



Research Paper

The effect of aerobic training on the expression of p53 and miR-34a genes in the heart tissue of type II diabetic rats

Badrkhan Rashwan Ismael¹, Elaheh Piralaiy^{2*}, Saeid D. Nikoukheslat², Alireza Rashidpour³, Gholamreza Hamidiyan⁴

Received: Jan 09, 2024

Revised: Mar 19, 2024

Accepted: Mar 20, 2024

Article info

1. Ph.D Student in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3. MSc Student in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

4. Associate Professor at Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

*Corresponding Author Address:

Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Department of Exercise Physiology, University of Tabriz, Tabriz, Iran;

Email: epiralaiy@tabrizu.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aim: In recent years, type II diabetes (T2DM) has emerged as a chronic metabolic disease with increasing prevalence and is recognized one of the primary causes of cardiovascular complications. In this condition, elevated levels of microRNAs such as miR-34a and the p53 protein are associated with pancreatic β -cell apoptosis, cardiac dysfunction, and the progression of diabetic cardiomyopathy. miR-34a, as a key downstream target of p53, plays a critical role in regulating gene expression and modulating both inflammatory and oxidative stress responses.

Evidence indicates that moderate-to-high-intensity aerobic training can reduce the expression of miR-34a and p53, thereby exerting cardioprotective effects in diabetic patients. Several animal studies have also demonstrated reductions in these markers following exercise training. As a result, regular physical activity may serve as an effective non-pharmacological strategy to improve cardiac outcomes and reduce metabolic complications in T2DM. Given the involvement of microRNAs in the pathophysiology of various diseases, including diabetes, and the therapeutic value of aerobic training in T2DM as well as the existing inconsistencies in studies on the effects of physical activity on microRNAs, the present study aims to investigate the effect of aerobic training on the expression of p53 and miR-34a genes in the heart tissue of T2DM rats.

Materials and Methods: This experimental laboratory study employed a one-factor post-test design, was conducted with the approval of the ethics committee of the university of Tabriz (ID: IR.TABRIZU.REC.1402.022). Twenty male Wistar rats aged

Cite this article:

Rashwan Ismael B, Piralaiy E, Nikoukheslat S, Rashidpour A, Hamidiyan Gh. The effect of aerobic training on the expression of p53 and miR-34a genes in the heart tissue of type II diabetic rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(35):8-23. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2024.7154.1849>



six to eight weeks, with an average weight of 239 ± 28 grams, were obtained from the animal laboratory of Tabriz university. After a two-week acclimation period under laboratory conditions, the rats were randomly divided into four groups: healthy control, healthy training (HT), diabetic control (DC), and diabetic training (DT).

T2DM was induced using a combination of a high-fat diet (HFD) and intraperitoneal injection of Streptozotocin at a dose of 35 mg/kg. Rats with blood glucose levels exceeding 300 mg/dl were considered diabetic.

The aerobic training protocol consisted of treadmill running for eight weeks, five days per week, with gradual increments in speed from 5–10 m/min to 18–24 m/min and duration from 10 to 60 minutes.

Auditory stimuli were used to motivate the rats to run. Heart tissue sampling was conducted 48 hours after the last training session under anesthesia induced by a Ketamine-Xylazine combination. Heart tissue was harvested and stored at -80°C until analysis. RNA extraction was carried out on all tissue samples using two 50-reaction RNA extraction kits, following the manufacturer's instructions. Real-Time PCR was performed using the Corbett Rotor-Gene 6000 system. The Real-Time PCR protocol employed the SYBR Green method with a melting curve analysis stage conducted between 65°C and 95°C . Following completion of the process and obtaining threshold cycle (Ct) values, gene expression quantification of the target variables was calculated using the ($2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$) mathematical method. This comprehensive method allowed for the assessment of the effects of aerobic training on the expression of genes related to cellular damage and diabetes.

For statistical analysis, one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc tests were applied. All statistical operations were conducted using SPSS software version 27, with significance level at $p < 0.05$.

Findings: The results of the one-way ANOVA revealed that the expression levels of the genes p53 ($p = 0.001$, $F(3,16) = 15.08$) and miR-34a ($p = 0.001$, $F(3,16) = 43.94$) in the heart tissue of rats showed significant differences among the studied groups. The results from Tukey's post hoc test indicated that the expression levels of p53 were significantly higher in the diabetic control group compared to the healthy training and healthy control groups ($p = 0.001$). Meanwhile, the diabetic training group did not show a significant difference compared to the diabetic control ($p = 0.05$) and healthy training groups ($p = 0.13$), but a significant difference compared to the healthy control group ($p = 0.02$). No significant difference was observed between the healthy training and healthy control groups ($p = 0.73$). The expression level of miR-34a was significantly higher in the diabetic control group compared to the healthy training and healthy control groups ($p = 0.001$). Additionally, a significant difference was observed between the diabetic training group and the diabetic control group ($p = 0.02$), as well as the healthy training and healthy control groups ($p = 0.001$). However, no significant difference was found between the healthy training and healthy control groups ($p = 0.52$) (Figure 1).

Conclusion: The findings of the present study suggest that eight weeks of aerobic training can attenuate some of the morphological and cellular damage induced by T2DM in heart tissue. The reduction in miR-34a gene expression following aerobic training may indicate a potential therapeutic target for individuals with T2DM. However, achieving statistically significant reductions in p53 gene expression may require a larger sample size, higher exercise intensity, longer session duration, or a prolonged training period. Given the limited number of studies examining the effects of aerobic training on the expression of p53 and miR-34a genes, it remains plausible that the intensity, duration, and type of exercise play a role in modulating p53 gene responses and their interaction with miR-34a, warranting further investigation. It is also noteworthy that the eight-week aerobic training did not induce significant changes in the expression levels of p53 and miR-34a genes in healthy animals, indicating the need for additional studies employing alternative training protocols.

Keywords: Aerobic training, miR-34a, p53, Type II diabetes.

Ethical Considerations: This study is an extract from a senior master's thesis that was conducted after ethical approval with the

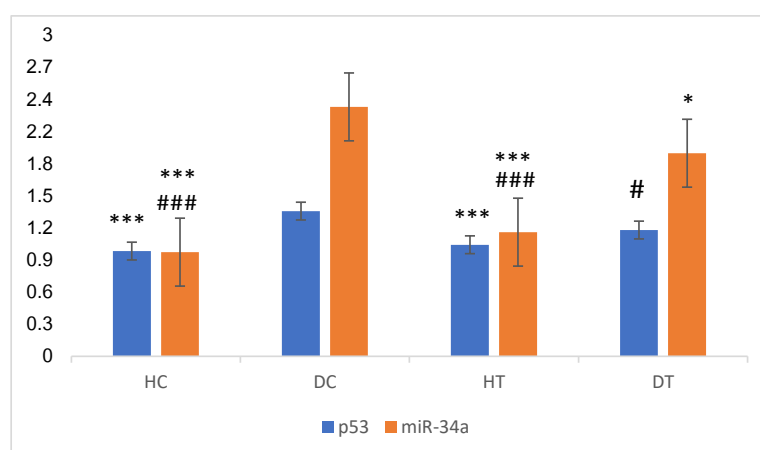


Figure 1. Comparison of relative expression of p53 and miR-34a genes in the heart tissue of rats in the HC, DC, HT, and DT groups after eight weeks of aerobic training. Data are presented as mean $\pm$ standard deviation. ***Indicates significant difference with diabetic control group at $p < 0.001$ level: ### Indicates significant difference with diabetic exercise group at $p < 0.001$ level. *Indicates significant difference with diabetic control group at $p < 0.05$ level: # Indicates significant difference with healthy control group at $p < 0.05$ level. Abbreviations: HC, Healthy Control; DC, Diabetic Control; HT, Healthy + Training; DT, Diabetic + Training.

ID (IR.TABRIZU.REC.1402.022) from the Ethics Committee of the University of Tabriz.

Compliance with ethical guidelines: All ethical principles were fully observed by the researchers throughout the study.

Funding: The present study is an extract from the senior master's thesis in exercise physiology, faculty of physical education and sport sciences, university of Tabriz, which was completed at the student's own expense.

Conflicts of interest: The authors of the article declare that there are no conflicts of interest in the present research.

Acknowledgments: The author would like to thank the laboratory of the faculty of veterinary medicine, university of Tabriz, for their sincere cooperation in providing and maintaining the animals.



تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن های p53 و miR-34a در بافت قلب موش های صحرایی دیابتی نوع دو

بدرخان رشوان اسماعیل^۱، الهه پیرعلائی^{۲*}، سعید دباغ نیکوخصلت^۲، علیرضا رشیدپور^۲، غلامرضا حمیدیان^۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۹

اطلاعات مقاله

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات قبلی اثرات مخرب بیان ژن های p53 و miR-34a در دیابت نوع دو را نشان داده اند. با این حال، اثرات تمرینات هوازی بر تغییرات p53 و miR-34a بافت قلبی موش های مبتلا به دیابت نوع دو نامشخص است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن های p53 و miR-34a در بافت قلب موش های صحرایی دیابتی نوع دو انجام شد. **روش تحقیق:** تحقیق حاضر از نوع مطالعات تجربی است. برای این منظور، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (میانگین وزن 28 ± 239 گرم، سن شش الی هشت هفته ای) به طور تصادفی به چهار گروه شامل گروه های کنترل دیابتی، کنترل سالم، تمرین دیابتی، و تمرین سالم تقسیم شدند. غذای حیوانات به صورت پلت با دسترسی آزاد و آب در یک بطری ۵۰۰ میلی لیتری ارائه شد. برای القاء دیابت نوع دو، رژیم غذایی پرچرب به مدت دو هفته و سپس تزریق استروپتوزوتوسین در حالت ناشتا صورت گرفت. پروتکل تمرین شامل تمرین هوازی دویدن روی نوارگردان به مدت هشت هفته با افزایش تدریجی سرعت و زمان (۵ تا ۱۰ به ۱۸ تا ۲۴ متر در دقیقه و ۱۰ تا ۱۵ دقیقه به ۶۰ دقیقه) پنج روز در هفته و با رعایت اصل اضافه بار بود. بیان نسبی ژن های p53 و miR-34a در نمونه های بافت قلب با Real-Time PCR اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $p \leq 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. **یافته ها:** بر اساس نتایج، بیان نسبی ژن های p53 و miR-34a بین گروه ها تفاوت معنی داری داشت ($p=0.001$). بیان نسبی p53 در گروه کنترل دیابت بیشتر از گروه های تمرین سالم و کنترل سالم بود ($p=0.001$)، اما در گروه تمرین دیابت نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش غیرمعنی داری مشاهده شد ($p=0.05$). بیان نسبی miR-34a در گروه کنترل دیابت بیشتر از گروه های تمرین سالم ($p=0.001$) و کنترل سالم ($p=0.001$) بود. همچنین، گروه تمرین دیابت نسبت به گروه کنترل دیابت کاهش معنی داری نشان داد ($p=0.02$). **نتیجه گیری:** به نظر میرسد بخشی از تأثیرات مورفولوژیکی و سلولی مخرب دیابت نوع دو بر بافت قلبی، از طریق اثرات هشت هفته تمرین هوازی بر بیان نسبی miR-34a تحت تأثیر قرار گیرد؛ اما احتمالاً برای مشاهده تأثیرات کاهشی بر بیان نسبی p53، به شرایط تمرینی متفاوتی نیاز است.

واژه های کلیدی: تمرین هوازی، p53، miR-34a، دیابت نوع دو.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۴. دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول، آدرس: تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی؛
پست الکترونیک:
epiralaui@tabrizu.ac.ir

مقدمه

دیابت قندی یکی از بحرانی ترین نگرانی های بهداشت جهانی است که شیوع آن به سرعت در حال رشد است و دیابت نوع دو^۱ (T2DM) تقریباً ۹۰ تا ۹۵ درصد از کل موارد دیابت را تشکیل می دهد و به شدت با سبک زندگی ناسالم مانند رژیم های غذایی پرانرژی و رفتارهای کم تحرک، مرتبط است (۱). بروز عوارض قلبی-عروقی دیابت نیز به سرعت در حال افزایش است (۲). از این رو، بیماری های قلبی-عروقی از دلایل اصلی مرگ و میر در بیماران دیابتی و آسیب قلبی ناشی از آترواسکلروز و کاردیومیوپاتی مرتبط با دیابت به شمار می رود (۳). پاتوفیزیولوژی بیماری های قلبی-عروقی در بیماران مبتلا به T2DM هنوز به طور کامل روشن نشده است و سازوکارهای متعددی از جمله هایپرتروفی میوسیت، فیبروز میوکارد، اختلال در انقباض عضلانی، عملکردهای کلسیم و میتوکندری، همچنین سیگنالینگ نیتریک اکساید^۲ (NO) می توانند نقش داشته باشند (۴، ۵). همچنین، T2DM با ایجاد بیماری هایی مانند فشار خون بالا، بیماری عروق کرونر، اختلال عملکرد کلیه، چاقی و سایر اختلالات متابولیک، نقش مهمی در شروع نارسایی قلبی^۳ (HF) دارد (۶).

تحقیقات اخیر نشان داده اند که میکرو ریبونوکلئیک اسیدها^۴ (miRNA) نقش مهمی در پاتوژنز دیابت و عوارض قلبی-عروقی مرتبط با آن دارند (۷). miRNAها که ریبونوکلئیک اسیدهای^۵ (RNA) کوچک غیر کدکننده تک رشته ای ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتیدی هستند، در انواع فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله هموستاز گلوکز نقش دارند (۸). در واقع، امروزه بسیاری از مطالعات تمایل دارند بر نقش کلیدی RNA های کدکننده غیر پروتئینی در توسعه و پیشرفت T2DM تمرکز کنند، miRNAها درونزا و بسیار حفاظت شده و در رویدادهای مهم بیولوژیکی و فیزیولوژیکی (۹) مانند تکثیر، توسعه و تمایز، التهاب و اکسیداسیون دخیل هستند (۹، ۱۰). همچنین، miRNAها می توانند بیان ژن های هدف و در نتیجه، بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مهم مانند آپوپتوز، اتوفاجی، پاسخ ایمنی و غیره را تعدیل کنند (۱۱). microRNAها عامل مرکزی در تنظیم پس رونویسی در حیوانات و

گیاهان هستند و به ناحیه غیر ترجمه شونده^۶ (3'-UTR) در مولکول های هدف، یعنی mRNAها وصل می شوند و از طریق افزایش یا مهار ترجمه، به صورت منفی بیان آنها را تنظیم می نمایند (۱۲).

از جمله miRNAها، miR-34^۷ است که یک خانواده microRNA سرکوبگر تومور است و به صورت رونویسی توسط پروتئین p53^۸ فعال گردیده و در واقع، یک واسطه حیاتی برای عملکرد p53 در نظر گرفته می شود (۱۳). جایگاه ژن miR-34a در کروموزوم 1p36.22 قرار دارد و این ژن هیچ RNA یا پروتئین غیر کدکننده دیگری را کد نمی کند (۱۴). در واقع، پروتئین p53 به عنوان یک عامل رونویسی عمل میکند که بیان چندین microRNA از جمله miR-34a و هم گروه آن را تنظیم می کند. miR-34a جزء مهم شبکه تنظیمی پیچیده p53 است (۱۵)، در حالی که p53 باعث رونویسی miR-34a می شود. miR-34a می تواند بیان و فعالیت پروتئین p53 را به صورت مثبت و منفی تنظیم کند (۱۳). miR-34a در صورت مثبت و نقش خاصی در سلول های بتا دارد (۱۶). افزایش تنظیم miR-34a با اختلال در عملکرد سلول های بتا و افزایش نرخ آپوپتوز آنها مرتبط است (۱۷). در یک تحقیق نشان داده شد که miR-34a در بافت های قلبی بیماران دیابتی و موش ها، بیش فعال می شود و منجر به کاردیومیوپاتی دیابتی^۹ (DCM) می گردد (۱۸). محققان تأیید کردند که miR-34a در T2DM افزایش می یابد و کاهش miR-34a، آپوپتوز سلول های بتا پانکراس را مهار کرده و تعداد سلول های بتا را حفظ می کند (۱۹، ۲۰).

عامل p53 یکی از مهم ترین سرکوبگرهای تومور به شمار می رود که در پاسخ به عوامل مختلفی از استرس سلولی مانند آسیب دئوکسی ریبونوکلئیک اسید^{۱۰} (DNA)، هایپوکسی شدید، پیری سلولی و فشارهای اکسایشی بالا افزایش یافته و فعال می شود (۲۱). مطالعات اخیر نیز نشان می دهد که p53 نقش مهمی در ایجاد بیماری های متابولیک از جمله T2DM دارد (۲۲). همچنین، پروتئین p53 در تنظیم آپوپتوز نقش مهمی دارد و توسط گونه های اکسیژن فعال^{۱۱} (ROS) تنظیم می شود (۲۳). p53 با پروتئین های مختلف در غشای خارجی میتوکندری مانند پروتئین های ضد آپوپتوز

1. Type 2 diabetes mellitus

2. Nitric oxide signaling

3. Heart failure

4. Micro ribonucleic acid

5. Ribonucleic acid

6. Untranslated region '3

7. MicroRNA 34a

8. p53 protein

9. Dilated cardiomyopathy

10. Deoxyribonucleic acid

11. Reactive oxygen species

هوازی دویدن چهار هفته‌ای روی نوارگردان (۴۰ دقیقه در روز به مدت پنج روز در هفته با سرعت ۱۸ متر در دقیقه) را بررسی کردند؛ نتایج نشان داد که تمرین هوازی بیان p53 را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین، بیان کردند که تمرینات ورزشی تا حدودی عوارض دیابت را در قلب بیماران دیابتی کاهش می‌دهد (۳۳). همچنین، رهبرغازی و دیگران (۲۰۲۳)، نشان دادند که در جوندگان دیابتی، تمرینات ورزشی سطح p53 را کاهش می‌دهد (۳۴). در همین راستا، کی^۵ و دیگران (۲۰۱۱)، کاهش معنی‌دار مقادیر p53 را پس از هشت هفته تمرین روی نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه برای شش روز هفته، در بافت عضلانی موش‌های مبتلا به T2DM گزارش کردند (۳۵). قادرپور و دیگران (۲۰۲۱)، به این نتیجه رسیدند که دیابت باعث افزایش بیان miR-34a و بیان پروتئین p53 می‌شود و در مقابل، ورزش باعث کاهش بیان miR-34a و p53 می‌شود (۳۶). شوفانگ^۶ و دیگران (۲۰۲۳)، به این نتیجه رسیدند که انجام تمرین، نمایه بیان miRNAها را تغییر می‌دهد (۳۷). همچنین، اکبری و دیگران (۲۰۲۲)، اثر حفاظتی شش هفته تمرین هوازی تناوبی و مداوم بر قلب دیابتی را با بررسی بیان ژن‌های miR-126، miR-29a و miR-222 میوکارد قلب مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های آنها نشان داد که هر دو نوع تمرین، اثر حفاظتی بر فاکتورهای مورد مطالعه قلبی داشته، منجر به افزایش بیان ژن‌های مورد مطالعه شده و تمرین تناوبی از تداومی تاثیرگذارتر بوده است (۳۸). اشرفی و دیگران (۲۰۲۰)، نیز به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با باند کشی، بر میزان بیان miR-34a و عوامل خطرری قلبی-عروقی در زنان سالمند پرداختند. آنان به این نتیجه رسیدند که انجام تمرینات مقاومتی مربوطه باعث کاهش در بیان miR-34a می‌شود (۳۹). در مقابل، قربان‌علیزاده و دیگران (۲۰۲۰)، به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن p53 در موش‌های صحرایی نر پرداختند و اعلام کردند که بیان ژن p53 در عضله قلبی افزایش یافت (۲۱). عبداللهی دیبا و دیگران (۲۰۲۲) نیز به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرینات استقامتی بر بیان ژن‌های p53 و سیتوکروم C در میوکارد موش‌های صحرایی نر پرداخته و نشان دادند که تمرینات

Bcl-2 و Bcl-xL^۲ تعامل می‌کند تا فعالیت آنها را مسدود کرده و آپوپتوز را القا کند (۲۴). نشان داده شده است که هیپرگلیسمی از طریق فعال شدن p53، باعث آپوپتوز سلولی می‌شود (۲۵). برای مثال، مشخص شده است که p53 بیان ناقل گلوکز یک^۳ (GLUT-1) را که در جذب گلوکز به سلول‌ها نقش دارد، سرکوب می‌کند و در نتیجه، منجر به هیپرگلیسمی می‌شود (۲۶). همچنین، بر چندین مسیر متابولیک دیگر از جمله متابولیسم گلوکز تأثیر می‌گذارد و می‌تواند به مقاومت به انسولین که مشخصه T2DM است، کمک کند. این بیانگر توانایی p53 برای القای بیان ژن‌هایی است که مسیر سیگنال‌دهی گیرنده انسولین را مهار می‌کنند و در نتیجه، منجر به مقاومت به انسولین می‌شوند (۲۷).

عامل مهمی که در پیشگیری و درمان بیماری T2DM می‌تواند مورد توجه واقع شود، فعالیت بدنی است. تمرینات ورزشی هوازی سبب بهبود ظرفیت و عملکرد قلب، و کیفیت زندگی بهتر می‌شود. همچنین، ورزش در بیماران مبتلا به T2DM عوامل خطرری قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد و کنترل قند خون، ظرفیت عملکردی و قدرت عضلات را بهبود می‌بخشد (۲۸). در پژوهش‌های اخیر، حمایت‌هایی برای استفاده از تمرینات ورزشی برای کنترل گلوکز و بهبود عملکرد قلب در T2DM فراهم شده است (۲۹، ۳۰). همچنین، تمرینات ورزشی بیان miRNAs را تغییر می‌دهد، که اثرات تنظیمی مفیدی را در T2DM دارد (۳۱). به عبارت دیگر، اثر مفید تمرینات ورزشی، کاهش miR-34a است. تولید بیش از حد miR-34a ممکن است آپوپتوز را افزایش دهد (۱۷). در همین راستا، miRNAها به عنوان اهداف درمانی برای بهبود ظرفیت ورزشی در افراد مبتلا به بیماری T2DM مطرح شده‌اند (۳۲). از طرفی دیگر، بیماران T2DM مستعد عارضه کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی در قلب خود هستند. بنابراین، تمرینات ورزشی می‌تواند عامل غیردارویی مهمی به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران T2DM در نظر گرفته شود.

در راستای بررسی اثرات ورزش و فعالیت بدنی بر سطوح بیان p53 در دیابت نوع دو، الجراح^۴ و دیگران (۲۰۱۲)، در مطالعه روی ۴۰ موش صحرایی اسپراگ داولی، اثر تمرینات

1. B-cell lymphoma 2

2. B-cell lymphoma-extra large

3. Glucose transporter 1

4. Al-Jarrah

5. Qi

6. Shu-fang

تقسیم شدند.

روش القاء دیابت: به منظور القاء دیابت، تعداد ۱۰ سر از موش های صحرایی (گروه های کنترل دیابتی و تمرین دیابتی) با رژیم غذای پرچرب^۱ (HFD) (D12492، رژیم های تحقیقاتی) شامل ۲۰ درصد پروتئین، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۶۰ درصد چربی خریداری شده از رویان فود اصفهان به مدت دو هفته تغذیه شدند (۴۲). سپس، با تزریق داخل صفاقی استروپتوزوتوسین^۲ (STZ) با دوز پایین (۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) که از محلول بافری سیترات سدیم ۰/۱ مولار با pH= ۴/۵ در کنار یخ تعبیه شده بود، دیابتی شدند (۴۲). پس از تزریق، موش ها به داخل قفس منتقل شده و آب و غذا در اختیار آنها قرار گرفت. ۷۲ ساعت بعد از تزریق، با اندازه گیری قند خون ناشتا از خون اخذ شده از ورید دمی توسط دستگاه گلوکومتر دیجیتالی از القای دیابت اطمینان حاصل شد و حیواناتی با قند خون بالاتر از (۳۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر)، به عنوان موش های دیابتی در نظر گرفته شدند (۴۳). با استفاده از ترازوی دیجیتالی مدل SDS 3031 ساخت ایران، با توان حداکثر ۳۰ کیلوگرم و حداقل پنج گرم، وزن اندازه گیری شد. این وزن گیری در ابتدا و انتهای مطالعه انجام گرفت.

به منظور آب رسانی، بطری ۵۰۰ میلی لیتری تأمین کننده آب مورد نیاز هر کدام از قفس های این مطالعه، به طور روزانه تعویض و پر شد (۴۲). موش های گروه دیابتی با غذا و پلت تجاری استاندارد (ذرت، کازئین، نشاسته ذرت، ساکارز، گلوتن ذرت، مخلوط روغن های حیوانی و گیاهی، کربنات کلسیم، دی کلسیم فسفات، پریمیکس ویتامین و مواد معدنی) و موش های گروه سالم با جیره غذایی معمولی (ذرت، نشاسته ذرت، گلوتن ذرت، کربنات کلسیم، دی کلسیم فسفات، پریمیکس ویتامین و مواد معدنی) تغذیه شدند.

پروتکل تمرین: پروتکل تمرین در این مطالعه شامل تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند چهار خطی، به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته (شنبه، یکشنبه، سه شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) بود. هر جلسه تمرین شامل گرم کردن ۱۰ دقیقه با شیب صفر درصد، و سرد کردن پنج دقیقه با شیب صفر درصد بود و سرعت نوارگردان به طور معکوس تا رسیدن به سرعت اولیه

استقامتی تأثیر معنی داری بر بیان ژن های سیتوکروم C و p53 در عضله قلب موش های صحرایی نر ندارد (۴۰). از سوی دیگر، شواهد نشان داده اند که بیان miRNA ها در سلول های بتا و بافت های هدف انسولین در بیماران مبتلا به T2DM دچار تغییر می شود؛ تغییری که احتمالاً ناشی از اختلال عملکردی این بافت ها تحت شرایط بیماری است (۴۱). با توجه به نقش مهم miRNA ها در پاتوفیزیولوژی بیماری T2DM و تأثیر احتمالی فعالیت ورزشی بر بیان این مولکول ها و همچنین وجود تناقض در نتایج تحقیقات پیشین درباره اثر تمرین بدنی بر microRNA ها، هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های p53 و miR-34a در بافت قلب موش های صحرایی مبتلا به T2DM می باشد.

روش تحقیق

آزمودنی های تحقیق: تحقیق حاضر از نوع مطالعات تجربی در قالب یک طرح پس آزمون یک عاملی است که بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با شناسه (IR.TABRIZU.REC.1402.022) انجام شد. برای این منظور، تعداد ۲۰ سر موش های صحرایی نر نژاد ویستار در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری، از آزمایشگاه حیوانی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز با سن شش الی هشت هفته و میانگین وزن 28 ± 239 گرم، تهیه شدند و در همان آزمایشگاه مورد مطالعه قرار گرفتند. به منظور ایجاد سازگاری با محیط، جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیک، تمامی موش ها در طول دوره مطالعه در قالب گروه های چهار سر موش در قفس های پلی اتیلن در دمای محیطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد، چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت هوا ۵۵ تا ۶۵ درصد، نگهداری شدند. در طول دو هفته دوره سازگاری با محیط آزمایشگاه، موش های صحرایی (به غیر از گروه های کنترل سالم و کنترل دیابتی) به مدت یک هفته تحت برنامه آشناسازی با نحوه فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند. طی دوره آشناسازی، شیب نوارگردان صفر درصد، سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و مدت تمرین نیز ۱۰-۵ دقیقه در روز بود. در پایان این دوره، موش ها به چهار گروه شامل گروه های کنترل سالم، تمرین سالم، کنترل دیابتی و تمرین دیابتی

1. High-fat diet

2. Streptozotocin

شروع آزمایش، تمامی وسایل مورد استفاده شامل پنس، فویل‌های آلومینیومی، هاون چینی، فالکون‌ها و... در داخل ظرف حاوی آب تیمار شده با دی‌اتیل پیرو کربنات^۳ (DEPC) خنثی نشده، قرار گرفت تا آنزیم ریبونوکلاز^۴ (RNase) احتمالی موجود بر روی آنها خنثی گردد و نهایتاً بعد از ۲۴ ساعت با هدف خنثی نمودن DEPC، دو بار به مدت ۱۵ دقیقه وسایل ذکر شده اتوکلاو شد. DEPC با اتصال به گروه هیستیدین^۵ موجود در جایگاه فعال آنزیم‌ها و ریبونوکلاز، باعث غیرفعال شدن این آنزیم‌ها گردیده و از تجزیه RNA استخراج شده جلوگیری می‌نماید.

رونویسی معکوس دئوکسی ریبونوکلیک اسید مکمل^۶ (cDNA)، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز معکوس^۷ (RT-PCR)، سنتز cDNA برای mRNA، به صورت اختصاصی و با استفاده از کیت اختصاصی (Synthesis Kit PrimeScript tm 1st Strand cDNA) محصول شرکت تجاری تاکارا^۸ انجام شد. cDNAهای سنتز شده با استفاده از ترکیبات و طبق دستورالعمل کیت جهت واکنش RT-PCR آماده گردیدند. پس از اتمام تقسیم بندی هر نمونه به درون دستگاه RT-PCR، فرآیند سنجش آغاز شد. کلیه اندازه‌گیری‌ها سه بار روی هر نمونه انجام گرفت.

برای انجام واکنش RT-PCR از دستگاه ژن روتور کوربت ۹۶۰۰ استفاده شد. پروتکل RT-PCR برای اندازه‌گیری عوامل بر مبنای روش (سایبرگرین^{۱۰}) شامل چهار دقیقه و با دمای (۹۵ درجه سانتی‌گراد) ۴۰ تا ۴۵ سیکل مشتمل بر ۱۰ ثانیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد) ۶۰ ثانیه (۵۷ درجه سانتی‌گراد)، ۳۰ ثانیه (۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت، مرحله ذوب شدن در دمای (۹۵-۶۵ درجه سانتی‌گراد) بود. برای تعیین بیان نسبی p53 و miR-34a از دستگاه RT-PCR مدل گرادیان مسترسایکلر^{۱۱}، ساخت شرکت سیستم بیومولکولی^{۱۲} (Bms) کشور استرالیا، به روش RT-PCR نیمه کمی و با استفاده از کیت نورجن^{۱۳} کشور کانادا با شماره تولید ۲۸۳۲۳ و بر اساس دستورالعمل استفاده شد. پرایمرهای ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزارهای موجود (پرایمر و پرایمر اکسپرس^۱) و بررسی توالی‌های

کاهش می‌یافت. تمرینات از هفته اول با سرعت ۵-۱۰ متر بر دقیقه و مدت زمان ۱۵-۱۰ دقیقه آغاز گردید و به تدریج تا هفته هشتم به سرعت ۱۸-۲۴ متر بر دقیقه و مدت زمان ۶۰ دقیقه افزایش یافت (جدول یک). به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره نوارگردان) استفاده شد. در طی این هشت هفته، موش‌های گروه‌های کنترل نیز بدون حرکت روی نوارگردان قرار گرفتند تا با آن آشنا شوند. تمام مراحل تمرین با رعایت اصل اضافه‌بار^۱ اجرا گردید (۴۴).

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی با رعایت اصل اضافه‌بار

هفته‌ها	سرعت (متر بر دقیقه)	مدت (دقیقه)	شیب (درصد)
اول	۵-۱۰	۱۰-۱۵	۱۰
دوم	۱۰-۱۴	۲۰	
سوم	۱۴-۱۸	۳۰	
چهارم	۱۸-۲۴	۴۰	
پنجم	۱۸-۲۴	۶۰	
ششم	۱۸-۲۴	۶۰	
هفتم	۱۸-۲۴	۶۰	
هشتم	۱۸-۲۴	۶۰	

نمونه‌برداری و ارزیابی آزمایشگاهی: با رعایت مسائل اخلاقی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین در پایان هفته هشتم (به منظور حذف اثر حاد تمرینات)، همه موش‌ها در همه گروه‌ها، وزن‌کشی شدند، سپس موش‌ها با تزریق محلول کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه، بیهوش و مورد جراحی قرار گرفتند و بافت عضله قلب آنها خارج شد. سپس بافت عضله قلب خارج و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زائد، به نیتروژن مایع انتقال یافته و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش، نگهداری شد.

نحوه استخراج RNA: استخراج RNA به وسیله دو کیت ۵۰ ری اکشن استخراج RNA ساخت شرکت یورکس^۲ کشور لهستان و طبق دستورالعمل کیت صورت گرفت. قبل از

1. Progressive overload
2. Yorks
3. Diethyl pyrocarbonate
4. Ribonuclease
5. Histidine

6. Complementary deoxyribonucleic acid
7. Reverse transcription polymerase chain reaction
8. Takara
9. Corbet rotor gene 6000

10. SYBR Green
11. Mastercycler gradient
12. Biomolecular systems
13. NORGEN

مربوط در (بانک ژن) پرایمرها و طراحی و انتخاب شده و سپس با نرم افزار الیگو ۷^۲ چک شدند و از لحاظ ارزیابی اختصاصی (نبی/پرایمر بلاست^۳) چک گردید (جدول دو). پس از اتمام فرآیند و به دست آمدن چرخه های آستانه^۴ (CT) سنجش بیان متغیرهای مورد نظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی (A2) صورت گرفت (۴۵).

جدول ۲. کد، توالی، طول محصول و دمای ذوب پرایمرهای استفاده شده در مطالعه

نام ژن	کد ژن (NCBI)	توالی پرایمر (5'-3')	طول محصول (bp)	دمای ذوب GC%
p53	NC-051345.1	Forward: 5'- CGGCTTTACTCTGCTGGTCA -3' Reverse: 5'- CAGCCAGGTGGGTAACATCG -3'	۱۸۵	۶۰
miR-34a	NC-051340.1	Forward: 5'- GGCAGTGTCTTAGCTGTTGT -3 Reverse: 5'- ACGTGCAGCACTTCTAGGG -3"	۷۹	۵۹

بیان نسبی ژن های p53 و miR-34a در بافت قلب موش های صحرایی پس از هشت هفته اجرای مداخله در گروه های مورد مطالعه، در جدول سه ارائه شده است. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه (جدول چهار) نشان داد که مقادیر بیان نسبی ژن های p53 ($p=0/001$)، miR-34a ($F_{(3,16)}=15/08$) و ($F_{(3,16)}=43/94$, $p=0/001$) بافت قلب موش های صحرایی بین گروه های مورد مطالعه تفاوت معنی داری دارد. نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی (جدول پنج) نشان داد که بیان نسبی p53 در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه های تمرین سالم و کنترل سالم به طور معنی داری بیشتر است ($p=0/001$)؛ در حالی است که تفاوت غیر

روش های تجزیه و تحلیل آماری داده ها؛ نتایج بر اساس تغییر فولد ژن خانه گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز^۵ (GAPDH) مشخص و نسبت به گروه کنترل نرمال سازی شد. از روش های آمار توصیفی برای دسته بندی داده های خام، تعیین میانگین ها و انحراف معیار استفاده شد. برای بررسی توزیع طبیعی داده ها، از آزمون شاپیرو-ویلک^۶ بهره برداری گردید. نهایتاً برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون تحلیل واریانس یکراهه^۷ و آزمون تعقیبی توکی^۸ استفاده شد. تمامی عملیات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۷، در سطح معنی داری $p<0/05$ صورت گرفت.

یافته ها

مقادیر (میانگین $\pm$ انحراف معیار) وزن بدن، گلوکز خون و

جدول ۳. مقادیر وزن بدن، گلوکز خون و بیان نسبی ژن های p53 و miR-34a

گروه ها	وزن (گرم) (پیش آزمون)	وزن (گرم) (پس آزمون)	گلوکز خون ناشتا (میلی گرم/دسی لیتر)	بیان نسبی p53	بیان نسبی miR-34a
کنترل سالم	252±23/32	295/60±18/83	92/2±9/49	1/00±0/03	0/99±0/08
تمرین سالم	254±19/39	306±23/19	88/2±9/95	1/06±0/05	1/18±0/21
کنترل دیابتی	230/40±36/39	212±64/23	396/2±33/58	1/38±0/17	2/37±0/30
تمرین دیابتی	221/20±22/34	217/20±36/56	133/2±17/92	1/20±0/06	1/93±0/20

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یکراهه در خصوص مقایسه شاخص های مورد مطالعه بین گروه ها

متغیرها	شاخص/منابع	میانگین مربعات	درجه آزادی	F	p
بیان نسبی p53	بین گروهی	0/14	3	15/08	0/001*
	درون گروهی	0/01	16		
بیان نسبی miR-34a	بین گروهی	2/08	3	43/94	0/001*
	درون گروهی	0/04	16		

* نشانه تفاوت معنی داری بین گروه ها در سطح $p<0/001$.

1. Primer express
2. Oligo 7
3. Nebi/primer blast

4. Cycle threshold
5. Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

6. Shapiro-Wilk
7. One-way analysis of variance
8. Tukey

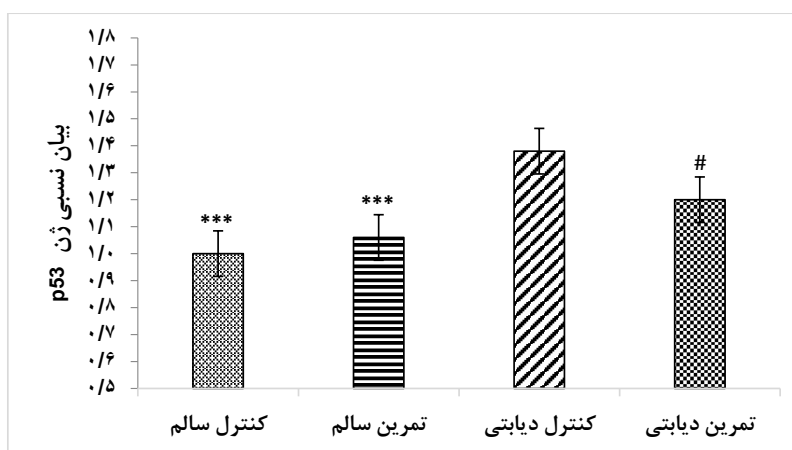
گروه‌های تمرین سالم و کنترل سالم، به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p=0/001$)؛ اما در گروه تمرین دیابت نسبت به گروه‌های کنترل دیابت ($p=0/02$)، پایین‌تر بود. این در حالی بود که تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین سالم با گروه کنترل سالم ($p=0/52$) مشاهده نشد (شکل دو).

معنی‌داری بین گروه تمرین دیابت نسبت به گروه‌های کنترل دیابت ($p=0/05$) و تمرین سالم ($p=0/13$) و تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل سالم ($p=0/02$) مشاهده شد. در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین سالم با گروه کنترل سالم ($p=0/73$) مشاهده نشد (شکل یک). بیان نسبی miR-34a در گروه کنترل دیابتی نسبت به

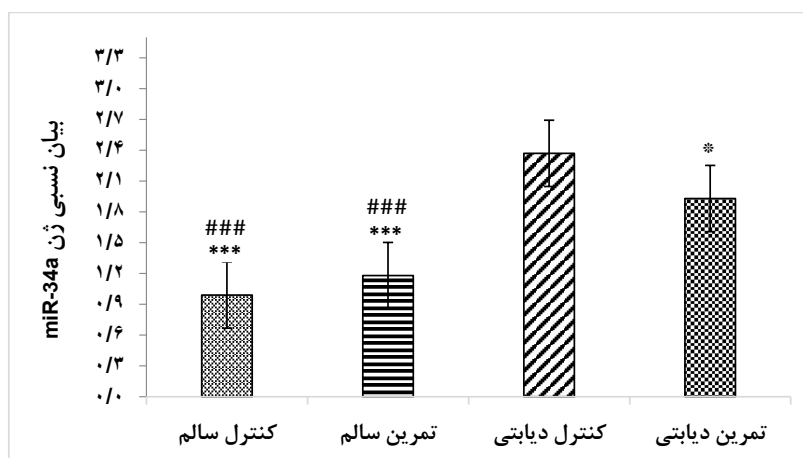
جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مورد مقایسه زوجی شاخص‌های بین گروه‌ها

بیان نسبی ژن miR-34a	بیان نسبی ژن p53	گروه‌ها
۰/۰۲*	۰/۰۵	کنترل دیابت
۰/۰۰۱*	۰/۱۳	تمرین سالم
۰/۰۰۱*	۰/۰۳*	کنترل سالم
۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	تمرین سالم
۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	کنترل سالم
۰/۵۲	۰/۷۳	کنترل سالم

*نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $p<0/05$.



شکل ۱. مقایسه بیان نسبی ژن p53 بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه: *** نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح $p<0/001$; # نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل سالم در سطح $p<0/05$.



شکل ۲. مقایسه بیان نسبی ژن miR-34a بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه: *** نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح $p<0/001$; * نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل دیابتی در سطح $p<0/05$; ### نشانه تفاوت معنی‌دار با گروه تمرین دیابتی در سطح $p<0/001$.

بحث

نتایج نشان داد که تمرین هوازی موجب کاهش بیان نسبی ژن های p53 و miR-34a در بافت قلب موش های دیابتی می شود؛ به طوری که کاهش miR-34a نسبت به گروه کنترل سالم و تمرین سالم از نظر آماری معنی دار نبود. این نتایج بیانگر نقش محافظتی تمرین هوازی در بهبود تنظیم ژن های مرتبط با آسیب قلبی در T2DM است. در این راستا، میتوان بیان کرد که نقش داشتن miRNA ها در سلامت عروق، تنظیم التهاب و بیماری های قلبی-عروقی مشخص است و بین miRNA ها و از جمله miR-34a با التهاب عروقی، آتروژنز و اختلال عملکرد اندوتلیال ارتباط وجود دارد (۱۶). miRNA ها در تنظیم متابولیسم چربی و گلوکز نقش مهمی دارند و در شروع چاقی و بیماری های مرتبط با چاقی اثرگذار هستند (۳۹).

هم راستا با یافته های تحقیق حاضر، الجراح و دیگران (۲۰۱۲)، کی و دیگران (۲۰۱۱) و رهبرغازی و دیگران (۲۰۲۳) گزارش کردند که اجرای تمرینات هوازی، سطح بیان ژن p53 را کاهش می دهد (۳۳-۳۵). قادرپور و دیگران (۲۰۲۱)، هم به این نتیجه رسیدند که دیابت باعث افزایش بیان ژن miR-34a و بیان پروتئین p53 می شود، اما ورزش کاهش بیان ژن miR-34a و بیان پروتئین p53 را در پی دارد (۳۶)، که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود.

با توجه به اینکه بیان ژن p53 با استرس اکسیداتیو تعامل دارد، افزایش استرس اکسیداتیو و بیان ژن p53 در بیماران قلبی می تواند به ترتیب به عنوان شاخص های قابل اعتماد برای گزارش آپوپتوزیس و آسیب DNA مطرح گردد (۴۶). از آنجایی که در افراد مبتلا به T2DM، نبود تعادل بین تولید ROS و عوامل ضد اکسایشی، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می شود، و نقش مهمی در ایجاد آپوپتوز در شرایط هیپرگلیسمی دارد؛ می توان گفت که تمرینات استقامتی از طریق کاهش استرس اکسایشی و افزایش ظرفیت ضد اکسایشی، در بیان و سنتز عوامل آپوپتوز تغییراتی ایجاد می کند (۴۷). به علاوه، اجرای تمرینات ورزشی نمایه بیان microRNA ها را تغییر می دهد (از جمله کاهش در miR-34a)، و اثرات تنظیمی مفیدی را در افراد مبتلا به T2DM ایجاد می کند (۳۱). همچنین، تمرینات هوازی می تواند باعث تغییرات فنوتیپی در میتوکندری

قلبی شود و این تغییرات که در اثر تغییر در محتوی و بیان عوامل آپوپتوز ایجاد می گردد، باعث میشود که میتوکندری ها در برابر آپوپتوز مقاوم تر شوند (۲۶). از جمله miRNA هایی که به فرآیند استرس اکسیداتیو واکنش نشان می دهند، miR-34a می باشد که توسط مسیرهای وابسته به p53 (miR-34a-5p and miR-1915-3p) و مستقل از p53 (miR-150-3p and miR-638) تنظیم می شوند (۴۸) و ممکن است ورزش با اثرگذاری بر کاهش استرس اکسیداتیو، به طور غیر مستقیم بر بیان ژن های p53 و miR-34a اثرگذار باشد. اکبری و دیگران (۲۰۲۲)، در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات هوازی، اثر حفاظتی بر (miR-126- miR-222 and miR-29a) قلبی دارد (۳۸). اشرفی و دیگران (۲۰۲۰) هم، اثر کاهشی ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با باند کشی بر میزان بیان miR-34a و عوامل خطرزای قلبی-عروقی را نشان دادند که با نتایج تحقیق حاضر همسو است (۳۹).

نتایج تحقیق حاضر مشابه با یافته های مرادپور و دیگران (۲۰۱۸)، است که در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات تناوبی با شدت بالا، منجر به کاهش سطوح پروتئین p53 می شود (۴۹). احتمال افزایش آسیب عضلانی ناشی از فشار مکانیکی و متابولیکی تمرین به دلیل درگیری عضلات زیاد و فعال شدن مسیر آپوپتوز با تمرین که به ویژه در تمرینات تناوبی با شدت بالا قابل توجه است، حتی در نمونه های سالم گزارش شده است (۵۰). هرچند این مطلب با نتایج تحقیق حاضر همسو نیست، چرا که محتوای p53 ناشی از تمرین هوازی در گروه تمرین سالم، تقریباً هم سطح با گروه کنترل سالم قرار داشت و منجر به افزایش محتوای پروتئین p53 نشد. با این حال، از جمله دلایل معنی دار نبودن کاهش p53 در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی در مطالعه حاضر را می توان به عواملی مثل تعداد آزمودنی ها، نوع، شدت، مدت، جلسات هفتگی تمرین و نوع آزمودنی ها مرتبط دانست. همچنین، علت افزایش p53 در گروه دیابت را هم می توان به استرس مکانیکی و متابولیکی نسبت داد. علیپور و دیگران (۲۰۲۰)، نیز نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین شنا، بیان ژن های miR-34a و p53 را در موش های دیابتی کاهش می دهد که با نتایج تحقیق حاضر همسو است (۵۱).

همچنین، یافته های تحقیق حاضر نشان داد که اجرای

هفته بود که ممکن است برای ایجاد تغییرات معنی‌دار در برخی ژن‌ها، ناکافی باشد. عدم بررسی سطح پروتئین‌های مربوطه (p53 و miR-34a) و محدود شدن به ارزیابی در سطح mRNA از دیگر محدودیت‌های تحقیق حاضر است. علاوه بر این، مطالعه تنها بر جنس نر از گونه موش‌های ویستار انجام شده و از این‌رو، تعمیم‌پذیری نتایج به گونه‌ها یا جنس‌های دیگر (به‌ویژه مدل‌های انسانی) نیازمند احتیاط است.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با اجرای هشت هفته تمرین هوازی می‌توان برخی از عوامل مورفولوژیکی و سلولی مخرب T2DM بر بافت قلبی را کاهش داد و اثر تمرین هوازی بر کاهش بیان ژن miR-34a می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی برای مبتلایان به T2DM در نظر گرفته شود. با توجه به اینکه مطالعات چندان‌ی در ارتباط با اثرات تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a وجود ندارد، لذا این احتمال به قوت خود باقی است که شدت، مدت و نوع تمرین می‌تواند در چگونگی پاسخ ژن p53 به تمرین و اثرات متقابل آن بر ژن miR-34a دخیل باشد؛ از این‌رو، نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه است.

تعارض منافع

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

قدردانی و تشکر

تحقیق حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز می‌باشد، که با هزینه شخصی دانشجو انجام شده است. نویسندگان از آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز به خاطر همکاری صمیمانه برای در اختیار گذاشتن و نگه‌داری حیوانات، تشکر می‌کنند.

تمرینات هوازی در گروه تمرینی سالم، در مقایسه با گروه کنترل سالم، اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a ندارد. این یافته با نتایج عبداللهی دیبا و دیگران (۲۰۲۲) همسو است، زیرا آنان در تحقیق خود نشان دادند که تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و p53 در عضله قلب موش‌های صحرایی نر ندارد (۴۰). در مقابل، قربان‌علیزاده و دیگران (۲۰۲۰)، اعلام کردند که تمرین هوازی منجر به افزایش بیان ژن‌های p53 در عضله قلبی می‌شود (۲۱). همچنین، شوفانگ و دیگران (۲۰۲۳) نیز با بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر نمایه بیانی mRNAها در بافت میوکارد رت‌ها، به این نتیجه رسیدند که اجرای تمرین، نمایه بیانی mRNAها را تغییر داد که این نتایج مغایر با نتایج تحقیق حاضر است (۳۷). از جمله دلایل افزایش در بیان ژن p53 در اثر تمرین هوازی، در تحقیق قربان‌علیزاده و دیگران ممکن است به علت مدت طولانی تمرینات (۱۲ هفته) و شدت بالای تمرینات (۷۵ الی ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) باشد، که منجر به کاهش دسترسی به اکسیژن و افزایش فشار اکسایشی و در نتیجه، افزایش بیان ژن p53 شده است (۲۱). به‌طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اجرای هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنی‌دار در بیان ژن miR-34a و کاهش غیر معنی‌دار در بیان ژن p53 در عضله قلب موش‌های مبتلا به T2DM شد و انجام این تمرینات در موش‌های سالم، اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های miR-34a و p53 ندارد. بنابراین، می‌توان بیان کرد که انجام این پروتکل تمرینی برای دیابتی‌ها مفید است و برای موش‌های سالم اثرات مفیدی ندارد. از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها اشاره کرد که ممکن است توان آماری کافی برای شناسایی تفاوت‌های معنی‌دار به‌ویژه، در بیان ژن p53 را کاهش داده باشد. همچنین، تمرکز تحقیق بر یک پروتکل تمرین با شدت متوسط و مدت زمان هشت

منابع

1. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan B, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, Regional and Country-Level Diabetes Prevalence Estimates for 2021 and Projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183, Article ID: 109119. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
2. Huang H, Luo Y, Wang Q, Zhang Y, Li Z, He R, et al. Vaccinium as a potential therapy for diabetes and microvascular complications. *Nutrients*. 2023;15(9):2031. <https://doi.org/10.3390/nu15092031>

3. Update A. Heart disease and stroke statistics–2017 update. *Circulation*. 2017;135:e146–e603.
4. Miki T, Yuda S, Kouzu H, Miura T. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. *Heart Failure Reviews*. 2013;18:149–66. <https://doi.org/10.1007/s10741-012-9313-3>
5. Ward M-L, Crossman DJ. Mechanisms underlying the impaired contractility of diabetic cardiomyopathy. *World Journal of Cardiology*. 2014;6(7):577. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i7.577>
6. Palazzuoli A, Iacoviello M. Diabetes leading to heart failure and heart failure leading to diabetes: epidemiological and clinical evidence. *Heart Failure Reviews*. 2023;28(3):585–96. <https://doi.org/10.1007/s10741-022-10238-6>
7. Shantikumar S, Caporali A, Emanuelli C. Role of microRNAs in diabetes and its cardiovascular complications. *Cardiovascular Research*. 2012;93(4):583–93. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr300>
8. Ceman S, Saugstad J. MicroRNAs: Meta-controllers of gene expression in synaptic activity emerge as genetic and diagnostic markers of human disease. *Pharmacology & Therapeutics*. 2011;130(1):26–37. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.004>
9. Aval SF, Lotfi H, Sheervalilou R, Zarghami N. Tuning of major signaling networks (TGF- β , Wnt, Notch, and Hedgehog) by miRNAs in human stem cells commitment to different lineages: Possible clinical application. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;91:849–60. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.020>
10. Guay C, Roggli E, Nesca V, Jacovetti C, Regazzi R. Diabetes mellitus, a microRNA-related disease? *Translational Research*. 2011;157(4):253–64. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.01.009>
11. Matsuyama H, Suzuki HI. Systems and synthetic microRNA biology: from biogenesis to disease pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;21(1):132. <https://doi.org/10.3390/ijms21010132>
12. Hammond SM. An overview of microRNAs. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2015;87:3–14. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.001>
13. Navarro F, Lieberman J. miR-34 and p53: new insights into a complex functional relationship. *PLOS One*. 2015;10(7):e0132767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132767>
14. Li L. Regulatory mechanisms and clinical perspectives of miR-34a in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2014;10(4):805–10. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.146084>
15. Chang T-C, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Molecular Cell*. 2007;26(5):745–52. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.05.010>
16. Seyhan AA, Nunez Lopez YO, Xie H, Yi F, Mathews C, Pasarica M, et al. Pancreas-enriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: a pilot cross-sectional study. *Scientific Reports*. 2016;6(1):31479. <https://doi.org/10.1038/srep31479>
17. Lin X, Guan H, Huang Z, Liu J, Li H, Wei G, et al. Downregulation of Bcl-2 expression by miR-34a mediates palmitate-induced Min6 cells. *Journal of Diabetes Research*. 2014;2014(1):258695. <https://doi.org/10.1155/2014/258695>

18. Ni T, Lin N, Lu W, Sun Z, Lin H, Chi J, et al. Dihydromyricetin prevents diabetic cardiomyopathy via miR-34a suppression by activating autophagy. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2020;34:291–301. <https://doi.org/10.1007/s10557-020-06968-0>
19. Jiao D, Zhang H, Jiang Z, Huang W, Liu Z, Wang Z, et al. MicroRNA-34a targets sirtuin 1 and leads to diabetes-induced testicular apoptotic cell death. *Journal of Molecular Medicine*. 2018;96:939–49. <https://doi.org/10.1007/s00109-018-1667-0>
20. Backe MB, Novotny GW, Christensen DP, Grunnet LG, Mandrup-Poulsen T. Altering β -cell number through stable alteration of miR-21 and miR-34a expression. *Islets*. 2014;6(1):e27754. <https://doi.org/10.4161/isl.27754>
21. Ghorbanalizadeh M, Gholami F. Effect of 12-week aerobic training on cardiac p53 and AIF gene expression in male rats. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences*. 2020;42(3):310–8. [In Persian]. <https://doi.org/10.34172/mj.2020.050>
22. Kung C-P, Murphy ME. The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *The Journal of Endocrinology*. 2016;231(2):R61. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0324>
23. Jokar M, Moghadam MS. Effect of 4 weeks of high-intensity interval training on P53 and caspase-3 protein content in the heart muscle tissue of rats with type 1 diabetes. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2021. [In Persian]. <https://doi.org/10.18502/ssu.v29i11.8502>
24. Sharafi H, Rahimi R. The effect of resistance exercise on p53, caspase-9, and caspase-3 in trained and untrained men. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2012;26(4):1142–8. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31822e58e5>
25. Flores-López LA, Díaz-Flores M, García-Macedo R, Ávalos-Rodríguez A, Vergara-Onofre M, Cruz M, et al. High glucose induces mitochondrial p53 phosphorylation by p38 MAPK in pancreatic RINm5F cells. *Molecular Biology Reports*. 2013;40:4947–58. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2595-2>
26. Tavana O, Gu W. Modulation of the p53/MDM2 interplay by HAUSP inhibitors. *Journal of Molecular Cell Biology*. 2017;9(1):45–52. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw049>
27. Lee J, Kang Y, Khare V, Jin Z, Kang M, Yoon Y, et al. The p53-inducible gene 3 (PIG3) contributes to early cellular response to DNA damage. *Oncogene*. 2010;29(10):1431–50. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.438>
28. Schwingshackl L, Missbach B, Dias S, König J, Hoffmann G. Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *Diabetologia*. 2014;57(9):1789–97. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3303-z>
29. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2016;59:56–66. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3741-2>
30. Wilson GA, Wilkins GT, Cotter JD, Lamberts RR, Lal S, Baldi JC. HIIT Improves Left Ventricular Exercise Response in Adults with Type 2 Diabetes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2019;51(6):1099–105. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001897>

31. Improta Caria AC, Nonaka CKV, Pereira CS, Soares MBP, Macambira SG, Souza BSdF. Exercise training-induced changes in microRNAs: beneficial regulatory effects in hypertension, type 2 diabetes, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(11):3608. <https://doi.org/10.3390/ijms19113608>
32. da Silva FC, da Rosa Iop R, Andrade A, Costa VP, Gutierrez Filho PJB, da Silva R. Effects of physical exercise on the expression of microRNAs: a systematic review. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2020;34(1):270–80. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003103>
33. Al-Jarrah M, Ahmad MB, Maayah M, Al-Khatib A. Effect of exercise training on the expression of p53 and iNOS in the cardiac muscle of type I diabetic rats. *Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012;2(4-5):176–80. <https://doi.org/10.4021/jem123e>
34. Rahbarghazi A, Alamdari KA, Rahbarghazi R, Salehi-Pourmehr H. Co-administration of exercise training and melatonin on the function of diabetic heart tissue: a systematic review and meta-analysis of rodent models. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2023;15(1):67. <https://doi.org/10.1186/s13098-023-01045-6>
35. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;50(7):794–800. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022>
36. Gaderpour S, Ghiasi R, Hamidian G, Heydari H, Keyhanmanesh R. Voluntary exercise improves spermatogenesis and testicular apoptosis in type 2 diabetic rats through alteration in oxidative stress and mir-34a/SIRT1/p53 pathway. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2021;24(1):58. [In Persian]. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.49498>
37. Shu-fang H, Jia-ying L, Min Y, Jie F, Bin L, Zheng W, et al. Effect of endurance training on the expression profile of circRNA/lncRNA-miRNA-mRNA in myocardial tissues of mice after exhaustive exercise. *Journal of Hainan Medical University*. 2023;29(3). [Accession Number: 162709665](#)
38. Akbari J, Shirvani H, Shamsoddini A, Bazgir B, Samadi M. Investigation of expression of myocardial miR-126, miR-29a, and miR-222 as a potential marker in STZ-induced diabetic rats following interval and continuous exercise training. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2022;17. <https://doi.org/10.1007/s40200-021-00957-2>
39. Ashrafi, Bolboli, Lotfa Ali, Khazani, Asadi, Asadollah. The effect of 12 weeks of resistance training with elastic bands on the expression level of mir-34a and cardiovascular risk factors in obese elderly women. *Journal of Applied Exercise Physiology*. 2020;16(31):15–29. [In Persian]. <https://doi.org/10.22080/JAEP.2019.16103.1867>
40. Abdollahi-Diba M, Bashiri J, Pourmanaf H, Fekri-Kourabbaslou V. The effect of endurance exercise and rosehip extract supplementation on the expression of P53 and cytochrome C genes in male rat heart. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 2022;14(4):246. <https://doi.org/10.34172/jcvtr.2022.31599>
41. Kim H, Bae Y-U, Lee H, Kim H, Jeon JS, Noh H, et al. Effect of diabetes on exosomal miRNA profile in patients with obesity. *BMJ Open Diabetes Research & Care*. 2020;8(1). <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-001403>
42. Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, Venkatesan V, Ariyattu Madhavan CN, Agarwal A. An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. *BioMed Research International*. 2013;2013(1):752870. <https://doi.org/10.1155/2013/752870>

43. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Research*. 2005;52(4):313–20. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>
44. Rashwan Ismael B, Piralaiy E, D. Nikoukheslat S, Hamidiyan G. The effect of eight weeks of aerobic training on miR-30c gene expression and glycemic Indices in heart tissue of type 2 diabetic Rats. *Journal of Sport Biosciences*. 2024;16(3):21–38. [In Persian]. <https://doi.org/10.22059/jsb.2024.370737.1624>
45. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, Nadal-Ginard B, Torella D, Ellison GM. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *European Heart Journal*. 2014 Oct 14;35(39):2722-31. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs338>
46. Tabatabaeipناه S, Akbarzadeh R, Khodayi Z, Ghaderian S. Increased oxidative stress and expression of p53, bax, and bcl2 genes in patients with acute myocardial infarction. *Daneshvar Pezeshki*. 2020;23(5):1–10. [In Persian].
47. Nguyen T, Nioi P, Pickett CB. The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*. 2009;284(20):13291–5. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900010200>
48. Wan Y, Cui R, Gu J, Zhang X, Xiang X, Liu C, et al. Identification of Four Oxidative Stress-Responsive MicroRNAs, miR-34a-5p, miR-1915-3p, miR-638, and miR-150-3p, in Hepatocellular Carcinoma. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:5189138. <https://doi.org/10.1155/2017/5189138>
49. Moradpour P, Daryanoosh F, Dashtiyani A, Taghi M, Jamhiri I. Impact of 6 weeks of intensive intermittent training with taking vitamin E on P53 changes in blood serum levels and visceral adipose tissue in Sprague-Dawley rats. *Sport Science*. 2017;10(Suppl. 1):98–103. [In Persian]. <https://doi.org/10.5555/20183110814>
50. Marzetti E, Lawler JM, Hiona A, Manini T, Seo AY, Leeuwenburgh C. Modulation of age-induced apoptotic signaling and cellular remodeling by exercise and calorie restriction in skeletal muscle. *Free Radical Biology and Medicine*. 2008;44(2):160–8. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.028>
51. Alipour MR, Naderi R, Alihemmati A, Sheervalilou R, Ghiasi R. Swimming training attenuates pancreatic apoptosis through miR-34a/Sirtu1 in P53 Axis in high-fat diet and Streptozotocin-induced Type-2 diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2020;19(2):1439–46. <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00670-6>