Original Article

The effect of 8 weeks of consumption of cinnamon hydroalcoholic extract and aerobic exercise on the levels of SPARC, AMPK and GLUT4 in soleus muscle of type 2 diabetic rats

Abbasi-Moghadam M[1], Valipour-Dehnou V[2*], Molanouri-Shamsi M[3]

1- PhD Candidate in Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, I.R. Iran.
2- Department of Sport Sciences, Faculty of Literature and Human Sciences, Lorestan University, Khorramabad, I.R. Iran.
3- Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2022/09/19 | Accepted: 2022/12/5

Abstract:

Background: Considering the hypoglycemic role of cysteine-rich acidic secreted protein (SPARC) and its effect on AMPK phosphorylation and GLUT4 expression, the present study aimed to investigate the effect of aerobic exercise with cinnamon extract supplementation on SPARC, AMPK and GLUT4 levels in type 2 diabetic rats.
Materials and Methods: 35 eight-week-old male Wistar rats were randomly and equally divided into five groups: control (C), diabetes (D), diabetes-supplement (DS), diabetes-exercise (DE), and diabetes-exercise-supplement (DES). The training program was performed 5 sessions per week for 8 weeks. Rats in DS and DES groups received 200 mg/kg of CE daily by gavage, and rats in C and DE groups received water during this period.
Results: Blood glucose was decreased in the DS, DE, and DES groups. SPARC, AMPK, and GLUT4 protein levels and weight significantly reduced in the D group. Also, GLUT4 levels in the DS group increased significantly. However, the SPARC, AMPK, and GLUT4 protein levels were significantly increased in both the DE and DES groups.
Conclusion: CE only increases GLUT4 but exercise increases the SPARC, AMPK, and GLUT4 in diabetic rats. However, exercise with CE have significantly greater effects on the SPARC, AMPK, and GLUT4 in diabetic rats and can be very useful in the treatment of hyperglycemia in diabetic patients.

Keywords: Aerobic exercise, Cinnamon extract, SPARC, AMPK, GLUT4, Type 2 diabetes

***Corresponding Author**
Email: valipour.v@lu.ac.ir
Tel: 0098 916 669 1874
Fax: 0098 663 312 0086

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, January, 2023; Vol. 27, No 6, Pages 657-665

Please cite this article as: Abbasi-Moghadam M, Valipour-Dehnou V, Molanouri-Shamsi M. The effect of 8 weeks of consumption of cinnamon hydroalcoholic extract and aerobic exercise on the levels of SPARC, AMPK and GLUT4 in soleus muscle of type 2 diabetic rats. ***Feyz*** 2023; 27(6): 660-8.

اثر ۸ هفته مصرف عصاره هیدروالکلی دارچین و تمرین هوازی بر سطوح SPARC، AMPK و GLUT4 عضله نعلی موش‌های دارای دیابت نوع ۲

مهدی عباسی‌مقدم[۱]، وحید ولی‌پور ده‌نو[۲*]، مهدیه ملانوری شمسی[۳]

خلاصه:

سابقه و هدف: با توجه به نقش هیپوگلیسمی پروتئین ترشح اسیدی و غنی از سیستئن (SPARC) و تأثیر آن بر فسفوریلاسیون AMPK و بیان GLUT4، هدف پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تمرین هوازی همراه با مکمل عصاره دارچین بر سطوح SPARC، AMPK و GLUT4 در موش‌های دارای دیابت نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها: ۳۵ موش صحرایی نر هشت‌هفته‌ای ویستار به‌طور تصادفی و مساوی به پنج گروه کنترل (C)، دیابت (D)، دیابت - مکمل (DS)، دیابت - ورزش (DE) و دیابت - مکمل ورزش (DES) تقسیم شدند. برنامه تمرینی ۵ جلسه در هفته به‌مدت ۸ هفته انجام شد. موش‌های گروه‌های DS و DES روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم CE از طریق گاواژ و موش‌های گروه‌های C و DE در این مدت آب دریافت کردند.

نتایج: گلوکز خون در گروه‌های DS، DE و DES کاهش یافت. وزن و سطوح پروتئین SPARC، AMPK و GLUT4 در گروه D به‌طور معناداری کاهش یافت. همچنین، سطح GLUT4 در گروه DS به‌طور معناداری افزایش یافت. با این‌حال، سطح پروتئین SPARC، AMPK و GLUT4 در هر دو گروه DE و DES به‌طور معناداری افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: CE، فقط GLUT4 و ورزش، SPARC، AMPK و GLUT4 را در موش‌های دیابتی افزایش می‌دهند. با این‌حال، ورزش با CE اثرات معناداری بر SPARC، AMPK و GLUT4 در موش‌های دیابتی دارند و می‌توانند در درمان هیپرگلیسمی در بیماران دیابتی بسیار مفید باشند.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، عصاره دارچین، AMPK، GLUT4، SPARK، دیابت نوع ۲

دوماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۶، بهمن - اسفند ۱۴۰۱، صفحات ۶۶۵-۶۵۷

مقدمه

طی سه دهه گذشته، جهان شاهد افزایش سریع شیوع دیابت نوع ۲ ((Diabetes type 2 (T2D)) بوده است و انتظار می‌رود تا سال ۲۰۴۵، تعداد بیماران دیابتی به ۶۲۹ میلیون نفر برسد [۱]. T2D با مقاومت به انسولین ((Insulin resistance (IR)) و هیپرگلیسمی در بافت‌های محیطی و کبد مشخص می‌شود [۳،۲]. عضلات اسکلتی بزرگ‌ترین بافت بدن انسان را تشکیل می‌دهند (تقریباً ۴۰ درصد از کلّ توده بدن) و حدود ۸۰ درصد از مصرف گلوکز به آن‌ها اختصاص دارد [۴]. عضله اسکلتی به‌عنوان یک ارگان ترشحی شناخته شده است که انقباض آن انواع سایتوکاین‌ها و پپتیدها را تولید و آزاد می‌کند که در مجموع «مایوکاین» نامیده می‌شوند. مایوکاین‌ها اثرات اندوکرین، اتوکرین و پاراکرین دارند؛ بنابراین نقش عضلات در تنظیم فرآیندهای متابولیکی از طریق مایوکاین‌ها بسیار مهم به‌نظر می‌رسد [۵]. پروتئین ترشح اسیدی و غنی از سیستئین (Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC)) یا استئونکتین، یک پروتئین چندعملکردی ماتریکس خارج سلولی است که چندین عملکرد بین سلول‌ها و ماتریکس خارج سلولی را تعدیل می‌کند و در پاسخ به ورزش و انقباض از عضله اسکلتی آزاد می‌شود [۶]. اخیراً SPARC به‌عنوان یک بازیگر اصلی در آسیب‌شناسی بیماری‌های متابولیکی و T2D مطرح شده است [۷]. Aoi و همکاران در بررسی ارتباط بین SPARC و هیپرگلیسمی نشان دادند که کاهش بیان SPARC از طریق اختلال در پیام‌رسانی AMPK (AMP-activated protein kinase-Glucose transporter type 4) به هیپرگلیسمی عضلانی در بیماران T2D منجر می‌شود و یک ارتباط بالقوه بین SPARC و پاتوژنز T2D وجود دارد [۶]. راجع به رابطه بین SPARC و AMPK، Song و همکاران نشان دادند که با کاهش بیان SPARC در موش‌های دیابتی، فسفوریلاسیون AMPK و پروتئین کیناز B در عضله اسکلتی کاهش می‌یابد و متابولیسم گلوگز دچار اختلال می‌گردد [۸]. علاوه‌براین، Songsorn و همکاران به این

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳. دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**

خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، گروه علوم ورزشی

تلفن: ۰۹۱۶۶۶۹۱۸۷۴ **دورنویس:** ۰۶۶۳۳۱۲۰۰۸۶

پست الکترونیک: valipour.v@lu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۶/۲۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۴۰۱/۹/۱۴

نتیجه رسیدند که افزایش بیان SPARC در عضله اسکلتی به افزایش بیان GLUT4 به‌واسطه AMPK منجر می‌شود و این افزایش می‌تواند در تنظیم متابولیسم گلوکز نقشی اساسی داشته باشد. این نتایج و سایر گزارش‌ها SPARC را به یک مولکول احتمالی جذاب برای دستکاری دارویی یا ژنتیکی تبدیل می‌کنند [۹]. مطالعات متعدد نشان داده است که تنظیم SPARC و جذب گلوکز در عضله اسکلتی با انواع تمرینات ورزشی بهبود می‌یابد، هرچند باتوجه به نوع، مدت و شدت تمرینات، نتایج متناقضی وجود دارد [۶-۱۰]. نتایج مطالعات نشان داده است که پیروی طولانی‌مدت از فعالیت بدنی در افراد مبتلا به T2D دشوار است [۱۲،۱۱]. بنابراین، شناسایی روش‌هایی که اثرگذاری ورزش را بیشتر کند، یک چالش اساسی برای افزایش مزایای سلامت در افراد مبتلا به T2D است. اخیراً، علاقه زیادی به درمان‌های ترکیبی در معالجه بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های پاتوفیزیولوژی چندعاملی وجود دارد [۱۳]. به‌طورکلی، باتوجه به خطر و عوارض جانبی عمده درمان‌های دارویی فعلی [۱۴]، فعالیت بدنی و مکمل‌های طبیعی به نظر یک استراتژی مؤثر در درمان و کاهش عوارض جانبی مرتبط با T2D می‌باشد [۱۵،۱۴]. متأسفانه، مطالعات اندکی نشان‌دهنده اثرات مکمل‌ها / مواد مغذی در رهاسازی مایوکاین‌های ناشی از ورزش است [۱۶]. به‌عنوان نمونه، Antosiewicz و همکاران نشان دادند که آزادسازی (Interleukin 1 (IL1)) از عضله اسکلتی در افرادی که همراه با تمرین، مکمل ویتامین C و E مصرف کردند، مهار می‌شود [۱۷]. همچنین، باتوجه به نقص پیام‌رسانی انسولین در T2D، تمرکز بر ترکیبات و مکمل‌های جدیدی که تنظیم GLUT4، AMPK و جذب گلوکز عضله اسکلتی را از طریق سازوکارهای مستقل از انسولین افزایش دهند، یکی از مهم‌ترین اهداف درمانی در مطالعات مربوط به T2D و سندروم متابولیک می‌باشند [۱۸]. دارچین با نام علمی *Cinnamomum zelanicum* یک درخت کوچک و گیاه دارویی قدیمی است که بومی سریلانکا و جنوب هند است و پوست درختچه آن به‌عنوان ادویه به‌کار می‌رود. از ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده پوست دارچین می‌توان به سینامون آلدهید، سافرول، کادینن، تانن‌ها و فنول‌ها اشاره نمود [۱۹]. فعالیت‌های ضدالتهابی و اثرات آنتی‌اکسیدانی دارچین در بسیاری از مطالعات مشخص شده است [۲۱،۲۰]. همچنین، Shen و همکاران نشان دادند که عصاره دارچین به‌واسطه فسفوریلاسیون AMPK موجب تنظیم بالای ناقل GLUT4 و جابه‌جایی آن در بافت‌های عضلانی و چربی می‌شود [۲۲]. هرچند براساس نوع عصاره دارچین، مدت‌زمان مداخله، نوع نمونه و دوز مصرفی نتایج متناقضی وجود دارد [۲۳،۲۰]. مطالعه حاضر، باتوجه به ناهمسو بودن پیشینه پژوهش‌ها راجع به تأثیر انواع عصاره دارچین بر سطوح AMPK و GLUT4 و نتایج متناقض و محدود تأثیر فعالیت‌های هوازی بر سطوح SPARC عضله اسکلتی و قند خون سیستمیک موش‌های T2D؛ همچنین، محدودیت پیشینه پژوهش در زمینه تأثیر عصاره دارچین و اثر ترکیبی آن با ورزش بر سطوح SPARC عضله نعلی موش‌های T2D، در جهت پاسخگویی به این سؤال که آیا تمرین هوازی با شدت متوسط و عصاره هیدروالکلی دارچین تأثیری بر شاخص‌های بالا دارد، طراحی شده است. فرض این است که اضافه‌کردن عصاره دارچین به‌عنوان یک مکمل تغذیه‌ای در کنار تمرین هوازی می‌تواند موجب تنظیم مثبت SPARC و در نتیجه افزایش AMPK و GLUT4 و بهبود سطح قند خون در موش‌های T2D شود.

مواد و روش‌ها

روش مطالعه حاضر از نوع تجربی است و توسط کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کردستان تأیید شده است. تمامی آزمایش‌ها در مطالعه حاضر از اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته اخلاق حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کردستان (شماره مرجع: IR. MUK.REC, 1398-5008) پیروی کردند. در این پژوهش، ۳۵ سر موش نر ویستار ۸ هفته‌ای (۲۵۰-۲۰۰ گرم) از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی لرستان به‌طور تصادفی خریداری شدند. تمامی موش‌ها در یک محیط عاری از عوامل بیماری‌زا مخصوص حیوانات با چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی ۱۹:۰۰ - ۷:۰۰ - تاریکی ۷:۰۰ - ۱۹:۰۰) با دمای محیطی ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه‌تایی در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف نگهداری شدند. در طول مطالعه حیوانات به آب و غذایی فشرده ویژه موش دسترسی آزاد داشتند. موش‌ها بعد از ۷ روز سازگاری با محیط جدید، القای دیابت و سازگاری با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان، به‌روش تصادفی و براساس وزن به پنج گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند: کنترل (Control: C)، دیابت (Diabetes: D)، دیابت و مکمل (Diabetes and Supplement: DS)، دیابت و تمرین هوازی (Diabetes and Aerobic Exercise: DE) و دیابت، تمرین هوازی و مکمل (Diabetes, Aerobic Exercise and Supplement: DES) تقسیم شدند.

القاء دیابت نوع ۲

در این روش موش‌ها با استفاده از داروی نیکوتین‌آمید و استرپتوزوتوسین (STZ) دیابتی شدند [۲۴]. ابتدا نیکوتین‌آمید (که ۹۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در محلول سالین حل شد) به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه، ۵۵ میلی‌گرم

بر کیلوگرم STZ که در محلول بافر سیترات ۰/۱ مولار با PH برابر ۴/۵ حل شده بود، به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد. برای تشخیص دیابتی‌بودن موش‌ها، ۵ روز پس از تزریق با ایجاد جراحت کوچک به‌وسیله لانست در دُم حیوان یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفت و مقدار قند خون اندازه‌گیری شد و قند خون بین ۴۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابتی‌شدن آن‌ها بود [۲۵].

پروتکل تمرینی

همه موش‌ها به‌مدت یک هفته با شیب صفر و سرعت ۵ متر در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه در روز جهت سازگاری روی تردمیل دویدند. سپس برنامه تمرینی هوازی ۸هفته‌ای به‌صورت پیشرونده آغاز شد. این برنامه ورزشی براساس مطالعه Chae و همکاران (۲۰۰۹) و از شدت تمرینی متوسطی برخوردار بود [۲۶]. گروه‌های تمرینی برای ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ۸ هفته با تردمیل تمرین انجام دادند. سرعت و مدت تمرین بر روی نوارگردان به‌تدریج افزایش می‌یافت و شیب نوارگردان در طول تمرین صفر بود. پروتکل تمرینی به‌شرح جدول شماره ۱ بود. جهت رسیدن سازگاری‌های به‌دست‌آمده به حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته هشتم) ثابت نگه داشته شد.

جدول شماره ۱- مدت تمرین (دقیقه) - سرعت نوارگردان (متر بر دقیقه)

	هفته اوّل	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم
سرعت	۱۰	۱۰	۱۴-۱۵	۱۴-۱۵	۱۷-۱۸	۱۷-۱۸	۲۰	۲۰
مدت	۱۰	۱۰	۲۰	۳۰	۳۰	۴۰	۴۰	۵۰

روش تهیه عصاره هیدروالکلی دارچین

بعد از تهیه گیاه دارچین از عطاری معتبر و تأیید آن توسط کارشناسان آزمایشگاه، عصاره دارچین در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی لرستان استخراج گردید. ابتدا چوب گیاه دارچین با استفاده از دستگاه آسیاب پودر شد و در ۲۰ سی‌سی الکل‌اتیلیک طبی ۹۶ درصد حل گردید. سپس مخلوط به‌دست‌آمده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد و در ادامه ترکیب حاصل با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی به‌مدت ۴ دقیقه کاملاً مخلوط و بر روی یک کاغذ واتمن که وزن اوّلیه آن یادداشت شد، صاف گردید. کاغذ و پودر باقیمانده بر روی آن در دستگاه آون با حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸۰ دقیقه خشک شد و با اختلاف وزن پودر خشک باقیمانده بر روی کاغذ صافی و مقدار اوّلیه دارچین، میزان پودر حل‌شده مشخص گردید. عصاره استخراج‌شده به این روش حاوی مقدار زیادی الکل (۲۰ میلی‌لیتر) بود. جهت حذف الکل، عصاره به‌مدت ۴۸ ساعت در محیط عاری از آلودگی قرار گرفت تا الکل اضافی تبخیر گردید. سپس عصاره تهیه‌شده جهت مصرف موش‌ها در محلول کربوکسی متیل سلولز ۵ درصد حل گردید [۲۸،۲۷]. موش‌ها در گروه دیابت و مکمل و گروه دیابت، تمرین هوازی و مکمل به‌مدت ۸ هفته روزانه ۲۰۰ mg/kg مکمل دارچین را به‌صورت گاواژ دریافت کردند و موش‌های گروه دیابت و تمرین هوازی و کنترل در این مدت دارونما (آب) دریافت کردند [۲۷].

آماده‌سازی بافت و تعیین فعالیت AMPK، GLUT4 و SPARC در عضله نعلی

تمامی موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با تزریق درون‌صفاقی کتامین (۶۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم / کیلوگرم) بیهوش شدند. خون‌گیری از سیاهرگ باب انجام و بلافاصله در لوله هپارینیزه تخلیه شد. سپس همراه با متخصصان جراحی، عضله نعلی موش‌ها نیز با استفاده از تیغ جراحی برداشته و شستشو داده شد و حدود ۵۰ میلی‌گرم از بافت عضله هر نمونه مخلوط در ماده آنتی‌پروتئاز با سرعت ۶۰۰۰ دور به‌مدت ۳ دقیقه هموژن گردید (دستگاه هموژنایزر ساخت شرکت دولف آلمان). سپس نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم به‌دست‌آمده به‌مدت ۳۰ ثانیه در مایع نیتروژن فریز شد. سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در مطالعه حاضر، مقادیر پروتئین‌های AMPK، GLUT4 و SPARC به‌وسیله کیت‌های الایزا (AMPK: حساسیت: ۰/۰۵۱ نانوگرم / میلی‌لیتر، دامنه تشخیص: ۳-۰/۱ نانوگرم / میلی‌لیتر، MyBiosource؛ GLUT4: حساسیت: ۰/۰۳۹ نانوگرم / میلی‌لیتر، دامنه تشخیص: ۱۰-۰/۱۵۶ نانوگرم / میلی‌لیتر، Cusabio؛ SPARC: حساسیت: ۳۱/۲۵ پیکوگرم / میلی‌لیتر، دامنه تشخیص: ۲۰۰۰-۳۱/۲۵ پیکوگرم / میلی‌لیتر، LsBio) براساس دستورالعمل شرکت مربوط اندازه‌گیری شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

نتایج آزمون شاپیرو - ویلک نشان داد که داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند. بنابراین برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و همچنین، از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه‌های چندگانه بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معناداری نیز $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۴ انجام شد.

نتایج

وزن

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد (P=۰/۰۰۰۵). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه C و گروه‌های DE (P=۰/۰۰۰۵)، DS (P=۰/۰۰۰۵)، D (P=۰/۰۰۰۵) و DES (P=۰/۰۰۰۵)، بین گروه‌های DE و DES (P=۰/۰۰۲)، بین گروه‌های DS و D (P=۰/۰۰۰۵) و بین گروه‌های D و DES (P=۰/۰۰۰۵) تفاوت معناداری وجود دارد (جدول شماره ۲).

گلوکز

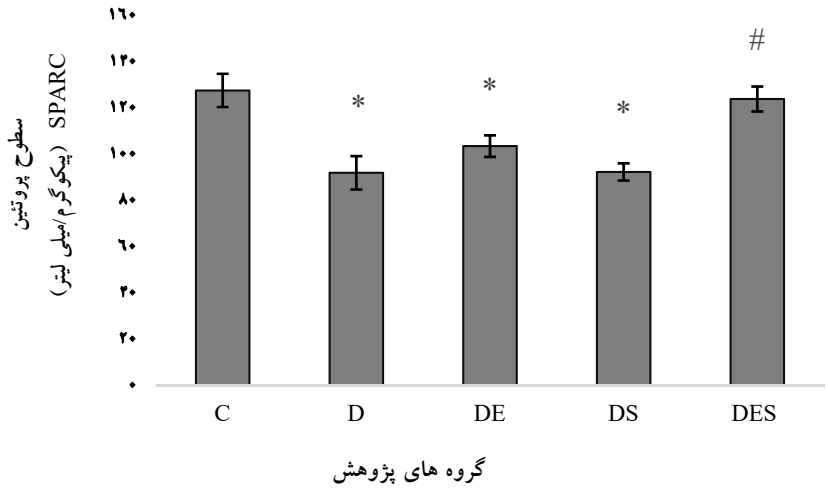
نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد (P=۰/۰۰۰۵). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه C و گروه‌های DE (P=۰/۰۰۰۵)، DS (P=۰/۰۰۰۵)، D (P=۰/۰۰۰۵) و DES (P=۰/۰۰۰۵)، گروه‌های DE و D (P=۰/۰۰۱)، گروه‌های DS و D (P=۰/۰۰۵) و گروه‌های D و DES (P=۰/۰۰۰۵) اختلاف معناداری وجود دارد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- سطوح گلوکز خون و وزن ($\bar{X} \pm SD$)

گروه	وزن (g)	گلوکز (mg/dl)
C	۲۷۳ ± ۳/۲۲	۸۱/۳۳ ± ۵/۴۳
DE	۲۳۲/۵ ± ۵/۲۴	۲۸۲/۳۳ ± ۵۳/۴۴
DS	۲۴۰/۶۷ ± ۶/۱۵	۲۹۷/۵ ± ۴۹/۹۲
D	۲۲۶/۱۷ ± ۵/۷۱	۳۹۱/۱۷ ± ۴۳/۵۷
DES	۲۴۴/۶۷ ± ۳/۲۷	۲۲۹/۳۳ ± ۳۴/۰۵

SPARC

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد (P=۰/۰۰۰۵). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه C و گروه‌های DE (P=۰/۰۰۰۵)، DS (P=۰/۰۰۰۵) و D (P=۰/۰۰۰۵)، گروه DE و گروه‌های DS (P=۰/۰۲۱)، D (P=۰/۰۱۶) و DES (P=۰/۰۰۰۵)، گروه‌های DS و DES (P=۰/۰۰۵) و گروه‌های D و DES (P=۰/۰۰۰۵) اختلاف معناداری وجود دارد (نمودار شماره ۱).

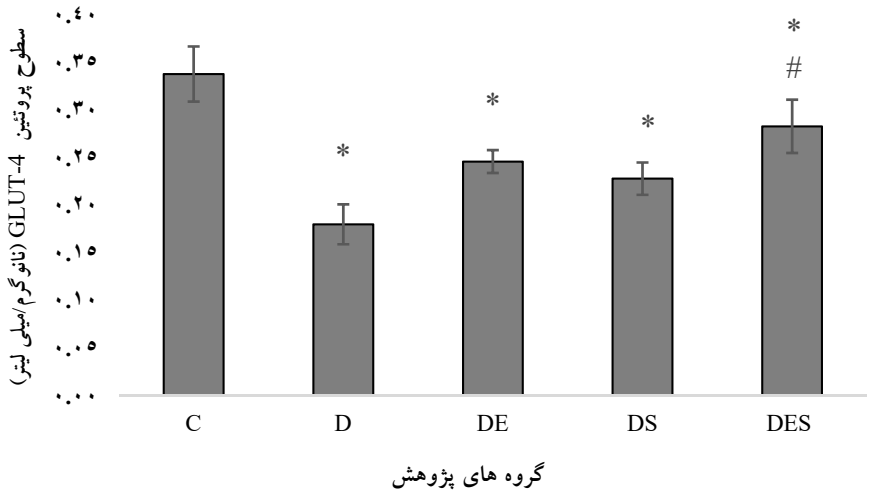


نمودار شماره ۱- مقادیر پروتئین SPARC در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنادار با گروه C، ≠ اختلاف معنادار با گروه D

GLUT4

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد (P=۰/۰۰۰۵). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه C و گروه‌های DE (P=۰/۰۰۰۵)، DS (P=۰/۰۰۰۵)، D (P=۰/۰۰۰۵) و DES (P=۰/۰۰۷)، گروه DE و گروه‌های D (P=۰/۰۰۰۵) و DES (P=۰/۰۳)، گروه DS و گروه‌های D (P=۰/۰۰۹) و DES (P=۰/۰۰۱) و گروه‌های D و DES (P=۰/۰۰۰۵) اختلاف معناداری وجود دارد (نمودار شماره ۲).

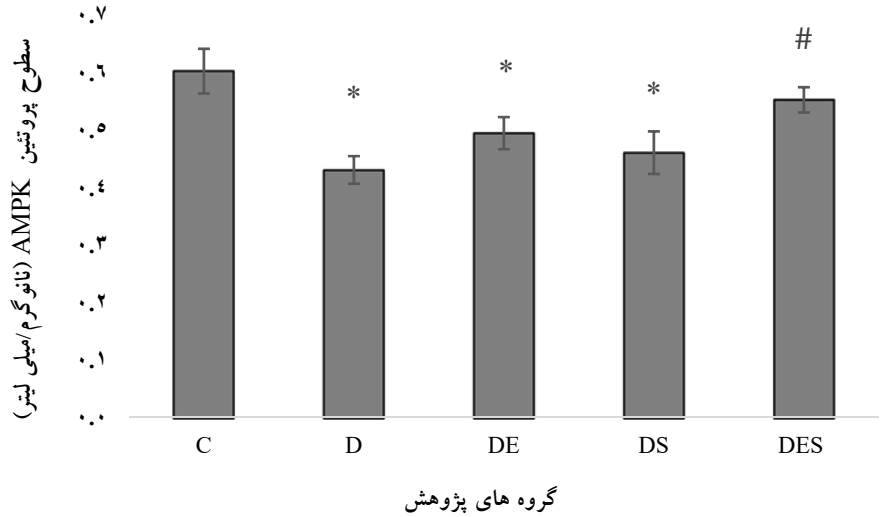


نمودار شماره ۲- مقادیر پروتئین GLUT-4 در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنادار با گروه C، ≠ اختلاف معنادار با گروه D

AMPK

نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معناداری بین گروه‌ها وجود دارد (*P*=۰/۰۰۰۵). همچنین، نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که بین گروه C و گروه‌های DE (*P*=۰/۰۰۰۵)، DS (*P*=۰/۰۰۰۵) و D (*P*=۰/۰۰۰۵)، گروه DE و گروه‌های D (*P*=۰/۰۱۳) و DES (*P*=۰/۰۲۵)، گروه‌های DS و DES (*P*=۰/۰۰۰۵) و گروه‌های D و DES (*P*=۰/۰۰۰۵) اختلاف معناداری وجود دارد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳- مقادیر پروتئین AMPK در گروه‌های مختلف

* اختلاف معنادار با گروه C، ≠ اختلاف معنادار با گروه D

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که سطوح پروتئین‌های AMPK، SPARC و GLUT4 در عضله نعلی موش‌های گروه D در مقایسه با گروه C کاهش یافت و تمرین هوازی به‌تنهایی و در ترکیب با مصرف مکمل عصاره دارچین باعث افزایش معنادار سطوح پروتئین‌های AMPK، GLUT4 و SPARC در عضله نعلی موش‌های مبتلا به T2D در مقایسه با گروه C گردید. جالب این‌که، غلظت این پروتئین‌ها در گروه ES در مقایسه با گروه E به‌طور معناداری بالاتر بود. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل عصاره دارچین به‌تنهایی در مقایسه با گروه C به افزایش

معنادار سطوح پروتئین GLUT4 در عضله نعلی منجر شد؛ هرچند میانگین سطوح پروتئین‌های AMPK و SPARC با مصرف مکمل عصاره دارچین به‌تنهایی تغییر معناداری نشان نداد. علاوه‌براین، سطح گلوکز خون در گروه‌های E، S و ES نسبت به گروه C به‌طور معناداری پایین‌تر بود. کاهش سطوح پروتئین‌های AMPK، GLUT4 و SPARC در عضله نعلی موش‌های T2D در مطالعه حاضر، همسو با یافته‌های Song و همکاران است که نشان دادند هایپرگلیسمی عضلانی مرتبط با T2D می‌تواند نتیجه کاهش SPARC و اختلال پیام‌رسانی AMPK و GLUT4 باشد [۸]. هرچند سازوکارهای بیولوژیکی مربوط به SPARC در پاتوژنز هایپرگلیسمی و T2D هنوز کاملاً شناخته‌شده نیست، اما سازوکارهای بالقوه‌ای ازجمله ارتباط متقابل و شدید SPARC با کانال کلسیم وابسته به ولتاژ و مهار فسفوریلاسیون AMPK ناشی از اختلال SPARC در انسان و موش می‌تواند دارای اهمیت باشد [۸]. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر Song و همکاران بیان کردند که پیش‌ساز MIR-29 با مهار سنتز SPARC میزان GLUT4 و جذب گلوکز را در سلول‌های چربی و عضلات اسکلتی بیماران دارای T2D کاهش می‌دهد [۲۹]. همسو با نتایج پژوهش حاضر، Aoi و همکاران نشان دادند که ورزش و انقباض عضلانی ناشی از آن، از طریق کشش چرخه‌ای مکانیکی در سلول‌های عضلات اسکلتی آزادسازی SPARC را افزایش می‌دهد [۶]؛ هرچند در شدت و نوع تمرین مورد استفاده نتایج متناقضی دیده می‌شود [۹]. در مطالعه حاضر، سطح SPARC بعد از ۸ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط افزایش یافت. با این‌حال، Songsorn و همکاران، با بررسی اثر یک دوره تمرین دوچرخه با حداکثر سرعت و شدت در کوتاه‌مدت عنوان کردند که تمرینات با شدت زیاد و مدت کم تأثیر معناداری بر سطح SPARC عضله اسکلتی ندارد [۹]. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً برای رهاسازی بهینه SPARC از عضله اسکلتی، مدت‌زمان تمرین بسیار مهم‌تر از شدت آن می‌باشد. با این‌حال، برای بررسی سازوکارهای درگیر در اثر نوع و شدت تمرین بر رهاسازی SPARC در عضله اسکلتی به مطالعات بیشتری نیاز است. در پژوهش حاضر مشخص شد که مصرف مکمل هیدروالکلی دارچین همزمان با تمرین هوازی، به افزایش معناداری در سطوح AMPK، GLUT4 و SPARC موش‌های مبتلا به T2D در مقایسه با گروه‌های C، S و DE منجر می‌شود. از آن‌جایی‌که تاکنون مطالعه‌ای اثر ترکیبی مکمل دارچین و ورزش هوازی را بر سطوح SPARC مورد بررسی قرار نداده است، نمی‌توان در این‌خصوص اظهارنظر قاطع کرد. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب تمرین هوازی با مکمل دارچین، فعالیت مسیر AMPK -GLUT4 را در عضله نعلی موش‌های مبتلا به T2Dبازیابی می‌کند که باتوجه به نتایج، احتمالاً تاحدودی به‌واسطه افزایش سطوح SPARC در عضله نعلی باشد. در این رابطه Song و همکاران، ارتباط فیزیکی بین AMPK و SPARC را به‌وسیله هر دو روش Co-immunoprecipitation و yeast two-hybrid نشان دادند و مشخص کردند که بین افزایش SPARC و فعال‌شدن مسیرهای پیام‌رسانی مولکولی AMPK ارتباط متقابل وجود دارد. درواقع این دو پروتئین بیان یکدیگر را افزایش می‌دهند. به‌علاوه، SPARC از طریق تنظیم بیان AMPKα1 بر متابولیسم گلوکز با واسطه GLUT4 تأثیر می‌گذارد [۸]. این یافته‌ها همراه با نتایج مطالعه حاضر از SPARC به‌عنوان یک بازیگر مهم در تنظیم GLUT4 پشتیبانی می‌کند. در پژوهشی دیگر، Aoi و همکاران، پروتئین غشایی VDCC را به‌عنوان یک هدف اتصال برای SPARC شناسایی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که SPARC از طریق تعامل با VDCC در غشای پلاسما، پیام‌رسانی AMPK را با یک سازوکار وابسته به کلسیم افزایش می‌دهد [۳۰]. هرچند برای روشن‌شدن سازوکار دقیق فعال‌سازی AMPK به‌واسطه SPARC مطالعات بیشتری لازم است. در مطالعه حاضر، مشاهده شد که مصرف مکمل دارچین به‌تنهایی به افزایش بیان GLUT4 در عضله نعلی موش‌های مبتلا به T2D منجر شد؛ درحالی‌که مصرف مکمل دارچین به‌تنهایی تأثیر معناداری بر سطوح AMPK و SPARC عضله اسکلتی نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً این افزایش در بیان GLUT4 در نتیجه‌ی مصرف مکمل دارچین سازوکاری مستقل از مسیر AMPK را درگیر می‌کند که پیش‌تر نیز توسط دیگران گزارش شده است [۳۱-۲۲]. هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر، مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که مکمل دارچین از طریق افزایش بیان ژن GLUT4، اثر ضددیابتی خود را اعمال می‌کند [۳۲]. در مطالعه دیگر kouzi و همکاران نشان دادند که مکمل دارچین باعث انتقال GLUT4 از وزیکول‌های داخل سلولی به غشای سیتوپلاسمی می‌شود [۳۳]. براساس شواهد، مکمل دارچین بسته به دوز و مدت مصرف، اثرات متفاوتی در خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در درمان T2D نشان می‌دهد [۳۴-۲۳]. براساس طبّ سنتی و شواهد علمی اخیر، دارچین و انواع عصاره آبی و الکلی آن دارای اثرات درمانی متنوعی هستند که در بیشتر مواقع موجب نتایج ضدونقیض می‌شوند [۲۰]. درمجموع نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که احتمالاً تحریک / فشار متابولیکی ناشی از تمرین هوازی عامل غالب در فعال‌سازی این مسیرها در عضله نعلی موش‌های دیابتی است. با این‌حال، عصاره دارچین می‌تواند اثرات ورزش هوازی را به‌طور معناداری افزایش دهد. بنابراین، برای بررسی

سازوکارهای مربوط به این اثر هم‌افزایی به مطالعات بیشتری نیاز خواهد بود.

نتیجه‌گیری

مکمل عصاره دارچین با توانایی درمان کمکی و ترکیبی با تمرین هوازی می‌تواند با بهبود سطوح AMPK، GLUT4 و SPARC در درمان هایپرگلیسمی و درنتیجه T2D مفید باشد. همچنین، باتوجه به این‌که مصرف مکمل دارچین به‌تنهایی نیز موجب افزایش سطح GLUT4 در عضله نعلی موش‌های دارای T2D شد، می‌توان مکمل دارچین را به‌عنوان یک گزینه درمانی مؤثر و یک مکمل تقویت‌کننده اثر ورزش هوازی در بیماران دیابتی تجویز کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان و همه کسانی که در اجرای این پژوهش همکاری کردند، سپاسگزاری می‌شود.

References:

[1] Fujiwara Y, Eguchi S, Murayama H, Takahashi Y, Toda M, Imai K, et al. Relationship between diet/exercise and pharmacotherapy to enhance the GLP-1 levels in type 2 diabetes. ***Endocrinol Diabetes Metab J*** 2019; 2(3): e00068.

[2] Brooks-Worrell B, Narla R, Palmer JP. Islet autoimmunity in phenotypic type 2 diabetes patients. ***Diabetes Obes Metab*** 2013; 15(s3): 137-40.

[3] Sharif Bagheri M, Valipour dehnou V, Hematfar A. Effects of six weeks endurance training on protein levels of GLUT4 and HDAC5 in EDL muscle in diabetic rats. ***Feyz*** 2021; 25(2): 830-8. [in Persian]

[4] Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. ***Circ Res*** 2007; 100(3): 328-41.

[5] Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? ***Exerc Sport Sci Rev*** 2005; 33(3): 114-9.

[6] Aoi W, Naito Y, Takagi T, Tanimura Y, Takanami Y, Kawai Y, et al. A novel myokine, secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC), suppresses colon tumorigenesis via regular exercise. ***Gut*** 2013; 62(6): 882-9.

[7] Wu D, Li L, Yang M, Liu H, Yang G. Elevated plasma levels of SPARC in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. ***Eur J Endocrinol*** 2011; 165(4): 597.

[8] Song H, Guan Y, Zhang L, Li K, Dong C. SPARC interacts with AMPK and regulates GLUT4 expression. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2010; 396(4): 961-6.

[9] Songsorn P, Ruffino J, Vollaard NB. No effect of acute and chronic supramaximal exercise on circulating levels of the myokine SPARC. ***Eur J Sport Sci*** 2017; 17(4): 447-52.

[10] Son JS, Kim JH, Kim HJ, Yoon DH, Kim JS, Song HS, et al. Effect of resistance ladder training on sparc expression in skeletal muscle of hindlimb immobilized rats. ***Muscle Nerve*** 2016; 53(6): 951-7.

[11] Stenov V, Joensen LE, Knudsen L, Hansen DL, Tapager IW. Mental health professionals have never mentioned my diabetes, they don't get into that: a qualitative study of support needs in adults with type 1 and type 2 diabetes and severe mental illness. ***Can J Diabetes*** 2020; 44(6): 494-500.

[12] Prem M, Sekovski I, Baucic M. DT2. 8.3 Action plan on the testing area of Emilia-Romagna Region (Italy).

[13] Javadi A, Badalzadeh R, Zolfagharzadeh N, Shahir SA. Combined Preconditioning With Cinnamon Extract and Aerobic Training Reduce Oxidative Stress in a Rat Model of Myocardial Reperfusion Injury. ***Crescent J Med Biol Sci*** 2019; 6(2).

[14] Mol PG, Thompson A, Heerspink HJ, Leufkens HG. Precision medicine in diabetes and diabetic kidney disease: Regulatory considerations. ***Diabetes Obes Metab*** 2018; 20: 19-23.

[15] Mosnier-Pudar H, Hochberg G, Eschwege E, Halimi S, Virally ML, Guillausseau PJ, et al. How patients' attitudes and opinions influence self-care behaviours in type 2 diabetes. Insights from the French DIABASIS Survey. ***Diabetes Metab J*** 2010; 36(6): 476-83.

[16] Antosiewicz J, Borkowska A, Halon-Golabek M, Kortas J, Ziemann E, Herman-Antosiewicz A. Effects of Diet and Exercise on Endocrine Function of Skeletal Muscle. ***Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings*** 2019; 11(1): 37.

[17] Yfanti C, Fischer CP, Nielsen S, Åkerström T, Nielsen AR, Veskoukis AS, et al. Role of vitamin C and E supplementation on IL-6 in response to training. ***J Appl Physiol*** 2012; 112(6): 990-1000.

[18] Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, et al. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin.

[19] Goel B, Mishra S. Medicinal and nutritional perspective of cinnamon: A mini-review. ***Eur J Med Plants*** 2020; 31: 10-6.

[20] Mollazadeh H, Hosseinzadeh H. Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms. ***Iran J Basic Med Sci*** 2016; 19(12): 1258.

[21] Rao PV, Gan SH. Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. ***Evid-based Complement Altern Med*** 2014; 2014.

[22] Shen Y, Honma N, Kobayashi K, Jia LN, Hosono T, Shindo K, et al. Cinnamon extract enhances glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes and C2C12 myocytes by inducing LKB1-AMP-activated protein kinase signaling. ***PLoS One*** 2014; 9(2): e87894.
[23] Blevins SM, Leyva MJ, Brown J, Wright J, Scofield RH, Aston CE. Effect of cinnamon on glucose and lipid levels in Non–insulin-dependent type 2 diabetes. ***Diabetes care*** 2007; 30(9): 2236-7.
[24] Pierre W, Gildas AJ, Ulrich MC, Modeste WN, Albert K. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Bersama engleriana leaves in nicotinamide/ streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. ***BMC Complement Altern Med*** 2012; 12(1): 1-6.
[25] Skovsø S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. ***J Diabetes Investig*** 2014; 5(4): 349-58.
[26] Chae CH, Jung SL, An SH, Park BY, Wang SW, Cho IH, et al. Treadmill exercise improves cognitive function and facilitates nerve growth factor signaling by activating mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase1/2 in the streptozotocin-induced diabetic rat hippocampus.
[27] Jafari A, Hosseinpourfaizi MA, Houshmand M, Ravasi AA. Effect of aerobic exercise training on mtDNA deletion in soleus muscle of trained and untrained Wistar rats. ***Br J Sports Med*** 2005; 39(8): 517-20.
[28] Moselhy SS, Junbi HH. Antioxidant properties of ethanolic and aqueous Cinnamon extracts against liver injury in rats. ***Int J Adv Pharm Res*** 2010; 1(2).
[29] Song H, Ding L, Zhang S, Wang W. MiR-29 family members interact with SPARC to regulate glucose metabolism. ***Biochem Biophys Res Commun*** 2018; 497(2): 667-74.
[30] Aoi W, Hirano N, Lassiter DG, Björnholm M, Chibalin AV, Sakuma K, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) improves glucose tolerance via AMP-activated protein kinase activation. ***FASEB J*** 2019; 33(9): 10551-62.
[31] Peng X, Ma J, Chao J, Sun Z, Chang RC, Tse I, et al. Beneficial effects of cinnamon proanthocyanidins on the formation of specific advanced glycation endproducts and methylglyoxal-induced impairment on glucose consumption. ***J Agric Food Chem*** 2010; 58(11): 6692-6
[32] Absalan A, Mohiti-Ardakani J, Hadinedoushan H, Khalili MA. Hydro-alcoholic cinnamon extract, enhances glucose transporter isotype-4 translocation from intracellular compartments into the cytoplasmic membrane of C2C12 myotubes. ***Indian J Clin Biochem*** 2012; 27(4): 351-6.
[33] Kouzi SA, Yang S, Nuzum DS, Dirks-Naylor AJ. Natural supplements for improving insulin sensitivity and glucose uptake in skeletal muscle. ***Front Biosci-Elite*** 2015; 7(1): 107-21.
[34] Hagenlocher Y, Hösel A, Bischoff SC, Lorentz A. Cinnamon extract reduces symptoms, inflammatory mediators and mast cell markers in murine IL-10−/− colitis. ***J. Nutr. Biochem*** 2016; 30: 85-92.
[35] Zhang W, XU YC, Guo FJ, Meng Y, Li ML. Anti-diabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. ***Chin Med J*** 2008; 121(21): 2124-8.