Journal of Sport and Exercise Physiology
2024, 17(4), ?-?

Original Article

The Effect of Gymnema Sylvestre Supplement on the Signaling Pathway involved in The Oxidative Stress of Liver Tissue in Type 2 Diabetic Model Mice Following Aerobic Exercise

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 in normal range. Although the favorable role of Gymnema sylvester supplement and aerobic exercise has been reported in diabetic patients, the effect of Gymnema sylvester supplement and aerobic exercise 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 model mice following Aerobic exercise.

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 exercise, diabetes group and gymnema sylvester supplement, diabetes group and aerobic exercise 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 gavage with 100 mg/kg daily for six weeks. Aerobic exercise groups performed exercises at a speed of 10 m/min for six weeks and five training sessions per week on a treadmill. Serum concentration of SOD and MDA by ELISA method and expression of Nrf2/Keap1 genes was measured by RT-PCR method. The data was measured by SPSS and calculated with One-way analysis of variance test and Bonferroni's post hoc test. The significance level was considered $P\leq0.05$.

Results: The findings showed that six weeks of taking gymnema sylvester supplement, aerobic exercise and aerobic exercise with gymnema sylvester supplement caused a significant decrease in the blood variable MDA and the expression of the Keap1 gene and a significant increase in the blood variable SOD and the expression of the Nrf2 gene in the liver tissue ($P\leq0.05$), which had the greatest effect on the dependent variables related to the diabetes group and aerobic exercise with gymnema sylvester supplement was better than the diabetic control group ($P\leq0.05$), also there is no significant difference between the dependent variables of the diabetic group and aerobic exercise and the diabetic group and gymnema supplement ($P\leq0.05$).

Conclusion: Gymnema Sylvester supplement and Aerobic exercise improve blood variables by 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 the liver tissue of type 2 diabetic model mice.

Keywords: Gymnema Sylvestre, Aerobic Exercise, Oxidative stress, Type 2 Diabetic

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 Model Mice Following Aerobic Exercise. J Sport Exerc Physiol. 2024;17(4):?-?.

*Corresponding Author's E-mail: khosrojalali@gmail.com

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/).

نسخه پیش انتشار

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی

۱۴۰۳، دوره ۱۷، شماره ۴، صفحه های ؟-؟

مقاله پژوهشی

اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ به دنبال تمرین هوازی

رضا حسنی زاده، 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 مرگ و میر در بیماران دیابت نوع۲ است. دیابت نوع۲ یکی از شایع ترین بیماری‌های مزمن متابولیک بوده و شیوع آن به سرعت در سر تاسر جهان در حال افزایش است. کبد یکی از مهمترین ارگان هایی است که سطوح گلوکز خون را در حد طبیعی نگه می‌دارد. اگرچه نقش مطلوب مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی در بیماران دیابتی گزارش شده است، ولی اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی در بافت کبد به خوبی شناخته نشده است. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع ۲ به دنبال تمرین هوازی است.

مواد و روش ها: در این تحقیق تجربی ۳۲ موش C57BL/6 نر به صورت تصادفی به ۴ گروه هشت تایی شامل گروه دیابت و تمرین هوازی، گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر، گروه دیابت و تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و گروه کنترل دیابت تقسیم شدند. گروه های دیابت به وسیله رژیم غذایی پر چرب به مدت ۲۰ هفته دیابتی شدند. گروه‌های مکمل گیمنما سیلوستر روزانه به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت شش هفته، عصاره گیمنما به صورت گاواژ خورانده شد. گروه‌های تمرین هوازی، تمریناتی با سرعت (m/min)۱۰ به مدت شش هفته و پنج جلسه تمرین در هفته بر روی تردمیل انجام دادند. غلظت سرمی SOD و MDA به روش الایزا و بیان ژن‌های Nrf2/Keap1 به روش RT-PCR اندازه گیـری شـد.

نسخه پیش انتشار

سنجش داده ها توسط SPSS و با آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی محاسبه شد. سطح معنی داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که شش هفته مصرف مکمل گیمنما سیلوستر، تمرین هوازی و تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر باعث کاهش معناداری در متغییر خونی MDA و بیان ژن Keap1 و افزایش معناداری در متغییر خونی SOD و بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ شد (P≤ ۰/۰۵)، که بیشترین تاثیر بر متغیرهای وابسته مربوط به گروه دیابت و تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر نسبت به گروه کنترل دیابت بود (P≤ ۰/۰۵). همچنین تفاوت معناداری بین متغیرهای وابسته گروه دیابت و تمرین هوازی و گروه دیابت و مکمل گیمنما وجود ندارد(P≤ ۰/۰۵).

نتیجه گیری: مصرف مکمل گیمنما سیلوستر و تمرین هوازی باعث بهبود متغیرهای خونی از طریق کاهش MDA و افزایش SOD هم چنین بهبود مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد از طریق افزایش بیان ژن Nrf2 و کاهش بیان ژن Keap1 در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ شد.

واژه های کلیدی: گیمنما سیلوستر، تمرین هوازی، استرس اکسیداتیو، دیابت نوع۲

نحوهٔ استناد به این مقاله: حسنی زاده ر، جلالی دهکردی خ، تقیان ف. اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر سیگنالینگ دخیل در ا سترس اک سیداتیو بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ به دنبال تمرین هوازی. ن شریهٔ فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی.۱۴۰۳؛۱۷(۴):؟-؟.

* رایانامه نویسنده مسئول: khosrojalali@gmail.com

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

نسخه پیش انتشار

مقدمه

دیابت نوع۲ یکی از شایع ترین بیماری‌های مزمن متابولیک بوده و شیوع آن به سرعت در سر تاسر جهان در حال افزایش است (۱). دیابت یک نگرانی فزاینده مهم بهداشت عمومی است (۲). دیابت نوع ۲ به مقاومت در برابر انسولین مربوط است و معمولا در افراد بزرگسال و مسن بیشتر دیده می‌شود، اما در حال حاضر دیابت نوع ۲ در افراد جوان نیز تشخیص داده می‌شود (۳). این بیماری نتیجه پیشینه خانوادگی، چاقی، سبک زندگی نامناسب، رژیم غذایی و داشتن زندگی با تحرک کم است. دیابت نوع ۲ بیماری مزمنی است که یکی از ویژگی های اصلی آن هایپرگلیسمی است (۴). کبد یکی از مهمترین ارگان هایی است که سطوح گلوکز خون را در حد طبیعی نگه می دارد. شیوع بالای بیماری‌های کبدی در افراد دیابتی گزارش شده است (۵). بسیاری از تحقیقات نشان می‌دهند بیماری‌های کبد یکی از علل مهم مرگ و میر در دیابت نوع ۲ است (۶). اگرچه مکانیسم دقیق آسیب‌های کبدی در دیابت به روشنی مشخص نشده است، هایپرگلیسمی از طریق اتو اکسیداسیون گلوکز موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که سلول‌های کبدی را تخریب می‌کنند. همچنین آسیب به بافت کبد می تواند منجر به استرس اکسیداتیو شود (۷). عدم تعادل بین رادیکال های آزاد و شاخص های آنتی اکسیدانی را استرس اکسیداتیو می‌گویند (۸). از طرفی در فرایند طولانی مدت دیابت و تغییر در متابولیسم که با هایپر گلیسمی همراه است گونه های فعال اکسیژن (ROS) آزاد می‌شوند که این فرایند استرس اکسیداتیو موجب اختلال در عملکرد کبد در حفظ تعادل گلوکز خون می‌شود (۹). کبد یک اندام پیچیده است و تنظیم کننده متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی در بدن است. حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره سازی گلوکز به صورت های مختلف از وظایف کبد به شمار می‌رود (۱۰). مسیر آنتی اکسیدانی Keap1/Nrf2 در سلول کبدی از آسیب سلولی در مقابل استرس اکسیداتیو جلوگیری می کند و این مسیر در اثر دیابت مختل می شود. مطالعات بالینی روی این مسیر آنتی اکسیدانی نتایج چشمگیری را نشان داده است و ادعاهایی وجود دارد که فعال کردن مسیر Nrf2/Keap1 می‌تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از دیابت را معکوس کند. بنابراین، درمان‌هایی که مسیرهای Nrf2/Keap1 را هدف قرار می‌دهند، یک راه هیجان‌انگیز برای کاهش استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت است. در یک تحقیق نشان داده شد که بیان ژن keap1 در موش‌های دیابتی افزایش و بیان ژن NRF2 کاهش پیدا کرد (۱۱). همچنین در یک تحقیق نشان داده شد که سوپر اکسید دیسموتاز ((Superoxide dismutase (SOD) و مالون دی آلدئید ((Malondialdehyde (MDA) از نشانه های استرس اکسیداتیو می‌باشد که میزان سوپر اکسید دیسموتاز در این شرایط کاهش و میزان مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد (۱۲). تمرکز بر فعالیت بدنی یک استراتژی سالم در بهینه سازی سبک زندگی و تاثیر گذار برای جلوگیری و کاهش تغییرات منفی مرتبط با دیابت نوع۲ است (۱۳). تمرین هوازی باید یکی از ویژگی‌های کلیدی برنامه‌های تمرینی در دیابت نوع۲ باشد. شواهد نشان داده است فعالیت بدنی علاوه بر پیشگیری از هیپوگلیسمی در تنظیم اثر داروها در افراد دیابتی نیز می‌تواند کمک کند (۱۴). پژوهش‌های صورت گرفته در این زمینه نشان داده اند تمرینات هوازی با شدت متوسط از طریق کاهش التهاب، کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش میزان چربی سلول های کبدی منجر به بهبود عملکرد کبد می‌شوند. مطالعات متعددی کاهش میزان آنزیم‌های کبدی را پس از تمرینات هوازی گزارش کرده‌اند (۱۵). تمرین هوازی از طریق فراخوانی Glut4 مستقل از انسولین می تواند گلوکز خون را جذب کند (۱۶).

با توجه به تولید رادیکال های آزاد توسط دیابت و نهایتاً ایجاد آپوپتوز (۱۷)، یکی دیکر از روش‌های درمانی که توجه محققین را به خود جلب کرده است استفاده از گیاهان دارویی ضد دیابت است که به علت فعالیت آنتی اکسیدانی و عوارض کم مورد توجه هستند. یکی از گیاهانی که دارای خاصیت دارویی بوده و می‌تواند در درمان بسیاری از بیماریها مورد استفاده قرار گیرد و تحقیقات کمی در مورد آن است مکمل گیمنما سیلوستر ((Gymnema(GS) می‌باشد (۱۸). این گیاه بومی مناطق گرمسیر هندوستان می‌باشد که در طب سنتی هندوستان در درمان دیابت استفاده می‌شود. تحقیقات بالینی اخیر اثر بخشی این داروی گیاهی در درمان دیابت نوع دوم تایید کرده است (۱۹). عصاره برگ این گیاه خاصیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد التهابی،

ضد هیپرلیپیدمیک دارد (۲۰, ۲۱). ادعا می‌شود که این گیاه جذب گلوکز در مجاری گوارش را مهار و در نتیجه گلوکز بدون آنکه جذب بدن شود دفع می شود. به علاوه گزارش شده است که این داروی گیاهی موجب بازسازی سلول‌های بتا آسیب دیده شده و در نتیجه میزان انسولین خون بیماران دیابتی افزایش می‌یابد (۲۲, ۲۳). در یک تحقیق به بررسی تاثیر عصاره گیمنما سیلوستر بر رت‌های دیابتی نوع ۲ پرداخت که نتایج نشان داد که مصرف عصاره گیمنما سیلوستر باعث کاهش گلوگز خون، کاهش مقاومت به انسولین، بهبود پروفایل لیپیدی و کاهش استرس اکسیداتیو از طریق تنظیم میکروبیوتای روده در رت‌های دیابتی نوع ۲ شد اما نیاز به تحقیقات بیشتر جهت شناسایی مکانیسم اثر آن مورد نیاز می باشد (۲۴). از آن جایی که مکانیسم اثر مکمل گیمنما سیلوستر دفع گلوکز از طریق روده می‌باشد در افراد دیابتی که مشکل کلیه هم دارند قابل استفاده می‌باشد در حالی که بسیاری از داروهای مورد استفاده در دیابت مثل متفورمین باعث دفع گلوکز از طریق کلیه می شود که افراد دیابتی با بیماری کلیوی در مصرف آن دچار مشکل می شوند بنابراین کلیه افراد دیابتی می توانند از این مکمل گیاهی با عوارض کم استفاده کنند و همچنین در هیچ پژوهشی اثر مکمل گیمنما سیلوستر بر بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 در بافت کبد موش های مدل دیابت نوع ۲ بررسی نشده است و از طرفی مطالعات انجام شده در مورد اثر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 محدود است، با وجود تغییرات در درصد چربی بدن، پاسخ این ژن‌ها به تمرینات هوازی کاملاروشن نیست. از این رو، هدف پژوهش حاضر، اثر مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بر مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع ۲ به دنبال تمرین هوازی می باشد.

روش پژوهش

نمونه های پژوهش: در این تحقیق تجربی ۴۰ موش C57BL/6 نر با میانگین سنی ۸ تا ۱۰ هفته از پژوهشگاه رویان اصفهان خریداری شد. این نوع موش‌ها توالی ژنومی کاملی دارند و به عنوان مدل دیابتی در تحقیقات استفاده می شوند. موش‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اصفهان تحت شرایط چرخه‌ی 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. تمامی مداخلات حیوانی مطابق با دستورالعمل های اخلاقی مؤسسات ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی مورد تأیید کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اصفهان (کد:IR.IAU.KHUISF.REC.1402.327) انجام شد. به منظور اجرای تحقیق ۳۲ موش انتخاب شدند و به صورت تصادفی در چهار گروه دیابت و تمرین هوازی (n=۸)، گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر (۸ =n، گروه دیابت و تمرین هوازی به همراه مکمل گیمنما سیلوستر (n=۸) و گروه کنترل دیابت (n=۸) قرار گرفتند.

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

نسخه پیش انتشار

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

گندم	جو	ذرت	سبوس	کنجاله سویا	پودر یونجه	نمک	مولتی ویتامین	مواد معدنی	ویتامین E	ویتامین D3	ویتامین C	شیر خشک	پودر گوشت	روغن سویا	انرژی Kcal/g
۲۳/۵۵	۱۴/۶۶۰	۴۲	۲۰	۱۵۰	۳/۱۰	۸/۳	۰/۹	۰/۹	۶/۷	۱/۶۷	۱/۶۷	۲۵/۱	۱۶/۵۷	۱۸۰	۳/۵۸

سپس پس از ۲۰ هفته رژیم غذایی پرچرب با ایجاد یک جراحت کوچک به وسیله لانست روی دُم موش‌ها، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر قرار داده شد و قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر ثبت شد. قندخون بالای ۳۰۰ میلیگرم بر میلی لیتر، به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد موش‌هایی که کمتر از ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بودند، از تحقیق حذف شدند. سپس برنامه تمرین هوازی و مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به مدت ۶ هفته آغاز شد. گروه های تمرین هوازی، تمرینی با شدت متوسط پنج روز در هفته به مدت شش هفته با افزایش سرعت و زمان بر روی تردمیل موش آزمایشگاهی تمام اتوماتیک مدل دیجیتال ۴ کاناله ساخت ایران با قابلیت تنظیم شیب طبق جدول ۲ انجام دادند (۲۶). میزان شیب تردمیل دو هفته اول صفر، هفته سوم و چهارم دو درجه و هفته پنجم و ششم چهار درجه بود. درضمن برای موش هایی که نمی دویدند از شوک الکتریکی استفاده شد.

جدول ۲. پروتکل 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
۱۱-۹	۱۰	۶۰
۱۲	استراحت	۰
۱۴-۱۳	۱۰	۶۰
۴۲-۱۵	طبق برنامه تمرینی	روز ۸ تا۱۴

نحوه تهیه و مصرف عصاره گیمنما: برای تهیه عصاره گیمنما سیلوستر ابتدا برگ‌های این گیاه از شرکت نهال سبز سلامت تهیه شد. سپس در معرض آفتاب خشک و سپس 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 عصاره گیاه به دست آید. گروه‌های مکمل گیمنما سیلوستر روزانه به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به ازای وزن هر موش (۲۷)، به مدت

نسخه پیش انتشار

شش هفته، عصاره گیمنما به صورت گاواژ خورانده شد. این میزان دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در موش به مدت ۳۰ روز استفاده شده بود و میزان گلوکز خون در موش های دیابتی کاهش پیدا کرد ولی پیشنهاد شده بود که جهت کاهش بیشتر استرس اکسیداتیو موش‌های دیابتی در تحقیقات بعدی مدت زمان مصرف بیشتری آزمایش شود ولی این میزان دوز به مدت شش هفته در هیچ پژوهشی انجام نشده بود برای همین چون مدت زمان مصرف را بالا بردیم میزان دوز را تغییر ندادیم تا تاثیر آن را بر مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ بررسی شود. همچنین گروه کنترل دیابتی بدون هیچ گونه مداخله تمرینی و دارویی جهت مقایسه با گروه های دیگر تحت پیگیری قرار گرفتند.

روش های آزمایشگاهی: روش‌های آزمایشگاهی به دو روش خونگیری و بررسی بافت کبد انجام شد که خونگیری در ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تحقیق پس از ۱۴ ساعت ناشتایی شبانه در صبح به میزان ۵ میلی لیتر از بطن چپ موش ها انجام شد. طریقه‌ی خونگیری به این صورت بود که ابتدا هر موش با اتر بیهوش می‌شود، سپس خون سرخرگی از ناحیه‌ی قفسه سینه هر موش مستقیم از بطن چپ گرفته می‌شود. سپس خون گرفته شده در لوله های آزمایش حاوی آپروتینین ریخته شد تا از تجزیهٔ 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 درجه‌ی 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 کشور آلمان با دامنه تغییرات ۰/۱۵ – ۶/۵۵ نانو گرم بر میلی لیتر و حساسیت ۰/۱۵ نانوگرم بر میلی لیتر و سطح سرمی گلوکز به روش آنزیماتیک (کیت پارس آزمون، ایران) توسط دستگاه اتوآنالایزر (تکنیکون RA-1000 نیویورک، آمریکا) با دامنه تغییرات ۵ – ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر و حساسیت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. مقاومت انسولینی به روش HOMA-IR با اندازه گیری انسولین و گلوکز ناشتا از نمونه ی پلاسما طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{HOMA-IR index} = (\text{fasting insulin}(\mu U/ml) \times \text{fasting glucose (mmol/l)})/\ 22)$$

غلظت سرمی SOD نیز با روش الایزا و به وسیله کیت مخصوص موش ساخت شرکت کیا زیست با دامنه تغییرات ۱/۵۶- ۱۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر و حساسیت ۰/۵۷ نانو گرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. غلظت سرمی MDA نیز با روش الایزا و به وسیله کیت مخصوص موش ساخت شرکت کیا زیست با دامنه تغییرات ۰/۵- ۱۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر و حساسیت ۰/۲۵ نانو گرم بر میلی لیتر اندازه گیری شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا از تمامی نمونه‌های مورد مطالعه، مراحل سنتز cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA) انجام شد و سپس cDNA سنتز شده جهت انجام واکنش رونویسی معکوس مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا کلیه پرایمر های طراحی شده مربوط به تمامی ژن‌ها طبق جدول ۳، مورد بررسی قرار گرفت و سپس بررسی بیان ژن‌های Keap1/Nrf2 در بافت کبد با استفاده از روش RT-PCR انجام شد. به طور کلی RT- PCR نوعی PCRمی‌باشد که در آن توالی تکثیر شده به صورت کمی سنجیده می‌شود برای این کار از دستگاه RT- PCR استفاده می‌شود که از یک سیستم اپتیکی بهره برده و میزان DNA هر نمونه توسط آن محاسبه می‌شود.

نسخه پیش انتشار

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 مطالعه از B2M به عنوان ژن مرجع برای نرمال‌سازی بیان ژن‌ها استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس مقایسه چرخه آستانه (CT) انجام شد. منحنی تکثیر هر واکنش PCR با منحنی تکثیر ژن مرجع مربوطه نرمالیز شد. در این مطالعه، اختلاف CT به دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه‌های مرجع محاسبه و با استفاد ه 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 شد که در بخش آمار توصیفی از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف متغیرهای خونی و بیان ژن‌های آزمودنی‌ها استفاده گردید 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 بونفرونی برای مقایسه‌ی متغییر های مورد بحث در پژوهش شامل SOD، MDA،Keap1 و Nrf2 بین گروه‌های پژوهش استفاده شد. نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ تحلیل شد و سطح معنی داری P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

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

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

متغییر 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(میلی گرم بر میلی لیتر)	۳۳۵/۲۲±۰۱/۸۵	۲۷۵/۲۶±۶۷/۲۰	۲۶۰/۲۰±۶۷/۶۸	۱۴۲/۱۴±۰۱/۴۶
انسولین(نانو گرم بر میلی لیتر)	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 به صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده اند.

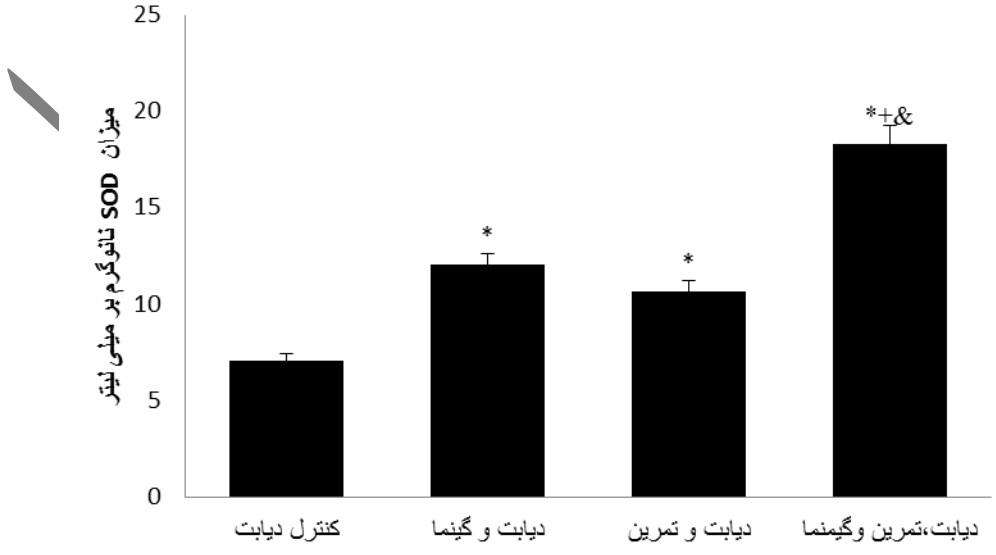
نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه در جدول ۵ نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین مقادیر SOD (P=۰/۰۰۱)، MDA (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن‌های Keap1 (P=۰/۰۰۱) و Nrf2 (P=۰/۰۰۱) بین گروه‌های پژوهش وجود دارد همچنین سطح معنی داری P ≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۵. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه متغییرهای مورد بررسی در گروه‌های پژوهش

متغییر 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

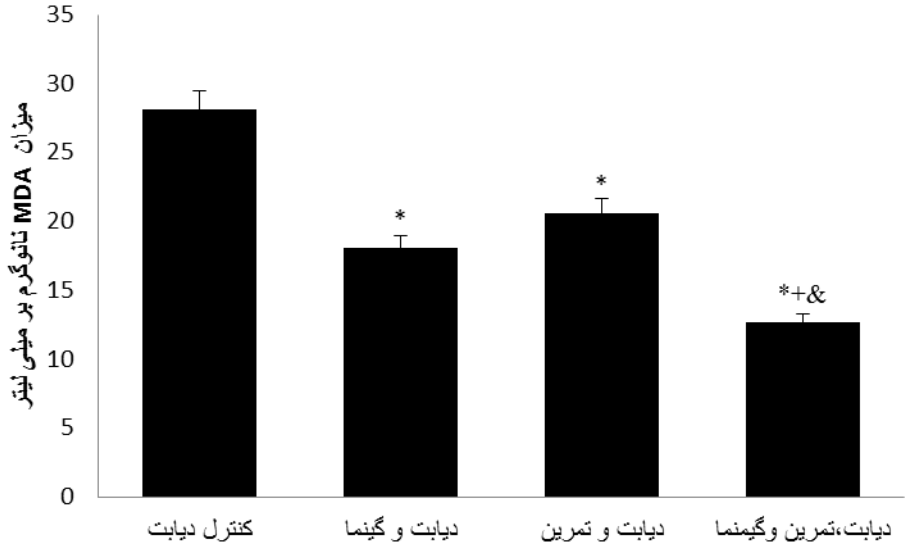
مقادیر به صورت انحراف استاندارد ± میانگین نشان داده شده اند. * سطح معنی داری ۰/۰۵ ≥P در نظر گرفته شد.

نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی 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 مدل دیابت نوع۲ نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد در حالی که 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 مدل دیابت نوع۲ نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد در حالی که 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 مقادیر MDA (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن Keap1 (P=۰/۰۰۱) در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری وجود دارد در حالی که میانگین مقادیر SOD (P=۰/۰۰۱) و بیان ژن Nrf2 (P=۰/۰۰۱) افزایش معناداری داشت که بیشترین تاثیر بر متغیرهای خونی و بیان ژن‌ها مربوط به گروه تمرین هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر بود. همچنین تفاوت معناداری بین گروه دیابت و تمرین هوازی و گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر بر میانگین مقادیر SOD (P=۰/۳۵۴)، MDA (P=۰/۴۳۹) و بیان ژن‌های Keap1 (P=۰/۴۰۵) و Nrf2 (P=۰/۳۸۵) در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ وجود ندارد (۰/۰۵ ≥P). نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی در شکل ۱ تا ۴ آورده شده است.



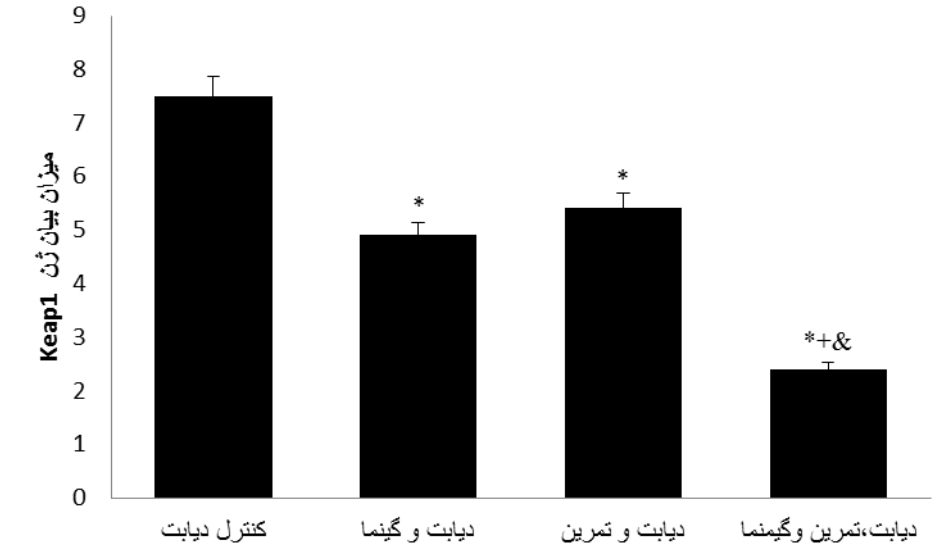
شکل ۱. میانگین مقادیر SOD در گروه های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه ۸ سر است. * نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



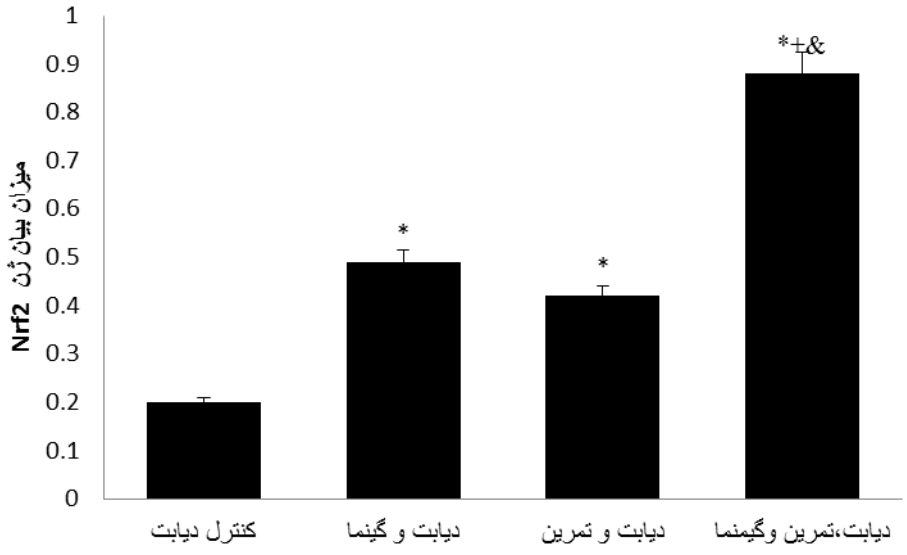
شکل ۲. میانگین مقادیر MDA در گروه های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه ۸ سر است. ❋ نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



شکل ۳. میانگین مقادیر بیان ژن Keap1 در گروه های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه ۸ سر است. ❋ نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی



شکل ۴. میانگین مقادیر بیان ژن Nrf2 در گروه های پژوهش

تعداد موش‌های هر گروه ۸ سر است. * نشانه معناداری نسبت به گروه کنترل دیابت، + نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و مکمل گیمنما، & نشانه معناداری نسبت به گروه دیابت و تمرین هوازی

بحث و نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر میزان MDA در گروه دیابت و تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری داشت است درحالیکه میزان SOD افزایش معناداری داشت که نتایج تحقیق حاضر با پرلاری و همکاران (۲۰۲۴) و هوشمند و همکاران (۲۰۱۹) همسو بود (۲۸, ۲۹). پرلاری و همکاران نشان داد که تمرین هوازی می تواند ابزار مفیدی برای کاهش استرس اکسیداتیو از طریق کاهش سطح سرمی MDA و افزایش میزان SOD در موش های دیابتی باشد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. همچنین این نتایج همسو با نتایج هوشمند و همکاران بود که نشان داد که تمرین هوازی باعث کاهش مقاومت به انسولین، کاهش گلوکز خون در موش‌های دیابتی نوع ۲ شد و از طرفی نشان داد که بین تمرین هوازی و کاهش استرس اکسیداتیو از جمله افزایش SOD و کاهش MDA در افراد دیابتی رابطه معناداری وجود دارد.

همچنین نتایج این تحقیق در زمینه کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش های مبتلا به دیابت نوع ۲ با نتایج الیکو فهینتی و همکاران (۲۰۲۳) همخوانی دارد (۱۱). الیکو فهینتی و همکاران در یک تحقیق نشان داد که بروز اختلال عملکرد کبد در دیابت به دلیل مقاومت به انسولین و استرس اکسیداتیو افزایش می یابد. در سال های اخیر نقش مسیر Nrf2/Keap1به عنوان یک سیگنال آنتی اکسیدانی اصلی در پیشرفت دیابت مشخص شده است. شواهدی که نشان می‌دهد این مسیر با آسیب هیپوگلیسمی در بافت‌هایی مانند کبد مرتبط است، مخاطبان بیشتری را در پزشکی بالینی به دست آورده است. مطالعات بالینی روی این مسیر آنتی اکسیدانی نتایج چشمگیری را نشان داده است و ادعاهایی وجود دارد که فعال کردن مسیر Nrf2/Keap1 می تواند آسیب اکسیداتیو ناشی از دیابت را معکوس کند. بنابراین، درمان‌هایی که مسیرهای Nrf2/Keap1 را هدف قرار می‌دهند، یک راه هیجان‌انگیز برای کاهش استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تمرین هوازی می تواند باعث کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش های مبتلا به دیابت نوع ۲ شود که از دلایل فیزیولوژیکی این نتایج هم سو با نتایج حاضر این است که تمرینات هوازی،

باعث افزایش برداشت گلوکز در عضلات بدن می شوند که این تغییرات وابسته به تغییرات عملکردی در سیگنال‌های انسولینی و مرتبط با افزایش محتویات پروتئین GLUT- 4 می باشند و ورزش جدا از تقویت عملکرد انسولین، با افزایش گیرنده های GLUT- 4 باعث افزایش برداشت گلوکز می‌شود (۳۰).

بر اساس یافته های تحقیق حاضر میزان MDA در گروه دیابت و مکمل گیمنما سیلوستر نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معناداری داشت است درحالیکه میزان SOD افزایش معناداری داشت که نتایج تحقیق 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 یک تحقیق نشان داد که مصرف عصاره گیمنما سیلوستر باعث کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در رت‌های دیابتی شد که میزان SOD در رت‌های دیابتی افزایش و میزان MDA کاهش پیدا کرد (۳۱). لاها و همکاران در یک بررسی دارویی نشان داد که مصرف گیمنما سیلوستر به دلیل ترکیبات زیست فعال مانند اولئانین‌ها، آنتراکینون‌ها، فلاون‌ها که در آن هست دارای فعالیت ضد دیابتی می‌باشد و می تواند باعث کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در افراد دیابتی شود (۳۲). قوش و همکاران در یک تحقیق نشان داد که عصاره برگ این گیاه خاصیت ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد هیپرلیپیدمیک و ضد دیابت دارد (۲۲). چن و همکاران در یک تحقیق نشان داد که مصرف عصاره گیمنما سیلوستر به مدت ۳۰ روز و در سه گروه با دوز کم (۱۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، دوز متوسط(۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و دوز زیاد (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش گلوگز خون، کاهش مقاومت به انسولین و بهبود پروفایل لیپیدی از طریق تنظیم میکروبیوتای روده در رت‌های دیابتی نوع ۲ شد (۲۴). هاجر در یک تحقیق به بررسی تاثیر گیمنما سیلوستر بر دیابت پرداخت که نتایج نشان داد که مصرف عصاره برگ این گیاه به میزان ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بعد از ۲ ساعت می تواند باعث کاهش گلوکز خون در موش‌های دیابتی شود (۳۳). کیم و همکاران در یک تحقیق به بررسی اثرات تغذیه رژیم غذایی حاوی عصاره گیمنما سیلوستر در موش های C57BL/6 پرداخت که نتایج نشان داد که مصرف عصاره گیمنما سیلوستر به میزان ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۳۰ روز باعث کاهش سطوح سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و گلوکز خون در موش‌های چاق شد. در کل مصرف عصاره گیمنما سیلوستر دارای اثرات ضد میکروبی و ضد کلسترول خون، خواص محافظتی کبد و کاهش گلوکز خون را نشان داد (۲۷). که از دلایل فیزیولوژیکی این نتایج هم سو با نتایج حاضر این است ماده موثر مکمل گیمنما سیلوستر، گیمنمیک اسید است که از دو طریق می تواند باعث کاهش گلوکز خون، انسولین و مقاومت به انسولین شود در حالت اول می تواند باعث کاهش جذب کربوهیدرات از دیواره روده کوچک از طریق مهار آنزیم آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوسیداز شود که در نهایت منجر به دفع گلوکز از طریق روده می‌شود (۲۱). در حالت دوم گیمنمیک اسید می تواند از طریق تحریک سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس پانکراس باعث افزایش ترشح انسولین شود و همچنین با مهار آنزیم پروتئین تیروزین فسفاتاز۱ (PTP-1B) می تواند باعث کاهش مقاومت به انسولین شود (۳۴). با توجه موارد مذکور مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به دلیل ماده موثر آن که گیمنمیک اسید می‌باشد می‌تواند باعث کاهش MDA و افزایش SOD شود که می تواند بیماری دیابت نوع ۲ را کنترل کند پس به دنبال آن می تواند عوارض ناشی از آن را از جمله استرس اکسیداتیو را کنترل کند و در نهایت منجر به کاهش بیان ژن Keap1 و افزایش بیان ژن Nrf2 در بافت کبد موش های مبتلا به دیابت نوع۲ شود که با تحقیق حاضر همخوانی دارد. لذا استفاده هم زمان از برنامه‌های تمرینی هوازی به همراه مصرف مکمل گیمنما سیلوستر به دلیل اثر دهی بیشتر می تواند باعث کاهش بیشتری در متغیرهای وابسته شود که با نتایج تحقیق

حاضر همخوانی دارد. به طور کلی و با توجه به نتایج این پژوهش گویا تمرین هوازی و مصرف مکمل گیمنما سیلوستر می‌تواند باعث بهبود متغیرهای خونی از طریق کاهش MDA و افزایش SOD هم چنین بهبود مسیر سیگنالینگ دخیل در استرس اکسیداتیو بافت کبد از طریق افزایش بیان ژن Nrf2 و کاهش بیان ژن Keap1 در بافت کبد موش‌های مدل دیابت نوع۲ شود. از آنجا که پژوهش حاضر روی نمونه های حیوانی انجام گرفته است، اجرای پژوهش‌های بیشتر برای تعمیم نتایج به آزمودنی های انسانی و جنبه کاربردی نتایج پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

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

حمایت مالی

این پژوهش بدون حمایت مالی انجام گرفت.

مشارکت نویسندگان

این مقاله برگرفته از رساله دکتری دانشجو هست و همه نویسندگان در مراحل پژوهش مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

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

نسخه پیش انتشار

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.

نسخه پیش انتشار