Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

The effect of aerobic training on the expression genes of p53 and miR-34a in the heart tissue of type 2 diabetic rats

Badrkhan Rashwan Ismael [1], Elaheh Piralaiy [2*], Saeid D. Nikoukheslat [3], Alireza Rashidpour [4], Gholamreza Hamidian [5]

1. Ph.D student, Exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran. . E-mail: badrxanr@gmail.com
2. Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: epiralaiy@tabrizu.ac.ir
3. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran .. E-mail: saeidnikoukheslat@gmail.com
4. Master's Student in Exercise physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: alirezarashidpour9797@gmail.com
5. Associate Professor in Comparative Histology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. hamidian@tabrizu.ac.ir

* Corresponding Author, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: epiralaiy@tabrizu.ac.ir

Abstract

Background and Aim: Previous research has shown the damaging effects of p53 and miR-34a in type 2 diabetes. However, the effects of exercise training on p53 and miR-34a changes in heart tissue in rats with type 2 diabetes are unclear. Therefore, This study intended to study the effects of aerobic training on the expression genes of p53 and miR-34a in the heart tissue of type 2 diabetic rats. **Materials and Methods:**For this purpose, 20 male Wistar rats (mean 28±239 g, age 6-8 weeks) were randomly divided into four groups including diabetic control, healthy control, diabetic training, and healthy training. Animal food was provided in the form of free access pellets and water in a 500 ml bottle. To induce type 2 diabetes, a high-fat diet (60%) was performed for two weeks followed by streptozotocin injection in a fasting state. The training protocol comprised eight weeks of running on a treadmill for 30-60 minutes at a speed of 5-10 m/min, five days a week, with the principle of overload. The p53 and miR-34a gene expression in the heart tissue samples was measured by Real-Time PCR. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey post hoc test at the $P < 0.05$. **Results:** Eight weeks of T2DM infection resulted in a significant increase in p53 and miR-34a compared to healthy control and healthy training groups (p=0.0001). However, eight weeks of aerobic training showed a significant decrease in miR-34a gene expression (p=0.02) and a non-significant change in p53 gene expression (p=0.05) compared to the diabetic control group. **Conclusion:** It seems that part of the destructive morphological and cellular effects of type 2 diabetes on heart tissue can be affected through the effects of eight weeks of aerobic training on miR-34a gene expression. However, different training conditions may be needed to see a reduction in p53. **Keywords:** Aerobic training, Heart tissue, Type 2 diabetes, Rats, miR-34a gene expression, p53 gene expression.

مطالعات کاربردی
علوم زیستی در ورزش

تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو

بدرخان رشوان اسماعیل[۱]، **الهه پیرعلائی**[۲*]، **سعید دباغ نیکوخصلت**[۳]، **علیرضا رشیدپور**[۴]، غلامرضا حمیدیان[۵]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: badrxanr@gmail.com
۲. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: epiralaiy@tabrizu.ac.ir
۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: saeidnikoukheslat@gmail.com
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۵. دانشیار بافت شناسی مقایسه‌ای، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: hamidian@tabrizu.ac.ir

* نویسنده مسئول: گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: epiralaiy@tabrizu.ac.ir

نسخه پیش از انتشار

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات قبلی اثرات مخرب p53 و miR-34a در دیابت نوع دو را نشان داده‌اند. با این حال، اثرات تمرینات ورزشی بر تغییرات p53 و miR-34a بافت قلبی موش‌های مبتلاء به دیابت نوع دو نامشخص است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو انجام شد. **روش تحقیق:** برای این منظور، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (میانگین ۲۸±۲۳۹ گرم، سن شش الی هشت هفته‌ای) به صورت تصادفی به چهار گروه شامل گروه 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 میلی‌لیتری ارائه شد. برای القاء دیابت نوع دو، رژیم غذایی پرچرب (۶۰ درصد) به مدت دو هفته و سپس تزریق استرپتوزوسین در حالت ناشتا صورت گرفت. پروتکل تمرینی شامل هشت هفته دویدن روی تردمیل به مدت ۳۰-۶۰ دقیقه با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه، پنج روز در هفته و با رعایت اصل اضافه بار بود. بیان ژن‌های p53 و miR-34a در نمونه‌های بافت قلب با Real-Time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $p\leq ۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. **یافته‌ها:** هشت هفته ابتلاء به دیابت منجر به افزایش معنی‌دار p53 و miR-34a نسبت به گروه‌های کنترل سالم و تمرین سالم شد ($p=۰/۰۰۰۱$). با این حال، هشت هفته تمرین هوازی کاهش معنی‌دار بیان ژن miR-34a ($p=۰/۰۲$) و عدم تغییر معنی‌دار بیان ژن p53 ($p=۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل دیابتی را به همراه داشت. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد بخشی از تأثیرات مورفولوژیکی و سلولی مخرب

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

دیابت نوع دو بر بافت قلبی، از طریق اثرات هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن miR-34a تحت تأثیر قرار گیرد؛ اما احتمالاً برای مشاهده تأثیرات کاهشی بر p53 به شرایط تمرینی متفاوتی نیاز باشد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، بافت قلب، دیابت نوع دو، موش‌های صحرایی، بیان ژن miR-34a، بیان ژن p53.

مقدمه

دیابت قندی یکی از بحرانی‌ترین نگرانی‌های بهداشت جهانی است که شیوع آن به سرعت در حال رشد است و دیابت نوع دو[1](T2DM) تقریبا ۹۰ تا ۹۵ درصد از کل موارد دیابت را تشکیل می‌دهد و به شدت با سبک زندگی ناسالم مانند رژیم‌های غذایی پرانرژی و رفتارهای کم‌تحرک مرتبط است (سون[2]و دیگران، ۲۰۲۲). بروز عوارض قلبی-عروقی دیابت نیز به سرعت در حال افزایش بوده و بار افراد مبتلا به دیابت و مصرف منابع پزشکی رو به افزایش است (هونگ[3]و دیگران، ۲۰۲۳). از این‌رو، بیماری‌های قلبی-عروقی از دلایل اصلی مرگ و میر در بیماران دیابتی و آسیب قلبی ناشی از آترواسکلروز و کاردیومیوپاتی مرتبط با دیابت به شمار می‌رود (گو[4] و دیگران، ۲۰۱۴). پاتوفیزیولوژی بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماران مبتلاء به دیابت نوع دو کاملا درک نشده است و سازوکارهای متعددی از جمله هایپرتروفی میوسیت، فیبروز میوکارد، اختلال در انقباض عضلانی، عملکردهای کلسیم و میتوکندری، همچنین سیگنالینگ اکسید نیتریک[5](NOS) می‌توانند نقش داشته باشند (میکی[6]و دیگران، ۲۰۱۳؛ وارد و کراسمن[7] ۲۰۱۴). همچنین، بیماری دیابت نوع دو با ایجاد بیماری‌هایی مانند فشار خون بالا، بیماری عروق کرونر، اختلال عملکرد کلیه، چاقی و سایر اختلالات متابولیک، نقش مهمی در شروع نارسایی قلبی[8](HF) دارد (پالازولی و لاکوویلو[9] ۲۰۲۳).

همچنان که مشخص است، در افراد مبتلا به دیابت نوع دو، خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی بیشتر است. تحقیقات اخیر نشان داده‌است که میکرو ریبونوکلئیک اسید ها[10] (miRNA)ها نقش مهمی در پاتوژنز دیابت و عوارض قلبی عروقی مرتبط با آن دارند (شانتیکومار[11]و دیگران، ۲۰۱۲). microRNAها که ریبونوکلئیک اسید[12](RNA)های کوچک غیر کدکننده تک رشته‌ای ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتیدی هستند، در انواع فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله هموستاز گلوکز نقش دارند (سمن و سگستد[13]۲۰۱۱). در واقع، امروزه، بسیاری از مطالعات تمایل دارند بر نقش کلیدی RNAهای کدکننده غیر پروتئینی در توسعه و پیشرفت دیابت نوع دو تمرکز کنند، microRNAها که درون‌زا و بسیار حفاظت شده هستند در رویدادهای مهم بیولوژیکی و فیزیولوژیکی (شیروالیلو و دیگران،

1 . Type 2 Diabetes Mellitus
2 . Sun
3 . Huang
4 Go
5 Nitric oxide signaling
6 Miki
7. Ward & Crossman
8Heart failure
9 Palazzuoli & Iacoviello
10micro Ribonucleic acid
11shantikumar
12Ribonucleic acid
13Ceman & Saugstad

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

۲۰۱۷)، مانند تکثیر، توسعه و تمایز، التهاب، اکسیداسیون دخیل هستند (گوای[1]و دیگران، ۲۰۱۱؛ اول[2]و دیگران، ۲۰۱۷). همچنین،microRNAها می‌توانند بیان ژن‌های هدف و در نتیجه بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مهم مانند آپوپتوز، اتوفاژی، پاسخ ایمنی و غیره را تعدیل کنند (ماتسویاما و سوزوکی[3]، ۲۰۱۹). microRNAها عامل مرکزی در تنظیم پس‌رونویسی در حیوانات و گیاهان هستند و به ناحیه غیرترجمه شونده '3 (3' -UTR) در مولکول‌های هدف یعنی mRNAها وصل می‌شوند و از طریق افزایش یا مهار ترجمه آنها، به‌صورت منفی بیان آنها را تنظیم می‌نمایند (هاموند[4]، ۲۰۱۵).

از جمله microRNAها،[5]miR-34 است که یک خانواده microRNA سرکوبگر تومور است و به صورت رونویسی توسط پروتئین p53[6] فعال می‌شود و در واقع، یک واسطه حیاتی برای عملکرد p53 در نظر گرفته می‌شود (ناوارو و لیبرمن[7]، ۲۰۱۵). جایگاه ژن miR-34a در کروموزوم 1p36.22 قرار دارد و این ژن هیچ RNA یا پروتئین غیر کدکننده دیگری را کد نمی‌کند (لی[8]، ۲۰۱۴). می‌توان بیان کرد که پروتئین p53 به عنوان یک فاکتور رونویسی عمل می‌کند که بیان چندین microRNA از جمله miR-34 و هم گروه آن را تنظیم می‌کند. miR-34a جزء مهم شبکه تنظیمی پیچیده p53 است (چنگ و دیگران[9]، ۲۰۰۷). در حالی که p53 باعث رونویسی miR-34a می‌شود، miR-34a می‌تواند بیان و فعالیت پروتئین p53 را به صورت مثبت و منفی تنظیم کند (ناوارو و لیبرمن، ۲۰۱۵). miR-34a در لوزالمعده غنی شده است که نقش خاصی در سلول‌های β دارد (سیهان[10]و دیگران، ۲۰۱۶). افزایش تنظیم miR-34a با اختلال در عملکرد سلول های β و افزایش نرخ آپوپتوز آنها مرتبط است (لین[11]و دیگران، ۲۰۱۴). در یک تحقیق نشان داده شد که miR-34a در بافت‌های قلبی بیماران دیابتی و موش‌ها، بیش فعال می‌شود و منجر به کاردیومیوپاتی دیابتی[12](DCM) می‌شود (نی[13]و دیگران، ۲۰۲۰). محققان تأیید کردند که miR-34a در دیابت نوع دو افزایش می‌یابد و کاهش miR-34a آپوپتوز سلول‌های β پانکراس را مهار می‌کند و بنابراین تعداد سلول‌های β را حفظ می‌کند (جیائو[14]و دیگران، ۲۰۱۸؛ بیک[15]و دیگران، ۲۰۱۴).

p53 یکی از مهم‌ترین سرکوب‌گرهای تومور به شمار می‌رود که در پاسخ به عوامل مختلفی از استرس سلولی مانند آسیب دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسید[16](DNA)، هایپوکسی شدید، پیری سلولی و فشارهای اکسایشی بالا، افزایش یافته و فعال می‌شود (قربانعلی‌زاده و دیگران، ۲۰۲۰). مطالعات اخیر نیز نشان می‌دهد که p53 نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های متابولیک از جمله دیابت نوع دو دارد (کونگ و مورفی[17]، ۲۰۱۶). همچنین پروتئین p53 در تنظیم آپوپتوز نقش مهمی دارد، و توسط گونه‌های اکسیژن فعال[18]

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

1. Guay
2. Aval
3. Matsuyama & Suzuki
4. Hammond
5. MicroRNA 34a
6. p53 protein
7. Navarro & Lieberman
8. Li
9. Chang
10. Seyhan
11. Lin
12. Dilated cardiomyopathy
13. Ni
14. Jiao
15. Backe
16. Deoxyribonucleic acid
17. Kung & Murphy
18. Reactive Oxygen Species

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

(ROS) تنظیم می‌شود (جوکار و شرافتی مقدم، ۲۰۲۱). P53 با پروتئین‌های مختلف در غشای خارجی میتوکندری مانند پروتئین های ضدآپوپتوز Bel-۲ و Bel-x تعامل می‌کند تا فعالیت آنها را مسدود کرده و آپوپتوز را القا کند (شریفی و رحیمی، ۲۰۱۲). نشان داده شده است که هیپرگلیسمی از طریق فعال شدن p53 باعث آپوپتوز سلولی می‌شود (فلورز - لوپز[1] و دیگران، ۲۰۱۳). برای مثال، مشخص شده است که p53 بیان ناقل گلوکز ۱[2](GLUT1) را که در جذب گلوکز به سلول‌ها نقش دارد، سرکوب می‌کند و در نتیجه منجر به هیپرگلیسمی می‌شود (تاوانا و گو[3]، ۲۰۱۷). p53 همچنین بر چندین مسیر متابولیک دیگر از جمله متابولیسم گلوکز تأثیر می‌گذارد و می‌تواند به مقاومت به انسولین، که مشخصه دیابت نوع دو است، کمک می‌کند، که مکانیسمی شامل توانایی p53 برای القای بیان ژن‌هایی است که مسیر سیگنال‌دهی گیرنده انسولین را مهار می‌کنند و در نتیجه منجر به مقاومت به انسولین می‌شود (لی و دیگران، ۲۰۱۰).

عامل مهمی که در پیشگیری و درمان بیماری دیابت نوع دو می‌تواند مورد توجه واقع شود، فعالیت بدنی است. تمرینات ورزشی هوازی سبب بهبود ظرفیت و عملکرد قلب، و کیفیت زندگی بهتر می‌شود (فلین و دیگران، ۲۰۰۹). ورزش در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو عوامل خطرزای قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد و کنترل قند خون، ظرفیت عملکردی و قدرت عضلات را بهبود می‌بخشد (شوینگ شاکل[4] و دیگران، ۲۰۱۴). در پژوهش‌های اخیر، حمایت‌هایی برای استفاده از تمرینات برای کنترل گلوکز و بهبود عملکرد قلب در دیابت نوع دو فراهم شده است (کسیدی[5] و دیگران، ۲۰۱۶؛ ویلسون[6] و دیگران، ۲۰۱۹). همچنین تمرین ورزشی نمایه بیان microRNAsها را تغییر می‌دهد که اثرات تنظیمی مفیدی را در دیابت نوع دو دارد (امپروتاکاریا[7] و دیگران، ۲۰۱۸). به عبارت دیگر، اثر مفید ورزش، کاهش miR-34a است. تولید بیش از حد miR-34a ممکن است آپوپتوز را افزایش دهد (لین[8] و دیگران، ۲۰۱۴). در همین راستا، miRNAها به عنوان اهداف درمانی برای بهبود ظرفیت ورزش در افراد مبتلا به بیماری دیابت نوع دو کمک می‌کند (دا سیلفا و دیگران، ۲۰۲۰). از طرفی دیگر، بیماران دیابت نوع دو مستعد عارضه کاردیومیوپاتی و مرگ سلولی در قلب خود هستند. بنابراین، تمرینات ورزشی می‌تواند عامل غیردارویی مهمی به‌عنوان یک عامل محافظتی برای قلب بیماران دیابت نوع دو در نظر گرفته شود.

در راستای بررسی اثرات ورزش و فعالیت بدنی بر سطح بیان p53 در دیابت نوع دو ، الجراح و دیگران (۲۰۱۲) در مطالعه روی ۴۰ موش صحرایی اسپراگ داولی، اثر تمرینات هوازی دویدن چهار هفته‌ای روی تردمیل (۴۰ دقیقه در روز به مدت ۵ روز در هفته با سرعت ۱۸ متر در دقیقه) را بررسی کردند؛ نتایج نشان داد که تمرین هوازی سطح بیان p53 را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین بیان کردند که تمرینات ورزشی تا حدودی عوارض دیابت را در قلب دیابتی کاهش می‌دهد. همچنین رهبرغازی و دیگران (۲۰۲۳) هم در تحقیقی با هدف بررسی اثر تمرین ورزشی بر عملکرد بافت قلب دیابتی نشان دادند که در جوندگان دیابتی، تمرینات ورزشی سطوح p53 را کاهش داد. در همین راستا کی[9] و دیگران (۲۰۱۱)، کاهش معنی‌دار مقادیر p53 را با هشت هفته تمرین نوارگردان با سرعت ۲۰ متر در دقیقه به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه برای شش روز هفته در بافت عضلانی موش‌های دیابت نوع دو نشان دادند. قادرپور و دیگران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای که روی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار انجام دادند به این نتیجه رسیدند که

1 Flores-López
2 Glucose transporter 1
3 Tavana & Gu
4 Schwingshackl
5 Cassidy
6 Wilson
7. Improta Caria
8 Lin
9 Qi

دیابت باعث افزایش بیان miR-34a و بیان پروتئین p53 می‌شود و در مقابل ورزش باعث کاهش بیان miR-34a و بیان پروتئین p53 شد. شوفانگ[1] و دیگران (۲۰۲۳)، به بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر نمایه بیانی miRNAهای غیرکدکننده حلقوی، ریز RNA و RNA پیامرسان[2] و در بافت میوکارد رت‌ها پرداختند و به این نتیجه رسیدند که انجام تمرین، نمایه بیانی miRNAها را تغییر داد. همچنین، اکبری و دیگران (۲۰۲۲)، اثر حفاظتی ۶ 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 است و منجربه افزایش بیان ژن‌های مورد مطالع شده و تمرین تناوبی مقداری بهتر از تداومی بوده است. اشرفی و دیگران (۲۰۱۹)، نیز به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با باند کشی بر میزان بیان mir-34a و فاکتورهای خطرزای قلبی عروقی در زنان سالمند پرداختند. آنان به این نتیجه رسیدند که انجام تمرینات مقاومتی مربوطه باعث کاهش در بیان mir-34a شد. در مقابل، قربانعلی‌زاده و دیگران (۲۰۱۹)، به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و عامل القا کننده آپوپتوز[3](AIF) عضله قلبی در موش‌های صحرایی نر پرداختند و اعلام کردند که در مقایسه با گروه کنترل، میزان بیان ژن‌های p53 و AIF در عضله قلبی افزایش داشت. در مقابل، عبداللهی دیبا و دیگران (۲۰۲۲)، به بررسی اثر ۱۲ هفته تمرینات استقامتی بر بیان ژن‌های p53 و سیتوکروم C در میوکارد موش‌های صحرایی نر پرداختند. آنان نشان دادند که تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و p53 در عضله قلب موش‌های صحرایی نر نداشت که ممکن تفاوت در پروتکل تمرینی دلیلی بر تفاوت یافته‌های آنان با سایرین باشد.

حدود یک میلیون microRNA در سلول‌های بدن وجود دارد که ۲۵۰۰ مورد از آنها می‌توانند در مهار تولید پروتئین‌ها نقش داشته باشند. microRNAها نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌ها دارند و این مولکول‌های تک‌رشته‌ای می‌توانند نوع خاصی از اصلاح مولکولی را تحمل کنند که این امر دارای اثرات فیزیولوژیکی مهمی می‌باشد. لذا مطالعه نقش microRNAها در ارتباط با بیماری‌ها باید مورد توجه باشد. همچنین، سلول‌های بتای پانکراس و بافت‌های هدف انسولین، مجموعه‌ای از microRNAها را بیان می‌کنند. مثلا mir-375 که بیان ژن‌های فعال در ترشح هورمون انسولین و گسترش توده سلول‌های بتا در پاسخ به مقاومت به انسولین را تنظیم می‌کند، به طور زیادی در جزایر لانگرهانس بیان می‌شود (لی[4] و دیگران، ۲۰۲۳). از سوی دیگر، ثابت شده است که بیان microRNAهای سلول‌های بتا و بافت‌های هدف انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو دچار تغییر شده که احتمالا به‌دلیل عملکرد ناقص این بافت‌ها تحت شرایط بیماری است (کیم[5] و دیگران، ۲۰۲۰). همچنین، در بحث پیشگیری و درمان دیابت نوع دو، توجه به مقوله فعالیت بدنی و به‌ویژه فعالیت هوازی می‌تواند مورد توجه باشد و microRNAهای قلبی تعدیل‌کننده‌های کلیدی بیان ژن در قلب هستند و در تنظیم رونویسی و پس‌رونویسی در کاردیومیوپاتی دیابتی نقش دارند (اکبری و دیگران، ۲۰۲۲). لذا در این راستا با توجه به نقشmicroRNAها در بیماری‌ها و از جمله بیماری دیابت، و اهمیت فعالیت هوازی در مقابله و درمان دیابت نوع دو و همچنین وجود تناقض در تحقیقات مربوطه به اثرات فعالیت بدنی بر microRNAها ، هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو می‌باشد.

روش تحقیق

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

1 Shu-fang
2 Circrnalncrna-mirna-mrna
3 Apoptosis Inducing Factor
4 Li
5 Kim

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

آزمودنی‌های تحقیق: تحقیق حاضر از نوع مطالعات تجربی-آزمایشگاهی در قالب یک طرح پس‌ازمون یک عاملی است. که بر اساس مقررات نحوه کار با حیوانات ازمایشگاهی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با شناسه R.TABRIZU.REC.1402.022 انجام شد. برای این منظور، تعداد ۲۰ سر موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری، به روش در دسترس از ازمایشگاه حیوانی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز با سن شش الی هشت هفته‌ای و میانگین وزن ۲۸±۲۳۹ گرم، تهیه شدند و در همان ازمایشگاه مورد مطالعه قرار گرفتند. به‌منظور ایجاد سازگاری با محیط، جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژی، تمامی موش‌ها دو هفته استقرار در آزمایشگاه ویژه حیوانات با شرایط محیطی و همچنین دوره اجرای پروتکل در قالب گروه‌های چهار سر موش در قفس‌های پلی‌اتیلن در دمای محیطی با ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، 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 موش‌های صحرایی (به‌غیر از گروه‌های کنترل سالم و کنترل دیابتی) به مدت هفت روز 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 ۵-۱۰ دقیقه در روز بود. در پایان این دوره، موش‌ها به چهار گروه شامل گروه کنترل سالم[1](HC)، گروه تمرین سالم[2](HT)، گروه کنترل دیابتی[3](DC) ، و گروه تمرین دیابتی[4] (DT) تقسیم شدند.

روش القاء دیابت: بعد از دو هفته و ایجاد وضعیت مقاومت به انسولین، تعداد ۱۰ سر از موش‌های صحرایی (گروه‌های کنترل دیابتی و تمرین دیابتی) به‌منظور القای دیابت، ابتدا از مصرف رژیم غذای پرچرب[5](HFD ۶۰ درصد کیلوکالری از چربی) به صورت تجاری (D12492، رژیم‌های تحقیقاتی) شامل ۲۰ درصد پروتئین، ۲۰ درصد کربوهیدرات و ۶۰ درصد چربی بود (ساسیدهران[6]و دیگران، ۲۰۱۳). سپس با تزریق داخل صفاتی استروپتوزوسین[7]یا (STZ) دوز پایین (۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، از محلول بافری سیترات سدیم 0/1 مولار با pH= ۴/۵ در کنار یخ استفاده شد (ساسیدهران و دیگران، ۲۰۱۳). جهت القای دیابت تجربی پس از تعیین وزن و قند خون موش‌های صحرایی ناشتا، ناحیه تزریق توسط الکل ضدعفونی شده و محلول آماده شده استرپتوزوتوسین به روش داخل صفاقی با سرنگ انسولین به موش‌های صحرایی مقید شده تزریق شد. پس از تزریق، موش‌ها به داخل قفس منتقل شده و آب و غذا در اختیار آنها قرار گرفت. ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین با اندازه‌گیری 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 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به‌عنوان موش‌های دیابتی برای ادامه تحقیق در نظر گرفته شدند (سرینیواسان[8] و دیگران، ۲۰۰۵). وزن حیوانات با استفاده از ترازوی دیجیتال SDS 3031 با توان حداکثر ۳۰ کیلوگرم و حداقل ۵ گرم وزن‌کشی با ابعاد ۴۳,۵×۳۹,۵ سانتیمتر و ارتفاع ترازو ۲۵ سانتیمتر ساخت ایران اندازه‌گیری شد. این وزن‌گیری در ابتدا و انتهای مطالعه انجام گرفت.

به منظور آب رسانی، بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری تأمین‌کننده آب مورد نیاز هر کدوم از قفس‌های این تحقیق به طور روزانه تعویض و پر شد (ساسیدهران و دیگران، ۲۰۱۳). حیوانات گروه دیابتی با غذا و پلت تجاری استاندارد (ذرت، کازئین، نشاسته ذرت، ساکارز، گلوتن

1Healthy Control
2Healthy training
3Diabetic Control
4Diabetic training
5High-fat diet
6Sasidharan
7.Streptozotocin
8Srinivasan

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

ذرت، مخلوط روغن‌های حیوانی و گیاهی، کربنات کلسیم، دی‌کلسیم فسفات و پریمیکس ویتامین و مواد معدنی) و حیوانات گروه سالم با جیره‌ی غذایی معمولی (ذرت، نشاستهٔ ذرت، گلوتن ذرت، کربنات کلسیم، دی کلسیم فسفات، پریمیکس ویتامین و مواد معدنی) تغذیه شدند.

پروتکل تمرین: پروتکل تمرینی در مطالعه حاضر، آزمودنی‌ها را به دو گروه تمرین سالم و تمرین دیابت تقسیم کرد که از براون[1] و دیگران (۲۰۱۷) اقتباس شده بود. در آن مطالعه، گروه‌های تمرینی پنج روز در هفته به مدت هشت هفته (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) در یک برنامه تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی قرار گرفتند. در هر جلسه گرم کردن ۱۰ دقیقه با شیب صفر درصد و سرد کردن پنج دقیقه با شیب صفر درصد که سرعت نوارگردان به طور معکوس تا رسیدن به سرعت اولیه کاهش می‌یافت. به منظور تحریک موش‌ها برای دویدن، از محرک صوتی (ضربه به دیواره تردمیل) استفاده شد، از شرطی نمودن موش‌ها به همراه بودن دو محرک، در سایر جلسات به‌منظور رعایت نکات اخلاقی کار با حیوان آزمایشگاهی، فقط از محرک صوتی استفاده شد. در طی این هشت هفته، موش‌های گروه کنترل نیز بدون حرکت روی تردمیل قرار گرفتند تا با تردمیل آشنا شوند. این مدل تمرینی از مقالهٔ بنزی و استرین[2] (۱۹۹۶) الهام گرفته شده است (جدول ۱). تمام مراحل تمرین با رعایت اساس اصل اضافه بار اجرا گردد.

جدول ۱.جزئیات پروتکل تمرین هوازی با رعایت اصل اضافه بار

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

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، وزن کشی شدند، سپس موش‌ها با استفاده از محلول کتامین زایلازین، با تزریق سه واحد محلول کتامین (۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورد مطالعه، بیهوش و مورد جراحی قرار گرفتند و بافت عضله قلب آنها خارج شد. بافت عضله قلب خارج و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال یافته و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

1 Brown
2 Benzie & Strain

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

نحوه استخراج ریبونوکلئیک اسید (RNA): استخراج ریبونوکلئیک اسید (RNA) به وسیله دو کیت ۵۰ ری اکشن استخراج ریبونوکلئیک اسید ساخت شرکت یورکس کشور لهستان از تمامی نمونه‌های بافت طبق دستور العمل کیت صورت گرفت، قبل از شروع آزمایش‌های تمامی وسایل مورداستفاده شامل پنس، فویل‌های آلومینیومی، هاون چینی، فالکون‌ها و... در داخل ظرف حاوی آب تیمار شده با دی اتیل پیرو کربنات[1](DEPC)، خنثی نشده قرار گرفت تا آنزیم ریبونوکلئاز[2](RNase) احتمالی موجود بر روی آنها خنثی گردد و نهایتاً بعد از ۲۴ ساعت باهدف خنثی نمودن دی اتیل پیرو کربنات ۲ بار به مدت ۱۵ دقیقه وسایل ذکر شده اتوکلاو شد. دی اتیل پیرو کربنات با اتصال به گروه هیستیدین (Histidine) موجود در جایگاه فعال آنزیم‌ها و ریبونوکلئاز باعث غیرفعال‌شدن این آنزیم‌ها گردیده و از تجزیه ریبونوکلئیک اسید استخراج شده جلوگیری می‌نماید.

رونویسی معکوس، دئوکسی ریبونوکلئیک اسید مکمل[3](cDNA) و RT-PCR، سنتز اسید دئوکسی ریبونوکلئیک مکمل برای میکرو ریبونوکلئیک اسید به صورت اختصاصی و با استفاده از کیت اختصاصی (Synthesis Kit PrimeScript tm 1st Strand cDNA) محصول شرکت تجاری تاکارا انجام شد. برای ساخت اسید دئوکسی ریبونوکلئیک مکمل ابتدا لازم است محلول ریبونوکلئیک اسید استخراج شده از هر گونه آلودگی به دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسید و آنزیم‌های تخریب‌کننده ریبونوکلئیک اسید حذف شود. بنابراین ۱ میکروگرم از محلول استخراج شده ریبونوکلئیک اسید با آنزیم دئوکسی‌ریبونوکلئاز[4](Dnase) بافر و بازدارنده ریبونوکلئاز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. پس از آن اتیلن‌دی آمین تتراستیک اسید[5](EDTA) به نمونه‌ها اضافه شد و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انگوبه شد تا آنزیم دئوکسی‌ریبونوکلئاز غیرفعال شود. دئوکسی ریبونوکلئیک اسید مکمل‌های سنتز شده با استفاده از ترکیبات و طبق دستور العمل 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 بر روی هر نمونه انجام گرفت.

برای انجام واکنش Real Time PCR از دستگاه (Corbet rotor gene 6000) استفاده شد. پروتکل Real time PCR برای اندازه‌گیری عوامل بر مبنای روش (سایبرگرین) شامل ۴ 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 (۶۵-۹۵ درجه سانتی‌گراد) بود. برای تعیین سطح نسبی p53 و miR-34a از دستگاه Real- time PCR مدل (Mastercyclr gradient)، ساخت شرکت Bms (bio molecular system) کشور استرالیا، به روش RT-PCR نیمه کمی و با استفاده از کیت (نورجن) کشور کانادا با شماره تولید ۲۸۳۲۳ و بر اساس دستور العمل کارخانه مربوطه استفاده شد. پرایمرهای ژن‌های موردمطالعه با استفاده از نرم‌افزارهای موجود (Primer 3 و Primer Express®) بررسی توالی‌های مربوط در (بانک ژن) پرایمرها و طراحی و انتخاب و سپس با نرم‌افزار الیگو ۷ (oligo 7) چک شدند و از لحاظ ارزیابی اختصاصی در نبی/پرایمر بلاست (nebi/primer blast) چک گردید (جدول ۲). پس از اتمام فرآیند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه[6](CT) سنجش بیان متغیرهای مورد نظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی (A2) صورت گرفت.

جدول ۲. توالی، طول محصول و دمای ذوب پرایمر استفاده شده

1Diethyl pyrocarbonate
2Ribonuclease
3 Complementary Deoxyribonucleic acid
4 Deoxyribonuclease
5Ethylenediaminetetraacetic acid
6cycle threshold

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده

نام ژن	کد ژن	توالی پرایمر (3'- 5')	طول محصول	دمای ذوب GC%
p53	NC-۰۵۱۳۴۵,۱	Forward: 5'- CGGCTTTACTCTGCTGGTCA -3' Reverse: 5'- CAGCCAGGTGGGTAACATCG -3'	۱۸۵	۶۰
miR-34a	NC-۰۵۱۳۴۰,۱	Forward: 5'- GGCAGTGTCTTAGCTGGTTGT -3 Reverse: 5'- ACGTGCAGCACTTCTAGGG -3''	۷۹	۵۹

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: نتایج بر اساس تغییر فولد ژن‌خانه GAPDH مشخص و نسبت به گروه کنترل نرمال‌سازی شد. از روش‌های آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام، تعیین میانگین‌ها و انحراف استاندارد استفاده شد. برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک[1] بهره برداری گردید. نهایتا برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه[2] و آزمون تعقیبی توکی[3] استفاده شد. تمامی عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷، در سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ صورت گرفت.

یافته‌ها

مقادیر (میانگین±انحراف استاندارد) وزن و سطوح بیان ژن‌های p53 و miR-34a در بافت قلب موش‌های صحرایی پس از هشت هفته اجرای طرح تحقیق در گروه‌های مورد مطالعه در (جدول ۳) گزارش شده است.

جدول ۳. توصیف (میانگین±انحراف استاندارد) شاخص‌های مورد مطالعه

متغیرها	وزن (پیش آزمون)	وزن (پس آزمون)	گلوکز ناشتا (میلی گرم/دسی لیتر)	بیان ژن p53	بیان ژن miR-34a
کنترل سالم	۲۵۲±۲۳/۳۲	۲۹۵/۶۰±۱۸/۸۳	۹۲/۲±۹/۴۹	۱/۰۰±۰/۰۳	۰/۹۹±۰/۰۸
تمرین سالم	۲۵۴±۱۹/۳۹	۳۰۶±۲۳/۱۹	۸۸/۲±۹/۹۵	۱/۰۶±۰/۰۵	۱/۱۸±۰/۲۱
کنترل دیابتی	۲۳۰/۴۰±۳۶/۳۹	۲۱۲±۶۴/۲۳	۳۹۶/۲±۳۳/۵۸	۱/۳۸±۰/۱۷	۲/۳۷±۰/۳۰
تمرین دیابتی	۲۲۱/۲۰±۲۲/۳۴	۲۱۷/۲۰±۳۶/۵۶	۱۳۳/۲±۱۷/۹۲	۱/۲۰±۰/۰۶	۱/۹۳±۰/۲۰

نتایج تحلیل واریانس یک‌راهه (جدول ۴) نشان داد که مقادیر بیان ژن‌های p53 ($F_{(۳و۱۶)}$=۱۵/۰۸، p=۰/۰۰۰۱) و miR-34a ($F_{(۳و۱۶)}$=۴۳/۹۴، p=۰/۰۰۰۱) بافت قلب موش‌های صحرایی بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری دارد.

جدول ۴. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در خصوص مقایسه شاخص‌های مورد مطالعه بین گروه‌ها

متغیرها	شاخص/منابع	میانگین مربعات	درجه آزادی	آماره F	مقدار P
بیان ژن p53	بین گروهی	۰/۱۴	۳	۱۵/۰۸	۰/۰۰۰۱*
	درون گروهی	۰/۰۱	۱۶		
بیان ژن miR-34a	بین گروهی	۲/۰۸	۳	۴۳/۹۴	۰/۰۰۰۱*
	درون گروهی	۰/۰۴	۱۶		

* نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح p<۰/۰۵.

1 Shapiro–Wilk test
2One-way analysis of variance
3 Tukey's post hoc test

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

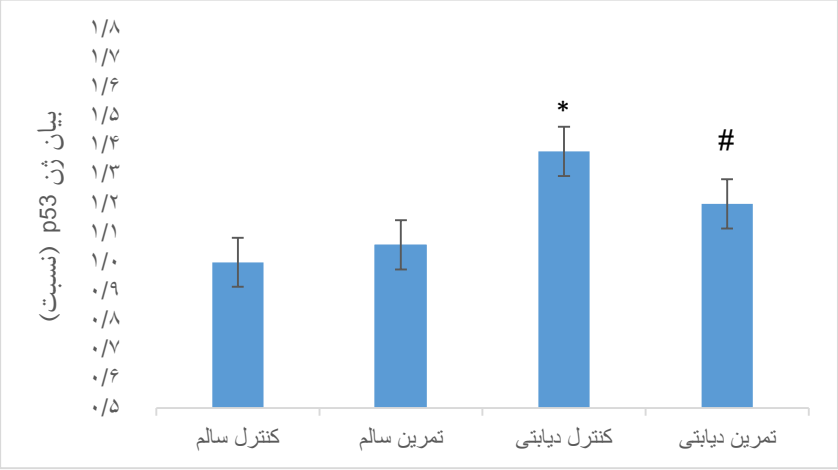
نتایج حاصل از آزمون تعقیبی توکی (جدول ۵) نشان داد که مقادیر بیان ژن p53 در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه‌های تمرین سالم و کنترل سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود (p=۰/۰۰۰۱)؛ در حالی است که تفاوت غیر معنی‌داری بین گروه تمرین دیابت نسبت به گروه‌های کنترل دیابت (p=۰/۰۵) و تمرین سالم (p=۰/۱۳) و تفاوت معنی‌دار به گروه کنترل سالم (p=۰/۰۲) مشاهده شد. در حالی است تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین سالم به گروه کنترل سالم (p=۰/۷۳) مشاهده نشد (شکل ۱).

نهایتاً این که بیان ژن miR-34a در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه‌های تمرین سالم و کنترل سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود (p=۰/۰۰۰۱)؛ همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین دیابت نسبت به گروه‌های کنترل دیابت (p=۰/۰۲) و تمرین سالم و کنترل سالم (p=۰/۰۰۰۱) مشاهده شد. در حالی است تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین سالم به گروه کنترل سالم (p=۰/۵۲) مشاهده نشد (شکل ۲).

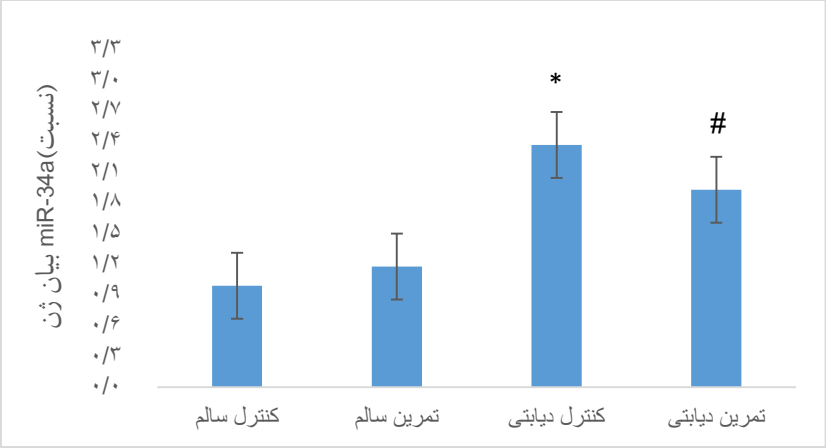
جدول ۵. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مورد مقایسه زوجی شاخص ها بین گروه‌ها

گروه	متغیر	بیان ژن p53	بیان ژن miR-34a
تمرین دیابت	کنترل دیابت	۰/۰۵	۰/۰۲*
تمرین دیابت	تمرین سالم	۰/۱۳	۰/۰۰۰۱*
تمرین دیابت	کنترل سالم	۰/۰۲*	۰/۰۰۰۱*
کنترل دیابت	تمرین سالم	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۱*
کنترل دیابت	کنترل سالم	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۱*
تمرین سالم	کنترل سالم	۰/۷۳	۰/۵۲

***نشانه تفاوت معنی دار بین گروه ها در سطح p<۰/۰۵.**



شکل ۱. مقایسه بیان ژن p53 در بافت قلبی موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه پس از هشت هفته تمرین هوازی.
* نشانه تفاوت معنی‌دار به گروه تمرین سالم و کنترل سالم؛ # نشانه تفاوت معنی‌دار به گروه کنترل سالم؛
سطح معنی داری p<۰/۰۵



شکل ۲. مقایسه بیان ژن miR-34a در بافت قلبی موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد مطالعه پس از هشت هفته تمرین هوازی.
* نشانه تفاوت معنی‌دار به سایر گروه‌ها؛ # نشانه تفاوت معنی‌دار به سایر گروه‌ها؛ سطح معنی داری p<۰/۰۵.

بحث

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a در بافت قلب موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو بود. یافته‌ها نشان داد که انجام تمرینات هوازی منجر به کاهش در بیان ژن‌های p53 و miR-34a در گروه تمرینی دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد که گویای اثرات مفید تمرین هوازی بر بیان این ژن‌ها می‌باشد، که البته ارزش معنی‌داری برای متغیر p53 (p=۰/۰۵۱) بود که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در این راستا می‌توان بیان کرد که نقش داشتن miRNAها در سلامت عروق، تنظیم التهاب و بیماری‌های قلبی-عروقی مشخص است و بین miRNAها و از جمله miR-34 با التهاب عروقی، آتروژنز و اختلال عملکرد اندوتلیال ارتباط وجود دارد (آکومینو و سیانی[1] ۲۰۱۷). miRNAها در تنظیم متابولیسم چربی و گلوکز نقش مهمی دارند و در شروع چاقی و بیماری‌های مرتبط با چاقی اثرگذار هستند (اشرفی و دیگران، ۲۰۱۹).

در بحث اثر تمرین هوازی بر گروه دیابتی، یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج الجراح و دیگران (۲۰۱۲)، کی و دیگران (۲۰۱۱) و رهبرغازی و دیگران (۲۰۲۳)، همسو بود و آنان نیز به این نتیجه رسیدند که انجام تمرینات هوازی، سطح بیان ژن p53 را کاهش داد. قادرپور و دیگران (۲۰۲۰) هم به این نتیجه رسیدند که دیابت باعث افزایش بیان ژن miR-34a و بیان پروتئین p53 می‌شود و ورزش داوطلبانه باعث کاهش بیان ژن miR-34a و بیان پروتئین p53 می‌شود که همسو با نتایج تحقیق حاضر بود؛

با توجه به اینکه بیان ژن p53 با استرس اکسیداتیو تعامل دارد بنابراین افزایش استرس اکسیداتیو و بیان ژن p53 در بیماران قلبی می‌تواند به ترتیب به عنوان مارکرهای قابل اعتماد برای گزارش آپوپتوزیس و آسیب DNA مطرح گردد (طباطبایی پناه و دیگران، ۲۰۱۶). از آنجایی که در افراد مبتلا به T2DM، نبود تعادل بین تولید ROS و عوامل آنتی‌اکسیدان، منجربه ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود که خود نقش مهمی در ایجاد آپوپتوز در شرایط هیپرگلیسمی دارد، بنابراین می‌توان گفت که تمرینات استقامتی از طریق کاهش استرس اکسایشی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، در بیان و سنتز فاکتورهای آپوپتوزی تغییراتی ایجاد می‌کند (ژوین، نیوی و پیکت[2] ۲۰۰۹). به علاوه انجام تمرینات ورزشی نمایه بیان microRNAها را تغییر می‌دهد (از جمله کاهش در miR-34a) که اثرات

1 Iacomino & Siani
2 Nguyen Nioi & Pickett

تنظیمی مفیدی را در افراد مبتلا به دیابت نوع دو ایجاد می‌کند (کاریا و دیگران، ۲۰۱۸). همچنین، تمرینات هوازی می‌تواند باعث تغییرات فنوتیپی در میتوکندری قلبی شود و این تغییرات که در اثر تغییر در محتوی و بیان فاکتورهای آپوپتوز ایجاد می‌گردد، باعث می‌شود که میتوکندری‌ها در برابر آپوپتوز مقاوم‌تر شوند (توانا و گو، ۲۰۱۷). همچنین از جمله miRNAهایی که به فرایند استرس اکسیداتیو واکنش نشان می‌دهند، miR-34a می‌باشد که توسط مسیرهای وابسته به p53 (miR-34a-5p and miR-1915-3p) و مستقل از p53 (miR-150-3p and miR-638) تنظیم می‌شوند (وان[1] و همکاران، ۲۰۱۷) و ممکن است ورزش با اثرگذاری بر کاهش استرس اکسیداتیو، به‌طور غیر مستقیم بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a اثرگذار باشد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، اکبری و دیگران (۲۰۲۲)، در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات هوازی، اثر حفاظتی بر فاکتورهای مورد مطالعه قلبی داشته است. اشرفی و دیگران (۲۰۱۹)، هم اثر کاهشی ۱۲ هفته تمرین مقاومتی با باند کشی بر میزان بیان mir-34a و فاکتورهای خطرزای قلبی عروقی را نشان دادند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا بود.

همچنین، نتایج تحقیق حاضر مشابه با یافته‌های حسن‌پور و دیگران (۲۰۱۷)، بود. آنان در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که تمرینات تناوبی با شدت بالا منجر به کاهش سطوح پروتئین p53 شد. 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 نمونه‌های سالم گزارش شده است (مارزیتی[2] و دیگران، ۲۰۰۸). هرچند که این مطلب با نتایج تحقیق حاضر در تضاد است، چراکه 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 نشده است. با این حال، از جمله دلایل معنی دار نبودن کاهش p53 در گروه تمرین دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی در مطالعه حاضر را می‌توان به عواملی مثل تعداد آزمودنی ها، نوع، شدت، مدت، جلسات هفتگی تمرین و نوع آزمودنی‌ها اشاره نمود. همچنین علت افزایش p53 در گروه دیابت را هم می‌توان به استرس مکانیکی و متابولیکی نسبت داد. علیپور و دیگران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که ۱۲ هفته تمرین شنا، بیان ژن‌های miR-34a و p53 را در موش‌های دیابتی کاهش داد که نتایج آنان همسو با نتایج تحقیق حاضر بود.

همچنین، یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که انجام تمرینات هوازی در گروه تمرینی سالم، در مقایسه با گروه کنترل سالم، اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های p53 و miR-34a نداشت که این یافته با نتایج عبداللهی دیبا و دیگران (۲۰۲۲)، همسو بود و آنان در تحقیق خود نشان دادند که تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و P53 در عضله قلب موش‌های صحرایی نر نداشت. در مقابل، قربانعلی‌زاده و دیگران (۲۰۱۹) اعلام کردند که تمرین هوازی منجر به افزایش بیان ژن‌های p53 و AIF در عضله قلبی شد و همچنین شوفانگ و دیگران (۲۰۲۳)، هم با بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر نمایه بیانی mRNAها در بافت میوکارد رت‌ها، به این نتیجه رسیدند که انجام تمرین نمایه بیانی mRNAها را تغییر داد که این نتایج مغایر با نتایج تحقیق حاضر بود. از جمله دلایل افزایش در بیان ژن p53 در اثر تمرین هوازی، در تحقیق قربانعلی‌زاده و دیگران (۲۰۱۹) ممکن است به‌علت مدت طولانی تمرینات (۱۲ هفته) و شدت بالای تمرینات (۷۵ الی ۸۰ درصد اکسیژن مصرفی بیشینه) باشد که منجربه کاهش دسترسی به اکسیژن و افزایش فشار اکسایشی شده است و در نتیجه باعث افزایش بیان ژن p53 شده است.

به‌طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که انجام هشت هفته تمرین هوازی منجر به کاهش معنی‌دار در بیان ژن miR-34a و کاهش نزدیک به معنی‌داری (p=۰/۰۵۱) در بیان ژن p53 در عضله قلب موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو شد و انجام این تمرینات در موش‌های سالم، اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های miR-34a و p53 نداشت. لذا می‌توان بیان کرد که انجام این پروتکل تمرینی برای دیابتی‌ها مفید بوده است و برای موش‌های سالم اثرات مفیدی نداشته است. از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر انجام یک پروتکل تمرینی یکسان

1 Wan
2 Marzetti

برای تمام گروه‌ها می‌باشد و محققان می‌توانند در تحقیقات آتی به بررسی اثر پروتکل‌های مختلف تمرینی با شدت و مدت مختلف بر فاکتورهای مذکور بپردازند.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که از طریق انجام هشت هفته تمرین هوازی می‌توان برخی از عوامل مورفولوژیکی و سلولی مخرب دیابت نوع دو 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 دیابت نوع دو در نظر گرفته شود. با این حال، برای مشاهده تأثیرات کاهشی معنی‌دار بر بیان ژن p53 شاید تعداد نمونه‌های بیشتر، شدت بیشتر، مدت یک جلسه و دوره تمرینی بیشتر نیاز باشد. 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 که نیاز به مطالعات بیشتری دیر این زمینه است. لازم به ذکر است که اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر فاکتورهای بیان ژن‌های p53 و miR-34a در آزمودنی‌های سالم معنی‌دار نبود که این امر نیز نیاز به توجه و همچنین بررسی بیشتر در تحقیقات آتی با کاربرد پروتکل‌های تمرینی مختلف دارد.

تعارض منافع

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

قدردانی و تشکر

مطالعه 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. نویسنده از آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز به خاطر همکاری صمیمانه برای در اختیار گذاشتن و نگه‌داری حیوانات تشکر می‌کند.

منابع

Abdollahi-Diba, M., Bashiri, J., Pourmanaf, H., & Fekri-Kourabbaslou, V. (2022). 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*, 14**(4):246-252. https://doi.org/10.34172/jcvtr.2022.31599.**

Akbari, J., Shirvani, H., Shamsoddini, A., Bazgir, B., & Samadi, M. (2022). 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, 21**(1):189-195**. **https://doi.org/10.1007/s40200-021-00957-2.**

Alipour, M. R., Naderi, R., Alihemmati, A., Sheervalilou, R., & Ghiasi, R. (2020). Swimming training attenuates pancreatic apoptosis through miR-34a/Sirtu in1/P53 Axis in high-fat diet and Streptozotocin-induced Type-2 diabetic rats. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 19**, 1439-1446. https://doi.org/10.1007/s40200-020-00670-6.**

Al-Jarrah, M., Ahmad, M. B., Maayah, M., & Al-Khatib, A. (2012). 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, 2**(4-5), 176-180. https://doi.org/10.4021/jem123e.**

Aval, S. F., Lotfi, H., Sheervalilou, R., & Zarghami, N. (2017). 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, 91**, 849-860. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.020.**

Ashrafi, N., Bulbali, L., Khazni, A., & Asadi, A. (2019). The effect of 12 weeks of resistance training with elastic bands on the expression of mir-34a and cardiovascular risk factors in obese elderly women. Journal of Applied Sports Physiology, 16**(31), 15-29. [In Persian], https://doi.org/10.22080/JAEP.2019.16103.1867.**

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

Backe, M. B., Novotny, G. W., Christensen, D. P., Grunnet, L. G., & Mandrup-Poulsen, T. (2014). Altering β-cell number through stable alteration of miR-21 and miR-34a expression. Islets, 6**(1), e27754. https://doi.org/10.4161/isl.27754.**

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239**(1), 70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292.**

Brown, J. C., Zemel, B. S., Troxel, A. B., Rickels, M. R., Damjanov, N., Ky, B., ... & Schmitz, K. H. (2017). Dose–response effects of aerobic exercise on body composition among colon cancer survivors: a randomised controlled trial. British journal of Cancer, 117**(11), 1614-1620. https://doi.org/10.1038/bjc.2017.339.**

Cassidy, S., Thoma, C., Hallsworth, K., Parikh, J., Hollingsworth, K. G., Taylor, R., ... & Trenell, M. I. (2016). High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. Diabetologia, 59**, 56-66. https://doi.org/10.1007/s00125-015-3741-2.**

Ceman, S., & Saugstad, J. (2011). MicroRNAs: Meta-controllers of gene expression in synaptic activity emerge as genetic and diagnostic markers of human disease. Pharmacology & Therapeutics, 130**(1), 26-37. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.004.**

Chang, T. C., Wentzel, E. A., Kent, O. A., Ramachandran, K., Mullendore, M., Lee, K. H., ... & Mendell, J. T. (2007). Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. Molecular Cell, 26**(5), 745-752. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.05.010.**

Da Silva, F. C., da Rosa Iop, R., Andrade, A., Costa, V. P., Gutierres Filho, P. J. B., & da Silva, R. (2020). Effects of physical exercise on the expression of MicroRNAs: A systematic review. In Journal of Strength and Conditioning Research 34**(1):p 270-280. https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003103.**

Flores-López, L. A., Díaz-Flores, M., García-Macedo, R., Ávalos-Rodríguez, A., Vergara-Onofre, M., Cruz, M., ... & Ortega-Camarillo, C. (2013). High glucose induces mitochondrial p53 phosphorylation by p38 MAPK in pancreatic RINm5F cells. Molecular Biology Reports, 40**, 4947-4958. https://doi.org/10.1007/s11033-013-2595-2.**

Gaderpour, S., Ghiasi, R., Hamidian, G., Heydari, H., & Keyhanmanesh, R. (2021). 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, 24**(1):58-65. https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.49498.**

Ghorbanalizadeh, M., bashiri, J., & Gholami, F. (2020). Effect of 12-week aerobic training on cardiac p53 and AIF gene expression in male rats. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences, 42**(3), 310-318. [In Persian], https://doi.org/10.34172/mj.2020.050.**

Go, A. S., Mozaffarian, D., Roger, V. L., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Blaha, M. J., ... & Turner, M. B. (2014). Heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the American Heart Association. Circulation, 129**(3), e28-e292. https://doi.org/10.1161/01.cir.0000441139.02102.80.**

Guay, C., Roggli, E., Nesca, V., Jacovetti, C., & Regazzi, R. (2011). Diabetes mellitus, a microRNA-related disease?. Translational Research, 157**(4), 253-264. https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.01.009.**

Hammond, S. M. (2015). An overview of microRNAs. Advanced Drug Delivery Reviews, 87**, 3-14. https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.001.**

Huang, H., Luo, Y., Wang, Q., Zhang, Y., Li, Z., He, R., ... & Dong, Z. (2023). Vaccinium as Potential Therapy for Diabetes and Microvascular Complications. Nutrients, 15**(9), 2031. https://doi.org/10.3390/nu15092031.**

Iacomino, G., & Siani, A. (2017). Role of microRNAs in obesity and obesity-related diseases. Genes & Nutrition, 12**, 1-16. https://doi.org/10.1186/s12263-017-0577-z.**

Improta Caria, A. C., Nonaka, C. K. V., Pereira, C. S., Soares, M. B. P., Macambira, S. G., & Souza, B. S. D. F. (2018). Exercise training-induced changes in microRNAs: beneficial regulatory effects in hypertension, type 2 diabetes, and obesity. International journal of Molecular Sciences, 19**(11), 3608. https://doi.org/10.3390/ijms19113608.**

Jiao, D., Zhang, H., Jiang, Z., Huang, W., Liu, Z., Wang, Z., ... & Wu, H. (2018). MicroRNA-34a targets sirtuin 1 and leads to diabetes-induced testicular apoptotic cell death. Journal of Molecular Medicine, 96**, 939-949. https://doi.org/10.1007/s00109-018-1667-0.**

Jokar, M., & Moghadam, M. S. (2021). Effect of 4 weeks of high-intensity interval training on P53 and caspase-3 proteins content in the heart muscle tissue of rats with type 1 diabetes. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 29**, (11). [In Persian], https://doi.org/10.18502/ssu.v29i11.8502.**

Kim, H., Bae, Y. U., Lee, H., Kim, H., Jeon, J. S., Noh, H., ... & Kwon, S. H. (2020). Effect of diabetes on exosomal miRNA profile in patients with obesity. BMJ Open Diabetes Research & Care, 8**(1). https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2020-001403.**

Kung, C. P., & Murphy, M. E. (2016). The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. The Journal of endocrinology, 231**(2), R61-R75. https://doi.org/10.1530/JOE-16-0324.**

Lee, J. H., Kang, Y., Khare, V., Jin, Z. Y., Kang, M. Y., Yoon, Y., ... & You, H. J. (2010). The p53-inducible gene 3 (PIG3) contributes to early cellular response to DNA damage. Oncogene, 29**(10), 1431-1450. https://doi.org/10.1038/onc.2009.438.**

Li, L. (2014). Regulatory mechanisms and clinical perspectives of miR-34a in cancer. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 10**(4), 805-810. https://doi.org/10.4103/0973-1482.146084.**

Lin, X., Guan, H., Huang, Z., Liu, J., Li, H., Wei, G., ... & Li, Y. (2014). Downregulation of Bcl-2 expression by miR-34a mediates palmitate-induced Min6 cells apoptosis. Journal of Diabetes Research**, 2014. https://doi.org/10.1155/2014/258695.**

Marzetti, E., Lawler, J. M., Hiona, A., Manini, T., Seo, A. Y., & Leeuwenburgh, C. (2008). Modulation of age-induced apoptotic signaling and cellular remodeling by exercise and calorie restriction in skeletal muscle. Free Radical Biology and Medicine, 44**(2), 160-168. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.05.028.**

Matsuyama, H., & Suzuki, H. I. (2019). Systems and synthetic microRNA biology: from biogenesis to disease pathogenesis. International journal of Molecular Sciences, 21**(1), 132. https://doi.org/10.3390/ijms21010132.**

Miki, T., Yuda, S., Kouzu, H., & Miura, T. (2013). Diabetic cardiomyopathy: pathophysiology and clinical features. Heart Failure Reviews, 18**, (2), 149-166. https://doi.org/10.1007/s10741-012-9313-3.**

Moradpour, P., Daryanoosh, F., Dashtiyan, A. A., Taghi, M. M., & Jamhiri, I. (2017). 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, 10**(Suppl. 1), 98-103 ref. 24. https://doi.org/10.5555/20183110814.**

Navarro, F., & Lieberman, J. (2015). miR-34 and p53: new insights into a complex functional relationship. PloS One, 10**(7), e0132767. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132767.**

Nguyen, T., Nioi, P., & Pickett, C. B. (2009). The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. Journal of Biological Chemistry, 284**(20), 13291-13295. https://doi.org/10.1074/jbc.R900010200.**

Ni, T., Lin, N., Lu, W., Sun, Z., Lin, H., Chi, J., ... & Guo, H. (2020). Dihydromyricetin prevents diabetic cardiomyopathy via miR-34a suppression by activating autophagy. Cardiovascular Drugs and Therapy, 34**, (3):291-301. https://doi.org/10.1007/s10557-020-06968-0.**

Palazzuoli, A., & Iacoviello, M. (2023). Diabetes leading to heart failure and heart failure leading to diabetes: epidemiological and clinical evidence. Heart Failure Reviews, 28**(3), 585-596. https://doi.org/10.1007/s10741-022-10238-6.**

Qi, Z., He, J., Zhang, Y., Shao, Y., & Ding, S. (2011). 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, 50**(7), 794-800. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022.**

Rahbarghazi, A., Alamdari, K. A., Rahbarghazi, R., & Salehi-Pourmehr, H. (2023). 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, 15**(1), 1-33. https://doi.org/10.1186/s13098-023-01045-6.**

Sasidharan, S. R., Joseph, J. A., Anandakumar, S., Venkatesan, V., Ariyattu Madhavan, C. N., & Agarwal, A. (2013). An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. BioMed Research International**, 2013. https://doi.org/10.1155/2013/752870.**

Schwingshackl, L., Missbach, B., Dias, S., König, J., & Hoffmann, G. (2014). 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, 57**(9), 1789-1797. https://doi.org/10.1007/s00125-014-3303-z.**

Seyhan, A. A., Lopez, Y. O., Xie, H., Yi, F., Mathews, C., ... & Pratley, R. (2016). Pancreasenriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: a pilot cross-sectional study. Sci Rep. 25**:6:31479. https://doi.org/10.1038/srep31479.**

Shantikumar, S., Caporali, A., & Emanueli, C. (2012). Role of microRNAs in diabetes and its cardiovascular complications. Cardiovascular Research, 93**(4), 583-593. https://doi.org/10.1093/cvr/cvr300.**

Sharafi, H., & Rahimi, R. (2012). The effect of resistance exercise on p53, caspase-9, and caspase-3 in trained and untrained men. The Journal of Strength & Conditioning Research, 26**(4), 1142-1148. https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31822e58e5.**

Shu-fang, H., Jia-ying, L., Min, Y., Jie, F., Bin, L., Zheng, W., ... & Ying, S. (2023). Effect of endurance training on the expression profile of circRNAlncRNA-miRNA-mRNA in myocardial tissues of mice after exhaustive exercise. Journal of Hainan Medical College, 29**(3). Accession Number: 162709665.**

Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., ... & Magliano, D. J. (2022). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. Diabetes Research and Clinical Practice, 183**, 109119. https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119.**

Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L., & Ramarao, P. (2005). Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. Pharmacological Research, 52**(4):313-20. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004.**

Tavana, O., & Gu, W. (2017). Modulation of the p53/MDM2 interplay by HAUSP inhibitors. Journal of Molecular Cell Biology, 9**(1), 45-52. https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw049.**

Wan, Y., Cui, R., Gu, J., Zhang, X., Xiang, X., Liu, C., ... & Lin, T. (2017). 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: 5189138. https://doi.org/10.1155/2017/5189138.**

Ward, M. L., & Crossman, D. J. (2014). Mechanisms underlying the impaired contractility of diabetic cardiomyopathy. World journal of Cardiology, 6**(7): 577–584. https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i7.577.**

Wilson, G. A., Wilkins, G. T., Cotter, J. D., Lamberts, R. R., Lal, S., & Baldi, J. C. (2019). HIIT improves left ventricular exercise response in adults with type 2 diabetes. Med Sci Sports Exerc, 51**(6), 1099-1105. https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001897.**

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده