Journal of
Applied Health Studies in Sport Physiology

Azarbaijan Shahid Madani University
EST$_D$: 1988

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir

OPEN ACCESS

Original Article

Interactive effect of endurance exercise and chlorogenic acid supplementation on hepatic gluconeogenesis pathway in obese prediabetic C57BL/6 mice

Milad Abdollahi[1*], Sayyed Mohammad Marandi[1], Zahra Safaeinejad[2], Mohammad Hossein Nasr-Esfahani[2]

Abstract

Background and Objective: Insulin resistance and increased hepatic gluconeogenesis are key features of the prediabetic stage. Chlorogenic acid, a polyphenolic compound, is known for its antidiabetic properties, and endurance exercise is one of the most effective non-pharmacological interventions for improving glucose metabolism. The aim of this study was to investigate the effect of endurance exercise and chlorogenic acid supplementation on hepatic gluconeogenesis in obese prediabetic mice. **Methods:** In this experimental study, 40 mice were fed a high-fat diet for 12 weeks to induce prediabetes. The obese prediabetic male mice were divided into four groups: prediabetic, endurance exercise, chlorogenic acid, and a combination of exercise and supplementation. Endurance training was performed on a treadmill for 10 weeks (5 days a week, with gradual intensity from 60% to 75% VO_2max). Chlorogenic acid supplementation was administered via gavage (100 mg/kg, 0.2 mL, 5 days a week). The criteria for entering the prediabetic phase were based on fasting blood glucose and GTT results. After the intervention, fasting blood glucose, plasma insulin, and glucose tolerance test (GTT) were measured. The expression of key gluconeogenesis genes, including PCK and G6PC2 in the liver, was examined using RT-qPCR. **Results:** The results showed that both endurance exercise and chlorogenic acid supplementation significantly reduced fasting blood glucose (FBS) and plasma insulin ($p<0.001$). The GTT confirmed improved glucose tolerance in the intervention groups. Moreover, endurance exercise increased the expression of PCK and G6PC2 genes, while chlorogenic acid supplementation, especially when combined with exercise, inhibited this increase ($p<0.05$). The increase in gene expression in the exercise group was likely due to exercise-induced stress in insulin-resistant animals, activation of the HPA axis, increased energy demands during exercise, and elevated glucagon-related signaling.**Conclusion:** Based on the findings of this study, the combination of endurance exercise and chlorogenic acid, by improving glucose control and reducing the expression of gluconeogenesis genes, may play a modulatory role in improving hepatic metabolism and preventing the progression of prediabetes to type 2 diabetes.

Keywords: Exercise, Gluconeogenesis, Glucose-6-Phosphatase, Chlorogenic Acid, Prediabetic State

Scan this QR code to see the article at journal page or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of Physical Education and Sport Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

2. Royan Isfahan Biotechnology Research Institute, Isfahan, Iran

***(corresponding author)**
(miladabdollahir75@gmail.com)

In Press

Copyright ©The authors

Journal of
Applied Health Studies in Sport Physiology
Azarbaijan Shahid Madani University
EST$_D$: 1988
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
OPEN ACCESS
Original Article

Extended abstract

Background

The liver plays a pivotal role in maintaining systemic glucose homeostasis through a delicate balance between glycogenolysis, glycogenesis, and gluconeogenesis. In healthy states, hepatic gluconeogenesis (GNG) is tightly regulated by insulin and glucagon. However, in pre-diabetes and obesity, insulin resistance in peripheral tissues and the liver leads to uncontrolled upregulation of GNG, contributing significantly to fasting hyperglycemia and impaired glucose tolerance. The core molecular defect involves the impairment of the insulin-signaling pathway (IRS1–PI3K–AKT), resulting in the failed suppression of the key transcriptional factor FoxO1 and subsequent overexpression of the rate-limiting GNG enzymes, phosphoenolpyruvate carboxykinase (PCK) and glucose-6-phosphatase (G6PC2). This not only increases hepatic glucose production but also exacerbates hyperglycemia and oxidative stress. Therefore, targeting this pathway is a crucial strategy for preventing the progression to type 2 diabetes. Both endurance training (ET) and chlorogenic acid (AC), a bioactive polyphenol from green coffee, have shown independent efficacy in improving insulin sensitivity and modulating GNG. This study aimed to investigate the interactive effects of ET and AC supplementation on the hepatic gluconeogenic pathway in a pre-diabetic obese rat model.

Methodology

In this experimental study, 40 male C57BL/6 mice were fed a high-fat diet for 12 weeks to induce prediabetes and were then randomly assigned to four groups (n = 10 per group): prediabetic control (PreD), prediabetic with endurance exercise (PreD/Ex), prediabetic with chlorogenic acid supplementation (PreD/AC), and prediabetic with combined exercise and chlorogenic acid (PreD/Ex+AC). The endurance training protocol was performed on a motorized treadmill for 10 weeks, 5 days per week, at 60–75% of VO_2max with progressive intensity. Chlorogenic acid was administered by oral gavage at a dose of 100 mg/kg, 5 days per week. Fasting blood glucose, plasma insulin, and glucose tolerance test (GTT) were measured. Hepatic expression of PCK and G6PC2 genes was assessed using real-time quantitative PCR. Data were analyzed using one-way and repeated measures ANOVA with a significance level set at $p < 0.05$.

Experimental design

Following 12 weeks of high-fat diet feeding to induce a prediabetic state, animals were randomly allocated into four experimental groups (n = 10 each): PreD (control), PreD/Ex (endurance training), PreD/AC (chlorogenic acid supplementation), and PreD/Ex+AC (combined intervention). The interventions lasted 10 weeks. The endurance training protocol was conducted on a motorized treadmill five days per week with progressively increasing intensity (60–75% VO_2max). Chlorogenic acid (100 mg/kg) was administered via oral gavage five days per week, and in the combined group, supplementation was given approximately 30 minutes before exercise sessions. At the end of the intervention period, metabolic assessments and tissue sampling were performed for biochemical and gene expression analyses.

Training protocol

The endurance training protocol was performed on a motorized treadmill for 10 consecutive weeks, five days per week. Exercise intensity was progressively increased and maintained between 60% and 75% of VO_2max to ensure a moderate-to-vigorous workload. Each session included a gradual warm-up period followed by the main running phase at the prescribed intensity. The duration and speed were adjusted throughout the intervention to maintain the targeted relative intensity. This progressive design aimed to induce metabolic adaptations associated with improved glucose regulation and insulin sensitivity in prediabetic mice.

Statistical analysis

Data were expressed as mean ± standard deviation (SD). Normality of distribution was assessed prior to analysis. Between-group differences in fasting blood glucose, plasma insulin levels, and gene expression of PCK and G6PC2 were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by appropriate post hoc tests when significant differences were detected. Changes in glucose levels during the glucose tolerance test (GTT) were evaluated using repeated measures ANOVA to examine time, group, and time × group interaction effects, and the area under the curve (AUC) was calculated for further comparison among groups. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Results

The results demonstrated significant improvements in metabolic parameters following the interventions. Fasting blood glucose (FBS) levels were significantly reduced in the endurance training (PreD/Ex), chlorogenic acid supplementation (PreD/AC), and combined intervention (PreD/Ex+AC) groups compared with the prediabetic control group (PreD) ($p < 0.001$). Similarly, plasma insulin concentrations were markedly lower in all intervention groups relative to PreD ($p < 0.001$), indicating improved insulin sensitivity.

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University ISSN (online): 2676-6507

Journal of
Applied Health Studies in Sport Physiology
Azarbaijan Shahid Madani University
EST$_D$: 1988
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
OPEN ACCESS
Original Article

During the glucose tolerance test (GTT), repeated measures ANOVA revealed a significant effect of time and a significant time × group interaction ($p < 0.001$), reflecting improved glucose clearance in the intervention groups. Furthermore, analysis of the area under the curve (AUC) showed significantly lower values in the treated groups compared with PreD, confirming enhanced glucose tolerance, with the combined intervention demonstrating the most pronounced improvement.

Regarding hepatic gene expression, endurance training alone significantly increased the expression of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PCK) and glucose-6-phosphatase catalytic subunit 2 (G6PC2) compared with the PreD group ($p < 0.001$). In contrast, chlorogenic acid supplementation attenuated this upregulation, and the combined intervention group exhibited significantly lower expression levels of both genes compared with the exercise-only group ($p < 0.001$). These findings suggest that while endurance training improves systemic glycemic control, it may simultaneously stimulate gluconeogenic gene expression, whereas chlorogenic acid appears to modulate hepatic glucose production at the molecular level, particularly when combined with exercise.

Conclusion

In conclusion, both endurance training and chlorogenic acid supplementation significantly improved glycemic control in prediabetic mice, as evidenced by reductions in fasting blood glucose, plasma insulin levels, and enhanced glucose tolerance. However, endurance training alone was associated with an upregulation of hepatic gluconeogenic genes (PCK and G6PC2), whereas chlorogenic acid, particularly when combined with exercise, attenuated this effect. These findings suggest that while endurance exercise enhances systemic metabolic function, chlorogenic acid may exert complementary regulatory effects at the molecular level by modulating hepatic glucose production. Therefore, the combined intervention may represent a more effective strategy for improving metabolic health and preventing progression from prediabetes to type 2 diabetes.

Article message

This study demonstrates that endurance training and chlorogenic acid supplementation independently improve glycemic control in a prediabetic model, as evidenced by significant reductions in fasting blood glucose, plasma insulin levels, and improved glucose tolerance test responses. Importantly, the findings reveal a differential molecular response in hepatic gluconeogenic pathways. While endurance training enhanced systemic metabolic outcomes, it was associated with increased expression of key gluconeogenic genes, PCK and G6PC2, suggesting a compensatory hepatic adaptation to exercise. In contrast, chlorogenic acid supplementation attenuated the upregulation of these genes, particularly when combined with exercise, indicating a modulatory effect on hepatic glucose production at the transcriptional level.

Collectively, the results highlight that combining structured endurance exercise with chlorogenic acid may provide complementary metabolic benefits—improving whole-body glucose regulation while simultaneously regulating hepatic gluconeogenesis. This integrative approach could represent a promising non-pharmacological strategy for preventing the progression from prediabetes to type 2 diabetes by targeting both systemic insulin sensitivity and molecular pathways involved in glucose homeostasis.

In Press

Copyright ©The authors **Publisher**: Azarbaijan Shahid Madani University **ISSN** (online): 2676-6507

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

تأثیر تعاملی تمرین استقامتی و مکمل اسید کلروژنیک بر مسیر گلوکونئوژنز کبدی موش‌های چاق پیش دیابتی مدل C57BL/6

میلاد عبداللهی*[۱]، سید محمد مرندی[۲]، زهرا صفائی نژاد[۳]، محمد حسین نصر اصفهانی[۴]

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷

چکیده

زمینه و هدف: مقاومت به انسولین و افزایش گلوکونئوژنز کبدی از ویژگی‌های اصلی مرحله پیش دیابت است. اسید کلروژنیک به‌عنوان ترکیبی پلی‌فنولی باخاصیت ضد دیابتی شناخته شده است و تمرین استقامتی نیز یکی از مؤثرترین مداخلات غیردارویی برای بهبود متابولیسم گلوکز محسوب می‌شود. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل اسید کلروژنیک بر مسیر گلوکونئوژنز کبدی در موش‌های چاق پیش دیابتی بود. **روش پژوهش:** در این مطالعه تجربی، برای القای پیش دیابت، ۴۰ موش نر نژاد C57/BL6 به مدت ۱۲ هفته با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند. موش‌های نر چاق پیش دیابتی به چهار گروه شامل پیش دیابتی، تمرین استقامتی، اسید کلروژنیک و ترکیب تمرین و مکمل تقسیم شدند. تمرین استقامتی روی تردمیل به مدت ۱۰ هفته (۵ روز در هفته و با شدت تدریجی ۶۰ تا ۷۵ درصدVO_2max) انجام شد. مکمل اسید کلروژنیک به‌صورت گاواژ (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، در حجم ۰,۲ میلی لیتر، ۵ روز در هفته) انجام شد. معیار ورود به فاز پیش دیابت بر اساس قند خون ناشتا و نتایج تست تحمل گلوکز تعیین شد. پس از مداخله، قند خون ناشتا، انسولین پلاسما، و آزمون تحمل گلوکز اندازه‌گیری شد. همچنین بیان ژن‌های کلیدی مسیر گلوکونئوژنز شامل PCK و G6PC2 در کبد با استفاده از روش RT-qPCR بررسی گردید. **یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تمرین استقامتی و مصرف اسید کلروژنیک به طور معنی‌داری موجب کاهش FBSو انسولین پلاسما شدند ($p<۰/۰۰۱$) .آزمون GTT نیز بهبود تحمل گلوکز را در گروه‌های مداخله تأیید کرد. علاوه بر این، تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن‌های PCK و G6PC2 گردید، درحالی‌که مصرف اسید کلروژنیک، به‌ویژه در ترکیب با تمرین، این افزایش را مهار نمود ($p<۰/۰۵$). افزایش بیان این ژن‌ها در گروه تمرین احتمالاً ناشی از استرسی بودن تمرین برای حیوانات مقاوم به انسولین، فعال‌شدن محور HPA، افزایش نیاز انرژی حین فعالیت و افزایش سیگنال‌های گلوکاگون محور بوده است. **نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج تحقیق حاضر ترکیب تمرین استقامتی و اسید کلروژنیک با بهبود کنترل گلوکز و کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوژنیک، می‌تواند نقش تعدیل‌کننده‌ای در بهبود متابولیسم کبدی و پیشگیری از پیشرفت پیش دیابت به دیابت نوع ۲ ایفا کند.

واژه‌های کلیدی: ورزش، گلوکونئوژنز، گلوکز-۶-فسفاتاز، اسید کلروژنیک، وضعیت پیش‌دیابتی

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www .jahssp.azaruniv.ac.ir/. مشاهده کنید

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. پژوهشگر زیست شناسی، پژوهشکده زیست فناوری رویان، اصفهان، ایران.
۴. استاد جنین شناسی، پژوهشکده زیست فناوری رویان، اصفهان، ایران.
(نویسنده مسئول):
Miladabdollahir75@gmail.com

In Press

Copyright ©The authors

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

مقدمه

چاقی به‌عنوان یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی قرن حاضر، با افزایش مقاومت به انسولین و تغییرات عمیق در هموستاز انرژی همراه است و خطر پیش‌دیابت و دیابت نوع ۲ را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. یکی از پیامدهای کلیدی چاقی، اختلال در تنظیم تولید گلوکز کبدی است که زمینه بروز هیپرگلیسمی و نارسایی تنظیم گلوکز را فراهم می‌سازد (۱, ۲).

کبد یکی از مهم‌ترین اندام‌های تنظیم‌کننده‌ی هموستاز گلوکز در بدن است و از طریق تعادل میان سه مسیر اصلی گلیکوژنولیز، سنتز گلیکوژن و گلوکونئوژنز سطح گلوکز خون را در محدوده‌ی فیزیولوژیک حفظ می‌کند. در شرایط متابولیکی سالم، گلوکونئوژنز (تولید گلوکز از ترکیبات غیرکربوهیدراتی مانند لاکتات، گلیسرول و اسیدهای آمینه) به‌طور دقیق توسط انسولین و گلوکاگون تنظیم می‌شود. با این حال، در وضعیت پیش‌دیابت و چاقی، مقاومت به انسولین در بافت‌های محیطی و کبد، منجر به افزایش کنترل‌نشده‌ی گلوکونئوژنز شده و به بروز هیپرگلیسمی ناشتا و اختلال در تحمل گلوکز منجر می‌گردد (۳–۵). در شرایط مقاومت به انسولین، سرکوب طبیعی مسیر گلوکونئوژنز کبدی مختل می‌شود. به‌طور معمول، انسولین با فعال‌سازی محور IRS1–PI3K–AKT موجب مهار فاکتور رونویسی FoxO1 و در نتیجه کاهش بیان ژن‌های PCK و G6PC2 (دو آنزیم کلیدی گلوکونئوژنز) می‌گردد. اما در شرایط پیش‌دیابت، این محور سیگنالینگ تضعیف شده و بیان این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت PCK و G6PC2 در کبد نه‌تنها تولید گلوکز را افزایش می‌دهد، بلکه موجب تشدید هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو در سلول‌های کبدی نیز می‌شود. از این رو، مهار یا تعدیل فعالیت این مسیر می‌تواند راهکاری کلیدی برای پیشگیری از پیشرفت اختلالات متابولیکی به دیابت نوع ۲ باشد (۶–۸).

تمرین استقامتی به‌عنوان یک مداخله‌ی غیردارویی مؤثر، نقش مهمی در بهبود حساسیت انسولینی و بازسازی عملکرد متابولیکی کبد دارد. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین منظم با شدت متوسط تا زیاد، از طریق فعال‌سازی AMPK و افزایش فسفریلاسیون AKT، موجب مهار فاکتورهای رونویسی گلوکونئوژنز و کاهش بیان ژن‌های PCK و G6PC2می‌شود. علاوه بر این، تمرین استقامتی باعث افزایش برداشت گلوکز در عضله، بهبود تعادل انرژی سلولی، و کاهش التهاب سیستمیک از طریق مهار TNF-α و IL-6 می‌گردد. بنابراین، تمرین استقامتی نه‌تنها مسیر گلوکونئوژنز را سرکوب می‌کند بلکه از طریق افزایش مصرف گلوکز در بافت‌های محیطی، به تثبیت سطح قند خون کمک می‌نماید (۹, ۱۰).

اسید کلروژنیک[۱] یکی از ترکیبات فعال زیستی موجود در قهوه سبز، به‌عنوان یک پلی‌فنول طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضددیابتی شناخته می‌شود. این ترکیب از طریق مهار G6PC2و تعدیل مسیرهای AMPKو PI3K–AKT قادر است تولید گلوکز در کبد را کاهش دهد. همچنین، اسید کلروژنیک با افزایش حساسیت گیرنده‌های انسولین، مهار تجمع ROS و جلوگیری از فسفریلاسیون مهاری IRS1 در بافت کبد، نقش مهمی در بهبود سیگنالینگ انسولین دارد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مصرف مکمل اسید کلروژنیک می‌تواند با کاهش فعالیت گلوکونئوژنیک و افزایش ذخیره‌ی گلیکوژن، قند خون ناشتا را در مدل‌های حیوانی پیش‌دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش دهد (۱۱–۱۳).

با وجود شواهد مستقل از اثرات مفید تمرین استقامتی و اسید کلروژنیک، بررسی اثر تعاملی این دو مداخله بر مسیر گلوکونئوژنز در شرایط پیش‌دیابت تاکنون محدود بوده است. به نظر می‌رسد ترکیب این دو عامل می‌تواند اثرات هم‌افزایی قابل‌توجهی بر سرکوب مسیرهای گلوکونئوژنز داشته باشد. یعنی تمرین استقامتی عمدتاً از طریق فعال‌سازی AMPK و افزایش برداشت گلوکز محیطی، به‌ویژه در عضله اسکلتی، موجب کاهش بار گلوکز ورودی به کبد می‌شود. در مقابل، اسید کلروژنیک با افزایش حساسیت انسولینی و تقویت مسیر PI3K–AKT در کبد باعث مهار مستقیم فاکتورهای رونویسی گلوکونئوژنز مانند FOXO1 و HNF4α می‌گردد. در شرایط ترکیب دو مداخله، این دو مسیر به‌طور هم‌زمان فعال می‌شوند و اثرات مکمل یکدیگر را تقویت می‌کنند. تمرین استقامتی با افزایش فعالیت AMPK و تحریک اکسیداسیون چربی‌ها، و اسید کلروژنیک با اثرات ضداکسیداتیو و ضدالتهابی، ممکن است به‌طور همزمان مسیر FoxO1–PCK–G6PC2را مهار کرده و موجب کاهش تولید گلوکز در کبد شوند. در نتیجه، تقویت همزمان AMPK (از طریق ورزش) و PI3K–AKT (از طریق AC) باعث مهار قوی‌تر ژن‌های گلوکونئوژنز نسبت به هر مداخله به‌تنهایی می‌شود. این هم‌افزایی می‌تواند مکانیزمی کلیدی در پیشگیری از پیشرفت پیش‌دیابت به دیابت نوع ۲ باشد (۱۴, ۱۵).

براین‌اساس، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تمرین استقامتی و مکمل اسید کلروژنیک بر مسیر گلوکونئوژنز کبدی در موش‌های چاق پیش دیابتی بود. در این مطالعه با استفاده از شاخص‌های متابولیکی و مولکولی شامل FBS، GTT، انسولین پلاسما و بیان ژن‌های PCK و G6PC2 تلاش شد تا سازوکار دقیق این دو مداخله در مهار گلوکونئوژنز و بهبود حساسیت انسولینی شناسایی گردد. باتوجه‌به شواهد موجود، در این پژوهش فرض بر آن است که ترکیب تمرین استقامتی و اسید کلروژنیک می‌تواند اثری فراتر از یک اثر تجمعی ساده[۲]بر مهار مسیر گلوکونئوژنز داشته باشد و احتمال یک تعامل هم‌افزایانه[۳]میان دو مداخله مطرح است. در این چارچوب، تمرین ممکن است از طریق فعال‌سازی مسیرهای وابسته به AMPK و افزایش حساسیت انسولینی، و اسید کلروژنیک نیز از طریق مهار مستقیم آنزیم‌های کلیدی گلوکونئوژنز از جمله PCK و G6PC2 عمل کند؛ بنابراین در این مطالعه تلاش شد تا تفاوت میان اثرات جداگانه و اثر ترکیبی تمرین و مکمل به طور قابل‌آزمون بررسی شود تا مشخص گردد آیا تعامل این دو مداخله به‌صورت تجمعی عمل می‌کند یا دارای ماهیتی هم‌افزایانه در مهار گلوکونئوژنز و بهبود کنترل قند خون است.

روش پژوهش

[۱] Chlorogenic Acid
[۲] additive
[۳] synergistic

In Press

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

حیوانات و طراحی آزمایش

در این پژوهش از ۴۰ سر موش نر نژاد C57/BL6 (۴ هفته‌ای، با وزن اولیه ۱۲ تا ۱۷ گرم) استفاده شد. این نژاد به‌دلیل حساسیت بالای آن به رژیم پرچرب، القای چاقی و پیش‌دیابت انتخاب شد. حجم نمونه بر اساس آزمون توان آماری[۱] و با استفاده از نرم‌افزار G*Power نسخه ۳,۱ تعیین شد. با توجه به مطالعات مشابه، اندازه اثر متوسط (۰/۴۰)، سطح خطای ۰/۰۵ و توان آماری ۰/۸۰ در نظر گرفته شد. بر این اساس، حداقل تعداد مورد نیاز برای هر گروه ۸ حیوان محاسبه شد؛ با این حال، برای افزایش توان مطالعه و احتمال حذف احتمالی حیوانات، ۱۰ موش برای هر گروه انتخاب گردید حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی شامل دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۶۰ درصد و چرخه‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. تمامی فرایند پژوهش زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه اصفهان (IR.UI.REC.1398.065) انجام شد. برای القای وضعیت پیش‌دیابت، موش‌ها به‌مدت دوازده هفته با رژیم پرچرب (۴۵ درصد چربی، ۲۰ درصد پروتئین و ۳۵ درصد کربوهیدرات) تغذیه شدند (۱۶). پس از اطمینان از ایجاد پیش‌دیابت با اندازه‌گیری قند خون ناشتا و آزمون تحمل گلوکز، حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه ده‌تایی تقسیم شدند: گروه اول: گروه کنترل (PreD)، بدون مداخله؛ گروه دوم: گروه تمرین استقامتی(PreD/Ex) ؛ گروه سوم: گروه مکمل اسید کلروژنیک(PreD/AC) ؛ گروه چهارم: گروه ترکیبی تمرین استقامتی و مکمل اسید کلروژنیک.(PreD/Ex+AC)

معیارهای پیش دیابت شامل FBS در محدوده ۱۱۰–۱۲۵ میلی گرم بر دسی لیتر و سطح گلوکز GTT بالاتر از ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر در دقیقه ۱۲۰ بود. تنها حیواناتی که هر دو معیار را داشتند وارد مطالعه شدند.

معیارهای خروج شامل بروز بیماری‌های غیرمرتبط بامطالعه، عدم تحمل نوار گردان در هفته‌های ابتدایی تمرین، عدم‌پذیرش مکمل و بروز مشکلات رفتاری یا فیزیولوژیکی غیرطبیعی بود.

پروتکل تمرین استقامتی

پروتکل تمرین استقامتی به‌مدت ۱۰ هفته، پنج روز در هفته، بر روی نوارگردان حیوانات انجام شد. شدت تمرین در طول دوره به‌تدریج از ۶۰ درصد VO_2max در هفته‌های اولیه به ۷۵ درصد VO_2max در هفته‌های پایانی افزایش یافت. جهت تعیین شدت تمرین، VO_2max حیوانات با استفاده از آزمون افزایش تدریجی سرعت[۲]سنجیده شد و درصدهای شدت بر اساس سرعت متناظر با VO_2max تعیین گردید. آزمون VO_2max هر دو هفته یک بار برای به‌روزرسانی شدت تمرین تکرار شد. شیب نوارگردان در طول تمامی تمرینات برابر ۰ درصد بود. سرعت دویدن در ابتدای برنامه ۱۰ متر بر دقیقه بود و به‌تدریج تا ۲۴ متر بر دقیقه در پایان دوره افزایش یافت. سرعت تردمیل در پایان هفته دوم، ۱۴ متر در دقیقه، در پایان هفته چهارم، ۱۸ متر در دقیقه، در پایان هفته ششم، ۲۰ متر در دقیقه و تا هفته پایانی ۲۴ متر در دقیقه بود. هر جلسه تمرینی شامل ۵ دقیقه گرم‌کردن، ۴۵ تا ۵۰ دقیقه فعالیت اصلی و ۵ دقیقه سردکردن با سرعت پایین بود. این پروتکل با هدف تحریک مسیرهای متابولیکی وابسته به انسولین و ارزیابی اثرات آن بر مسیر گلوکونئوژنز طراحی شد (۱۷, ۱۸).

مکمل اسید کلروژنیک

مکمل اسید کلروژنیک با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به‌صورت محلول در آب مقطر استریل تهیه و ۵ روز در هفته به‌صورت گاواژ در حجم ثابت ۰/۲ میلی لیتر تجویز شد. برای کنترل اثر گاواژ، تمام گروه‌ها (شامل کنترل و تمرین) حجم مشابهی از آب مقطر استریل دریافت کردند. مکمل از نوع استاندارد با خلوص بیش از ٪۹۸ (شرکت زیست‌تخمیر، ایران) بود. در گروه ترکیبی، مکمل حدود ۳۰ دقیقه پیش از شروع تمرینات استقامتی تجویز شد تا زمان‌بندی جذب و دسترسی زیستی با پروتکل تمرین هماهنگ شود.(۱۹, ۲۰).

نمونه‌گیری

در پایان هفتهٔ دهم، پس از ۶ ساعت ناشتایی، حیوانات با تزریق ترکیب کتامین (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و خون‌گیری از قلب انجام شد. سپس حیوانات قربانی شده و نمونه‌های بافت کبد سریعاً جدا گردید. نمونه‌های سرم برای آزمون‌های بیوشیمیایی و نمونه‌های بافتی برای بررسی بیان ژن در دمای ۸۰ -درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی

قند خون ناشتا از خون مویرگی دم با استفاده از گلوکومتر دستی (Accu-Chek) اندازه‌گیری شد. دستگاه و نوارهای آن طبق دستور سازنده کالیبره شده و کنترل کیفیت با نمونه‌های کنترلی انجام گردید. برای هر حیوان، FBSپس از ۶ ساعت ناشتایی با نمونه‌گیری از دم و اندازه‌گیری مستقیم خون مویرگی ثبت شد (۲۱).

آزمون تحمل گلوکز (GTT) با تزریق داخل صفاقی گلوکز به مقدار ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن انجام شد. قبل از تزریق و در زمان‌های ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق، نمونه‌های خون مویرگی از دم گرفته و قند خون اندازه‌گیری شد. برای دقت بیشتر، هر نقطه از GTT دو بار اندازه‌گیری و میانگین گزارش شد.

اندازه‌گیری انسولین سرمی: خون وریدی انتهایی در لوله‌های بدون ضدانعقاد جمع‌آوری شد، سپس در ۳۰۰۰ g×به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ °Cسانتریفیوژ گردید تا سرم جدا شود. سرم‌ها در دمای ۸۰− °Cتا زمان آنالیز نگهداری شدند. سطح انسولین با کیت ELISA موسوم به) ZellBio GmbH اندازه‌گیری شد. کنترل کیفیت آزمون ELISA و نمونه‌گیری: تمامی نمونه‌ها به‌صورت دوتایی[۳] تحلیل شدند. برای هر پلاک، منحنی استاندارد با حداقل هفت رقت استاندارد رسم و کارایی (R^2) گزارش گردید. جهت ارزیابی تکرارپذیری، ضریب تغییرات

[۱] Power analysis
[۲] graded treadmill test
[۳] duplicate

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University ISSN (online): 2676-6507

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

درون آزمایشی از کنترل‌های کیفی و نمونه‌های تکراری محاسبه و گزارش شده است.

پروتکل بیهوشی و تزریق‌ها: برای نمونه‌گیری انتهایی و قربانی‌سازی از ترکیب کتامین (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلوزین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد که به‌صورت تزریق داخل صفاقی (i.p.) انجام گردید. حجم تزریق مجموعه داروها بر اساس وزن هر حیوان محاسبه شد و معمولاً در محدوده ۰/۱–۰/۲ mL/10 g وزن بدن تنظیم شد. برای تزریق گلوکز در GTT نیز راه تزریق داخل صفاقی استفاده شد؛ محلول گلوکز (محلول ۲۰٪ w/v یا مطابق دستور) در حجم مناسب محاسبه و تزریق گردید.

بررسی بیان ژن‌ها

برای استخراج RNA از بافت کبد از کیت TRIzol (DB9683-50 ml) استفاده شد و کیفیت و کمیت RNA با نانودراپ ND-1000 سنجیده شد. نسبت A260/A280در همه نمونه‌ها در محدوده ۱/۸–۲ و نسبت A260/A230 بالاتر از ۰/۲ بود که نشان‌دهنده‌ی خلوص مناسب RNA است. سنتز cDNA با کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit انجام شد. توالی پرایمرهایPCK ، G6PC2و β-actin توسط BLAST تأیید شده و واکنش Real-Time PCRبا دستگاه StepOnePlus در حجم ۲۰ µL انجام گردید. چرخه PCR شامل ۴۰ سیکل ۹۵ °Cبرای ۱۵ ثانیه و ۶۰ °Cبرای ۶۰ ثانیه همراه با منحنی ذوب برای تأیید اختصاصیت تکثیر بود. کارایی تکثیر هر ژن با منحنی رقت سریالی اندازه‌گیری شد .(Efficiency 90–110%) تمامی واکنش‌ها به‌صورت سه‌تایی[۱] و با تکرار تکنیکی اجرا شدند و میانگین Ct برای تحلیل ΔΔCt استفاده شد. ضریب تغییرات بین تکرارهای تکنیکی کمتر از ۳٪ بود. تمامی نمونه‌ها پیش از تحلیل کدگذاری شدند و فرد تحلیل‌گر از گروه‌بندی حیوانات اطلاعی نداشت .برای کنترل اثر استرس گاواژ، تمامی گروه‌ها حجم معادل آب مقطر استریل دریافت کردند و برای کاهش استرس ناشی از تمرین، حیوانات طی ۵ روز پیش از شروع پروتکل با نوارگردان تطبیق داده شدند.

تحلیل آماری

داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه‌وتحلیل شدند. برای بررسی پیش‌فرض‌های آزمون آنالیز واریانس، نرمالیتی داده‌ها با آزمون شاپیرو–ویلک و همگنی واریانس‌ها با لوین بررسی گردید. برای متغیرهایی که پیش‌فرض‌ها برقرار بودند، از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. آزمون تحمل گلوکز به دلیل ماهیت تکراری داده‌ها با Repeated Measures ANOVA تحلیل شد. سطح زیر منحنی (AUC) با ANOVA مقایسه شد. برای کنترل اثر وزن اولیه حیوانات، از ANCOVA با وزن اولیه به‌عنوان کوواریت استفاده گردید و نتایج بر اساس میانگین‌های تعدیل‌شده گزارش شد.

یافته‌ها

قند خون ناشتا

نتایج نشان داد که سطح قند خون ناشتا در گروه پیش دیابتی (PreD) به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود .تمرین استقامتی (PreD/Ex) و مصرف مکمل اسید کلروژنیک (PreD/AC) هر دو موجب کاهش قابل‌توجه سطح FBSنسبت به گروه پیش دیابتی شدند. همچنین، ترکیب تمرین استقامتی و مصرف مکمل اسید کلروژنیک (PreD/AC.Ex) نیز کاهش مشابهی در سطح FBSایجاد کرد $p<۰/۰۰۱$.

انسولین پلاسما

سطح انسولین پلاسما در گروه پیش دیابتی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. تمرین استقامتی موجب کاهش معنی‌دار سطح انسولین نسبت به گروه پیش دیابتی شد. مصرف اسید کلروژنیک نیز کاهش معنی‌دار انسولین نسبت به گروه پیش دیابتی به همراه داشت. گروه ترکیبی (تمرین+مکمل) کاهش بیشتری نسبت به گروه پیش دیابتی نشان داد ($p<۰/۰۰۱$).

آزمون تحمل گلوکز

در آزمون تحمل گلوکز، در ابتدای مداخله، گروه پیش دیابتی افزایش واضحی در سطح گلوکز خون پس از دریافت گلوکز نشان داد که به‌تدریج کاهش یافت. پس از دوره مداخله، هر سه گروه مداخله (تمرین، مکمل، و ترکیب آن‌ها) بهبود معنی‌داری در تحمل گلوکز نسبت به قبل از مداخله نشان دادند، به‌طوری‌که سطح گلوکز در زمان‌های ۳۰ تا ۹۰ دقیقه سریع‌تر به سطح پایه بازگشت. تحلیل مساحت زیر منحنی (AUC) نشان داد که گروه تمرین استقامتی کمترین AUC را داشت و بهبود تحمل گلوکز در این گروه بیش از گروه مکمل بود ($p<۰/۰۵$). همچنین گروه ترکیبی کاهش معنی‌داری در AUC نسبت به گروه پیش دیابتی داشت، اما تفاوت آن با گروه تمرین تنها از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p<۰/۰۵$). تحلیل Repeated-measures ANOVA نیز اثر معنی‌دار زمان × گروه را تأیید کرد ($p<۰/۰۰۱$).که نشان‌دهنده بهبود الگوی کاهش گلوکز در گروه‌های مداخله است.

نتایج بیان ژن‌های مرتبط با مسیر گلوکونئوژنز

بیان ژنPCK

نتایج بررسی بیان ژن PCK در بافت کبد نشان داد که تمرین استقامتی در گروه PreD/Ex موجب افزایش معنی‌دار بیان این ژن نسبت به گروه پیش دیابتی شد ($p<۰/۰۰۱$). مصرف اسید کلروژنیک در گروه PreD/CA موجب کاهش بیان PCK نسبت به گروه تمرین شد، اگرچه میزان کاهش در مقایسه با گروه کنترل کامل نبود. در گروه ترکیبی تمرین و مکمل (PreD/CA.Ex)، بیان PCK در پایین‌ترین سطح میان گروه‌های مداخله قرار گرفت. این الگو

[۱] triplicate

In Press

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

نشان می‌دهد که مصرف اسید کلروژنیک می‌تواند افزایش ناشی از تمرین را تا حدودی مهار کند و موجب بازگشت نسبی بیان ژن به سمت محدودهٔ طبیعی‌تر گردد. این یافته‌ها به طور توصیفی بیانگر آن است که ترکیب تمرین با مکمل، روند تغییرات PCK را بیشتر از هر یک از مداخلات به‌تنهایی به سمت مهار مسیر گلوکونئوژنز هدایت می‌کند؛ هرچند تفسیر ماهیت دقیق اثرات تعاملی نیازمند تحلیل‌های آماری مختص آزمون تعامل است

بیان ژن G6PC2

الگوی تغییر بیان ژن G6PC2 نیز مشابه ژن PCK بود، به‌طوری‌که تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار بیان آن نسبت به گروه پیش دیابتی شد ($p<۰/۰۰۱$). مصرف اسید کلروژنیک به‌تنهایی سطح بیان G6PC2 را کاهش داد و در گروه ترکیبی تمرین و مکمل (PreD/AC.Ex) پایین‌ترین میزان بیان مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه تمرین). این نتایج نشان می‌دهد که مکمل اسید کلروژنیک در حضور تمرین می‌تواند افزایش ناشی از تمرین را تعدیل کند و سطح بیان G6PC2 را به محدوده پایین‌تری نسبت به تمرین تنها برساند، بدون آنکه ادعایی درباره تعامل آماری میان دو مداخله مطرح شود.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تمرین استقامتی و مصرف مکمل اسید کلروژنیک بر مسیر گلوکونئوژنز کبدی در موش‌های چاق پیش دیابتی بود. در این مطالعه، علاوه بر ارزیابی تغییرات در شاخص‌های متابولیکی مانند قند خون ناشتا، انسولین پلاسما و آزمون تحمل گلوکز(GTT)، تغییرات در بیان ژن‌های کلیدی گلوکونئوژنز (PCKو G6PC2) در کبد نیز بررسی شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که تمرین استقامتی و مصرف اسید کلروژنیک به طور معنی‌داری موجب کاهش قند خون ناشتا و انسولین پلاسما شدند ($p<0.001$)، همچنین در آزمون GTT بهبود قابل‌توجهی در تحمل گلوکز مشاهده گردید. در گروه تمرین استقامتی، افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های PCK و G6PC2 در کبد مشاهده شد که این تغییرات با بهبود شاخص‌های متابولیکی همراه بود. در گروه‌های دریافت‌کننده اسید کلروژنیک، به‌ویژه در ترکیب با تمرین، کاهش معنی‌دار این ژن‌ها ثبت شد که نشان‌دهنده تأثیر ترکیبی این دو مداخله در کاهش تولید گلوکز کبدی و بهبود کنترل گلیسمی است .مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که تمرین استقامتی با افزایش برداشت گلوکز در عضلات اسکلتی و تعدیل تولید گلوکز در کبد، نقش تعیین‌کننده‌ای در بهبود کنترل قند خون دارد. این اثر در بسیاری از گزارش‌ها از طریق فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با AMPK وAKT ، بهبود حساسیت به انسولین و مهار آنزیم‌های کلیدی گلوکونئوژنز تبیین شده است (۷, ۸). از سوی دیگر، ترکیبات پلی‌فنولی نظیر اسید کلروژنیک به‌عنوان مهارکننده‌های طبیعی مسیر گلوکونئوژنز شناخته می‌شوند و با کاهش فعالیت یا بیان آنزیم‌هایی نظیر PCK و G6PC2 سبب کاهش تولید گلوکز در کبد می‌گردند (۱۰, ۱۷). باوجود این، بسیاری از مطالعات گذشته صرفاً به تغییرات قند خون و انسولین بسنده کرده و کمتر به بررسی هم‌زمان شاخص‌های عملکردی و مولکولی در مسیر گلوکونئوژنز پرداخته‌اند.

وجه تمایز پژوهش حاضر در این است که اثر ترکیبی تمرین استقامتی و مکمل اسید کلروژنیک بر شاخص‌های متابولیک و بیان ژن‌های مرتبط با گلوکونئوژنز کبدی (PCK) و (G6PC2 در مدل حیوانی پیش دیابت بررسی شده است. در این مطالعه، علاوه بر ارزیابی بیان ژن‌ها، شاخص‌های عملکردی نظیرFBS ، GTTو سطح انسولین پلاسما نیز اندازه‌گیری شدند که امکان تفسیر هم‌زمان پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مولکولی را فراهم می‌آورد. همچنین، دوز و خلوص مکمل به‌صورت دقیق (100 mg/kg) با ۹۸٪ خلوص (تعیین شد و شدت تمرین بر اساس درصد واقعی VO_2max کنترل گردید که این امر پژوهش حاضر را از نظر طراحی تجربی در سطح قابل‌قبولی نسبت به بسیاری از مطالعات مشابه قرار می‌دهد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در گروه تمرین استقامتیِ تنها، بیان ژن‌های PCKو G6PC2 در بافت کبد نسبت به گروه پیش دیابتی کنترل افزایش معنی‌دار داشت، درحالی‌که به طور هم‌زمان قند خون ناشتا، سطح انسولین و منحنی آزمون تحمل گلوکز بهبود یافتند. این ناهمخوانی ظاهری با انتظار متداول مبنی بر مهار گلوکونئوژنز توسط تمرین، چند تفسیر ممکن را مطرح می‌کند: افزایش بیان ژن‌های گلوکونئوژنزی (مانند PCK و ژن‌های خانواده گلوکز-۶-فسفاتاز) پس از تمرین استقامتی، اگرچه در نگاه نخست با انتظار رایج مبنی بر مهار گلوکونئوژنز در اثر تمرین منافات دارد، اما در ادبیات فیزیولوژی ورزش به‌عنوان یک پاسخ قابل‌توضیح و وابسته به شرایط متابولیکی زمینه‌ای، وضعیت گلیکوژن کبدی، شدت،حجم تمرین و پاسخ‌های هورمونی ضدتنظیمی گزارش شده است. در طی فعالیت بدنی، به‌ویژه هنگام کاهش ذخایر گلیکوژن کبدی و افزایش دسترسی پیش‌سازهای گلوکونئوژنزی، تولید گلوکز کبدی افزایش می‌یابد و سهم گلوکونئوژنز در تأمین گلوکز خون در تمرینات طولانی یا زمانی که گلیکوژن افت می‌کند پررنگ‌تر می‌شود؛ این افزایش می‌تواند با بالا رفتن بیان mRNA آنزیم‌های کلیدی گلوکونئوژنز همراه باشد. افزون بر این، تمرین (به‌ویژه در حیوانات مقاوم به انسولین یا حیوانات کم‌تحمل به تردمیل) می‌تواند یک «استرس فیزیولوژیک» محسوب شود و از طریق افزایش هورمون‌های ضدتنظیمی مانند گلوکاگون، اپی‌نفرین/نوراپی‌نفرین و گلوکوکورتیکوئیدها مسیرهای رونویسی (مانند محورهای وابسته بهCREB/PGC-1α) را به سمت تقویت برنامه ژنی گلوکونئوژنز سوق دهد؛ پاسخ‌های کاتکولامینی و استرسی در تمرین حاد و حتی پاسخ‌های anticipatory قبل از تمرین نیز گزارش شده‌اند. از منظر سازگاری‌های تمرینی نیز شواهد نشان می‌دهد که در برخی شرایط، «حیوانات تمرین‌دیده» می‌توانند ظرفیت گلوکونئوژنز کبدی بالاتری در مواجهه با

In Press

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

سوبسترا و یا تحریک هورمونی نشان دهند؛ بنابراین افزایش بیان ژن لزوماً به‌معنای بدتر شدن کنترل قند خون در حالت استراحت نیست، بلکه می‌تواند بخشی از سازگاری برای حفظ گلوکز خون در چالش‌های فعالیت باشد. نکته مهم دیگر این است که بهبود شاخص‌های عملکردی (کاهشFBS ، کاهش انسولین و بهبودGTT) در گروه تمرین می‌تواند عمدتاً از مسیرهای محیطی (افزایش برداشت گلوکز عضله و بهبود حساسیت انسولینی سیستمیک) رخ دهد، در حالی‌که افزایش mRNA ژن‌های گلوکونئوژنزی ممکن است بازتابی از «نیاز انرژی حین تمرین، کاهش گلیکوژن، و تنظیمات زمانی پس از تمرین» باشد؛ به‌علاوه، سطح mRNA الزاماً با فعالیت آنزیمی واقعی گلوکونئوژنز برابر نیست و تنظیم پس‌ترجمه‌ای، دسترسی سوبسترا و وضعیت هورمونی تعیین‌کننده‌اند. بر همین اساس، الگوی مشاهده‌شده در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از ترکیبِ (۱) استرس‌پاسخ تمرین در حیوانات مقاوم به انسولین، (۲) تحریک هورمون‌های ضدتنظیمی و (۳) سازگاری‌های کبدی برای پشتیبانی از تقاضای انرژی در فعالیت باشد؛ در مقابل، اسید کلروژنیک احتمالاً با تعدیل مسیرهای التهابی اکسیداتیو و تقویت حساسیت انسولینی، این برنامه ژنی را به سمت مهار برگردانده و افزایش ناشی از تمرین را در گروه ترکیبی تعدیل کرده است (۲۲–۲۵).

در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ اسید کلروژنیک، به‌ویژه در ترکیب با تمرین، کاهش معنی‌دار بیان ژن‌های PCK و G6PC2 مشاهده شد که این یافته با گزارش‌هایی هم‌راستا است که نشان داده‌اند اسید کلروژنیک می‌تواند از طریق تعدیل مسیرهای مرتبط با AMPK و کاهش بیان ژن‌های گلوکونئوژنزی، تولید گلوکز کبدی را محدود سازد. در سطح مولکولی و بر اساس ادبیات موجود، اسید کلروژنیک قادر است با مهار نسبی مسیرNF-κB ، کاهش التهاب و کاهش فسفریلاسیون سرینیIRS1 ، حساسیت به انسولین را بهبود بخشد و در نهایت سیگنالینگ مسیر IRS1–PI3K–AKT را تقویت کند. این تغییرات می‌توانند به مهار فاکتورهای رونویسی گلوکونئوژنیک و کاهش بیان PCK و G6PC2 منجر شوند. علاوه بر این، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسید کلروژنیک از طریق کاهش ROS و محافظت از عملکرد میتوکندری ممکن است نقش حمایتی در تنظیم انرژی سلولی و متابولیسم گلوکز داشته باشد (۱۰, ۲۰, ۲۱). بااین‌حال، باید تأکید کرد که این مسیرهای سیگنالینگ در مطالعهٔ حاضر به طور مستقیم اندازه‌گیری نشده‌اند و صرفاً به‌عنوان یک چارچوب تبیینی مبتنی بر مطالعات قبلی مطرح می‌شوند.

کاهش معنی‌دار قند خون ناشتا، بهبود منحنی آزمون تحمل گلوکز و کاهش انسولین سرمی در گروه‌های مداخله‌ای، به‌ویژه گروه ترکیبی، بیانگر بهبود عملکرد متابولیکی است. اگرچه کاهش بیان ژن‌های PCK و G6PC2 در گروه‌های دریافت‌کنندهٔ اسید کلروژنیک با این بهبود هم‌راستا است، اما یافته‌های مربوط به افزایش بیان این ژن‌ها در گروه تمرینِ تنها نشان می‌دهد که رابطهٔ بین تنظیم گلوکونئوژنز و کنترل گلیسمی پیچیده‌تر از آن است که صرفاً بر اساس بیان دو ژن قضاوت شود؛ بنابراین، نتایج حاضر بیشتر بر نقش ترکیب تمرین استقامتی با اسید کلروژنیک در تعدیل هم‌زمان شاخص‌های عملکردی و مولکولی تأکید دارد تا اثر تمرین به‌تنهایی بر مهار گلوکونئوژنز.

مطالعهٔ حاضر دارای چند محدودیت است که باید در تفسیر نتایج موردتوجه قرار گیرد: اول، سطح پروتئینی و فعالیت آنزیمی PCK و G6PC2 و نیز شاخص‌های کلیدی مسیرهای سیگنالینگ (مانند فسفریلاسیونAKT ، سطح یا فعالیت NF-κBوAMPK) اندازه‌گیری نشدند؛ دوم، نرخ گلوکونئوژنز به‌صورت مستقیم (برای مثال با استفاده از روش‌های ردیاب ایزوتوپی) ارزیابی نگردید و استنباط ما از تغییرات در تولید گلوکز کبدی عمدتاً مبتنی بر بیان ژن و شاخص‌های متابولیک است. این محدودیت‌ها ضرورت انجام مطالعات آینده با طراحی فاکتوریل، اندازه نمونهٔ بزرگ‌تر و اندازه‌گیری هم‌زمان شاخص‌های مولکولی، پروتئینی و فلوی متابولیک را برجسته می‌سازد.

باوجود این محدودیت‌ها، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که تمرین استقامتی منظم همراه با مصرف اسید کلروژنیک می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد غیردارویی و زیست‌پایه برای بهبود کنترل گلیسمی در شرایط پیش دیابت مطرح شود و احتمالاً در پیشگیری از پیشرفت به دیابت نوع ۲ نقش داشته باشد، هرچند تأیید مکانیسم‌های دقیق این اثرات نیازمند مطالعات بیشتر است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که مداخله‌های مبتنی بر فعالیت بدنی و ترکیبات زیست فعال می‌توانند مسیرهای متفاوت اما هم‌جهتی را در بهبود وضعیت متابولیک موجودات پیش دیابتی هدف قرار دهند. هرچند تمرین استقامتی به‌تنهایی الگوی پیچیده‌ای از پاسخ‌های مولکولی را در کبد ایجاد کرد، اما زمانی که در کنار اسید کلروژنیک قرار گرفت، مجموع اثرات آن‌ها در شاخص‌های گلیسمی به شکل بارزتری بروز یافت. این امر بیانگر آن است که تنظیم متابولیسم گلوکز صرفاً حاصل تغییر در بیان یک یا چند ژن خاص نیست، بلکه نتیجه تعامل شبکه‌ای از سازوکارهای فیزیولوژیک، تنظیمات پس ترجمه‌ای، پاسخ‌های سلولی به استرس و سازگاری‌های انرژی محور است. مکمل اسید کلروژنیک با ایجاد تغییرات مطلوب در بیان ژن و تعدیل شرایط التهابی، بستر مناسبی را برای اثرگذاری بهتر تمرین فراهم کرد و نشان داد که رویکردهای ترکیبی می‌توانند در شرایط پیش دیابت کاراتر باشند. باتوجه‌به محدودیت‌های موجود، از جمله نبود داده‌های پروتئینی و سنجش مستقیم نرخ گلوکونئوژنز، نتایج حاضر بیش از آن که مدعی ارائه یک مکانیسم قطعی باشد، اهمیت مطالعه رویکردهای چندگانه در مدیریت اختلالات متابولیک را برجسته می‌کند. در مجموع، این پژوهش تأکید می‌کند که بهره‌گیری هم‌زمان از مداخلات رفتاری و ترکیبات طبیعی می‌تواند زمینه امیدبخشی برای پیشگیری یا کندسازی روند پیشرفت پیش دیابت فراهم آورد و مسیر را برای مطالعات دقیق‌تر و کاربردی‌تر در آینده هموار سازد.

تشکر و قدردانی

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University ISSN (online): 2676-6507

از دانشگاه اصفهان و مجله مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش دانشگاه شهید مدنی آذربایجان برای کمک به نشر علم، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

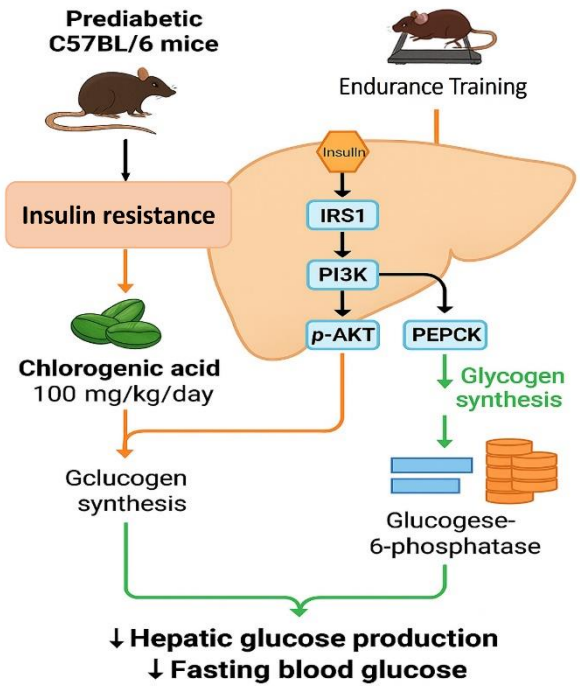
نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

منابع

1. Allocca S, Monda A, Messina A, Casillo M, Sapuppo W, Monda V, et al., editors. Endocrine and Metabolic Mechanisms Linking Obesity to Type 2 Diabetes: Implications for Targeted Therapy. Healthcare; 2025: MDPI.
2. Ruze R, Liu T, Zou X, Song J, Chen Y, Xu R, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. Frontiers in endocrinology. 2023;14:1161521.
3. Nogueira-Ferreira R, Oliveira PF, Ferreira R. Liver metabolism: the pathways underlying glucose utilization and production. Glycolysis: Elsevier; 2024. p. 141-56.
4. Guerra S, Gastaldelli A. The role of the liver in the modulation of glucose and insulin in non alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes. Current opinion in pharmacology. 2020;55:165-74.
5. Bkaily G, Jazzar A, Abou-Aichi A, Jacques D. Pathophysiology of prediabetes hyperinsulinemia and insulin resistance in the cardiovascular system. Biomedicines. 2025;13(8):1842.
6. Amer HM, Mohamed SA, Elshafeey F, Elhalawany SH. Health implications of prediabetes and the role of trace elements in insulin resistance. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 2025;11(1):59.
7. Dimitriadis G. Achievements in the Pathophysiology and Treatment of Insulin Resistance: Every Step Matters. MDPI; 2025. p. 1223.
8. Lee JI, Lee HM, Park JH, Lee YG. Improvement of Glucose Metabolism by Pennogenin 3-O-β-Chacotrioside via Activation of IRS/PI3K/Akt Signaling and Mitochondrial Respiration in Insulin-Resistant Hepatocytes. Molecular Nutrition & Food Research. 2025;69(9):e70010.
9. Zhao X, Huang F, Sun Y, Li L. Mechanisms of endurance and resistance exercise in type 2 diabetes mellitus: A Narrative review. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2025:151731.
10. Małkowska P. Positive effects of physical activity on insulin signaling. Current Issues in Molecular Biology. 2024;46(6):5467-87.
11. Li Z, Niu L, Chen Y, Qiu X, Du T, Zhu M, et al. Recent advance in the biological activity of chlorogenic acid and its application in food industry. International Journal of Food Science and Technology. 2023;58(10):4931-47.
12. Nguyen V, Taine EG, Meng D, Cui T, Tan W. Chlorogenic acid: A systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials. Nutrients. 2024;16(7):924.
13. Singh SK, Thakur K, Sharma V, Saini M, Sharma D, Vishwas S, et al. Exploring the multifaceted potential of chlorogenic acid: Journey from nutraceutical to nanomedicine. South African Journal of Botany. 2023;159:658-77.
14. Hughey CC, Bracy DP, Rome FI, Goelzer M, Donahue EP, Viollet B, et al. Exercise training adaptations in liver glycogen and glycerolipids require hepatic AMP-activated protein kinase in mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2024;326(1):E14-E28.
15. Collet T-H, Dibner C. Time to exercise! Boosting exercise performance via AMPK signaling. Cell Metabolism. 2025;37(6):1250-1.
16. Bagnol D, Al-Shamma HA, Behan D, Whelan K, Grottick AJ. Diet-induced models of obesity (DIO) in rodents. Current Protocols in Neuroscience. 2012;59(1):9.38. 1-9.. 13.
17. Shirkhani S, Marandi SM, Abdollahi M, Janghorban F, Ghavi Z, Safayinejad Z, Nasr-Esfahani MH. The effect of endurance training on lipid metabolism in liver of prediabetic mice. Journal of Applied Exercise Physiology. 2022;18(35):45-61.
18. Jamshidi N, Abedi B, Morady M, Malekipooya M. Changes in the expression of UCP1 and Irisin genes in adipose tissue of obese male rats following endurance exercise, electrical stimulation with caloric restriction. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2025;12(2):102-13.
19. Shirkhani S, Marandi SM, Abdollahi M, Safaeinejad Z, Jangharbani F, Qavi Z, Nasr-Esfahani MH. The Effect of Aerobic Exercise and Green Coffee on Liver Lipid Metabolism in Obese C57BL/6 Mice. Sport Physiology. 2024;16(63):17-29.
20. He X, Zheng S, Sheng Y, Miao T, Xu J, Xu W, et al. Chlorogenic acid ameliorates obesity by preventing energy balance shift in high-fat diet induced obese mice. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021;101(2):631-7.
21. Small L, Ehrlich A, Iversen J, Ashcroft SP, Trošt K, Moritz T, et al. Comparative analysis of oral and intraperitoneal glucose tolerance tests in mice. Molecular metabolism. 2022;57:101440.
22. Zhang X, Yang S, Chen J, Su Z. Unraveling the regulation of hepatic gluconeogenesis. Frontiers in endocrinology. 2019;9:802.

Copyright ©The authors

Figure 1 - Graphical representation of the abstract



23. Sumida KD, Lordan VM, Donovan CM. Enhanced glucose production in norepinephrine and palmitate stimulated hepatocytes following endurance training. Frontiers in Physiology. 2024;15:1514082.
24. Banzet S, Koulmann N, Simler N, Sanchez H, Chapot R, Serrurier B, et al. Control of gluconeogenic genes during intense/prolonged exercise: hormone-independent effect of muscle-derived IL-6 on hepatic tissue and PEPCK mRNA. Journal of applied physiology. 2009;107(6):1830-9.
25. Trefts E, Williams AS, Wasserman DH. Exercise and the regulation of hepatic metabolism. Progress in molecular biology and translational science. 2015;135:203-25.

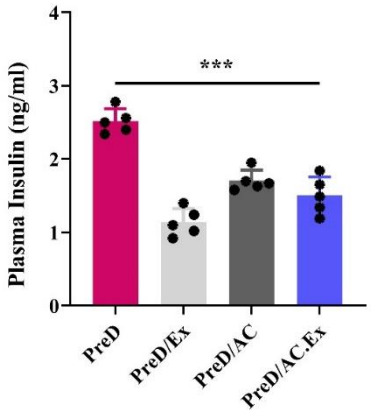
شکل ۱- شکل گرافیکی چکیده

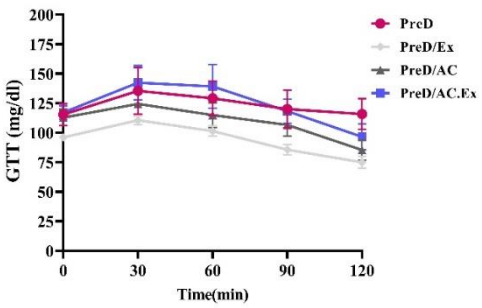
شکل ۲-شکل روش اجرای کار

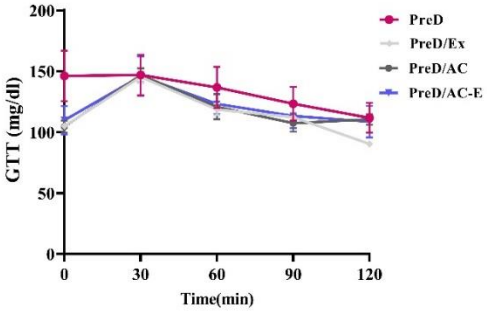
Figure 2- Diagram of the method of execution of the work

In Press

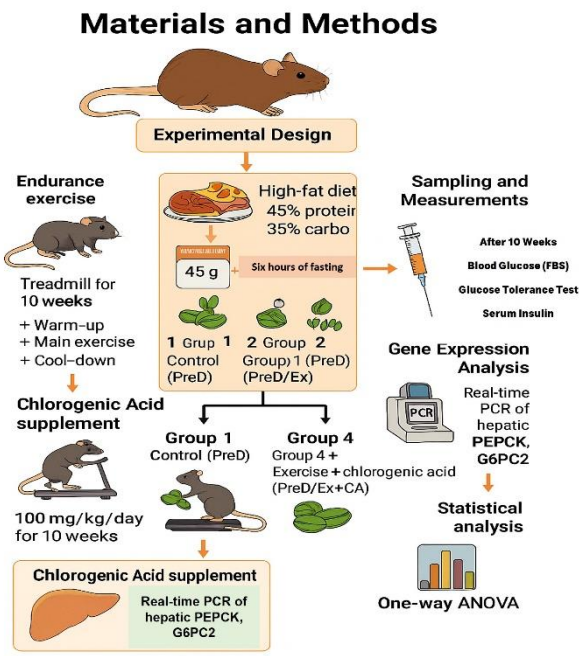
مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS





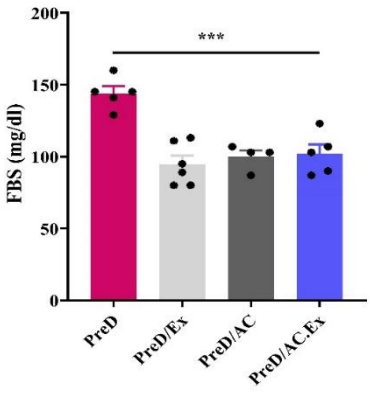


شکل ۳. الف: مقایسه سطح قند خون ناشتا (FBS) بین گروه‌های پیش‌دیابتی (PreD)، تمرین استقامتی (PreD/Ex)، اسید کلروژنیک (PreD/AC)، و ترکیب تمرین و مکمل (PreD/AC. x). علامت *** نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($p<0.001$) نسبت به گروه PreD است. ب: مقایسه سطح انسولین پلاسما بین گروه‌های مختلف. مشاهده می‌شود که تمرین استقامتی بیشترین کاهش را در سطح انسولین ایجاد کرده است (***$p<0.001$ در مقایسه با گروه PreD). ج: منحنی تغییرات گلوکز خون در آزمون تحمل گلوکز (GTT) قبل از مداخله در گروه‌های مختلف. گروه پیش‌دیابتی دارای سطح گلوکز بالاتر و کاهش کندتر نسبت به سایر گروه‌ها است. د: منحنی تغییرات گلوکز خون در آزمون تحمل گلوکز



شکل ۳-نمودار تغیرات قند خون ناشتا، تست تحمل گلوکز، انسولین پلاسما

Figure 3- Graph of changes in fasting blood sugar, glucose tolerance test, plasma insulin



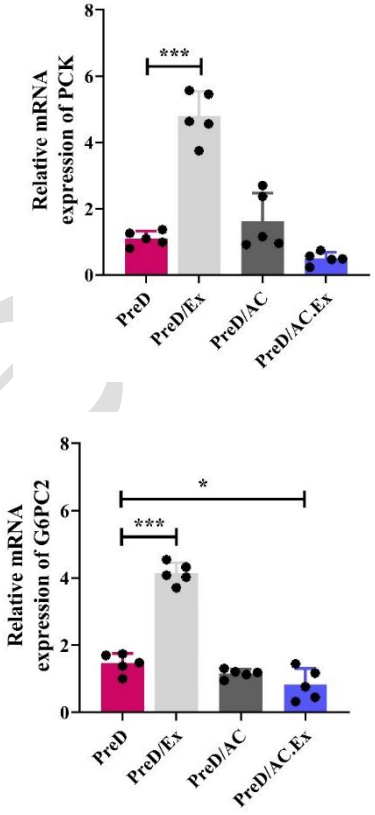
Copyright ©The authors

مطالعات کاربردی
تندرستی در فیزیولوژی ورزش
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان
تأسیس: ۱۳۶۷
JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir
مقاله پژوهشی
OPEN ACCESS

(GTT) پس از مداخله. مشاهده می‌شود که مداخلات تمرین استقامتی و مصرف اسید کلروژنیک باعث بهبود پاسخ گلوکز و کاهش سریع‌تر سطح گلوکز پس از بار گلوکز شدند.

شکل ۴- نمودار تغییرات بیان ژن

Figure 4- Graph of gene expression changes



شکل ۴ .الف: بیان نسبی mRNA ژن PCKدر کبد موش‌های پیش‌دیابتی در گروه‌های مختلف. تمرین استقامتی باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن PCK شد، در حالی‌که مصرف مکمل اسید کلروژنیک به‌ویژه در ترکیب با تمرین موجب کاهش بیان آن گردید(***p<0.001) . **ب:** بیان نسبی mRNA ژن G6PC2در گروه‌های مختلف. تمرین استقامتی بیان ژن را به‌طور معنی‌داری افزایش داد، اما مکمل اسید کلروژنیک، به‌ویژه در ترکیب با تمرین، منجر به کاهش قابل توجه بیان G6PC2 شد (***p<0.001، *p<0.05).

جدول۱-مقادیر آماری متغیرهای اندازه گیری شده

Table 1-Statistical values of measured variables

متغیر Variable	گروه Group	میانگین mean	انحراف معیار Std. Deviation	خطای استاندارد میانگین Std. Error of Mean	آزمون آماره F
قند خون ناشتا Fasting blood sugar	پیش دیابت Prediabetes	144	11.09	4.96	16.05
	تمرین Exercise	94.67	14.60	5.95	16.05
	اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	100	8.86	4.43	16.05
	تمرین + اسید کلروژنیک Exercise + Chlorogenic Acid	102	14.46	6.46	16.05
انسولین پلاسما Plasma insulin	پیش دیابت Prediabetes	2.51	0.17	0.07	42.49
	تمرین Exercise	1.13	0.18	0.07	42.49
	اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	1.7	0.14	0.06	42.49
	تمرین + اسید کلروژنیک Exercise + Chlorogenic Acid	1.5	0.25	0.11	42.49
فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز PCK	پیش دیابت Prediabetes	1.1	0.22	0.09	54.13
	تمرین Exercise	4.79	0.74	0.33	54.13
	اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	1.61	0.84	0.37	54.13
	تمرین + اسید کلروژنیک Exercise + Chlorogenic Acid	0.49	0.18	0.08	54.13
گلوکز ۶ فسفاتاز G6PC2	پیش دیابت Prediabetes	1.45	0.29	0.13	106.8
	تمرین Exercise	4.13	0.31	0.14	106.8
	اسید کلروژنیک Chlorogenic acid	1.15	0.13	0.05	106.8
	تمرین + اسید کلروژنیک Exercise + Chlorogenic Acid	0.82	0.47	0.21	106.8

In Press