Journal of Sport and Exercise Physiology
2024, 17(4): 85-100

Orginal Article

The effect of Gymnema Sylvestre supplement on the signaling pathway involved in the oxidative stress of liver tissue in ype 2 diabetic mice following aerobic training

Reza Hassanizadeh, Khosro Jalali Dehkordi*, Farzaneh Taghian

Department of Physical Education and Sport Sciences, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Background and Purpose: Liver disease is one of the main causes of death in diabetic patients. Type 2 diabetes is one of the most common chronic metabolic diseases and its prevalence is increasing rapidly all over the world. Liver is one of the most important organs that control blood glucose levels. Although the favorable role of Gymnema sylvester supplement and aerobic training has been reported in diabetic patients, the effect of Gymnema sylvester supplement and aerobic training on liver tissue is not well known. Therefore, the purpose of this research is the effect of Gymnema sylvester supplement on the signaling pathway involved in the oxidative stress of liver tissue in type 2 diabetic mice following aerobic training.

Materials and Methods: In this experimental research, 32 male C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups of eight including diabetes group and aerobic training, diabetes group and gymnema sylvester supplement, diabetes group and aerobic training with gymnema sylvester supplement and diabetes control group. Diabetic groups were made diabetic by high-fat diet for 20 weeks. Gymnema sylvester supplement groups were gavaged with 100 mg/kg daily for six weeks. Aerobic training groups performed exercise at a speed of 10 m/min on a treadmill for six weeks and five training sessions per week. Serum concentration of SOD and MDA by ELISA method and expression of Nrf2/Keap1 (nuclear factor erythroid 2–related factor 2/ Kelch-like ECH-associated protein 1) genes was measured by RT-PCR method. The data were analyzed by using SPSS and one-way analysis of variance, and Bonferroni's post-hoc test. The significance level was considered $p \leq 0.05$.

Results: Statistical analyses showed that six weeks of taking gymnema sylvester supplement, aerobic training and aerobic training with gymnema sylvester supplement caused a significant decrease in MDA and the expression of the Keap1 gene and a significant increase in SOD and the expression of the Nrf2 gene in the liver tissue ($p<0.05$). The greatest changes occurred in the diabetes group + aerobic training and gymnema sylvester supplement compared to diabetic control group ($p<0.05$). However, there were no significant differences between diabetic group and aerobic training group and gymnema supplement group ($p<0.05$).

* Corresponding Author's E-mail: khosrojalali@khuis.ac.ir
https://doi.org/10.48308/joeppa.2024.236344.1276
Received: 20/07/2024 Revised: 28/08/2024 Accepted: 13/09/2024

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Conclusion: Gymnema Sylvester supplement and aerobic training improved blood variables through reducing MDA and increasing SOD, as well as improving the signaling pathway involved in oxidative stress in liver tissue by increasing the expression of the Nrf2 gene and decreasing the expression of the Keap1 gene in type 2 diabetic mice.

Keywords: Gymnema Sylvestre, Aerobic Training, Type 2 Diabetic, Oxidative Stress

How to cite this article: Hassanizadeh R, Jalali Dehkordi Kh , Taghian F. The Effect of Gymnema Sylvestre supplement on the signaling pathway involved in the oxidative stress of liver tissue in type 2 diabetic mice following aerobic training. J Sport Exerc Physiol. 2024;17(4):85-100.

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
۱۴۰۳، دوره ۱۷، شماره ۴، صفحه‌های ۸۵-۱۰۰

مقاله پژوهشی

اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو به‌دنبال تمرین هوازی

رضا حسنی‌زاده، خسرو جلالی دهکردی*، فرزانه تقیان

گروه فیزیولوژی ورزش، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبدی یکی از دلایل اصلی مرگ‌ومیر در بیماران دیابت نوع دو است. دیابت نوع دو از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن سوخت‌وسازی بوده و شیوع آن به‌سرعت در سرتاسر جهان در حال افزایش است. کبد از مهم‌ترین اندام‌هایی است که سطوح گلوکز خون را در حد طبیعی نگه‌می‌دارد. اگرچه نقش بهینهٔ مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی در بیماران دیابتی گزارش شده، اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی در بافت کبد به خوبی شناخته نشده است. ازاین‌رو هدف از پژوهش حاضر اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو به‌دنبال تمرین هوازی است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۳۲ موش C57BL/6 نر به‌صورت تصادفی به چهار گروه هشت‌تایی شامل گروه دیابت و تمرین هوازی، گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر، گروه دیابت و تمرین هوازی به‌همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و گروه کنترل دیابت تقسیم شدند. گروه‌های دیابت به‌وسیلهٔ رژیم غذایی پرچرب به مدت ۲۰ هفته دیابتی شدند. به گروه‌های مکمل گیمنما سیلوستر روزانه به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت شش هفته، عصارهٔ گیمنما به‌صورت گاواژ خورانده شد. گروه‌های تمرین هوازی، تمریناتی با سرعت (m/min)۱۰ به مدت شش هفته و پنج جلسه تمرین در هفته روی نوار گردان انجام دادند. غلظت سرمی SOD و MDA به روش الایزا و بیان ژن‌های Nrf2/Keap1 به روش RT-PCR اندازه‌گیری شد. سنجش داده‌ها از طریق SPSS و با آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی محاسبه شد. سطح معناداری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که شش هفته مصرف مکمل گیمنما سیلوستر، تمرین هوازی و تمرین هوازی به‌همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر سبب کاهش معناداری در متغیر خونی MDA و بیان ژن Keap1 و افزایش معناداری در متغیر خونی SOD و بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو شد (P≤ ۰/۰۵)، که بیشترین تأثیر بر متغیرهای وابسته مربوط به گروه دیابت و تمرین هوازی به‌همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر نسبت به گروه کنترل دیابت بود (P≤ ۰/۰۵). همچنین تفاوت معناداری بین متغیرهای وابستهٔ گروه دیابت و تمرین هوازی و گروه دیابت و مکمل گیمنما وجود نداشت (P≤ ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی باعث بهبود متغیرهای خونی از طریق کاهش MDA و افزایش SOD هم‌چنین بهبود مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد از طریق افزایش بیان ژن Nrf2 و کاهش بیان ژنKeap1 در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو شد.

واژه‌های کلیدی: گیمنما سیلوستر، تمرین هوازی، دیابت نوع دو، فشار اکسایشی

نحوه استناد به این مقاله: حسنی‌زاده ر، جلالی دهکردی خ ، تقیان ف. اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو به‌دنبال تمرین هوازی. نشریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۳؛۱۷(۴):۸۵-۱۰۰.

* رایانامه نویسنده مسئول: khosrojalali@khuis.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۳۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۳

مقدمه

دیابت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن سوخت‌وسازی بوده و شیوع آن به سرعت در سرتاسر جهان در حال افزایش است (۱). دیابت یک نگرانی فزایندهٔ مهم بهداشت عمومی است (۲). دیابت نوع دو به مقاومت در برابر انسولین مربوط است و به‌طور معمول در افراد بزرگسال و مسن بیشتر دیده می‌شود، اما در حال حاضر دیابت نوع دو در افراد جوان نیز تشخیص داده می‌شود (۳). این بیماری نتیجهٔ پیشینهٔ خانوادگی، چاقی، سبک زندگی نامناسب، رژیم غذایی و داشتن زندگی با تحرک کم است. دیابت نوع دو بیماری مزمنی است که یکی از ویژگی‌های اصلی آن هایپرگلیسمی است (۴). کبد از مهم‌ترین اندام‌هایی است که سطوح گلوکز خون را در حد طبیعی نگه‌می‌دارد. شیوع بالای بیماری‌های کبدی در افراد دیابتی گزارش شده است (۵). بسیاری از پژوهش‌ها نشان می‌دهند بیماری‌های کبد از علل مهم مرگ‌ومیر در دیابت نوع دو است (۶). اگرچه سازوکار دقیق آسیب‌های کبدی در دیابت به‌روشنی مشخص نشده است، هایپرگلیسمی از طریق اتو اکسیداسیون گلوکز موجب افزایش تولید بنیان‌های آزاد می‌شود که سلول‌های کبدی را تخریب می‌کنند. همچنین آسیب به بافت کبد می‌تواند به فشار اکسایشی منجر شود (۷). عدم تعادل بین بنیان‌های آزاد و نشانگرهای ضداکسایشی را فشار اکسایشی می‌گویند (۸). از طرفی در فرایند درازمدت دیابت و تغییر در سوخت‌وساز که با هایپرگلیسمی همراه است، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) آزاد می‌شوند که این فرایند فشار اکسایشی موجب اختلال در عملکرد کبد در حفظ تعادل گلوکز خون می‌شود (۹). کبد اندام پیچیده‌ای است و تنظیم‌کننده سوخت‌وساز کربوهیدرات، پروتئین و چربی در بدن است. حفظ ثبات سطح گلوکز خون از طریق برداشت و ذخیره‌سازی گلوکز به صورت‌های مختلف از وظایف کبد به‌شمار می‌رود (۱۰). مسیر ضداکسایشی Keap1/Nrf2 در سلول کبدی از آسیب سلولی در مقابل فشار اکسایشی جلوگیری می‌کند و این مسیر در اثر دیابت مختل می‌شود. پژوهش‌های بالینی روی این مسیر ضداکسایشی نتایج چشمگیری را نشان داده است و ادعاهایی وجود دارد که فعال کردن مسیر Nrf2/Keap1 می‌تواند آسیب اکسایشی ناشی از دیابت را معکوس کند. بنابراین درمان‌هایی که مسیرهای Nrf2/Keap1 را هدف قرار می‌دهند، یک راه هیجان‌انگیز برای کاهش فشار اکسایشی در بیماران مبتلا به دیابت است. در یک پژوهش نشان داده شد که بیان ژن keap1 در موش‌های دیابتی افزایش و بیان ژن NRF2 کاهش پیدا کرد (۱۱). همچنین در پژوهشی نشان داده شد که سوپر اکسید دیسموتاز [۱](SOD) و مالون دی‌آلدئید [۲](MDA) از نشانه‌های فشار اکسایشی است که میزان سوپر اکسید دیسموتاز در این شرایط کاهش و میزان مالون دی‌آلدئید افزایش می‌یابد (۱۲). تمرکز بر فعالیت بدنی راهبرد سالمی در بهینه‌سازی سبک زندگی و تأثیرگذار برای جلوگیری و کاهش تغییرات منفی وابسته به دیابت نوع دو است (۱۳). تمرین هوازی باید یکی از ویژگی‌های کلیدی برنامه‌های تمرینی در دیابت نوع دو باشد. یافته‌ها نشان داده است فعالیت بدنی افزون بر پیشگیری از هیپوگلیسمی در تنظیم اثر داروها در افراد دیابتی نیز می‌تواند کمک کند (۱۴). پژوهش‌های صورت‌گرفته در این زمینه نشان داده‌اند تمرینات هوازی با شدت متوسط از طریق کاهش التهاب، کاهش فشار اکسایشی و کاهش میزان چربی سلول‌های کبدی به بهبود عملکرد کبد منجر می‌شوند. پژوهش‌های فراوانی کاهش میزان آنزیم‌های کبدی را پس از تمرینات هوازی گزارش کرده‌اند (۱۵). تمرین هوازی از طریق فراخوانی Glut4 مستقل از انسولین می‌تواند گلوکز خون را جذب کند (۱۶).

با توجه به تولید بنیان‌های آزاد توسط دیابت و در

نهایت ایجاد آپوپتوز (۱۷)، یکی دیگر از روش‌های درمانی که توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است، استفاده از گیاهان دارویی ضددیابت است که به‌علت فعالیت ضداکسایشی و عوارض کم مورد توجه هستند. یکی از گیاهانی که خاصیت دارویی دارد و می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌کار رود و پژوهش‌های اندکی در مورد آن وجود دارد، مکمل گیمنما سیلوستر ((Gymnema(GS) است (۱۸). این گیاه بومی مناطق گرمسیر هندوستان است که در طب سنتی هندوستان در درمان دیابت استفاده می‌شود. پژوهش‌های بالینی به‌تازگی اثربخشی این داروی گیاهی در درمان دیابت نوع دوم تأیید کرده‌اند (۱۹). عصارۀ برگ این گیاه خاصیت ضدمیکروبی، ضداکسایشی، ضدالتهابی، ضدهیپرلیپیدمیک دارد (۲۰، ۲۱). گفته شده است که این گیاه جذب گلوکز در مجاری گوارش را مهار می‌کند و در نتیجه گلوکز بدون آن که جذب بدن شود، دفع می‌شود. همچنین گزارش شده است که این داروی گیاهی موجب بازسازی سلول‌های بتای آسیب‌دیده می‌شود و در نتیجه میزان انسولین خون بیماران دیابتی افزایش می‌یابد (۲۲، ۲۳). در پژوهشی تأثیر عصارۀ گیمنما سیلوستر بر موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو بررسی شد و نتایج نشان داد که مصرف عصارۀ گیمنما سیلوستر سبب کاهش گلوکز خون، کاهش مقاومت به انسولین، بهبود نیمرخ لیپیدی و کاهش فشار اکسایشی از طریق تنظیم میکروبیوتای روده در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو شد، اما به پژوهش‌های بیشتر برای شناسایی سازوکار اثر آن نیاز است (۲۴). از آنجایی که سازوکار اثر مکمل گیمنما سیلوستر دفع گلوکز از طریق روده است، در افراد دیابتی که مشکل کلیه هم دارند، قابل استفاده است، درحالی‌که بسیاری از داروهای مورد استفاده در دیابت مثل متفورمین موجب دفع گلوکز از طریق کلیه می‌شود که افراد دیابتی با بیماری کلیوی در مصرف آن دچار مشکل می‌شوند، بنابراین همۀ افراد دیابتی می‌توانند از این مکمل گیاهی با عوارض کم استفاده کنند. همچنین در هیچ پژوهشی اثر مکمل گیمنما سیلوستر بر بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع دو بررسی نشده است و از طرفی مطالعات انجام‌گرفته در خصوص اثر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 محدود است، با وجود تغییرات در درصد چربی بدن، پاسخ این ژن‌ها به تمرینات هوازی کاملاً روشن نیست. ازاین‌رو هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو به‌دنبال تمرین هوازی است.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش: در این پژوهش تجربی ۴۰ موش C57BL/6 نر با میانگین سنی هشت تا ده هفته از پژوهشگاه رویان اصفهان خریداری شد. این نوع موش‌ها توالی ژنومی کاملی دارند و به‌عنوان الگوی دیابتی در پژوهش‌ها استفاده می‌شوند. موش‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اصفهان در شرایط چرخۀ روشنایی تاریکی ۱۲ ساعت، دمای ۲۲- ۲۴ درجه و رطوبت ۵۰- ۴۵ درصد با دسترسی آزاد به آب و غذا به مدت دو هفته بابت سازگاری با محیط جدید نگهداری شدند. همۀ مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیتۀ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اصفهان (کد IR.IAU.KHUISF.REC.1402.327) انجام گرفت. به‌منظور اجرای پژوهش ۳۲ موش انتخاب شدند و به‌صورت تصادفی در چهار گروه دیابت و تمرین هوازی (n=۸)، گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر (n=۸)، گروه دیابت و تمرین هوازی به‌همراه مکمل گیمنما سیلوستر (n=۸) و گروه کنترل دیابت (n=۸) قرار گرفتند.

روش اجرای پژوهش: گروه‌های دیابت به‌وسیلهٔ رژیم غذایی پرچرب به مدت ۲۰ هفته دیابتی شدند. رژیم غذایی پرچرب شامل ۶۰ درصد انرژی دریافتی از چربی (مشتق از روغن سویا)، ۲۰ درصد انرژی دریافتی از کربوهیدرات و ۲۰ درصد انرژی دریافتی از پروتئین بود (۲۵) که به‌صورت پلت فشرده از پژوهشگاه رویان اصفهان تهیه شد. جزئیات ترکیبات استفاده‌شده در رژیم غذایی پرچرب طبق جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. جزئیات ترکیبات استفاده‌شده در رژیم غذای پرچرب (میزان مواد غذایی کیلوگرم/گرم)

گندم	جو	ذرت	سبوس	کنجالهٔ سویا	پودر یونجه	نمک	مولتی‌ویتامین	مواد معدنی	ویتامین E	ویتامین D3	ویتامین C	شیر خشک	پودر گوشت	روغن سویا	انرژی Kcal/g
۲۳۵/۵	۱۴۰/۶۶	۴۲	۲۰	۱۵۰	۳۰/۱	۸/۳	۰/۹	۰/۹	۶/۷	۱/۶۷	۱/۶۷	۲۵/۱	۱۶۷/۵	۱۸۰	۳/۵۸

پس از ۲۰ هفته رژیم غذایی پرچرب با ایجاد جراحت کوچک به‌وسیلهٔ لانست روی دُم موش‌ها، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر ثبت شد. قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به‌عنوان نشانگر دیابتی شدن در نظر گرفته شد. موش‌هایی که کمتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بودند، از پژوهش حذف شدند. سپس برنامهٔ تمرین هوازی و مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به مدت شش هفته آغاز شد. گروه‌های تمرین هوازی، تمرینی با شدت متوسط پنج روز در هفته به مدت شش هفته با افزایش سرعت و زمان روی نوار گردان موش آزمایشگاهی خودکار چهارکاناله ساخت ایران با قابلیت تنظیم شیب طبق جدول ۲ انجام دادند (۲۶). میزان شیب نوار گردان دو هفتهٔ اول صفر، هفته‌های سوم و چهارم دو درجه و هفته‌های پنجم و ششم چهار درجه بود. در ضمن برای موش‌هایی که نمی‌دویدند، از شوک الکتریکی استفاده شد.

جدول ۲. شیوهٔ تمرین هوازی

روز	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت زمان تمرین (دقیقه)
۱	۵	۵
	۱۰	۱۰
۲	۵	۵
	۱۰	۱۰
۳	۱۰	۲۰
۴	۱۰	۳۰
۵	۱۰	۴۰
۶	۱۰	۵۰
۷	۱۰	۶۰
۸	استراحت	۰
۹-۱۱	۱۰	۶۰
۱۲	استراحت	۰
۱۳-۱۴	۱۰	۶۰
۱۵-۱۴۲	طبق برنامهٔ تمرینی	روز ۸ تا۱۴

نحوۀ تهیه و مصرف عصارۀ گیمنما: برای تهیۀ عصارۀ گیمنما سیلوستر ابتدا برگ‌های این گیاه از شرکت نهال سبز سلامت تهیه شد. سپس در معرض آفتاب خشک و آسیاب شد. سپس پودرهای برگ GS (۱۰۰گرم) با اتانول آبی ۶۰ درصد در حمام اولتراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه در سه نوبت استخراج شد. سپس فیلترها با تبخیر چرخشی ترکیب و تغلیظ شدند تا عصارۀ گیاه به‌دست آید. گروه‌های مکمل گیمنما سیلوستر روزانه به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ازای وزن هر موش (۲۷)، به مدت شش هفته، عصارۀ گیمنما به‌صورت گاواژ خورانده شد. این مقدار دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در موش به مدت ۳۰ روز استفاده شده بود و مقدار گلوکز خون در موش‌های دیابتی کاهش پیدا کرد ولی پیشنهاد شده بود که جهت کاهش بیشتر فشار اکسایشی موش‌های دیابتی در پژوهش‌های بعدی مدت زمان مصرف بیشتری آزمایش شود، ولی این مقدار دوز به مدت شش هفته در هیچ پژوهشی انجام نشده بود؛ ازاین‌رو چون مدت زمان مصرف بالا بود، تغییری در مقدار مصرفی داده نشد تا تأثیر آن بر مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو بررسی شود. همچنین گروه کنترل دیابتی بدون هیچ‌گونه مداخلۀ تمرینی و دارویی جهت مقایسه با گروه‌های دیگر تحت پیگیری قرار گرفتند.

روش‌های آزمایشگاهی: روش‌های آزمایشگاهی به دو روش خون‌گیری و بررسی بافت کبد انجام گرفت. خون‌گیری در ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسۀ پژوهش پس از ۱۴ ساعت ناشتایی شبانه در صبح به مقدار پنج میلی‌لیتر از بطن چپ موش‌ها انجام گرفت. طریقۀ خون‌گیری به این صورت بود که ابتدا هر موش با اتر بی‌هوش می‌شد، سپس خون سرخرگی از ناحیۀ قفسۀ سینۀ هر موش مستقیم از بطن چپ گرفته می‌شد. سپس خون گرفته‌شده در لوله‌های آزمایش حاوی آپروتینین ریخته شد تا از تجزیۀ پروتئینی در آن جلوگیری شود. پس از ۱۸ دقیقه قرار گرفتن در محیط آزمایشگاه به کمک سانتریفیوژ، سرم‌ها جدا شد و بلافاصله در دمای منهای ۸۰ درجۀ سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. سپس بافت کبد در شرایط استریل جدا شد و بلافاصله به فریزر منهای ۷۰ درجه ساخت ایران منتقل شد. سپس نمونه‌ها و بافت‌ها برای انجام آزمایش‌ها به آزمایشگاه ارسال شد.

غلظت سرمی انسولین نیز با روش الایزا و با استفاده از کیت انسولین مخصوص موش ساخت آلمان با دامنۀ تغییرات ۰/۱۵ – ۶/۵۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت ۰/۱۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و سطح سرمی گلوکز به روش آنزیماتیک (کیت پارس آزمون، ایران) توسط دستگاه اتوآنالایزر (تکنیکون RA-1000 نیویورک، آمریکا) با دامنۀ تغییرات ۵ – ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و حساسیت پنج میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. مقاومت انسولینی به روش HOMA-IR با اندازه‌گیری انسولین و گلوکز ناشتا از نمونه‌ی پلاسما طبق فرمول زیر محاسبه شد:

HOMA-IR index = (fasting insulin(μU/ml) × fasting glucose (mmol/l))/ 22)

غلظت سرمی SOD نیز با روش الایزا و به‌وسیلۀ کیت مخصوص موش ساخت شرکت کیا زیست با دامنۀ تغییرات ۱/۵۶- ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت ۰/۵۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. غلظت سرمی MDA نیز با روش الایزا و به‌وسیلۀ کیت مخصوص موش ساخت شرکت کیا زیست با دامنۀ تغییرات ۰/۵- ۱۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر و حساسیت ۰/۲۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. پس از

استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از همه نمونه‌ها مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام شد و سپس cDNA سنتزشده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس استفاده شد. ابتدا همهٔ آغازگرهای طراحی‌شده مربوط به همهٔ ژن‌ها طبق جدول ۳، بررسی شد و سپس بررسی بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 در بافت کبد با استفاده از روش RT-PCR انجام گرفت.

جدول ۳. توالی آغازگرهای (پرایمرهای) Keap1 وNrf2

Genes	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Tempreture
B2M	ACAGTTCCACCCGCCTCACATT	TAGAAAGACCAGTCCTTGCTGAAG	60
NRF2	GGAGGAGTTCAATGAACTGCTGTC	CTCTGGACCTTCTGCTTCATCTGT	60
Keap1	AACAACTCGCCCGACGGCAACAC	CATCCCGCTCTGGCTCATACCTC	60

با توجه به جدول ۳ در این تحقیق از B2M به‌عنوان ژن مرجع برای نرمال‌سازی بیان ژن‌ها استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها بر اساس مقایسهٔ چرخهٔ آستانه (CT) انجام گرفت. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع مربوطه نرمالیز شد. در این پژوهش، اختلاف CT به‌دست‌آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه‌های مرجع محاسبه و با استفاده از فرمول $^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ نسبت ژن هدف به ژن مرجع اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری: تحلیل آماری در دو بخش آمار توصیفی و استنباطی انجام گرفت که در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف متغیرهای خونی و بیان ژن‌های آزمودنی‌ها استفاده شد و در بخش آمار استنباطی با توجه به توزیع نرمال (آزمون شاپیروویلک) و همگنی داده‌ها (آزمون لون)، از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی بنفرونی برای مقایسهٔ متغیرهای مورد بحث در پژوهش شامل SOD، MDA، Keap1 و Nrf2 بین گروه‌های پژوهش استفاده شد. نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۲ تحلیل شد و سطح معناداری ۰/۰۵ ≥P در نظر گرفته شد.

نتایج

مشخصات عمومی موش‌های C57BL/6 شامل میانگین مقادیر سن، وزن اولیه و ثانویه و متغیرهای خونی شامل سطح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد در گروه‌های پژوهش در جدول ۴ آورده شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در جدول ۵ نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین مقادیر SOD(P=۰/۰۰۱)، MDA (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن‌های Keap1 (P=۰/۰۰۱) و Nrf2 (P=۰/۰۰۱) بین گروه‌های پژوهش وجود دارد. همچنین سطح معناداری ۰/۰۵ P ≥ در نظر گرفته شد.

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار مقادیر سن، وزن، گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین موش‌ها در گروه‌های پژوهش

متغیر وابسته	کنترل دیابت	دیابت و گیمنما	دیابت و تمرین هوازی	دیابت، تمرین و گیمنما
سن (هفته)	۹/۰۱±۰/۹۰	۹/۱۰±۰/۸۸	۸/۹۵±۰/۸۰	۸/۸۲±۰/۸۷
وزن اولیه (گرم)	۲۳/۳۲±۲/۲۱	۲۲/۸۴±۱/۲۴	۲۳/۷۹±۱/۹۰	۲۳/۳۱±۰/۹۰
وزن ثانویه (گرم)	۴۳/۰۵±۱/۴۲	۳۵/۱۲±۱/۷۰	۳۶/۰۸±۱/۱۳	۳۰/۱۰±۱/۲۲
گلوکز (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۳۳۵/۲۲±۰۱/۸۵	۲۷۵/۲۶±۶۷/۲۰	۲۶۰/۲۰±۶۷/۶۸	۱۴۲/۱۴±۰۱/۴۶
انسولین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۵/۰±۰۸/۷۵	۳/۰±۹۶/۱۶	۴/۰±۰۹/۱۵	۲/۰±۹۰/۴۹
مقاومت به انسولین	۴/۰±۲۰/۶۸	۲/۰±۶۹/۲۵	۲/۰±۶۳/۲۳	۱/۰±۰۱/۱۵

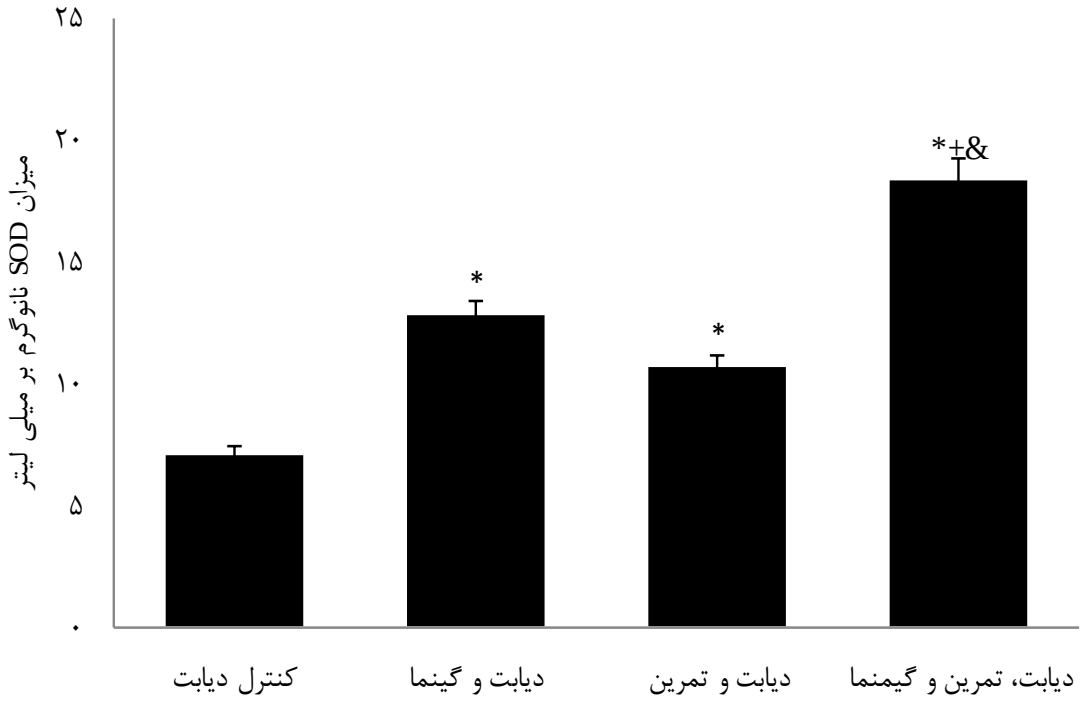
مقادیر به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده‌اند.

جدول ۵. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفهٔ متغیرهای مورد بررسی در گروه‌های پژوهش

متغیر وابسته	کنترل دیابت	دیابت و گیمنما	دیابت و تمرین هوازی	دیابت، تمرین وگیمنما	سطح معناداری
SOD	۷/۰±۰۵/۴۰	۱۲/۰±۷۷/۸۵	۱۰/۰±۶۶/۹۵	۱۸/۱±۳۲/۴۶	*۰/۰۰۱
MDA	۲۸/۱±۱۱/۴۰	۱۸/۱±۰۴/۰۷	۲۰/۰±۲۴/۵۹	۱۲/۱±۶۷/۳۰	*۰/۰۰۱
Keap1	۷/۰±۴۹/۲۹	۴/۰±۹۰/۱۲	۵/۰±۴۱/۲۶	۲/۰±۴۱/۲۶	*۰/۰۰۱
Nrf2	۰/۰±۲۰/۰۳	۰/۰±۴۹/۰۵	۰/۰±۴۲/۰۴	۰/۰±۸۸/۰۶	*۰/۰۰۱

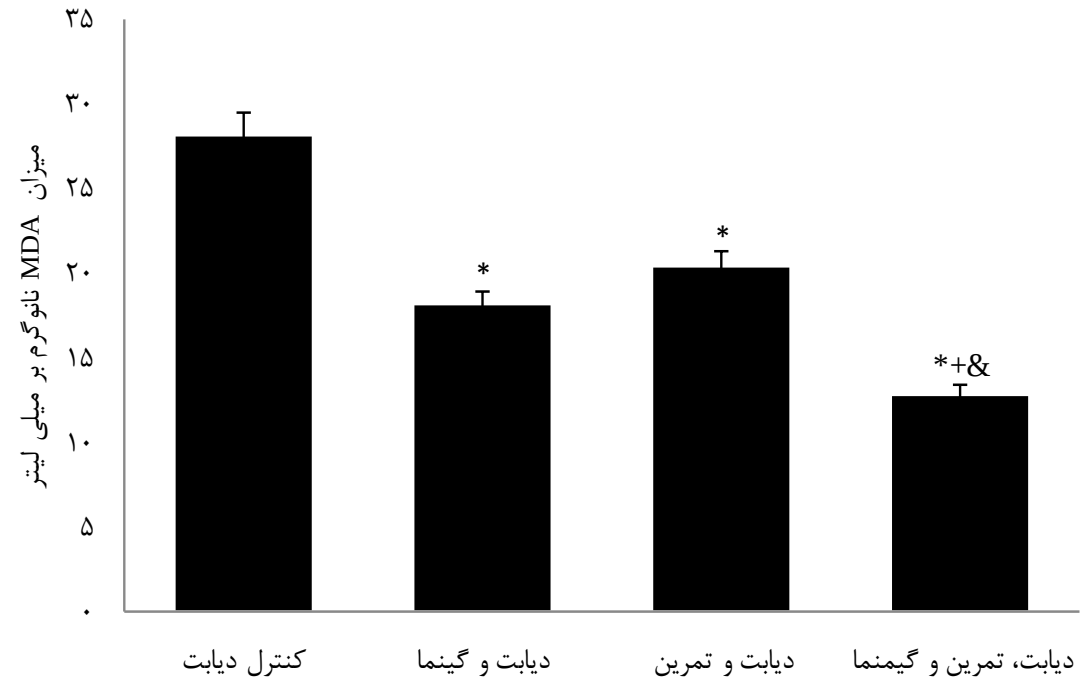
مقادیر به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده‌اند. * سطح معناداری ۰/۰۵ ≥P در نظر گرفته شد.

نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی نشان داد که در گروه دیابت و تمرین هوازی میانگین مقادیر MDA(P=۰/۰۰۳) و بیان ژن Keap1 (P=۰/۰۰۴) در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد، درحالی‌که میانگین مقادیر SOD (P=۰/۰۰۴) و بیان ژن Nrf2 (P=۰/۰۰۵) افزایش معناداری داشت. در گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر میانگین مقادیر MDA(P=۰/۰۰۲) و بیان ژن Keap1 (P=۰/۰۰۳) در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد، درحالی‌که میانگین مقادیر SOD (P=۰/۰۰۳) و بیان ژن Nrf2 (P=۰/۰۰۴) افزایش معناداری داشت. در گروه دیابت و تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر میانگین مقادیرMDA (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن Keap1 (P=۰/۰۰۱) در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد، درحالی‌که میانگین مقادیر SOD (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن Nrf2 (P=۰/۰۰۱) افزایش معناداری داشت که بیشترین تأثیر بر متغیرهای خونی و بیان ژن‌ها مربوط به گروه تمرین هوازی به‌همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بود. همچنین تفاوت معناداری بین گروه دیابت و تمرین هوازی و گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر بر میانگین مقادیرSOD (P=۰/۳۵۴)، MDA (P=۰/۴۳۹) و بیان ژن‌های Keap1 (P=۰/۴۰۵) و Nrf2 (P=۰/۳۸۵) در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو وجود ندارد (P≤ ۰/۰۵). نتایج آزمون تعقیبی بنفرونی در شکل‌های ۱ تا ۴ آورده شده است.



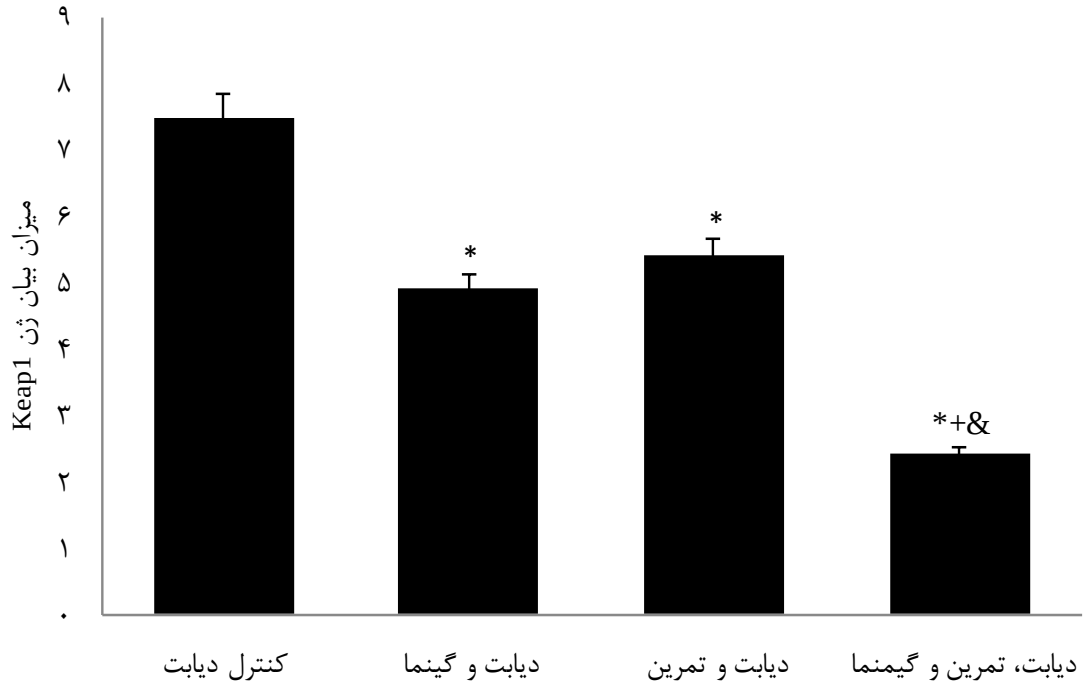
شکل ۱. میانگین مقادیر SOD در گروه‌های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه هشت سر است. * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



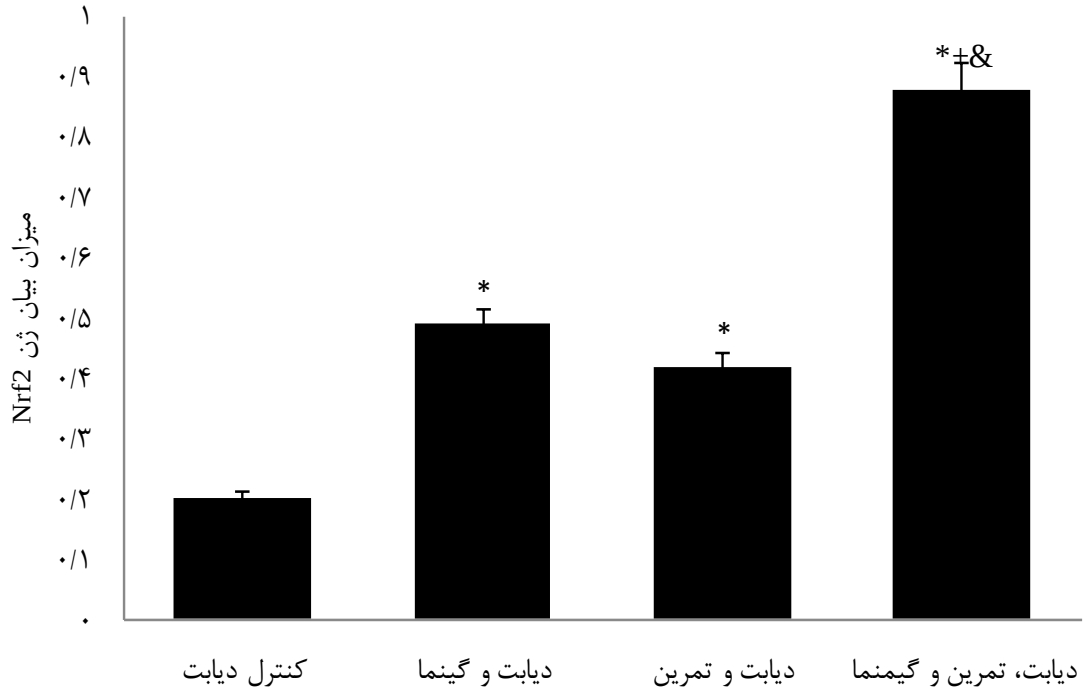
شکل ۲. میانگین مقادیر MDA در گروه‌های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه هشت سر است. * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



شکل ۳. میانگین مقادیر بیان ژن Keap1 در گروه‌های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه هشت سر است. * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



شکل ۴. میانگین مقادیر بیان ژن Nrf2 در گروه‌های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه هشت سر است. * نشانهٔ معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانهٔ معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر مقدار MDA در گروه دیابت و تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری داشته است، درحالی‌که مقدار SOD افزایش معناداری داشت که نتایج پژوهش حاضر با نتایج پرلاری و همکاران (۲۰۲۴) و هوشمند و همکاران (۲۰۱۹) همسو بود (۲۸، ۲۹). پرلاری و همکاران نشان داد که تمرین هوازی می‌تواند ابزار مفیدی برای کاهش فشار اکسایشی از طریق کاهش سطح سرمی MDA و افزایش مقدار SOD در موش‌های دیابتی باشد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. همچنین این نتایج همسو با نتایج هوشمند و همکاران بود که نشان دادند تمرین هوازی سبب کاهش مقاومت به انسولین، کاهش گلوکز خون در موش‌های دیابتی نوع دو شد و از طرفی بین تمرین هوازی و کاهش فشار اکسایشی از جمله افزایش SOD و کاهش MDA در افراد دیابتی رابطهٔ معناداری وجود دارد.

نتایج این پژوهش در زمینهٔ کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو با نتایج الیکو فهینتی و همکاران (۲۰۲۳) همخوانی دارد (۱۱). الیکو فهینتی و همکاران در پژوهشی نشان دادند که بروز اختلال عملکرد کبد در دیابت به‌دلیل مقاومت به انسولین و فشار اکسایشی افزایش می‌یابد. در چند سال گذشته، نقش مسیر Nrf2/Keap1 به‌عنوان یک پیام ضداکسایشی اصلی در پیشرفت دیابت مشخص شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد این مسیر به آسیب هیپوگلیسمی در بافت‌هایی مانند کبد وابسته است، مخاطبان بیشتری را در پزشکی بالینی به‌دست آورده است. پژوهش‌های بالینی روی این مسیر ضداکسایشی نتایج چشمگیری را نشان داده است و ادعاهایی وجود دارد که فعال کردن مسیر Nrf2/Keap1 می‌تواند آسیب اکسایشی ناشی از دیابت را معکوس کند. بنابراین درمان‌هایی که مسیرهای Nrf2/Keap1 را هدف قرار می‌دهند، یک راه هیجان‌انگیز برای کاهش فشار اکسایشی در بیماران مبتلا به دیابت است.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین هوازی می‌تواند سبب کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو شود که از دلایل فیزیولوژیکی این نتایج همسو با نتایج حاضر این است که تمرینات هوازی، موجب افزایش برداشت گلوکز در عضلات بدن می‌شوند که این تغییرات به تغییرات عملکردی در پیام‌های انسولینی و افزایش محتویات پروتئین GLUT- 4 وابسته‌اند و ورزش جدا از تقویت عملکرد انسولین، با افزایش گیرنده‌های GLUT- 4 سبب افزایش برداشت گلوکز می‌شود (۳۰).

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر مقدار MDA در گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری داشته است، درحالی‌که مقدار SOD افزایش معناداری داشت که نتایج پژوهش حاضر با نتایج کانگ و همکاران (۲۰۱۲)، لا ها و همکاران (۲۰۱۹)، قوش و همکاران (۲۰۲۳)، چن و همکاران (۲۰۲۳)، هاجر (۲۰۱۸) و کیم و همکاران (۲۰۱۶) از جهاتی همسو بود. کانگ و همکاران در پژوهشی نشان دادند که مصرف عصارهٔ گیمنما سیلوستر سبب کاهش فشار اکسایشی و افزایش فعالیت ضداکسایشی در موش‌های صحرایی دیابتی شد که مقدار SOD در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش و مقدار MDA کاهش یافت (۳۱). لاها و همکاران در بررسی دارویی نشان دادند که مصرف گیمنما سیلوستر به‌دلیل ترکیبات زیست‌فعال مانند اولئانین‌ها، آنتراکینون‌ها، فلاون‌ها که در آن هست، دارای فعالیت ضددیابتی است و می‌تواند سبب کاهش فشار اکسایشی و افزایش فعالیت ضداکسایشی در افراد دیابتی شود (۳۲). قوش و همکاران در پژوهشی نشان

دادند که عصارۀ برگ این گیاه خاصیت ضدمیکروبی، ضدالتهابی، ضدهیپرلیپیدمیک و ضددیابت دارد (۲۲). چن و همکاران در پژوهشی نشان دادند که مصرف عصارۀ گیمنما سیلوستر به مدت ۳۰ روز و در سه گروه با دوز کم (۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط (۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوز زیاد (۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) سبب کاهش گلوکز خون، کاهش مقاومت به انسولین و بهبود نیمرخ لیپیدی از طریق تنظیم میکروبیوتای روده در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو شد (۲۴). هاجر در پژوهشی به بررسی تأثیر گیمنما سیلوستر بر دیابت پرداخت که نتایج نشان داد که مصرف عصارۀ برگ این گیاه به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از دو ساعت می‌تواند سبب کاهش گلوکز خون در موش‌های دیابتی شود (۳۳). کیم و همکاران در پژوهشی به بررسی تأثیر تغذیۀ رژیم غذایی حاوی عصارۀ گیمنما سیلوستر در موش‌های C57BL/6 پرداختند که نتایج نشان داد مصرف عصارۀ گیمنما سیلوستر به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز سبب کاهش سطوح سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و گلوکز خون در موش‌های چاق شد. در کل مصرف عصارۀ گیمنما سیلوستر تأثیرات ضدمیکروبی و ضدکلسترول خون، خواص محافظتی کبد و کاهش گلوکز خون را نشان داد (۲۷) که از دلایل فیزیولوژیکی این نتایج همسو با نتایج حاضر این است مادۀ موثر مکمل گیمنما سیلوستر، گیمنمیک اسید است که از دو طریق می‌تواند سبب کاهش گلوکز خون، انسولین و مقاومت به انسولین شود. در حالت اول می‌تواند موجب کاهش جذب کربوهیدرات از دیوارۀ رودۀ کوچک از طریق مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوسیداز شود که در نهایت به دفع گلوکز از طریق روده منجر می‌شود (۲۱). در حالت دوم گیمنمیک اسید می‌تواند از طریق تحریک سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس پانکراس سبب افزایش ترشح انسولین شود. همچنین با مهار آنزیم پروتئین تیروزین فسفاتاز۱ (PTP-1B) می‌تواند موجب کاهش مقاومت به انسولین شود (۳۴). با توجه موارد مذکور مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به‌دلیل مادۀ مؤثر آن که گیمنمیک اسید است، می‌تواند سبب کاهش MDA و افزایش SOD شود و بیماری دیابت نوع دو را کنترل کند. پس به‌دنبال آن می‌تواند عوارض ناشی از آن از جمله فشار اکسایشی را کنترل کند و در نهایت به کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو منجر شود که با پژوهش حاضر همخوانی دارد. ازاین‌رو استفادۀ همزمان از برنامه‌های تمرینی هوازی به‌همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به‌دلیل اثر دهی بیشتر می‌تواند سبب کاهش بیشتری در متغیرهای وابسته شود که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. روی‌هم‌رفته و با توجه به نتایج این پژوهش گویا تمرین هوازی و مصرف مکمل گیمنما سیلوستر می‌تواند سبب بهبود متغیرهای خونی از طریق کاهش MDA و افزایش SOD همچنین بهبود مسیر پیام‌رسانی دخیل در فشار اکسایشی بافت کبد از طریق افزایش بیان ژن Nrf2 و کاهش بیان ژن Keap1 در بافت کبد موش‌های دیابتی نوع دو شود. از آنجا که پژوهش حاضر روی نمونه‌های حیوانی انجام گرفته است، اجرای پژوهش‌های بیشتر برای تعمیم نتایج به آزمودنی‌های انسانی و جنبۀ کاربردی نتایج پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش مستخرج از رسالۀ دکتری فیزیولوژی ورزشی در دانشگاه آزاد اصفهان (خوراسگان) است. از همۀ عزیزانی که در این امر مهم ما را یاری کردند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

حمایت مالی

این پژوهش بدون حمایت مالی انجام گرفته است.

مشارکت نویسندگان

این مقاله برگرفته از رسالهٔ دکتری دانشجوست و همهٔ نویسندگان در مراحل پژوهش مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

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

پی‌نوشت‌ها

[1] Superoxide dismutase
[2] Malondialdehyde

منابع

1. Qadri S, Yki-Järvinen H. Surveillance of the liver in type 2 diabetes: important but unfeasible? Diabetologia. 2024:1-13.

2. Abeysekera KW, Valenti L, Younossi Z, Dillon JF, Allen AM, Nourredin M, et al. Implementation of a liver health check in people with type 2 diabetes. The Lancet Gastroenterology & Hepatology. 2024;9(1):83-91.

3. Fan G, Zhang B, Wang J, Wang N, Qin S, Zhao W, et al. Accurate construction of NIR probe for visualizing HClO fluctuations in type I, type II diabetes and diabetic liver disease assisted by theoretical calculation. Talanta. 2024;268:125298.

4. Nogueira JP, Cusi K. Role of insulin resistance in the development of nonalcoholic fatty liver disease in people with type 2 diabetes: from bench to patient care. Diabetes Spectrum. 2024;37(1):20-8.

5. Kim K-S, Hong S, Han K, Park C-Y. Association of non-alcoholic fatty liver disease with cardiovascular disease and all cause death in patients with type 2 diabetes mellitus: nationwide population based study. bmj. 2024;384.

6. Michel M, Doll M, Albert N, Morgenstern M, Behr A, Maxeiner S, et al. Obesity and harmful alcohol consumption are predictors for advanced liver disease in the disease management program for type 2 diabetes. United European Gastroenterology Journal. 2024;12(1):11-21.

7. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology. 2019;11(3):45.

8. Zhang S, Zhang S, Zhang Y, Wang H, Chen Y, Lu H. Activation of NRF2 by epiberberine improves oxidative stress and insulin resistance in T2DM mice and IR-HepG2 cells in an AMPK dependent manner. Journal of Ethnopharmacology. 2024:117931.

9. Pouresmaeil V, Al Abudi AH, Mahimid AH, Sarafraz Yazdi M, Es-Haghi A. Evaluation of serum selenium and copper levels with inflammatory cytokines and indices of oxidative stress in type 2 diabetes. Biological trace element research. 2023;201(2):617-26.

10. Yang J, Chen H, Nie Q, Huang X, Nie S. Dendrobium officinale polysaccharide ameliorates the liver metabolism disorders of type II diabetic rats. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;164:1939-48.

11. Elekofehinti OO, Adewumi NA, Iwaloye O. Antidiabetic potential of Chromolaena Odorata leave extract and its effect on Nrf2/keap1 antioxidant pathway in the liver of diabetic-induced Wistar Rats. Advances in Traditional Medicine. 2023;23(2):513-23.

12. Memısoğullari R, Taysı S, Bakan E, Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease. 2003;21(3):291-6.

13. Amanat S, Ghahri S, Dianatinasab A, Fararouei M, Dianatinasab M. Exercise and type 2 diabetes. Physical Exercise for Human Health. 2020:91-105.

14. Papagianni G, Panayiotou C, Vardas M, Balaskas N, Antonopoulos C, Tachmatzidis D, et al. The anti-inflammatory effects of aerobic exercise training in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. Cytokine. 2023;164:156157.

15. Ghalandari K, Shabani M, Khajehlandi A, Mohammadi A. Effect of aerobic training with silymarin consumption on glycemic indices and liver enzymes in men with type 2 diabetes. Archives of Physiology and Biochemistry. 2023;129(1):76-81.

16. Erlich AT, Tryon LD, Crilly MJ, Memme JM, Moosavi ZSM, Oliveira AN, et al. Function of specialized regulatory proteins and signaling pathways in exercise-induced muscle mitochondrial biogenesis. Integrative medicine research. 2016;5(3):187-97.

17. Hall ME, Rizwan AM, Hamid A. Cardiac Biomarkers and Exercise Training in People With Diabetes: When a Negative Is a Positive. American College of Cardiology Foundation Washington DC; 2023. p. 100193.

18. Zamani M, Ashtary-Larky D, Nosratabadi S, Bagheri R, Wong A, Rafiei MM, et al. The effects of Gymnema Sylvestre supplementation on lipid profile, glycemic control, blood pressure, and anthropometric indices in adults: A systematic review and meta-analysis. Phytotherapy Research. 2023;37(3):949-64.

19. Nani A, Bertuzzi F, Meneghini E, Mion E, Pintaudi B. Combined Inositols, α-Lactalbumin, Gymnema Sylvestre and Zinc Improve the Lipid Metabolic Profile of Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Clinical Trial. Journal of Clinical Medicine. 2023;12(24):7650.

20. Gotteparthi S, Kotaru M, Krishnan SA, Sridevi K. Evaluation of Anti-Diabetic Activity of Zinc Oxide Nanoparticles of Gymnema sylvestre Extract on Wistar Rats. Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2023;13(11):31-8.

21. Al-Mosawi A. The use of Gymnema sylvestre in the treatment of diabetes: The available evidence and expert opinion. Current Clinical and Medical Education. 2024;2(02):29-31.

22. Ghosh AR, Alsayari A, Habib AH, Wahab S, Nadig AP, Rafeeq MM, et al. Anti-Tumor Potential of Gymnema sylvestre Saponin Rich Fraction on In Vitro Breast Cancer Cell Lines and In Vivo Tumor-Bearing Mouse Models. Antioxidants. 2023;12(1):134.

23. Khimmaktong W, Komolkriengkrai M, Matsathit U. Therapeutic potential of glabridin and gymnemic acid alleviates eye

choroidal thickness and neovascularization in diabetic model rats. bioRxiv. 2024:2024.02. 08.579467.

24. Chen G, Xu Y, Zhang H, Muema FW, Guo M. Gymnema sylvestre extract ameliorated streptozotocin-induced hyperglycemia in T2DM rats via gut microbiota. Food Frontiers. 2023.

25. LLabre JE, Sroga GE, Tice MJ, Vashishth D. Induction and rescue of skeletal fragility in a high-fat diet mouse model of type 2 diabetes: An in vivo and in vitro approach. Bone. 2022;156:116302.

26. Celik H, Dursun AD, Tatar Y, Omercioglu G, Bastug M. Irisin pathways in hearts of Type 1 diabetic adult male rats following 6 weeks of moderate and high-volume aerobic exercise on a treadmill. Sport Sciences for Health. 2023;19(2):597-605.

27. Kim H-J, Hong S-H, Chang S-H, Kim S, Lee AY, Jang Y, et al. Effects of feeding a diet containing Gymnema sylvestre extract: Attenuating progression of obesity in C57BL/6J mice. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2016;9(5):437-44.

28. Piralaiy E, Rashwan Ismael B. The effect of aerobic training on SOD, GPX, TAC, and MDA in heart tissue of rats with type 2 diabetes. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2024.

29. Hooshmand B, Attarzade Hosseini SR, Kordi MR, Davaloo T. The effect of 8-week aerobic exercise with spirulina supplementation consumption on plasma levels of MDA, SOD and TAC in men with type 2 diabetes. Sport Physiology & Management Investigations. 2019;10(4):139-48.

30. Xue X, Kuati A, Cui G. Letter to The Editor on “Effectiveness of combined aerobic and resistance exercise on cognition, metabolic health, physical function, and health-related quality of life in middle-aged and older adults with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis”. Archives of physical medicine and rehabilitation. 2024.

31. Kang M-H, Lee MS, Choi M-K, Min K-S, Shibamoto T. Hypoglycemic activity of Gymnema sylvestre extracts on oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats. Journal of agricultural and food chemistry. 2012;60(10):2517-24.

32. Laha S, Paul S. Gymnema sylvestre (Gurmar): A potent herb with anti-diabetic and antioxidant potential. Pharmacognosy Journal. 2019;11(2).

33. Hajare R. Comparing modified and relationship study of Gymnema sylvestre against diabetes. SF J Pub Health. 2018;2(2).

34. Mandal SK, Rahmat S, Sakib K, Mehjabin B, Rahman T, Rasna IJ. An Assessment of Anti-diabetic Effect of Gymnema sylvestre in Alloxan-induced Rat Model. International Research Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2024;7(1):29-36.