Journal of Sport Biosciences

University of Tehran Press

Online ISSN: 2676-4148

Changes in Asprosin Protein Expression in the Liver, Pancreas, Heart, and Soleus Muscle Tissues of Male Diabetic Rats, After Eight Weeks of Endurance Training and Nettle Supplementation

Rouhollah Haghshenas[1]✉

1. Corresponding Author, Department of Sports Sciences, Faculty of Humanities, Semnan University, Semnan, Iran.
E-mail: rhm@semnan.ac.ir

Article Info

Article type:

Research

Article history:
Received:
18 September 2023
Received in revised form:
27 October 2023
Accepted:
13 December 2023
Published online:
20 March 2024

Keywords:
Asprosin,
Diabetes,
Endurance Exercise,
Nettle.

ABSTRACT

Introduction: The current study aimed to investigate the changes in asprosin protein expression in the liver, pancreas, heart, and soleus muscle of male diabetic rats after eight weeks of aerobic exercise and nettle supplementation.

Methods: 48 male Wistar rats were randomly divided into six groups (n=8 rats per group) including Control (C), Exercise (E), Diabetes (D) and Exercise + Diabetes (ED), Nettle + Diabetes (UD), Exercise + Nettle + Diabetes (EUD) groups. After the induction of diabetes in rats by streptozotocin injection, a continuous aerobic exercise protocol with moderate to vigorous intensity was implemented for eight weeks and five days a week. Nettle extract was administered via intragastric gavage at a dose of 150 mg per kg of body weight for eight weeks and five days a week. Blood samples were drawn 48 hours after the final training session. The asprosin protein expression was measured using the ELISA method and data was analyzed using Analysis of Covariance.

Results: The results showed that in all tissues, the asprosin was significantly increased in the diabetic group compared with the control group ($P<0.05$). In comparison to the diabetes group, the EUD group showed the greatest decrease in asprosin of all tissue compared with the ED and the UD groups ($P<0.05$), in such a way that in pancreatic tissue, it reached the level of the healthy control group, but changes in heart tissue were not significant. In comparison to the diabetes group, the reduction of asprosin in all tissues of the UD group was more than in the ED group, but the difference between these two groups was not significant.

Conclusion: Based on the findings, the expression of asprosin protein in the tissues of the liver, pancreas, heart, and soleus muscle is increased due to diabetes, and using a combination of aerobic exercises and nettle extract can reduce it. The synergistic effect of the combination of aerobic exercise and nettle was much better than either alone.

Cite this article: Haghshenas R. Changes in Asprosin Protein Expression in the Liver, Pancreas, Heart, and Soleus Muscle Tissues of Male Diabetic Rats, After Eight Weeks of Endurance Exercise and Nettle Supplementation.*Journal of Sport Biosciences*. 2024; 16 (1): 17-29.
DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2023.365522.1608

Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0.
| Web site: https://jsb.ut.ac.ir/ | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s).

Publisher:The University of Tehran Press.

Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

Extended Abstract

Introduction

Metabolic disorders, such as diabetes, obesity, cardiovascular diseases, and polycystic ovary syndrome, are primarily caused by the disturbance of regular metabolic processes, thereby posing a substantial risk to human well-being. Research findings indicate that asprosin plays a crucial and intricate role in metabolic disorders, including diabetes. According to clinical and preclinical research findings, abnormal levels of circulating asprosin have been observed in various metabolic diseases, such as obesity, diabetes, polycystic ovary syndrome, nonalcoholic fatty liver disease, and several types of cancer. Furthermore, studies have demonstrated that the administration of anti-asprosin antibodies results in a reduction in blood glucose levels, suppression of appetite, and a decline in body weight. Consequently, asprosin emerges as a potential therapeutic target for the treatment of diabetes. Hence, in the current investigation, the researcher aimed to examine the changes in asprosin levels across various tissues such as the liver, pancreas, heart, and soleus muscle after the implementation of a combined intervention including aerobic exercise and nettle leaf extract in subjects with diabetes. Additionally, the study aimed to explore the potential synergistic effects of these two interventions.

Methods

48 male Wistar rats were randomly divided into six groups (n=8 rats per group) including Control (C), Exercise (E), Diabetes (D) and Exercise + Diabetes (ED), Nettle + Diabetes (UD), Exercise + Nettle + Diabetes (EUD) groups. After adaptation to the laboratory environment, the diabetic model was induced in 32 rats by intraperitoneal injection of STZ at the rate of 50 mg/kg of body weight. Following the induction of diabetes, a continuous aerobic exercise protocol with moderate to vigorous intensity was implemented for eight weeks and five days a week. Additionally, Nettle extract was administered via intragastric gavage at a dose of 150 mg per kg of body weight for eight weeks and five days a week. Blood samples were drawn 48 hours after the final training session. The asprosin protein expression was measured using the ELISA method and data was analyzed using ANCOVA.

Results

After confirming the assumptions for conducting the ANCOVA, the results of the ANCOVA showed a significant difference between the studied groups in the asprosin protein expression levels in the liver ($P<0.001$, $F=10.72$), pancreas ($P<0.001$, $F=17.74$), heart ($P<0.001$, $F=10.85$), soleus muscle ($P<0.001$, $F=22.88$), and glucose ($P<0.001$, $F=139.99$). The results showed that in all tissues, asprosin was significantly increased in the diabetes group compared with the control group ($P<0.05$). In comparison to the diabetes group, the EUD group showed the greatest decrease in asprosin of all tissue compared with the ED and the UD groups ($P<0.05$), in such a way that in pancreatic tissue, it reached the level of the healthy control group, but changes in heart tissue were not significant. In comparison to the diabetes group, the reduction of asprosin in all tissues of the UD group was more than in the ED group, but the difference between these two groups was not significant.

Table 1. The results of analysis of covariance for the expression of asprosin protein (ng/ml) in liver, pancreas, and soleus muscle tissues of rats in groups with diabetes by choosing the diabetes group as a reference.

Variables	Groups	Mean (SD)	‡β	Eta square	P	PC
Liver	ED	2.82 (0.71)	†-0.46	0.06	0.182	-14.29
	UD	2.46 (0.27	†-0.82	0.17	0.022	-25.23
	EUD	2.22 (0.87)	†-1.06	0.26	0.004	-32.52
	D	1.67 (0.31)				
Pancreas	ED	3.70 (0.28)	†-0.37	0.06	0.193	-9.09
	UD	3.29 (0.32)	†-0.78	0.22	0.009	-19.16
	EUD	2.64 (0.96)	†-1.43	0.49	<0.001	-35.14
	D	2.57 (0.37)				
Soleus	ED	2.87 (0.37)	†-0.21	0.02	0.502	-6.51
	UD	2.60 (0.66)	†-0.47	0.08	0.133	-15.31
	EUD	1.70 (0.59)	†-1.38	0.42	<0.001	-44.63
	D	1.16 (0.39)				
Glucose	ED	185.75 (11.42)	†-77.25	0.33	0.001	-26.54
	UD	158.00 (12.71)	†-10.25	0.46	<0.001	-37.43
	EUD	126.25 (12.52)	†-117.15	0.53	<0.001	-50.00
	D	252.50 (27.10)				

‡B. ❋ Partial eta squared. † Significant compared to the reference group

Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

Conclusion

The findings of the current investigation revealed that diabetes leads to an elevation in the expression of asprosin protein in the liver, pancreas, heart, and soleus muscle tissues of rats. However, the application of exercise, nettle supplementation, and their combination proved to be effective in reducing the expression of asprosin protein in all four tissues. Notably, the combination of exercise and nettle supplementation exhibited superior outcomes, and the synergistic effect of the combination of endurance exercise and nettle was much better than either alone. Consequently, it is advisable to consider the utilization of aerobic exercise in conjunction with nettle leaf as a therapeutic approach for managing diabetes and mitigating inflammation within the body.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines:
This study adheres to the ethical guidelines endorsed by the research ethics committee of Semnan University of Medical Sciences, with the reference number IR.SEMUMS.REC.1399.291, and is following the Helsinki Treaty.

Funding: Financial resources provided by the author.

Authors' contribution: The author single-handedly conducted the entire research process, including reading and confirming the final manuscript.

Conflict of interest: There is no conflict of interest.

Acknowledgments: I am grateful to the Semnan University Research Vice-Chancellor.

علوم زیستی ورزشی
انتشارات دانشگاه تهران
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

تغییرات بیان پروتئین آسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌های نر مبتلا به دیابت، پس از هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل‌یاری گزنه

روح‌اله حق‌شناس[1]

۱. نویسندهٔ مسئول، گروه علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم انسانی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. رایانامه: rhm@semnan.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۸/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱

کلیدواژه‌ها:
آسپروسین،
تمرین استقامتی،
دیابت،
گزنه.

چکیده

مقدمه: هدف پژوهش حاضر، بررسی تغییرات بیان پروتئین آسپروزین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌های نر مبتلا به دیابت پس از هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل گزنه بود.

روش پژوهش: ۴۸ سر رت نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به شش گروه هشت‌تایی، کنترل (C)، تمرین (E)، دیابت (D) و تمرین+دیابت (ED)، گزنه+دیابت (UD)، تمرین+گزنه+دیابت (EUD)، تقسیم شدند. پس از دیابتی کردن رت‌ها با تزریق استروپتوزوسین، پروتکل تمرین هوازی تداومی با شدت متوسط تا شدید، به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته اجرا شد. میزان مصرف عصارهٔ گزنه نیز پنج روز در هفته، به مدت هشت هفته و ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت گاواژ داخل معده بود. ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، نمونه‌برداری انجام گرفت. برای سنجش بیان پروتئین آسپروزین از روش الایزا و برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از آنالیز کوواریانس استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در همهٔ بافت‌ها، آسپروسین در گروه دیابت نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). گروه EUD بیشترین کاهش را نسبت به گروه دیابت در همهٔ بافت‌ها در مقایسه با گروه‌های ED و UD داشت ($P<۰/۰۵$)، به‌طوری‌که در بافت پانکراس این میزان به سطح گروه کنترل سالم نیز رسید، اما تغییرات در بافت قلب معنادار نبود. در همهٔ بافت‌ها کاهش اسپروسین نسبت به گروه دیابت در گروه UD بیشتر از گروه ED بود، اما تفاوت بین این دو گروه معنادار نبود.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌ها، بیان پروتئین اسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی در اثر دیابت افزایش می‌یابد و استفاده از ترکیب تمرین هوازی و عصارهٔ گزنه می‌تواند آن را کاهش دهد. اثر هم‌افزایی ترکیب تمرین هوازی و گزنه بسیار بهتر از هر کدام به‌تنهایی بود.

استناد: حق‌شناس، روح‌اله. تغییرات بیان پروتئین آسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌های نر مبتلا به دیابت، پس از هشت هفته تمرین استقامتی و مکمل یاری گزنه. نشریهٔ *علوم زیستی ورزشی*.۱۴۰۳؛ (۱)۱۶، ۲۹-۱۷.

DOI: https://doi.org/10.22059/jsb.2023.365522.1608

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کریتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.| آدرس نشریه: https://jsb.ut.ac.ir/ | ایمیل: jsb@ut.ac.ir

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران. © نویسندگان.

مقدمه

بیماری‌های متابولیک، از جمله دیابت، چاقی، بیماری‌های قلبی- عروقی و سندروم پلی‌کیستیک تخمدان، اغلب به اختلال در فرایندهای متابولیک طبیعی نسبت داده می‌شوند که تهدیدی شایان توجه برای سلامت انسان است. گزارش شده است که آسپروسین نقش اساسی و پیچیده‌ای در سوخت‌وساز و بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت ایفا می‌کند [۱]. آسپروسین در سال ۲۰۱۶ توسط رومر[1] و همکاران، به‌عنوان یک آدیپوکاین گلیکوژنیک در کودکان با بیماری پیری زودرس و محصول شکاف C ترمینال پروفیبریلین کشف شد که با اثر روی کبد، آزادسازی گلوکز را تنظیم می‌کند [۲]. پروفیبریلین-۱ توسط اگزون‌های ۶۵ و ۶۶ ژن فیبریلین-۱ (FBN1) واقع در کروموزوم q21.115 کدگذاری شده و آسپروسین پستانداران تقریباً یک پروتئین ۳۰ کیلودالتون و ۱۴۰ اسید آمینه است [۲]. اسپروسین ارتباط مستقیمی با ریسک‌فاکتورهای مختل‌کنندهٔ سیستم متابولیک بدن همچون قند خون و شاخص‌های اتروژنیک دارد [۳، ۴]. تحقیقات بالینی و پیش‌بالینی، سطوح نامنظم آسپروسین در گردش خون را در چندین بیماری متابولیک از جمله چاقی، دیابت، سندروم تخمدان پلی‌کیستیک، کبد چرب غیرالکلی و چندین نوع سرطان نشان داده‌اند [۵].

اسپروسین با کاهش و اختلال در پروتئین جفت‌نشدهٔ ۱ (UCP1)[2] و سرکوب فاکتور ۲ مرتبط با فاکتور هسته‌ای E2 (Nrf2)[3]در قهوه‌ای شدن بافت چربی اختلال ایجاد می‌کند [۶]. گزارش شده است که اسپروسین سرم در هر سه نوع دیابت نوع ۱، دیابت نوع ۲ و دیابت بارداری افزایش می‌یابد و تمرینات هوازی ورزشی به کاهش بیان پروتئین اسپروسین کبد منجر می‌شود [۷-۱۰].

تحقیقات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که آسپروسین ممکن است نقش پیش‌التهابی در سلول‌های β پانکراس و سلول‌های ماهیچه‌ای اسکلتی داشته باشد [۱۱، ۱۲]. همچنین نشان داده شده است که آنتی‌بادی‌های ضداسپروسین به کاهش قند خون، اشتها و وزن بدن منجر شده و می‌تواند اسپروسین به‌عنوان یک هدف درمانی دیابت شناخته شود [۱۳]. از طرفی نشان داده شده است که مداخلهٔ ورزشی برنامه‌ریزی‌شده برای کنترل قند خون در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت، در کاهش مقاومت به انسولین و بهبود بیماری دیابت مؤثر است [۱۴، ۱۵]. هشت هفته تمرین استقامتی روی تردمیل چهار جلسه در هفته، با سرعت ۲۰ متر در دقیقه و به مدت ۶۰ دقیقه در هر جلسه سطح پروتئین اسپروسین، پروتئین کیناز A و TGF-βرا در بافت کبد رت‌های مبتلاشده به دیابت با تزریق STZ را کاهش داد [۸]. همچنین گزارش شده است که استفاده از گیاهان دارویی همچون گزنه، شنبلیله، آویشن و مانند این ترکیبات، می‌تواند در کنترل و بهبود بیماری دیابت مؤثر باشد [۱۶-۱۸]. ازاین‌رو در پژوهش حاضر محقق به‌دنبال بررسی تغییرات اسپروسین در بافت‌های مختلف از جمله کبد، پانکراس، قلب و عضله پس از اعمال ترکیب ورزش و گیاه گزنه در آزمودنی‌های مبتلا به دیابت و اثر هم‌افزایی این دو بود.

روش‌شناسی پژوهش

این تحقیق از نوع تحقیقات تجربی با مدل حیوانی است.

روند اجرای پژوهش

۴۸ سر رت نر نژاد ویستار با میانگین سنی ۹ - ۱۲ هفته و در محدودهٔ وزنی ۱۸۰- ۲۲۰ گرم از مؤسسهٔ انستیتو پاستور ایران تهیه شد. حیوانات در مدت هشت هفته در شرایط کنترل‌شدهٔ نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، دمای محیط ۲۳ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت محیط ۵۵ تا ۶۵ درصد، نگهداری شدند. پس از سازگاری با محیط آزمایشگاه، مدل دیابتی در ۳۲ سر از رت‌ها با تزریق درون‌صفاقی STZ[4] به مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن القا شد [۱۹]. برای تعیین و تشخیص مدل دیابتی ایجادشده، اندازه‌گیری قند خون سه

[1]. Romere
[2]. uncoupling protein 1
[3]. nuclear factor E2-related factor 2
[4]. Strepotozocin

روز بعد از تزریق انجام شد. سه روز پس از تزریق STZ، قند خون با استفاده از خون‌گیری از دم حیوان اندازه‌گیری شد و چنانچه قند خون بالاتر از mg/dl ۱۵۰ بود، دیابت تأیید شد [۱۹]. در ادامه رت‌ها به شش گروه هشت‌تایی، کنترل سالم (C)، تمرین (E)، دیابت (D) و تمرین+دیابت (ED)، گزنه+دیابت (UD)، تمرین+گزنه+دیابت (EUD)، تقسیم شدند.

پروتکل تمرینی

در ابتدا به‌منظور آشناسازی با پروتکل تمرین و دستگاه تردمیل و نحوهٔ دویدن روی آن، در طول مدت ۱۰ روز، در پنج جلسه هر جلسه به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ تا ۱۰ متر در دقیقه و شیب صفر درصد، رت‌ها روی تردمیل حرکت داده شدند و در ادامه پروتکل تمرین به مدت هشت هفته و پنج روز در هفته به‌صورت هوازی اجرا شد. بدین‌صورت که شدت تمرین از ۱۰ متر بر دقیقه با مدت ۲۰ دقیقه در هفتهٔ اول شروع شد. سپس در هفته‌های بعد برای اعمال اصل اضافه‌بار و مقاومت فزاینده هر هفته به سرعت و مدت تمرین (هر هفته پنج دقیقه) اضافه می‌شد تا اینکه در نهایت در هفتهٔ هشتم، سرعت به ۲۳ متر بر دقیقه و مدت ۶۰ دقیقه رسید. هر جلسهٔ تمرین پس از گرم کردن (با سرعت ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه) ابتدا با سرعت ۱۰ متر در دقیقه شروع می‌شد و هر سه دقیقه، دو متر در دقیقه به سرعت دستگاه اضافه شد تا به سرعت موردنظر تعیین‌شدهٔ هفتگی در جدول ۱ برسد.

نحوهٔ تهیه و مصرف عصارهٔ گزنه

پس از خرید گیاه گزنه، گیاه خشک‌شده تا مرحلهٔ تشکیل پودر خرد و آسیاب پیش برده شد. جداسازی چربی دانه به روش سوکسله و با استفاده از حلال هگزان انجام گرفت. ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم پودر گیاه گزنه در داخل کاغذ صافی ریخته شده و در دستگاه سوکسله قرار داده شد و عمل سوکسلاسیون ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به مدت یک ساعت انجام گرفت. در ادامه عصارهٔ هگزانی تهیه‌شده با دستگاه روتاری و در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تغلیظ و در آرکون و در همان دما خشک شد. پودر حاصل به روش سوکسله با استفاده از حلال متانول با دو بار تکرار و صاف کردن توسط کاغذ صافی پردازش و در نهایت برای جدا کردن عصاره از حلال متانول محلول متانولی حاوی عصاره در محیط خلأ و دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد توسط دستگاه اواپراتور خشک شد و پس از تبخیر متانول، عصارهٔ خالص در ظرف باقی ماند که پس از جمع‌آوری، دور از نور و رطوبت نگهداری شد. میزان مصرف عصاره پنج روز در هفته، به مدت هشت هفته و هر جلسه بـه مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ داخل معده بود [۲۰].

جدول ۱. پروتکل تمرین

هفتهٔ اول	**گرم کردن ۵دقیقه**	**۳ دقیقهٔ اول**	**۳ دقیقهٔ دوم**	**۳ دقیقهٔ سوم**	**۳ دقیقه چهارم**	**۳ دقیقهٔ پنجم**	**سرد کردن ۳دقیقه**				**مجموع۲۳ دقیقه**
سرعت متر بر دقیقه	۵ تا۱۰	۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۵				
هفتهٔ دوم	گرم کردن	۳ دقیقهٔ اول	۳ دقیقهٔ دوم	۳ دقیقهٔ سوم	۳ دقیقهٔ چهارم	۳ دقیقهٔ پنجم	۳ دقیقهٔ ششم	۳ دقیقهٔ هفتم	۳ سرد کردن		**مجموع ۲۹ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۶	۱۶	۱۸	۵		
هفتهٔ سوم	گرم کردن	۳ دقیقهٔ اول	۳ دقیقهٔ دوم	۳ دقیقهٔ سوم	۳ دقیقهٔ چهارم	۳ دقیقهٔ پنجم	۳ دقیقهٔ ششم	۳ دقیقهٔ هفتم	۳ دقیقهٔ هفتم	۳ دقیقهٔ هشتم	۳ سرد کردن	**مجموع ۳۵ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۱۸	۱۸	۱۸	۲۰	۵
هفتهٔ چهارم	گرم کردن	۳ دقیقهٔ اول	۳ دقیقهٔ دوم	۳ دقیقهٔ سوم	۳ دقیقهٔ چهارم	۳ دقیقهٔ پنجم	۳ دقیقهٔ ششم، هفتم، هشتم، نهم و دهم (۱۵ دقیقه)			۳ دقیقهٔ یازدهم	۳ سرد کردن	**مجموع ۴۱ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰ متر بر دقیقه			۲۲	۵
هفته پنجم	گرم کردن	۳ دقیقهٔ اول	۳ دقیقهٔ دوم	۳ دقیقهٔ سوم	۳ دقیقهٔ چهارم	۳ دقیقهٔ پنجم	۳ دقیقهٔ ششم	۱۸ دقیقه		۳ دقیقهٔ سیزدهم	۳ سرد کردن

سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴	۵			**مجموع ۴۷ دقیقه**
هفتهٔ ششم	گرم کردن	۳ دقیقهٔ اول	۳ دقیقهٔ دوم	۳ دقیقهٔ سوم	۳ دقیقهٔ چهارم	۳ دقیقهٔ پنجم	۳ دقیقهٔ ششم	۲۴ دقیقه	۳ دقیقهٔ پانزدهم	۳ سرد کردن			**مجموع ۵۳ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲ متر بر دقیقه	۲۴	۵			
هفتهٔ هفتم	گرم کردن	۵ دقیقهٔ اول	۵ دقیقهٔ دوم	۵ دقیقهٔ سوم	۵ دقیقهٔ چهارم	۵ دقیقهٔ پنجم	۵ دقیقهٔ ششم	۳ دقیقهٔ هفتم	۳۰ دقیقه	۳ دقیقهٔ هفدهم	۳ سرد کردن		**مجموع ۵۹ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴ متر بر دقیقه	۲۶	۵		
هفتهٔ هشتم	گرم کردن	۵ دقیقهٔ اول	۵ دقیقهٔ دوم	۵ دقیقهٔ سوم	۵ دقیقهٔ چهارم	۵ دقیقهٔ پنجم	۵ دقیقهٔ ششم	۵ دقیقهٔ هفتم	۳۶دقیقه	۳ دقیقهٔ نوزدهم	۳ سرد کردن		**مجموع ۵۹ دقیقه**
سرعت	۵ تا۱۰	۱۰	۱۲	۱۴	۱۶	۱۸	۲۰	۲۲	۲۴ متر بر دقیقه	۲۶	۵		

روش اندازه‌گیری آسپروسین

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین در پایان هفتهٔ هشتم، رت‌ها به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های مورد بررسی، جراحی شدند. ابتدا رت‌ها با استفاده از محلول کتامین زایلازین (زایلازین ۵–۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم و کتامین ۷۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) که به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد، بی‌هوش و پس از خون‌گیری از قلب حیوان، بافت عضله نعلی، بافت کبد، بافت پانکراس و بافت قلب آنها خارج شد. پس از شست‌وشوی بافت‌ها با سرم فیزیولوژی و جدا کردن قسمت‌های زائد، برای اندازه‌گیری بیان پروتئین بافت‌ها به نیتروژن مایع انتقال یافت و در دمای منفی ۸۵ درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. برای سنجش بیان پروتئین آسپروسین از کیت الایزا مخصوص اندازه‌گیری رت و موش، ساخت شرکت ZELLBIO آلمان و از روش الایزا استفاده شد. روش سنجش اندازه‌گیری سطوح قند خون ناشتا، آنزیمی–کالری‌متری و با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون بود.

روش آماری

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها پس از تأیید طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف– اسمیرنوف و برقرار بودن پیش‌فرض‌های آزمون تحلیل واریانس، از آزمون‌های تحلیل کواریانس چندمتغیره در سطح معناداری P<۰/۰۵ و از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۶ استفاده شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخهٔ ۹,۰,۲ استفاده شد.

این پژوهش پس از کسب مجوز از کمیتهٔ اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به شمارهٔ IR.SEMUMS.REC.1399.291 و طبق معاهده هلسینکی انجام گرفت.

یافته‌های پژوهش

پس از تأیید مفروضات تحلیل واریانس نتایج تحلیل کوواریانس تفاوت معناداری را بین گروه‌های مورد بررسی در سطح بیان پروتئین اسپروسین کبد (P<۰/۰۰۱، F=۱۰/۷۲)، پانکراس (P<۰/۰۰۱، F=۱۷/۷۴)، قلب (P<۰/۰۰۱، F=۱۰/۸۵)، عضلهٔ نعلی (P<۰/۰۰۱، F=۲۲/۸۸) و گلوکز (P<۰/۰۰۱، F=۱۳۹/۹۹) نشان داد (جدول ۲). با بررسی تأثیر هریک از متغیرهای مستقل بر وابسته مشخص شد که در همهٔ بافت‌ها دیابت بیشترین افزایش را نسبت به گروه کنترل سالم داشته است.

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل کوواریانس برای بیان پروتئین اسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌ها در شش گروه مورد بررسی با انتخاب گروه سالم به‌عنوان مرجع

متغیر	گروه	(انحراف معیار) میانگین	برآورد پارامتر‡	اندازهٔ اثر*	P	درصد تغییرات نسبت به گروه دیابت
کبد (نانوگرم/میلی لیتر)	دیابت	۳/۲۹ (۰/۷۲)	†۱/۶۲	۰/۴۲	<۰/۰۰۱	–
	تمرین+دیابت	۲/۸۲ (۰/۷۱)	†۱/۱۶	۰/۲۷	<۰/۰۰۱	−۱۴/۲۹
	گزنه+دیابت	۲/۴۶ (۰/۲۷)	†۰/۸۰	۰/۱۵	۰/۰۰۹	−۲۵/۲۳
	تمرین+گزنه+دیابت	۲/۲۲ (۰/۸۷)	†۰/۵۶	۰/۰۸	۰/۰۶۳	−۳۲/۵۲
	تمرین	۱/۵۲ (۰/۳۴)	†−۰/۱۵	۰/۰۰۶	۰/۶۰۷	−۵۳/۸۰
	کنترل#	۱/۶۷ (۰/۳۱)		مرجع		−۴۹/۲۴
پانکراس (نانوگرم/میلی لیتر)	دیابت	۴/۰۷ (۰/۳۶)	†۱/۵۰	۰/۴۵	<۰/۰۰۱	–
	تمرین+دیابت	۳/۷۰ (۰/۲۸)	†۱/۱۳	۰/۳۲	<۰/۰۰۱	−۹/۰۹
	گزنه+دیابت	۳/۲۹ (۰/۳۲)	†۰/۷۱	۰/۱۶	۰/۰۰۷	−۱۹/۱۶
	تمرین+گزنه+دیابت	۲/۶۴ (۰/۹۶)	†۰/۲۵	۰/۰۱	۰/۷۹۵	−۳۵/۱۴
	تمرین	۲/۰۹ (۰/۴۱)	†۰/۲۵	۰/۰۸	۰/۰۶۲	−۴۸/۶۵
	کنترل#	۲/۵۷ (۰/۳۷)		مرجع		−۳۶/۸۶
قلب (نانوگرم/میلی‌لیتر)	دیابت	۱/۷۴ (۰/۴۲)	†۱/۱۰	۰/۴۱	<۰/۰۰۱	–
	تمرین+دیابت	۱/۴۰ (۰/۴۸)	†۰/۷۷	۰/۲۵	۰/۰۰۱	−۱۹/۵۴
	گزنه+دیابت	۱/۳۱ (۰/۲۶)	†۰/۶۷	۰/۲۰	۰/۰۰۲	−۲۴/۷۱
	تمرین+گزنه+دیابت	۱/۰۹ (۰/۶۰)	†۰/۴۵	۰/۱۰	۰/۰۳۲	−۳۷/۳۶
	تمرین	۰/۴۸ (۰/۳۵)	†−۰/۱۶	۰/۰۱	۰/۴۴۵	−۷۲/۴۱
	کنترل#	۰/۶۴ (۰/۲۲)		مرجع		−۶۳/۲۲
عضلهٔ نعلی (نانوگرم/میلی‌لیتر)	دیابت	۳/۰۷ (۰/۷۶)	†۱/۹۲	۰/۵۳	<۰/۰۰۱	–
	تمرین+دیابت	۲/۸۷ (۰/۳۷)	†۱/۷۱	۰/۴۷	<۰/۰۰۱	−۶/۵۱
	گزنه+دیابت	۲/۶۰	†۱/۴۵	۰/۳۹	<۰/۰۰۱	−۱۵/۳۱
	تمرین+گزنه+دیابت	۱/۷۰ (۰/۵۹)	†۰/۵۴	۰/۰۸	<۰/۰۰۱	−۴۴/۶۳
	تمرین	۰/۸۰ (۰/۴۹)	†−۰/۳۶	۰۴	۰/۰۶۰	−۷۳/۹۴
	کنترل#	۱/۱۶ (۰/۳۹)		مرجع		−۶۲/۲۱
گلوکز (میلی‌گرم/میلی لیتر)	دیابت	۲۵۲/۵۰ (۲۷/۱۰)	†۱۶۵/۷۵	۰/۹۲	<۰/۰۰۱	–
	تمرین+دیابت	۱۸۵/۷۵ (۱۱/۴۲)	†۹۹/۰۰	۰/۸۰	<۰/۰۰۱	−۲۶/۴۴
	گزنه+دیابت	۱۵۸/۰۰ (۱۲/۷۱)	†۷۱/۲۵	۰/۶۷	<۰/۰۰۱	−۳۷/۴۳
	تمرین+گزنه+دیابت	۱۲۶/۲۵ (۱۲/۵۲)	†۳۹/۵۰	۰/۳۹	<۰/۰۰۱	−۵۰/۰۰
	تمرین	۸۶/۵۰ (۱۴/۱۳)	†−۰/۲۵	۰/۰۰	۰/۹۷	−۶۵/۶۹
	کنترل#	۸۶/۷۵ (۴/۳۰)		مرجع		−۴۰/۶۰

‡ ضریب B * Partial eta squared † معنادار نسبت به گروه مرجع # در جدول برآورد پارامتر، گروه کنترل به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شده است و سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل مقایسه شده‌اند.

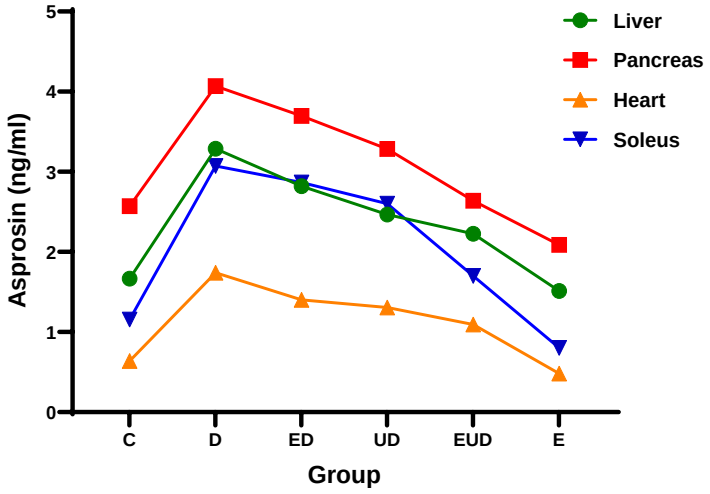
در ادامه با حذف گروه‌های سالم و انتخاب گروه دیابت به‌عنوان گروه مرجع یک بار دیگر تحلیل‌ها اجرا شد و نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در بیان پروتئین اسپروسین کبد (P=۰/۰۲۳، F=۳/۷۰)، پانکراس (P<۰/۰۰۱، F=۹/۸۱)، عضلهٔ نعلی (P=۰/۰۰۱، F=۷/۸۹) و گلوکز (P<۰/۰۰۱، F=۷۸/۰۵) وجود دارد، اما در بافت قلب (P<۰/۰۶۰، F=۲/۷۸) تفاوت، معنادار نبود. همان‌طورکه نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد هر سه متغیر تمرین، گزنه و ترکیب تمرین+گزنه اثر کاهشی بر اسپروسین کبد، پانکراس و عضلهٔ نعلی داشته‌اند و بیشترین میزان تأثیر بر اساس برآورد پارامتر مربوط به ترکیب گزنه و تمرین است (جدول ۳).

جدول۳. نتایج آزمون تحلیل کوواریانس برای بیان پروتئین اسپروسین (ng/ml) در بافت‌های کبد، پانکراس و عضلهٔ نعلی رت‌ها در گروه‌های مبتلا به دیابت با انتخاب گروه دیابت به‌عنوان مرجع

متغیر	گروه	(انحراف معیار) میانگین	β ‡	اندازهٔ اثر*	P	PC¥
کبد	تمرین+دیابت	۲/۸۲ (۰/۷۱)	†-۰/۴۶	۰/۰۶	۰/۱۸۲	-۱۴/۲۹
	گزنه+دیابت	۲/۴۶ (۰/۲۷)	†-۰/۸۲	۰/۱۷	۰/۰۲۲	-۲۵/۲۳
	تمرین+گزنه+دیابت	۲/۲۲ (۰/۸۷)	†-۱/۰۶	۰/۲۶	۰/۰۰۴	-۳۲/۵۲
	دیابت #	۱/۶۷ (۰/۳۱)			مرجع	
پانکراس	تمرین+دیابت	۳/۷۰ (۰/۲۸)	†-۰/۳۷	۰/۰۶	۰/۱۹۳	-۹/۰۹
	گزنه+دیابت	۳/۲۹ (۰/۳۲)	†-۰/۷۸	۰/۲۲	۰/۰۰۹	-۱۹/۱۶
	تمرین+گزنه+دیابت	۲/۶۴ (۰/۹۶)	†-۱/۴۳	۰/۴۹	<۰/۰۰۱	-۳۵/۱۴
	دیابت #	۲/۵۷ (۰/۳۷)			مرجع	
عضله نعلی	تمرین+دیابت	۲/۸۷ (۰/۳۷)	†-۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۵۰۲	-۶/۵۱
	گزنه+دیابت	۲/۶۰ (۰/۶۶)	†-۰/۴۷	۰/۰۸	۰/۱۳۳	-۱۵/۳۱
	تمرین+گزنه+دیابت	۱/۷۰ (۰/۵۹)	†-۱/۳۸	۰/۴۲	<۰/۰۰۱	-۴۴/۶۳
	دیابت #	۱/۱۶ (۰/۳۹)			مرجع	
گلوکز	تمرین+دیابت	۱۸۵/۷۵ (۱۱/۴۲)	†-۷۷/۲۵	۰/۳۳	۰/۰۰۱	-۲۶/۵۴
	گزنه+دیابت	۱۵۸/۰۰ (۱۲/۷۱)	†-۱۰۱/۲۵	۰/۴۶	<۰/۰۰۱	-۳۷/۴۳
	تمرین+گزنه+دیابت	۱۲۶/۲۵ (۱۲/۵۲)	†-۱۱۷/۱۵	۰/۵۳	<۰/۰۰۱	-۵۰/۰۰
	دیابت #	۲۵۲/۵۰ (۲۷/۱۰)		مرجع		

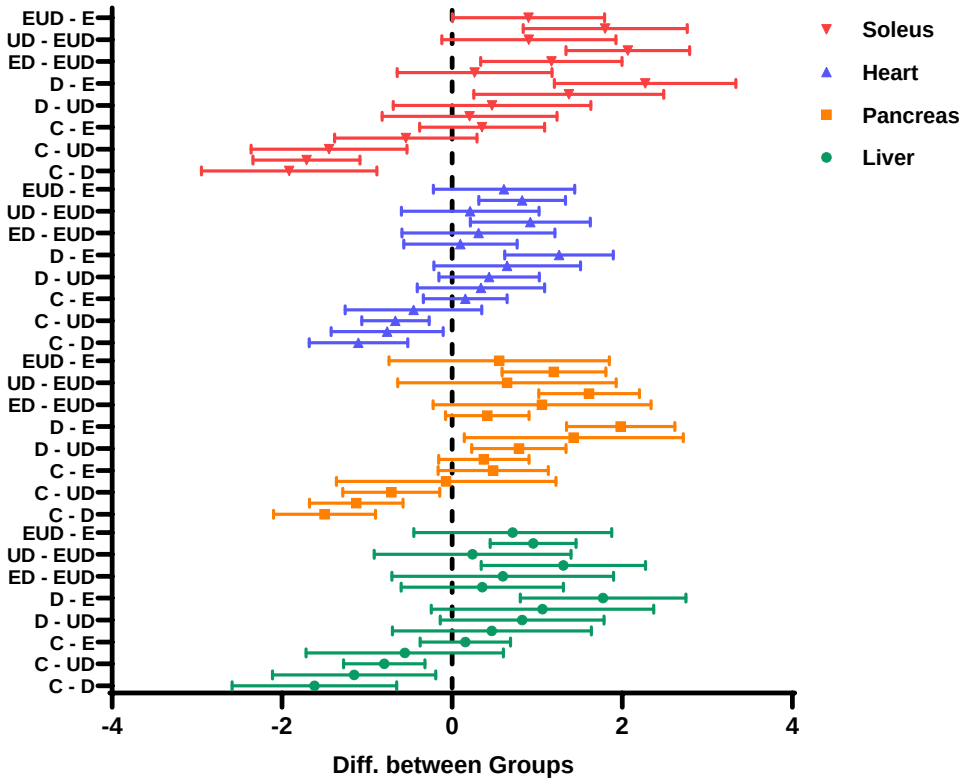
‡ ضریب B * Partial eta squared † معنادار نسبت به گروه مرجع # در جدول برآورد پارامتر، گروه کنترل به‌عنوان مرجع در نظر گرفته شده است و سایر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل مقایسه شده‌اند.

همان‌طورکه در شکل ۱ نیز مشاهده می‌شود، در همهٔ بافت‌ها ترکیب گزنه و ورزش بیشترین تأثیر را داشته و حتی در پانکراس این میزان به گروه کنترل رسیده است (شکل ۱).



شکل ۱. بیان پروتئین آسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی

نتایج مقایسهٔ دو به دو گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی نیز در شکل ۲ ارائه شده است.



شکل ۲. نتایج مقایسهٔ دو به دو گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و ۹۵ درصد فاصلهٔ اطمینان

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان پروتئین آسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌ها در اثر ابتلا به دیابت افزایش می‌یابد و بیشترین درصد افزایش به‌ترتیب مربوط به بافت‌های قلب، عضلهٔ نعلی، کبد و پانکراس بود. این یافته با پیشینهٔ تحقیق و پژوهش‌های گذشته که نشان داده بودند آسپروسین در هر سه نوع دیابت در بدن افزایش می‌یابد، همسوست [۷–۱۰]. نشان داده شده است که آسپروسین سرم در افراد مبتلا به دیابت نسبت به افراد سالم بالاتر است و آسپروسین ارتباط مثبت معناداری با BMI، قند خون ناشتا، مقاومت انسولین، تری گلیسرول و نسبت TC/HDL-C در افراد مبتلا به دیابت دارد [۲۱]. در مجموع با توجه به تحقیقات گذشته، سطح بالای آسپروسین همراه با دیابت به اثبات رسیده، اما هنوز سازوکارهایی که می‌توانند به افزایش سطح آسپروسین منجر شوند، به‌روشنی در تحقیقات مشخص نشده است. به‌نظر می‌رسد در پاسخ به اختلال در سیستم متابولیک بدن، آسپروسین از طریق بیان بیش‌ازحد فیبریلین افزایش می‌یابد و به افزایش انسولین و گلوکز منجر می‌شود [۲].

از اهداف اصلی پژوهش حاضر کاهش سطح آسپروسین با استفاده از ورزش و مکمل گیاهی گزنه بود که همان‌طورکه نتایج جدول ۳ و شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد، هم تمرین، هم مکمل گزنه و هم ترکیب این دو موفق به کاهش بیان پروتئین آسپروسین در هر چهار بافت کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی شدند و ترکیب ورزش و مکمل گزنه، بسیار موفق‌تر عمل کرد. بر اساس درصد تغییرات گزارش‌شده در جدول ۲ به‌ترتیب بیشترین درصد کاهش در همهٔ بافت‌ها مربوط به گروه EUD، UD و سپس ED بود. تمرینات ورزشی از طریق بهبود مقاومت انسولین، افزایش حساسیت گلوکز و تقویت مسیر پیام‌رسانی AKT-glut می‌توانند به بهبود دیابت منجر شوند. در خصوص آسپروسین همان‌طورکه در شکل ۱ نیز مشاهده می‌شود، عملکرد ورزش و مکمل گزنه تا حدودی در هر چهار بافت مشابه یکدیگر بوده، درصورتی‌که اثر ترکیب تمرین هوازی و مکمل گزنه به‌ویژه در پانکراس که محل اصلی ترشح انسولین است، بسیار چشمگیر بوده است.

گزارش شده است که آسپروسین از طریق فعال‌سازی بیان گیرندهٔ ۴ شبه دم[1](TLR4) و فسفوریلاسیون JNK، آپوپتوز، التهاب و اختلال در عملکرد سلول‌های β پانکراس را به شیوه‌ای وابسته به دوز افزایش می‌دهد [۱۱]. گزارش شده است که تمرینات ورزشی هوازی سطوح پروتئین آسپروسین، PKA و TGF-β را کاهش می‌دهد، اما سطح پروتئین AMPK، Akt، PGC-1β و MnSOD را افزایش داد. این نتایج نشان می‌دهد که تمرینات ورزشی هوازی بر مسیرهای پایین‌دستی PKA/TGF-β و AMPK وابسته به آسپروسین کبد در دیابت نوع ۱ تأثیر می‌گذارد [۸]. گزنه حاوی مواد بیوشیمیایی مختلفی مانند اسید فرمیک، هیستامین و استیل کولین [۲۲] و ترکیبات ارزشمندی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها، فیتواسترول‌ها، ساپونین‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه است [۲۳]. آب و عصاره‌ی هیدروالکلی گزنه حاوی ویتامین‌هایی مانند تیامین، ریبوفلاوین، پیریدوکسین، اسید فولیک، اسید نیکوتین و اسید اسکوربیک است [۲۴]. با توجه به ترکیبات گیاه گزنه و پیشینهٔ تحقیقاتی در خصوص این گیاه، این گیاه، نقش بالقوه‌ای در کاهش سه عامل خطر اصلی سندروم متابولیک دارد که عبارت‌اند از: فشار خون، چربی خون و هیپرگلیسمی [۲۵]. همسو با نتایج پژوهش حاضر مهری و همکاران (۲۰۱۲)، تأثیر گزنه بر دیابت را به دو دسته داخل پانکراس و خارج از پانکراس تقسیم کرده و مسیر داخل پانکراس را مرتبط با تأثیر بر سلول‌های β پانکراس و ترشح انسولین و مسیر خارج از پانکراس را عوامل تأثیرگذار بر هموستاز گلوکز دانسته‌اند [۲۶]. همچنین شواهد نشان می‌دهد که عصارهٔ گزنه بر بیان ژن Glut2 در کبد موش‌های دیابتی تأثیر می‌گذارد که رویکرد دیگری برای اثر ضد دیابتی آن است [۲۷].

ازآنجاکه انواع ورزش از جمله ورزش هوازی نیز بر این مسیرها تأثیر بسزایی دارد، بنابراین اثر هم‌افزایی ورزش و گزنه نیز منطقی به‌نظر می‌رسد. از طرف دیگر گزارش شده است که گزنه افزایش ترشح انسولین توسط جزایر لانگرهانس را افزایش می‌دهد [۲۸]. این درحالی است که ورزش هوازی ترشح انسولین را کاهش و بیان UCP2 (آسپروسین بیان این فاکتور را دچار اختلال می‌کند) را افزایش می‌دهد [۲۹]. همچنین انجام تمرینات ورزشی از طریق افزایش مصرف گلوکز و افزایش Glut4 در سلول‌های عضله، برداشت گلوکز توسط عضله را افزایش می‌دهد [۳۰] و در مجموع همان‌طورکه نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد، ترکیب عصارهٔ گزنه و تمرین هوازی، توانست تأثیر بسیار بیشتری بر آسپروسین که به‌عنوان یک عامل التهابی و مخرب دستگاه متابولیک بدن شناخته شده است، ایجاد کند. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که از ترکیب ورزش هوازی با گیاه گزنه به‌عنوان یک راهکار درمانی برای کنترل بیماری دیابت و کاهش التهاب در بدن استفاده شود. هرچند که با توجه به پیچیدگی‌های بیماری دیابت و چندعامله بودن آن، برای درمان آن نیز به روش‌های ترکیبی و تحقیقات بیشتر در این زمینه نیاز است. در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان پروتئین آسپروسین در بافت‌های کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی رت‌ها در اثر ابتلا به دیابت افزایش می‌یابد. هم تمرین، هم مکمل گزنه و هم ترکیب این دو موفق به کاهش بیان پروتئین آسپروسین در هر چهار بافت کبد، پانکراس، قلب و عضلهٔ نعلی شدند و ترکیب ورزش و مکمل گزنه بسیار موفق‌تر عمل کرد. بنابراین می‌توان استفاده از ترکیب ورزش هوازی با گیاه گزنه را به‌عنوان یک راهکار درمانی برای کنترل بیماری دیابت و کاهش التهاب در بدن توصیه کرد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه سمنان به‌سبب حمایت مالی/ حمایت معنوی / همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

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

[1]. toll-like receptor 4

References

[1] Yuan M, Li W, Zhu Y, Yu B, Wu J. Asprosin: A Novel Player in Metabolic Diseases. Front Endocrinol (Lausanne). 2020;11:64. doi: 10.3389/fendo.2020.00064.

[2] Romere C, Duerrschmid C, Bournat J, Constable P, Jain M, Xia F, Saha PK, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. Cell. 2016;165(3):566-79. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.063.

[3] Wiecek M, Szymura J, Sproull J, Szygula Z. Decreased Blood Asprosin in Hyperglycemic Menopausal Women as a Result of Whole-Body Cryotherapy Regardless of Metabolic Syndrome. J Clin Med. 2019;8(9):1428. doi: 10.3390/jcm8091428.

[4] Zhong M, Tian X, Sun Q, Li L, Lu Y, Feng Z, Gao Y, Li S. Correlation of asprosin and Nrg-4 with type 2 diabetes Mellitus Complicated with Coronary Heart Disease and the Diagnostic Value. BMC Endocr Disord. 2023;23(1):61. doi: 10.1186/s12902-023-01311-8.

[5] Farrag M, Ait Eldjoudi D, González-Rodríguez M, Cordero-Barreal A, Ruiz-Fernández C, Capuozzo M, et al. Asprosin in health and disease, a new glucose sensor with central and peripheral metabolic effects. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;13:1101091. doi: 10.3389/fendo.2022.1101091.

[6] Miao Y, Qin H, Zhong Y, Huang K, Rao C. Novel adipokine asprosin modulates browning and adipogenesis in white adipose tissue. J Endocrinol. 2021;249(2):83-93. doi: 10.1530/JOE-20-0503.

[7] Baykus Y, Yavuzkir S, Ustebay S, Ugur K, Deniz R, Aydin S. Asprosin in umbilical cord of newborns and maternal blood of gestational diabetes, preeclampsia, severe preeclampsia, intrauterine growth retardation and macrosemic fetus. Peptides. 2019 Oct;120:170132. doi: 10.1016/j.peptides.2019.170132. Epub 2019 Aug 7.

[8] Ko JR, Seo DY, Kim TN, Park SH, Kwak HB, Ko KS, et al. Aerobic Exercise Training Decreases Hepatic Asprosin in Diabetic Rats. J Clin Med. 2019;8(5):666. doi: 10.3390/jcm8050666.

[9] Zhang L, Chen C, Zhou N, Fu Y, Cheng X. Circulating asprosin concentrations are increased in type 2 diabetes mellitus and independently associated with fasting glucose and triglyceride. Clin Chim Acta. 2019;489:183-188. doi:10.1016/j.cca.2017.10.034.

[10] Boz İB, Aytürk Salt S, Salt Ö, Sayın NC, Dibirdik İ. Association Between Plasma Asprosin Levels and Gestational Diabetes Mellitus. Diabetes Metab Syndr Obes. 2023;16:2515-2521. doi:10.2147/DMSO.S424651.

[11] Lee T, Yun S, Jeong JH, Jung TW. Asprosin impairs insulin secretion in response to glucose and viability through TLR4/JNK-mediated inflammation. Mol Cell Endocrinol. 2019;486:96-104. doi:10.1016/j.mce.2019.03.001.

[12] Jung TW, Kim HC, Kim HU, Park T, Park J, Kim U, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKCδ-activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. J Cell Physiol. 2019;234(11):20888-20899. doi:10.1002/jcp.28694.

[13] Hoffmann JG, Xie W, Chopra AR. Energy Regulation Mechanism and Therapeutic Potential of Asprosin. Diabetes. 2020;69(4):559-566. doi:10.2337/dbi19-0009.

[14] Sampath Kumar A, Maiya AG, Shastry BA, Vaishali K, Ravishankar N, Hazari A, et al. Exercise and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. Ann Phys Rehabil Med. 2019;62(2):98-103. doi:10.1016/j.rehab.2018.11.001.

[15] Lateef Mohammed, A. and R. Haghshenas, The effect of endurance training on gene and protein expression of TGFβ and integrin in the liver of male rat diabetic. Sport Physiology, 2022. 14(55): p. 131-150.[in persion].

[16] Sobhani, F., R. Haghshenas, and M. Rahimi, Effect of eight weeks aerobic training and supplementation of green tea on apelin plasma levels and insulin resistance in elderly women with type 2 diabetes. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 2019. 28(170): p. 84-93. [in persion].

[17] Haghshenas R, Aftabi Y, Doaei S, Gholamalizadeh M. Synergistic effect of endurance training and nettle leaf extract on the IDO1-KYN-AHR pathway homeostasis and inhibiting of liver toxicity in rats with STZ-induced diabetes. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1071424. Published 2023. doi:10.3389/fendo.2023.1071424.

[18] Maghami, M., Keshavarz, S., Haghshenas, R., & Eftekhari, E. The Effect of Endurance Training and Nettle Consumption on Protein and Gene Expression of AKT and GLUT4 in Soleus Muscle of Diabetic Male Rats. ijdld 2021; 21 (4) :240-249 [in persion].

[19] Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. Curr Protoc Pharmacol. 2015;70:5.47.1-5.47.20. doi:10.1002/0471141755.ph0547s70.

[20] Daher CF, Baroody KG, Baroody GM. Effect of Urtica dioica extract intake upon blood lipid profile in the rats. Fitoterapia. 2006;77(3):183-188. doi:10.1016/j.fitote.2006.01.010.

[21] Naiemian S, Naeemipour M, Zarei M, Lari Najafi M, Gohari A, Behroozikhah MR, et al. Serum concentration of asprosin in new-onset type 2 diabetes. Diabetol Metab Syndr. 2020;12:65. doi:10.1186/s13098-020-00564-w.

[22] Otles S, Yalcin B. Phenolic compounds analysis of root, stalk, and leaves of nettle. ScientificWorldJournal. 2012;2012:564367. doi:10.1100/2012/564367.

[23] Joshi, B.C., M. Mukhija, and A.N. Kalia, Pharmacognostical review of Urtica dioica L. International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 2014. 8(4).

[24] Raimova, K. V., Abdulladjanova, N. G., Tashpulatov, F. N., Juraev, S. S., Matchanov, A. D., Rakhimov, R. N, et al., Comprehensive study of the chemical composition of Urtica dioica L. Journal of Critical Reviews, 2020. 7(5): p. 750-755.

[25] Samakar B, Mehri S, Hosseinzadeh H. A review of the effects of Urtica dioica (nettle) in metabolic syndrome. Iran J Basic Med Sci. 2022;25(5):543-553. doi:10.22038/IJBMS.2022.58892.13079.

[26] Mehri, A., Hasani-Ranjbar, S., Larijani, B., & Abdollahi, M. A systematic review of efficacy and safety of Urtica dioica in the treatment of diabetes. IJP, 2011. 7(2): p. 161-170. doi: 10.3923/ijp.2011.161.170.

[27] Ahmadi, S., Awliaei, H., Haidarizadeh, M., & Rostamzadeh, J. The effect of ethanolic extract of urtica dioica leaves on high levels of blood glucose and gene expression of glucose transporter 2 (Glut2) in liver of alloxan-induced diabetic mice. Gene, cell and tissue, 2015. 2(3). doi: 10.17795/gct-30355.

[28] Farzami B, Ahmadvand D, Vardasbi S, Majin FJ, Khaghani Sh. Induction of insulin secretion by a component of Urtica dioica leave extract in perifused Islets of Langerhans and its in vivo effects in normal and streptozotocin diabetic rats. J Ethnopharmacol. 2003;89(1):47-53. doi:10.1016/s0378-8741(03)00220-4.

[29] Calegari VC, Zoppi CC, Rezende LF, Silveira LR, Carneiro EM, Boschero AC. Endurance training activates AMP-activated protein kinase, increases expression of uncoupling protein 2 and reduces insulin secretion from rat pancreatic islets. J Endocrinol. 2011;208(3):257-264. doi:10.1530/JOE-10-0450.

[30] Yang D, Yang Y, Li Y, Han R. Physical Exercise as Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus: From Mechanism to Orientation. Ann Nutr Metab. 2019;74(4):313-321. doi:10.1159/000500110.