اصلی تولید گلوکز درون‌زا است و آنزیم اصلی تنظیم گلوکونئوز G6Pase است (۳۶) مسیر مشترک نهایی انتشار گلوکز شامل دفسفوریل‌اسیون گلوکز از طریق G6Pase است. نشان داده شده است که افزایش میزان تولید گلوکز در افراد دیابتی می‌تواند به افزایش میزان گلوکونئوز نسبت داده شود. بنابراین افزایش فعالیت G6Pase منجر به افزایش تولید گلوکز درون‌زا در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو می‌شود و متعاقباً گلوکز

ژن G6pase در گروه ژل رویال نسبت به کنترل کاهش داشته اما تفاوت معنی‌دار نیست.

بحث

در پژوهش حاضر اثر هشت هفته تمرین تناوبی شدید و ژل رویال بر بیان ژن G6pase کبدی و نیز سطوح گلوکز و مقاومت به انسولین موش‌های دیابتی نوع دو مطالعه شد. اخیراً مطالعاتی با هدف مهار فرآیندهای کبدی که رهایی گلوکز کبدی را در دستور کار دارند انجام گرفته است (۳۴). آنزیم کبدی نقش مهمی در هموستاز گلوکز خون ایفا می‌کند. یک ویژگی

ناشتا افزایش می یابد (۳۶، ۳۷).

در این میان، نقش ورزش و تمرینات ورزشی نیز همواره مطرح بوده است. اگرچه مطالعات در این زمینه بر روی مسیرهای درگیر در رهایی گلوکز کبدی کمتر انجام گرفته است. اما یافته‌های مطالعه حاضر آشکار نمود که بیان ژن‌های درگیر در فرآیند گلوکونئوزن کبدی از تمرینات ورزشی تأثیر می‌پذیرد. به طوری که هشت هفته تمرین تناوبی شدید به تنهایی و در تعامل با مصرف ژل رویال n کروموزومی به افزایش بیان G6Pase در سلول‌های کبدی رت‌های دیابتی نوع ۲ نسبت به گروه کنترل که در برنامه تمرینی شرکت نداشته‌اند منجر شد اما مصرف ژل رویال تنها منجر به کاهش بیان ژن نسبت به گروه کنترل شد. تاکنون مطالعات بسیار محدودی در این رابطه انجام شده است. با این حال، موافق با پژوهش حاضر برخی مطالعات قبلی نیز افزایش سطح G6Pase کبدی را پس از تمرین در موش‌ها را گزارش نموده‌اند (۳۸، ۳۹). در تحقیقی تأثیر یک وهله تمرین هوازی بر محتوای پروتئین گلوکونئوزنیک و تنظیم آنزیم‌های درگیر در متابولیسم سوبسترا در کبد مطالعه شد. موش‌ها یک ساعت ورزش تردمیل را تحمل نمودند و میزان mRNA G6Pase کبدی متعاقب یک ساعت دویدن روی تردمیل بلافاصله افزایش یافت (۳۸) احتمالاً افزایش بیان G6Pase کبدی طی وهله‌های ورزش حاد به این دلیل است که این ژن به واسطه طولانی شدن ناشتایی در جوندگان تنظیم مثبت می‌شود (۴۰).

در مطالعه چانگ و همکاران (۲۰۰۶) و مارینهو و همکاران (۲۰۱۲) نیز با استناد به یافته‌های خود نشان دادند که تمرینات ورزشی استقامتی طولانی‌مدت مستقل از کاهش وزن موجب بهبود مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت کبد می‌شود. هم‌چنین اثرات سودمند ورزش بر روی عملکرد انسولین به همراه کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوزنیک مشخص گردید. به طوری که تمرینات استقامتی طولانی مدت به کاهش بیان G6Pase منجر شد. علاوه بر این تعادل و بهبود در سطوح پروتئین و بیان ژن‌های درگیر در مسیر گلوکونئوزن کبدی، جدا از مقاومت یا حساسیت انسولین در بافت‌های هدف نظیر عضلات اسکلتی و بافت چربی، به شدت سطوح گلوکز خون را متأثر

می‌نماید. تاجایی که می‌توان کاهش سطوح گلوکز خون متعاقب تمرینات ورزشی را به کاهش بیان ژن‌های درگیر در مسیر گلوکونئوزن کبدی نسبت داد (۴۱، ۴۲). برخی محققان به مسیرهای متابولیکی و هورمونی موثر در فرایند گلوکونئوزن کبدی اشاره داشته‌اند. به گونه‌ای که این محققان عنوان نموده‌اند که گلوکاگون و کورتیکورتيكوبيدها سرعت گلوکونئوزن کبدی را بواسطه افزایش بیان G6Pase افزایش می‌دهند. پروتئین فعال کننده PGC-1 به عنوان میانجی مهم در تنظیم این فرآیند عمل می‌کند. در عوض، انسولین با فعال کردن PI 3-کیناز بیان ژن‌های PEPCK و G6Pase را کاهش می‌دهد. با این اوصاف، مسیرهای مستقل از PI 3-کیناز هم‌چنین بیان آنزیم‌های گلوکونئوزن را مهار می‌کند (۴۳).

اختلال در مسیرهای سیگنالینگ انسولین در بافت چربی و عضلانی با کاهش مصرف گلوکز در این بافت‌ها همراه است که هایپیرگلیسمی و افزایش قند خون پیامد آن است. نقص عملکرد انسولین در بافت‌های هدف نه تنها در دیابتی‌های نوع ۲ چاق بلکه سایر جمعیت‌های چاق سالم و بیمار به کرات گزارش شده است (۴۴، ۴۵). عوامل متعددی نظیر افزایش سطوح شاخص‌های نیمرخ چربی و کاهش HDL، اختلال در مولفه‌های متابولیکی نظیر لیپیدهای خون و مولفه‌های هورمونی نظیر کورتیزول، هورمون‌های تیروئیدی سهم بالقوه‌ای در اختلال عملکرد انسولین در بافت‌های هدف دارند (۴۶). از طرفی، برخی مطالعات اختلال عملکرد سلول‌های بتا را از علل ثانویه بروز دیابت نوع ۲ معرفی نموده‌اند (۴۷). به طوری که کاهش یا اختلال عملکرد سلول‌های بتا که اغلب در پاسخ به اختلالات هورمونی یا ژنتیکی حاصل می‌شود نقش سنتر و ترشح انسولین از سلول‌های بتا را به دنبال دارد. از طرفی، برخی مطالعات جدیدتر، مستقل از مقاومت انسولین در بافت هدف، اختلال عملکرد سلول‌های بتا را عامل اصلی دیابت نوع ۲ معرفی نموده‌اند (۴۸).

صرف‌نظر از این که این بیماری در پاسخ به هر یک از عوامل بالا یا نقص همزمان هر دو حاصل شود عوامل دیگر نظیر افزایش رهایی گلوکز کبدی پدیده هایپیرگلیسمی یا افزایش قند خون را در این بیماران محسوس‌تر می‌کند. به طوری که افزایش تولید گلوکز از

ژن‌های درگیر در مسیر گلوکونئوژنز کبدی نسبت داده اند. به طوری که در مطالعه دی مائورا و همکاران (۲۰۱۳)، اثر یک جلسه ورزش شنای طولانی مدت روی سطوح پروتئین و بین برخی ژن‌های موثر در رهایی گلوکز کبدی در رت‌های چاق سالمند اندازه گیری شد. به طوری که رت‌های مورد مطالعه ۱/۵ ساعت شنا در دو مرحله با فاصله زمانی ۴۵ دقیقه اجرا نمودند. یافته‌ها آشکار نمود که سطوح پروتئین PEPCK و G6Pase در ۱۶ ساعت پس از آزمون ورزشی در بافت کبد گروه سالمند به میزان معنی داری کاهش یافت (۵۲).

از طرفی، به این نکته نیز اشاره می‌شود که مسیرهای سیگنالینگ انسولین نقش مهمی را در کنترل بیان ژن‌های گلوکونئوژنیک نظیر G6Pase و PEPCK که سرعت گلوکونئوژنز کبدی را تنظیم می‌کنند بازی می‌کند (۵۳). در این زمینه عنوان شده است که رمزگذاری یا کدگذاری ژنتیکی G6Pase و PEPCK به شدت توسط رونویسی برخی هورمون‌های کلیدی به‌ویژه انسولین، گلوکاگون، آدرنالین (اپی نفرین) و گلوکوکورتیکوئیدها کنترل می‌شود. به طوری که در شرایط پس غذایی، انسولین مهم‌ترین فاکتور تنظیمی مهار گلوکونئوژنز و تولید گلوکز کبدی است (۵۴، ۵۵، ۵۶). به عبارتی، اگرچه اسیدهای چرب آزاد، گلوکوکورتیکوئیدها و گلوکاگن به افزایش بیان G6Pase و PEPCK منجر می‌شوند اما انسولین به شدت بیان ژن‌های مذکور را مهار می‌کند (۵۷). بر پایه شواهد موجود، کاهش بیان ژن G6Pase در گروه ژل رویال را می‌توان به نوعی به افزایش بیشتر سطوح انسولین در پاسخ به مصرف طولانی مدت ژل رویال نسبت داد. اما در مورد تغییرات انسولین در تمرینات تناوبی شدید در این زمینه، ایزدی و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش انسولین سرم همراه با کاهش گلوکز خون را در پاسخ به تمرینات HIIT طولانی مدت در رت‌های دیابتی نوع ۲ گزارش نموده‌اند (۵۸). همچنین رشیدی و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نموده‌اند که ۱۲ هفته تمرین هوازی به افزایش سطوح سرمی انسولین و کاهش گلوکز خون در رت‌های دیابتی نوع ۲ گزارش منجر می‌شود (۵۹). از طرفی پژوهش دیگری توسط خواجه لندی و همکاران (۲۰۱۷) روی نمونه‌های حیوانی تاثیر شش هفته تمرین شنا همراه با مصرف عصاره آلوة ورا

مسیرهای غیر کربوهیدرات در فرایند گلوکونئوژنز کبدی هم‌چنین تسریع در فرآیند گلیکولز نهایتاً به افزایش رهایی گلوکز کبدی بویژه در بیماران دیابتی منتهی می‌شود (۴۹، ۵۰). از این رو، اخیراً مطالعاتی با هدف مهار فرآیندهای کبدی که رهایی گلوکز کبدی را در دستور کار دارند انجام گرفته است. در این میان، نقش ورزش و تمرینات ورزشی نیز همواره مطرح بوده است. در این زمینه، اگرچه مطالعات روی مسیرهای درگیر در رهایی گلوکز کبدی کمتر انجام گرفته است. اما یافته‌های مطالعه حاضر آشکار نمود که بیان ژن‌های درگیر در فرآیند گلوکونئوژنز کبدی در پاسخ به تمرینات ورزشی متاثر می‌شود.

با این وجود، مشخص شده است که بیان ژن‌های درگیر در فرایند گلوکونئوژنز پس از ریکاوری طولانی مدت متعاقب ورزش طولانی مدت به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. به طوری که در مطالعه روپل و همکاران (۲۰۰۹)، بیان ژن‌های کبدی PEPCK و G6Pase متعاقب ۸ ساعت ریکاوری پس از یک جلسه ورزش طولانی مدت کاهش یافت و محققان این کاهش را به نوعی به تغییر در مسیرهای سیگنالینگ دیگر ژن‌های مرتبط نظیر فرایندهای کبدی نسبت داده‌اند. به طوری که در مطالعه مذکور، گروهی از رت‌ها دو فعالیت شنای ۳ ساعتی با فاصله استراحتی ۴۵ دقیقه اجرا نمودند و تست تحمل گلوکز و بیان ژن پس از ۸ ساعت ریکاوری انجام گرفت. یافته‌ها نشان داد که مسیرهای سیگنالینگ انسولین پس از ۸ ساعت ریکاوری متعاقب یک جلسه ورزش استقامتی طولانی مدت بهبود می‌یابد که با کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوژنز کبدی نظیر PEPCK و G6Pase هم‌زمان با افزایش فسفوریلیشن Akt و Foxo1 وابسته به انسولین هم‌چنین کاهش بیان PGC-1alpha در سلول‌های کبدی همراه است (۵۱).

در این زمینه، محققان همواره به این نکته تأکید نموده‌اند که جدا از مقاومت یا حساسیت انسولین در بافت‌های هدف نظیر عضلات اسکلتی و بافت چربی، تعادل و بهبود در سطوح پروتئین و بیان ژن‌های درگیر در مسیر گلوکونئوژنز کبدی به شدت سطوح گلوکز خون را متاثر می‌کند. طوری که این محققان کاهش سطوح گلوکز متعاقب تمرینات ورزشی را به کاهش بیان

دهند که در این پژوهش هم این نتیجه مشاهده شد (۶۶). ژل رویال با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، در برابر گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید مبارزه می‌کند (۶۷) و به میزان قابل توجهی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت پانکراس بیماران دیابتی تیپ ۲ می‌شود که با توجه به مطالب ذکر شده، بخشی از این اثرات احتمالاً به علت وجود فلاونوئیدها در ژل رویال ایجاد شده است. اثر هیپوگلیسمیک ژل رویال را به ویتامین‌های موجود در آن نیز می‌توان نسبت داد (۶۸،۶۹). مطالعات نشان داده است که ویتامین‌های B₁، C، D، E، بیوتین و نیاسین به فراوانی در ژل رویال یافت می‌شود. ویتامین C سطح گلوکز سرم را در دیابت نوع دو کاهش می‌دهد (۶۹) و در بسیاری از واکنش‌های شیمیایی به صورت رقابتی جانشین گلوکز می‌شود و از گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها به خصوص هموگلوبین و لیپوپروتئین‌ها ممانعت می‌کند (۷۰). ویتامین‌های B₁، B₆، B₁₂، D و E، بیوتین و نیاسین نیز عملکرد سلول‌های بتا را تقویت می‌کنند و با تحریک تولید گلیکوژن و مهار گلوکونئوز، سطح گلوکز را در بیماران مبتلا به دیابت کاهش می‌دهد. بنابراین بخشی از نقش مصرف ژل رویال بر کاهش گلوکز را می‌توان به ترکیبات ویتامینی موجود در آن نسبت داد (۷۱،۷۲).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با توجه به نتایج تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تمرینات تناوبی شدید در بهبود سطوح گلوکز بواسطه تاثیر مولفه‌های ژنتیکی موثر در رهایی گلوکز کبدی و در بیماران دیابتی نوع ۲ موثر می‌باشد و ژل رویال هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و جایگزین خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش‌های متعدد آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها به‌ویژه گلوکز و نیز تنظیم متابولیسم لیپید و کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدی و کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و معمولاً همراه با اضافه وزن و چاقی نیز می‌باشد ممانعت می‌کنند. با این‌وجود انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری

برنیم‌رخ چربی موش‌های نر دیابتی مورد مطالعه قرار گرفت و نشان داده شد تمرین‌شنا، مصرف عصاره آلوت‌ه‌ورا و ترکیب آنها اثر معنی‌داری بر کاهش گلوکز و بهبود نیم‌رخ چربی موش‌های دیابتی داشت (۶۰) که نتایج آنها هم‌سو با پژوهش حاضر می‌باشد. از این‌رو، بر پایه یافته‌های مطالعه حاضر و سایر مطالعات پیشین، جدا از تغییرات ژنتیکی مذکور، کاهش گلوکز خون را می‌توان به نوعی به افزایش سنتز و ترشح انسولین از سلول‌های بتا و کاهش مقاومت به انسولین و افزایش حساسیت انسولینی و در نتیجه بهبود عملکرد سلول‌های بتا نسبت داد.

ژل رویال نیز حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان کوئرستین، کامفرول، آپیزنین و لوتئولین را نام برد (۶۱). فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می‌گذارند، این ترکیبات موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس لیپیدی و مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ممانعت می‌کنند. فلاونوئیدها (به‌خصوص کوئرستین) از کاهش وزن در دیابت نیز جلوگیری می‌کنند (۶۲،۶۳) بنابراین ممکن است ژل رویال با محتوای فلاونوئیدی خود از کاهش وزن موش‌های دیابتی در مطالعه حاضر جلوگیری کرده باشد و حتی افزایش غیر معنی‌دار وزن هم در گروه تمرین و ژل رویال داشتیم و در گروه تمرین هم احتمالاً به دلیل افزایش اشتها در نتیجه افزایش فعالیت هورمون‌ها و نروپپتاید‌های اشتها در نتیجه انجام فعالیت‌های ورزشی میزان و رفتار دریافت غذا توسط موش‌ها افزایش یافته و احتمالاً گروه تمرین و نیز ژل رویال بیشتر غذا مصرف می‌کردند که لازم است در پژوهش‌های آتی و تکمیلی هورمون‌ها و نروپپتاید‌های مرتبط با چاقی و اشتها اندازه‌گیری و ارتباط سنجی شود و نیز میزان غذای مصرفی هر یک از موش‌ها به طریقی اندازه‌گیری شود که جزو محدودیت‌های این پژوهش بود. آپی ژنین و کوئرستین استرس اکسیداتیو ناشی از استرپتوزوتوسین را در سلول‌های بتا، کبد و کلیه مهار می‌کنند و رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهند (۶۴،۶۵) آپیزنین و کامفرول اثر هیپوگلیسمیک در رتهای دیابتی دارند و می‌توانند گلوکز ناشتا را کاهش

19(12): 2322-6.

9. Samuel VT, Beddow SA, Iwasaki T, Zhang XM, Chu X, Still CD, et al. Fasting hyperglycemia is not associated with increased expression of PEPCK or G6Pc in patients with Type 2 Diabetes. *Proc Nati Acad Sci.* 2009;106 (29):12121-6.

10. Larijani B. Diabetes and exercise. Tehran, Iran: Institute of Endocrinology and Metabolism; 2010. p. 4-15. [Persian].

11. Gillen JB, Little JP, Punthakee Z, Tarnopolsky MA, Riddell MC, Gibala MJ. Acute high-intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obes Metab.* 2012;14(6):575-7.

12. Godin G, Desharnais R, Valois P, Lepage L, Jobin J, Bradet R. Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among different populations. *Am J Health Promot.* 1994; 8(4):279-85.

13. Khajehlandi Ali, Abed Natanzi Hossein, Nikbakht Hojatallah. The Effect of Swimming Training and Aloe Vera Extract on Lipid Profile of Male Diabetic Rats. *J Isfahan Med School.* 2017; 34 (411). [Persian].

14. Omotayo EO, Gurtu S, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KN, Salleh MS. Hypoglycemic and antioxidant effects of honey supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 2010; 80(1):74.

15. Al-Waili N. Intrapulmonary administration of natural honey solution, hyperosmolar dextrose or hypoosmolar distill water to normal individuals and to patients with type-2 diabetes mellitus or hypertension: their effects on blood glucose level, plasma insulin and C-peptide, blood pressure and peaked expiratory flow rate. *Eur J Med Res.* 2003;8 (7):295-303.

16. Khazaei M, Ansarian A, Ghanbari E. New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: a review. *J Diet Suppl.* 2018; 15(5):757-75.

17. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci.* 2008; 73(9):117-24.

18. Izuta H, Chikaraishi Y, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. 10-Hydroxy-2-decenoic acid, a major fatty acid from royal jelly, inhibits VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *Evid-Based Complement Altern Med.* 2009; 6(4):489-94.

19. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complement Altern Med.* 2009; 26:9(4).

20. Nagai T, Inoue R. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline

می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری محمد رضا بیلاقی اشرافی بوده که انجام پروتکل در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و کارهای آزمایشگاهی در دانشگاه بقیه الله انجام شد که از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود. این پژوهش با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.034 در کمیته اخلاق پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی وزارت علوم و تحقیقات و فناوری تایید شد.

References

- Shokrolahi Ardakani A, Abednatanzi H, Gholami M, Shakeri N. The Effect of Resistance Training on G6Pase Gene Expression in Liver Hepatocytes, Glucose and Insulin Resistance Levels in Type 2 Diabetic Rats Iran *J Diabetes Obes.* 2020; 12(14):1.
- Yarmohammadi M, Behboudi L, Eizadi M. Effect of Aerobic Training on Glucose-6-phosphatase Expression in the Liver Hepatocytes and Fasting Glucose in Type II Diabetic Rats. *J Diabetes Nurs.* 2018; 6(4):618-630.
- Soty M, Chilloux J, Delalande F, Zitoun C, Bertile F, Mithieux G, et al. Posttranslational regulation of the glucose-6-phosphatase complex by cyclic adenosine monophosphate is a crucial determinant of endogenous glucose production and is controlled by the glucose-6-phosphate transporter. *J Proteome Res.* 2016; 15(4):1342-9.
- Zhang X, Yang S, Chen J, Su Z. Unraveling the regulation of hepatic gluconeogenesis. *Front Endocrinol.* 2019; 9:802.
- Li C, Li X, Mao Q, Guo Y. MicroRNA-223 inhibits hepatic gluconeogenesis by targeting forkhead box O1. *Int J Clin Exp Pathol.* 2016; 9(12):12502-10.
- Kim HJ, Jee HJ, Yun J. DNA damage induces down-regulation of PEPCK and G6P gene expression through degradation of PGC-1 α . *Acta Biochim Biophys Sin.* 2011; 43(8):589-94.
- Haeusler RA, Camastra S, Astiarraga B, Nannipieri M, Anselmino M, Ferrannini E. Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Mol Metab.* 2015; 4(3): 222-6.
- Konopelska S, Kienitz T, Quinkler M. Downregulation of hepatic glucose-6-phosphatase- α in patients with hepatic steatosis. *Obes.* 2011;

- extract of royal jelly. *Food Chem.* 2004; 84(2):181-6.
21. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: a review. *J Funct Foods.* 2012; 4:39–52.
 22. Shidfar F, Jazayeri Sh, Musavi SN, Malek M, and et.al. Does Supplementation with Royal Jelly Improve Oxidative Stress and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Patients? *Iran J Public Health.* 2015; 44(6):797-803.
 23. Nomura M, Maruo N, Zamami Y, Takatori S, Kawasaki H. Effect of long-term treatment with royal jelly on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Yakugaku zasshi: J Pharm Soc Jpn.* 2007;127(11):1877-82.
 24. 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; 79(11): 1100–1107.
 25. Zou F, Mao XQ, Wang N, Liu J, Ou-Yang JP. Astragalus polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of ampk. *Acta Pharm Sin.* 2009; 30: 1607-15.
 26. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of type 2 diabetes in rat. *Iran J Endocrinol Metab.* 2016;18(2):135-48. [Persian].
 27. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res.* 2005; 52(4):313-20.
 28. Moeini Fard M, Hedayati M. Alloxan and streptozotocin, diabetes research tool. *Appl Sport Physiol Res.* 2014;10(20):13-22.
 29. Asgari M, Asle-Rousta M, Sofiabadi M, Effect of Royal Jelly on Blood Glucose and Lipids in Streptozotocin Induced Type 1 Diabetic Rats. *Arak Med Uni J.* 2017; 20(122): 48-56.
 30. Baburao Waykar B. and Alqadhi YA, Administration of Honey and Royal Jelly Ameliorate Cisplatin Induced Changes in Liver and Kidney Function in rats. *Biomed Pharmacol J.* 2018;11(4):2191-2199.
 31. Rodrigues, Bruno, Diego M Figueroa. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in Streptozotocin -diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007; 6:38.
 32. Akbarzade.A, Fattahi Bafghi. A, The effect of hight intensity interval training and corcomin supplement on plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *JSSU.* 2018; 25 (12): 961-969. [Persian].
 33. Rezaei. R, Norshahi M, Bigdeli. M R, Khodaghali. F, Haghparast. A, Effect of eight weeks of continuous and interval intense aerobic exercise on VEGFR-2 and VEGF-A values in the brain tissue of wistar rats. *J Exer Physiol Phys Act.* 2015. [Persian].
 34. Basu R, Barosa C, Jones J, Dube S, Carter R, Basu A, et al. Pathogenesis of prediabetes: role of the liver in isolated fasting hyperglycemia and combined fasting and postprandial hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):409-17.
 35. Haeusler RA, Camastra S, Astiarraga B, Nannipieri M, Anselmino M, Ferrannini E. Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Mol Metab.* 2015; 4(3): 222-6.
 36. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology.* 2014; 4(1): 177.
 37. Jawad A, Ibrahim A, Alsayed R, Hallab Z, Al-Qaisi Z, Al-Amery A, et al. Study the impact of glucose-6-phosphatase activity in type 2 diabetic patients and non diabetic counterparts. *Preprints.* 2016; 35: 41.
 38. Knudsen JG, Biensø RS, Hassing HA, Jakobsen AH, Pilegaard H. Exerciseinduced regulation of key factors in substrate choice and gluconeogenesis in mouse liver. *Mol Cell Biochem.* 2015; 403(1-2): 209-17.
 39. Kolawole OT, Akanji MA. Effects of extracts of leaves of *Newbouldia laevis* on the activities of some enzymes of hepatic glucose metabolism in diabetic rats. *Afr J Biotechnol.* 2014; 13(22): 2273-81.
 40. Kubota N, Kubota T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, et al. Dynamic functional relay between insulin receptor substrate 1 and 2 in hepatic insulin signaling during fasting and feeding. *Cell Metab.* 2008; 8(1): 49-64.
 41. Chang SP, Chen YH, Chang WC, Liu IM, Cheng JT. Merit of physical exercise to reverse the higher gene expression of hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase in obese Zucker rats. *Life Sci.* 2006; 79 (3):240-6.
 42. Marinho R, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT, Da Silva AS, Bertoli FC, et al. Endurance exercise training increases APPL1 expression and improves insulin signaling in the hepatic tissue of diet- induced obese mice, independently of weight loss. *J cell physiol.* 2012; 227(7):2917- 26.
 43. Barthel A, Schmoll D. Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. *Am J Physiol-Endocrinol Metab.* 2003; 285(4): E685-92.
 44. Anders R, Ola H. Mechanisms whereby genetic variation in the TCF7L2 gene causes diabetes: novel targets for anti-diabetic therapy? *New grants from Hjelt foundation.* 2013.
 45. Lazar MA. How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Sci.* 2005; 307: 373–375.
 46. McMurray RG, Hackney AC. Interactions of metabolic hormones, adipose tissue and exercise. *Sports Med.* 2005; 35(5):393-412.
 47. Bergman RN, Finegood DT, Kahn SE. The evolution of β -cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32(3):35–

- 45.
48. Kahn SE. The relative contribution of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2003; 46:3–19.
49. Boden G, Chen X, Stein TP. Gluconeogenesis in moderately and severely hyperglycemic patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol. Endocrinol Metab.* 2001; 280 (1): 23-30.
50. Basu R, Breda E, Oberg AL, Powell CC, DallaMan C, Basu A, Vittone JL, et al. Mechanisms of the age-associated deterioration in glucose tolerance: contribution of alterations in insulin secretion, action, and clearance. *Diabetes.* 2003; 52:1738–1748.
51. Ropelle ER, Pauli JR, Cintra DE, Frederico MJ, de Pinho RA, Velloso LA, De Souza CT. Acute exercise modulates the Foxo1/PGC-1alpha pathway in the liver of diet-induced obesity rats. *J Physiol.* 2009; 587(9): 2069-76.
52. de Moura LP, Souza Pauli LS, Cintra DE, de Souza CT, da Silva ASR, Marinho R, et al. Acute exercise decreases PTP-1B protein level and improves insulin signaling in the liver of old rats. *Immun Ageing.* 2013; 10(1):8.
53. Sutherland C, O'Brien RM & Granner DK. New connections in the regulation of PEPCK gene expression by insulin. *Philos Trans R Soc Lond Biol Sci.* 1996; 351: 191–199.
54. Schmoll D, Walker KS, Alessi DR, Grempler R, Burchell A, Guo S, et al. Regulation of glucose-6-phosphatase gene expression by protein kinase Ba and the forkhead transcription factor FKHR. Evidence for insulin response unit-dependent and -independent effects of insulin on promoter activity. *J Biol Chem.* 2000; 275, 36324–36333.
55. Vidal-Puig A, O'Rahilly S. Metabolism. Controlling the glucose factory. *Nature.* 2001; 413, 125–126.
56. Sutherland C, O'Brien RM, Granner DK. Phosphatidylinositol 3-kinase, but not p70/p85 ribosomal S6 protein kinase, is required for the regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) gene expression by insulin. Dissociation of signaling pathways for insulin and phorbol ester regulation of PEPCK gene expression. *J Biol Chem.* 1995; 270, 15501–15506.
57. Mosseri R, Waner T, Shefi M, Shafrir E, Meyerovitch J. Gluconeogenesis in non-obese diabetic (NOD) mice: in vivo effects of vanadate treatment on hepatic glucose-6-phosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Metab.* 2000; 49(3):321-5.
58. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats. *JSSU.* 2017; 24 (12):981-993.
59. 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. *J Knowl Health.* 2016; 11(3): 40-48.
60. Khajehlandi Ali, Abed Natanzi Hossein, Nikbakht Hojatallah. The Effect of Swimming and Aloe Vera Extract on Serum of Visfatin Levels, and the Ratio of Triglycerides to High-Density Lipoproteins and Glucose in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Arak Medical University Journal (AMUJ).* 2017; 20(120): 39-47. [Persian].
61. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *J Food Sci.* 2008; 73(9): 117-24.
62. Kocot J, Kielczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: possible medical application. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 1-29.
63. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. The Possible Role of Flavonoids in the Prevention of Diabetic Complic. *Nutr.* 2016; 8(5): 310.
64. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res.* 2005; 51(2): 117- 23.
65. Rauter AP, Martins A, Borges C, Mota- Filipe H, Pinto R, Sepodes Bet al. Antihyperglycaemic and protective effects of flavonoids on streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother Res.* 2010; 24(S2): S133-8.
66. de Sousa E, Zanatta L, Seifriz I, Creczynski-Pasa TB, Pizzolatti MG, Szpoganicz B, Silva FR. Hypoglycemic Effect and Antioxidant Potential of Kaempferol-3, 7-O-(α -dirhamnoside from *Bauhinia forficata* Leaves. *J Nat prod.* 2004; 67(5): 829-32.
67. Nagai T, Inoue R, Suzuki N, Nagashima T. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. *J Med food* 2006; 9(3): 363-7.
68. Amirshahi T, Nejati V, Najafi G. Biochemical and Histological Evaluation of Protective Effect of Royal Jelly on Pancreas Induced Oxidative Stress in Male Rat Pancreas. *J Mazandaran Uni Med Sci.* 2013; 23(107).
69. Afkhami-Ardekani M, Shojaoddiny Ardekani A. Effect of vitamin C on blood glucose, serum lipids & serum insulin in type 2 diabetes patients. *Indian J Med Res.* 2007; 126(5): 471.
70. Dakhale GN, Chaudhari HV, Shrivastava M. Supplementation of vitamin C reduces blood glucose and improves glycosylated hemoglobin in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind study. *Adv Pharmacol Sci.* 2011;1-5.
71. Xiang X, Liu Y, Zhang X, Zhang W, Wang Z.

Effects of biotin on blood glucose regulation in type 2 diabetes rat model. J Hyg Res. 2015; 44(2): 185- 9.