JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Autumn/Winter 2025
Volume 12, Number 2
14-27

Original Article Open Access

Cardio-metabolic benefits of vaccinium arctostaphylos l. fruit hydro-alcoholic extract and aerobic training: an integrated approach for glycemic regulation and miR-195 expression in the cardiac tissue of rats

Elaheh Piralaiy[1*], Badrkhan Rashwan Ismael[1], Morteza Nikkhesal[1], Gholamreza Hamidiyan[2]

Receive 2024 May 14; Accepted 2024 October 1

Abstract

Aim: Research has shown that miR-195 is linked to blood glucose levels and plays a role in protecting the heart. Therefore, this study aimed to investigate the effect of aerobic training supplemented with vaccinium arctostaphylos l. fruit hydro-alcoholic extract on glycemic indices and the miR-195 gene expression in the cardiac tissue of healthy male wistar rats. **Methods**: 24 healthy male Wistar rats (weight 200±20 gr and about eight weeks old) were randomly divided into four groups: control, aerobic training, supplementation, and training+supplementation. Rats in the supplemented groups received 250 mg of vaccinium arctostaphylos per kilogram of body weight dissolved in 0.2 cc of normal saline by oral gavage. The training protocol was obtained on the treadmill five days per week with the principle of overload in the first week at a speed of 5-10 m/min for 10-15 minutes and in the eighth week at a speed of 18-24 m/min for 60 minutes. Glucose, insulin, insulin resistance, and miR-195 gene expression of cardiac tissue were measured. One-way analysis of variance and bonferroni's post hoc test were used at a significance level of $P<0.05$. **Results:** A significant increase in miR-195 gene expression in the aerobic training group compared to the control ($P=0.001$), and supplement ($P=0.010$) groups, and the miR-195 gene expression in the training+supplement group compared to the control group ($P=0.002$) was observed. However, no significant difference was observed in glycemic indices between groups ($P\geq0.05$). **Conclusions:** The results of the present study showed that aerobic running training alone and with arctostaphylus vaccinium supplement led to a significant increase in miR-195 gene expression, but arctostaphylus vaccinium supplement alone had no effect. Also, training and arctostaphylus vaccinium supplement individually and in combination did not affect glycemic indices in the cardiac tissue of healthy rats.

Keywords: Aerobic training, Glycemic indices, Vaccinium arctostaphylos, MiR-195, Healthy rats.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
***(Corresponding Author):** (epiralaiy@tabrizu.ac.ir)
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Cite as: Elaheh Piralaiy, Badrkhan Rashwan Ismael, Morteza Nikkhesal, Gholamreza Hamidiyan. Cardio-metabolic benefits of vaccinium arctostaphylos l. fruit hydro-alcoholic extract and aerobic training: an integrated approach for glycemic regulation and miR-195 expression in the cardiac tissue of rats. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2025; 12(2): 14-27.
Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University
Journal ISSN (online): 2676-6507
Access Type: Open Access
DOI: 10.22049/jahssp.2024.29740.1656
:

Extended abstract

Background

The control of metabolic processes mediated by miRNA has recently been considered (1). According to previous studies, microRNA-195 (miR-195) is induced in response to transverse contraction of the aorta as well as in the plasma, serum, and myocardium of patients with advanced heart failure (2). Research has shown that miR-195 is linked to blood glucose levels and plays a role in protecting the heart (7,8). Regular aerobic training is widely recognized as a non-pharmacological approach to reduce or prevent cardiovascular disease (CVD) complications and mortality (13). In this regard, Qaraqat is one of the antioxidant herbal supplements that has recently been considered. Qaraqat (Vaccinium arctostaphylos) has a unique content of phenolic acid and a variety of phenolic compounds that can act as antioxidants (21). Our question is what effects Qaraqat alone or in combination with aerobic training have on miR-195 gene expression and glycemic indices. Therefore, this study aimed to investigate the effect of aerobic training supplemented with vaccinium arctostaphylos l. fruit hydro-alcoholic extract on glycemic indices and the miR-195 gene expression in the cardiac tissue of healthy male wistar rats.

Methodology

This study was an experimental-applied intervention in the form of a multi-group single-agent post-test design with control groups at the faculty of veterinary medicine of the university of tabriz from april to august 2023 based on the regulations on how to work with laboratory animals after the approval of the ethics committee of the university of tabriz with the ID (IR. TABRIZU. REC.1402.037). In the present study, healthy male wistar rats weighing approximately 200±20 grams and about eight weeks old were used in the laboratory animal breeding and keeping center of the faculty of veterinary medicine, university of tabriz.

Experimental design

24 healthy rats were randomly divided into four groups (N=6) including 1) healthy control (Con), 2) aerobic training (AE), 3) supplementation (Sup), and 4) training+supplementation (AE+Sup). During the period of familiarization with the new environment and implementation of the protocol, the rats were kept in a polyethylene cage. The ambient temperature was 20-22 °C, the light-dark cycle was 12:12 hours, the humidity was 55-65% and the ventilation was good. During the period, the rats' food was provided to the animals in the form of standard commercial pallets with open access. The weight of the animals was measured and recorded at the beginning and end of the study using a digital scale (SDS 3031) made in Iran.

Training protocol

The training groups were subjected to an aerobic training program on an intelligent four-line electronic tape treadmill for five days a week (Saturday, Sunday, Tuesday, Wednesday, and Thursday) for eight weeks. The aerobic training method consisted of three stages: warm-up, main body, and cool-down. The training was considered in the warm-up and cooling phase for five minutes (with a 0% slope and an intensity of 30-40% VO2max). The main body of aerobic training (with a slope of 10% and intensity of 50-60% VO2max) started from the first week at a speed of 5-10 (m/min) until it reached a speed of 18-24 at the end of the eighth week. Also, the training time in the first week started from 10-15 minutes and increased to 60 minutes in the eighth week.

Vaccinium arctostaphylos supplementation (Qaraqat)

To prepare the hydroalcoholic extract of arctostaphylus vaccinium (Qaraqat), dried fruits of arctostaphylus vaccinium were first prepared and powdered. This powder was soaked in 70% ethanol and a closed container for one week and was shaken vigorously several times a day. Then, by passing the solution several times from the clear paper pouring it on a flat surface, and exposing it to the open air away from direct sunlight, it was removed to remove the solvent and dry. After drying, the prepared extract was stored in the freezer until application and administration to animals (25).

Extraction of laboratory animal tissue

After 12 to 14 hours of fasting, the rats were anesthetized and operated by intraperitoneal injection of a combination of ketamine and xylazine (26). RNA extraction was performed by two 50-reaction RNA extraction kits made by (EURX) Company in Poland from all tissue samples according to the kit's instructions. The relative mRNA expression was obtained from the subtraction of (Ct) related to (U6 snRNA) from Ct related to the mRNA, which was again deducted from the value obtained in the reference sample (control). The fold change was calculated using the ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) equation.

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656
Piralaiy et al, Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology, 2025; 12(2): 14-27. □17

Statistical analysis
The results were determined based on the home gene fold change (GAPDH) and normalized compared to the control group. The data were reported as mean±standard deviation. The normal distribution of the data was confirmed by the Shapiro-Wilk test. Then, one-way ANOVA was used to determine the differences between the groups followed by bonferroni post hoc test to observe the differences. All analyses were performed at the significant level of $P<0.05$ using SPSS software (version 27).

Results
The findings showed that the values of the miR-195 gene expression were significantly increased in the training group compared to the control ($P=0.001$), and supplement ($P=0.010$) groups. In the training+supplement group, although the level of miR-19 gene expression showed a decrease compared to the training group ($P=0.795$), it is not statistically significant. This change shows a significant increase compared to the control group ($P=0.002$). In other cases, no significant difference was observed between the groups ($P\geq0.05$).

Conclusion
The results of the present study showed that aerobic running training alone and with arctostaphylus vaccinium supplement led to a significant increase in miR-195 gene expression, but arctostaphylus vaccinium supplement alone had no effect. Also, training and arctostaphylus vaccinium supplement individually and in combination did not affect glycemic indices in the heart tissue of healthy rats.

Article message
Aerobic training by running alone and combined with arctostaphylus vaccinium supplement increases miR-195 gene expression, but arctostaphylus vaccinium supplement alone has no effect. The combination of arctostaphylus vaccinium supplementation with aerobic training reduces part of the increase in miR-195 gene expression compared to the aerobic training group. Also, training and supplemental training alone and in combination have no effect on glycemic indices in the cardiac tissue of healthy rats. Because this study is the first that a special study of aerobic training alone or in combination with arctostaphylus vaccinium supplement has been done for miR-195 gene expression in heart tissue of healthy rats it still has detailed information. Regarding the mechanisms involved in it, it is not available, more studies are needed in this field.

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش
سال دوازدهم، شماره دوم ؛
پاییز و زمستان ١٤٠٤؛ صفحات ٢٧-١٤

مقاله پژوهشی Open Access

مزایای قلبی-متابولیکی عصاره هیدرو-الکلی میوه قره‌قات و تمرین هوازی: یک رویکرد یکپارچه برای تنظیم گلیسمیک و بیان miR-195 در بافت قلب موش‌های صحرایی

الهه پیرعلائی[1*]، بدرخان رشوان اسماعیل[1]، مرتضی نیک‌خصال[1]، غلامرضا حمیدیان[2]

تاریخ دریافت: ١٤٠٣/٠٢/٢٥ تاریخ پذیرش: ١٤٠٣/٠٧/١٠

چکیده

هدف: تحقیقات نشان داده است که miR-195 با سطح گلوکز خون مرتبط است و در محافظت از قلب نقش دارد. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر تمرین هوازی همراه با مکمل عصاره هیدرو-الکلی میوه قره‌قات بر شاخص‌های گلایسمیک و بیان ژن miR-195 در بافت قلب موش‌های صحرایی سالم نر نژاد ویستار انجام شد. **روش پژوهش:** ۲۴ سر موش صحرایی سالم نر نژاد ویستار (وزن ۲۰±۲۰۰ گرم و سن حدود هشت هفته) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین هوازی، مکمل و تمرین+مکمل تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های مکمل، روزانه ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره میوه قره‌قات به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و حل شده در ۰/۲ سی‌سی نرمال سالین را به شکل گاواژ خوراکی دریافت کردند. پروتکل تمرین دویدن روی تردمیل پنج روز در هفته با رعایت اصل اضافه بار در هفته اول با سرعت ۵-۱۰ متر در دقیقه به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه و در هفته هشتم با سرعت ۱۸-۲۴ متر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین و بیان ژن miR-195 بافت قلبی اندازه‌گیری شد. آنالیز واریانس یک‌راهه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ استفاده شد. **یافته‌ها:** افزایش معنی‌دار بیان ژن miR-195 در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱)، و مکمل (P=۰/۰۱۰)، و بیان ژن miR-195 در گروه تمرین+مکمل نسبت به گروه کنترل (P=۰/۰۰۲) مشاهده شد. اما در شاخص‌های گلایسمیک تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (P>۰/۰۵). **نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات هوازی دویدن به تنهایی و همراه با مکمل قره‌قات منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر بیان ژن miR-195 می‌شود، اما مکمل قره‌قات به تنهایی تأثیری نداشت. همچنین تمرین و مکمل قره‌قات به صورت جداگانه و ترکیبی تأثیری بر شاخص‌های گلیسمیک در بافت قلب موش‌های صحرایی سالم ندارد.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، شاخص‌های گلایسمیک، مکمل قره‌قات، miR-195، موش‌های سالم.

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

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
(نویسنده مسئول):
(epiralaiy@tabrizu.ac.ir)
۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

نحوه ارجاع: الهه پیرعلائی، بدرخان رشوان اسماعیل، مرتضی نیک‌خصال، غلامرضا حمیدیان. "مزایای قلبی-متابولیکی عصاره هیدرو-الکلی میوه قره‌قات و تمرین هوازی: یک رویکرد یکپارچه برای تنظیم گلیسمیک و بیان miR-195 در بافت قلب موش‌های صحرایی". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۴: ۱۲ (۲)،۲۷-۱۴.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/jahssp.2024.29740.1656

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

مقدمه

کنترل فرآیندهای متابولیک به واسطه mirRNA اخیراً مورد توجه قرار گرفته است (۱). طبق مطالعات قبلی، microRNA-195 (miR-195) در پاسخ به انقباض عرضی آئورت و همچنین در پلاسما، سرم و میوکارد بیماران مبتلاء به نارسایی قلبی پیشرفته القاء می‌شود (۲). miR-195 عضوی از خانواده micro-15/16/195/424/497 است، که منجر به القای استرس در بافت‌ها و ساختارهای بدن شده و در چندین بیماری مانند سرطان، نارسایی قلبی و اسکیزوفرنی دخیل است (۳). مشخص شده است که بیان بیش از حد miR-195 اختصاصی قلبی منجر به هایپرتروفی سلول‌های عضله قلبی در محیط کشت می‌گردد که باعث رشد پاتولوژیک قلب همراه با بهم ریختگی ساختاری و ایجاد نارسایی قلبی می‌شود (۴). همچنین، نشان داده شده است که افزایش سطح miR-195 در میوکارد از کار افتاده، مسیر جدیدی شامل سرکوب مستقیم سیرتونین ۳[1] (SIRT3) و مهار آنزیمی از طریق افزایش پیرووات دهیدروژناز[2] (PDH) و ATP سنتاز را تنظیم می‌کند که برای متابولیسم و تأمین انرژی قلبی ضروری است. لذا در شروع بیماری‌های قلبی-عروقی و اختلالات عروق میوکارد، افزایش بیان سلولی این پروتئین مشاهده می‌شود (۲).

علاوه بر این، گزارش شده است که miRNAs متعددی در فرآیندهای مرتبط با استرس اکسیداتیو که منجر به ایجاد نارسایی قلبی می‌شود، از جمله یکپارچگی و عملکرد میتوکندری، دفاع آنتی‌اکسیدانی، اضافه بار آهن، فروپتوز و مسیرهای بقا نقش دارند. در همین راستا تزریق anti-miR-195 در مدل موش‌های صحرایی با نارسایی قلبی (مدل اضافه بار فشاری) منجر به بهبود عملکرد قلب و بهبود التهاب، استرس اکسیداتیو و آسیب قلبی می‌شود (۵). مکانیسم‌های احتمالی مرتبط با آن می‌تواند به تنظیم مثبت گیرنده کموکاین نوع ۴[3] (CXCR4)، هدف مستقیم miR-195، افزایش سوپراکسید دیسموتاز[4] (SOD) و متعاقب آن مهار فعال شدن مسیر سیگنالینگ ژانوس کیناز/مبدل سیگنال و فعال‌کننده رونویسی[5] (JAK/STAT) مربوط باشند (۶). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که miR-195 با سطح گلوکز خون مرتبط است و در محافظت از قلب نقش دارد (۷, ۸). بیان miR-195 با گلوکز پلاسما ناشتا، گلوکز پلاسما یک ساعته و گلوکز پلاسما دو ساعته ارتباط مثبت دارد. که می‌تواند اثرات خود بر قلب را از طریق بروز سندرم متابولیک اعمال نماید (۷). بیش‌تنظیمی miR-195 نیز در بیماران مبتلا به دیابت بارداری مشاهده شده است که بیشتر آن را با اختلالات متابولیسم گلوکز مرتبط می‌کند (۸).

علاوه بر این، miR-150 با هدف قرار دادن فعال کننده رونویسی p300 با هایپرتروفی قلبی ناشی از گلوکز بالا مرتبط شده است (۹).

از سوی دیگر، miR-195 در تنظیم متابولیسم لیپیدها نقش دارد، که اغلب در سندرم متابولیک تنظیم نمی‌شود (۱۰). از همین رو، مشخص شده است که خاموش کردن miR-195 باعث کاهش کاردیومیوپاتی دیابتی، بهبود عملکرد میوکارد و کاهش آسیب اکسیداتیو شده و از این طریق منجر به بهبود سلامت قلب می‌گردد (۱۱). بنابراین، تنظیم و تعدیل بیان ژن miR-195 بافت قلبی به عنوان یکی از هدف‌های درمانی مشکلات قلبی-عروقی پیشنهاد شده است (۱۲). این یافته‌ها در مجموع نشان می‌دهند که miR-195 ممکن است نقش مهمی در ایجاد و پیشرفت سندرم متابولیک، به ویژه در رابطه با متابولیسم گلوکز و سلامت قلب داشته باشد، که می‌تواند برای اهداف درمانی برای کاردیومیوپاتی دیابتی بالقوه باشد.

از سوی دیگر، تمرینات هوازی منظم به طور گسترده به عنوان یک رویکرد غیردارویی برای کاهش یا پیشگیری از عوارض و مرگ و میر بیماری‌های قلبی-عروقی[6] (CVD) شناخته شده است (۱۳). در مدل‌های حیوانی، تمرینات هوازی موجب کاهش تری‌اسیل‌گلیسرول (TAG) و افزایش کلسترول (HDL) خون، کاهش فشار خون، بهبود متابولیسم گلوکز، حساسیت به انسولین، کاهش وزن بدن و شاخص‌های عمومی التهاب و بهبود عملکرد اندوتلیال و فراهمی زیستی نیتریک اکسید[7] (NO) می‌گردد (۱۴). در نهایت، بیان پروتئین‌ها و miRهایی را که در تکثیر سلولی، سنتز پروتئین، رگ‌زایی و رویدادهای ضد آپوپتوز ثبت می‌شوند، تعدیل می‌کند (۱۵). بنابراین، بهبود اختلال متابولیک به واسطه انجام فعالیت‌های ورزشی موجب کاهش تقریباً ۵۹ درصدی بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود (۱۶). با این حال، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرینات هوازی می‌تواند منجر به افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش سطح آنتی‌اکسیدانی شود. در همین راستا، نشان داده شده است که فعالیت ورزشی وامانده‌ساز مصرف اکسیژن را افزایش داده و موجب تشکیل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌شود. بعلاوه، تمرینات ورزشی هوازی طاقت فرسا نیز با استرس اکسایشی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال[8] (ROS) در ارتباط است (۱۷). متضاد با این نتایج، مطالعات دیگری نشان داد که ورزش فقط بر برخی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو تأثیر می‌گذارد، یا اصلاً هیچ کدام از آنها را دچار تغییر نمی‌کند (۱۸). در همین راستا، نشان داده شده است که تمرین منظم در حفظ و بهبود عملکرد قلبی ناشی از افزایش عوامل ضد اکسایشی مؤثر است (۱۹). در هر حال، همچنان تلاش برای پایین آوردن احتمال افزایش استرس اکسایشی ناشی از تمرین هوازی امری منطقی به نظر می‌رسد تا احتمال بروز و ایجاد اثرات نامطلوب آن کاهش یابد. بنابراین،

[1] Sirtuin 3
[2] Pyruvate Dehydrogenase
[3] Chemokine receptor type 4
[4] Superoxide dismutase
[5] Janus kinase/signal transducers and activators of transcription
[6] Cardiovascular disease
[7] Nitric oxide
[8] Reactive Oxygen Species

JAHSSP
http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

استفاده از مکمل‌های گیاهی بویژه از نوع آنتی‌اکسیدانی به منظور جلوگیری از استرس اکسایشی ناشی از ورزش یا بهبود شرایط آنتی‌اکسیدانی پیشنهاد شده است (۲۰).

قره‌قات یکی از مکمل‌های گیاهی آنتی‌اکسیدانی است که به تازگی مورد توجه قرار گرفته است. قره‌قات (با نام علمی Vaccinium arctostaphylos) محتوای منحصر به فردی از اسیدفنولیک بوده و انواع ترکیبات فنولی دارد، که می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (۲۱). شواهد تجربی حاکی از تأثیر قره‌قات بر گلوکز و تری‌گلیسیرید خون است (۲۲). مکانیسم‌هایی که تاکنون برای پایین‌آوردن قندخون توسط این گیاه پیشنهاد شده است شامل: مهار جذب گلوکز از روده، کاهش تولید گلوکز در کبد از طریق مهار گلوکونئوژنز، جلوگیری از تجزیه گلیکوژن و نیز افزایش برداشت گلوکز توسط سلول‌ها است (۲۳). یک مکانیسم احتمالی دیگر افزایش بیان ژن‌های انسولین در سلول‌های بتای پانکراس و در نهایت افزایش ترشح انسولین است (۲۴).

با توجه به مطالب بالا، نهایتاً این پرسش به وجود می‌آید که هشت هفته تمرین هوازی دویدن چه تغییراتی در بیان ژن miR-195 اعمال می‌نماید. چرا که اغلب مطالعات به دنبال اثرات تمرین ورزشی در افراد دارای بیماری بوده‌اند. علاوه بر این، پرسش بعدی این است که قره‌قات به تنهایی یا در ترکیب با تمرین هوازی چه اثراتی بر میزان بیان ژن miR-195 و نیز شاخص‌های گلایسمیک اعمال می‌کند. لذا، هدف از مطالعه حاضر تعیین تأثیر تمرین هوازی دویدن همراه با مکمل عصاره هیدروالکلی میوه قره‌قات بر شاخص‌های گلایسمیک و بیان ژن miR-195 در بافت قلب موش‌های صحرایی سالم نر نژاد ویستار بود.

روش پژوهش

این مطالعه یک مداخله تجربی-کاربردی در قالب طرح پس‌آزمون تک عاملی چند گروهی با گروه‌های کنترل در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز از فروردین تا مرداد ۱۴۰۲ بر اساس آیین نامه نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با شناسه (IR.TABRIZU.REC.1402.037) انجام شد. در مطالعه حاضر، موش‌های صحرایی سالم نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۲۰۰ گرم و سن حدود هشت هفته در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز مورد استفاده قرار گرفتند. ۲۴ سر موش صحرایی سالم به طور تصادفی به چهار گروه (N=۶) شامل: ۱) کنترل سالم (Con)، ۲) تمرین هوازی (AE)، ۳) مکمل (Sup) و ۴) تمرین+مکمل (AE+Sup) تقسیم شدند. طی دوره آشنایی با محیط جدید و اجرای پروتکل، موش‌های صحرایی در قفس پلی اتیلن نگه‌داری شدند. دمای محیط ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، رطوبت هوا ۵۵-۶۵ درصد و تهویه مناسب بود. در طول دوره غذای موش‌ها به شکل پلت‌های تجاری استاندارد با دسترسی آزاد در اختیار حیوانات قرار داده شد. وزن حیوانات در ابتدا و انتهای مطالعه با استفاده از ترازوی دیجیتال (SDS 3031) ساخت ایران اندازه‌گیری و ثبت شد.

پروتکل تمرین هوازی: گروه‌های تمرینی برای پنج روز در هفته (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) به مدت هشت هفته در یک برنامه تمرین هوازی روی نوارگردان الکترونیکی چهار خطی هوشمند حیوانی قرار گرفتند. روش تمرین هوازی شامل سه مرحله گرم کردن، بدنه اصلی تمرین و سرد کردن بود. تمرینات در مرحله گرم و سرد کردن به مدت پنج دقیقه (با شیب صفر درصد و شدت ۳۰-۴۰٪ VO2max) در نظر گرفته شد. بدنه اصلی تمرین هوازی (با شیب ۱۰ درصد و شدت ۵۰-۶۰٪ VO2max) از هفته اول با سرعت ۵-۱۰ (متر بر دقیقه) شروع شد، تا اینکه در پایان هفته هشتم به سرعت ۱۸-۲۴ رسید. همچنین، زمان تمرین در هفته اول از ۱۰-۱۵ دقیقه شروع شد و در هفته هشتم به ۶۰ دقیقه رسید (۲۵) (جدول ۱). بدین صورت که در جلسات اول از محرک الکتریکی ولتاژ کم همراه با محرک صوتی استفاده و پس 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. تمام مراحل تمرین با رعایت اساس اصل اضافه بار با افزایش سرعت و مدت اجرا گردد.

جدول ۱. پروتکل تمرین هوازی با رعایت اصل اضافه بار

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

تهیه عصاره هیدرو-الکلی قره‌قات: برای تهیه عصاره هیدرو-الکلی قره‌قات، ابتدا میوه‌های خشک شده قره‌قات تهیه و پودر شد. این پودر به مدت یک هفته در اتانول ۷۰ درصد و در ظرف در بسته خیسانده شد و در این مدت ظرف روزی چند بار به شدت تکان داده شد. سپس با گذراندن چندین باره محلول از کاغذ صافی و با ریختن بر سطح صاف و قرار دادن در معرض هوای آزاد به دور از تابش مستقیم نور خورشید، جهت حذف حلال و خشک شدن کنار گذاشته شد. پس از خشک شدن عصاره تهیه

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

شده تا زمان استفاده و تجویز به حیوانات در فریزر نگهداری شد (۲۶). عصاره گیاه با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از وزن بدن در ۰/۲ سی‌سی نرمال سالین حل و هر روزه به صورت گاواژ به موش‌های صحرایی خورانده شد. تمام مراحل در آزمایشگاه‌های تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز صورت گرفت.

روش‌های اندازه‌گیری متغیرها: برای اندازه‌گیری متغیرهای تحقیق، موش‌ها پس از ۱۲ تا ۱۴ ساعت ناشتایی، با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، به روش بدون درد توسط متخصصین کارآزموده بی‌هوش و جراحی شدند (۲۷). ابتدا با سرنگ‌های آغشته به هپارین به طور مستقیم از قلب خونگیری به عمل آمده و به لوله‌های آزمایش منتقل و در سانتریفیوژ با دور rpm ۲۵۰۰-۳۰۰۰ به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه سرم جدا شد. سرم جدا شده تا زمان سنجش سطح قند و انسولین در فریزر منفی (۸۰-) درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از خون‌گیری، کل بافت قلب خارج و درون میکروتیوپ در مجاورت ازت مایع به سرعت منجمد شده و تا زمان ارزیابی مولکولی در فریزر منفی (۸۰-) درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نحوه استخراج RNA: استخراج RNA به وسیله دو کیت ۵۰ ری اکشن استخراج RNA ساخت شرکت EURX 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 دی‌اتیل پیرو کربنات[9] (DEPC)، خنثی نشده قرار گرفت تا آنزیم ریبونوکلئاز[10] (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 (Histidine) موجود در جایگاه فعال آنزیم‌ها و RNase باعث غیرفعال‌شدن این آنزیم‌ها گردیده و از تجزیه RNA استخراج شده جلوگیری می‌نماید.

رونویسی معکوس: سنتز cDNA[11] به صورت اختصاصی و با استفاده از کیت اختصاصی (Synthesis Kit PrimeScript tm 1st Strand cDNA) محصول شرکت تجاری Takara انجام شد. برای ساخت cDNA ابتدا لازم است محلول RNA استخراج شده از هر گونه آلودگی به DNA و آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA حذف شود. بنابراین، یک میکروگرم از محلول استخراج شده RNA با آنزیم DNase[12] بافر و بازدارنده RNase به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. پس از آن اتیلن‌دی آمین تتراستیک اسید[13] (EDTA) به نمونه‌ها اضافه شد و در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انگوبه شد، تا آنزیم Dnase غیرفعال شود. cDNAهای 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 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 (۶۵-۹۵ درجه سانتی‌گراد) بود. برای تعیین سطح نسبی miR-195 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 (NORGEN) کشور کانادا با شماره تولید (۲۸۳۲۳) و بر اساس دستور العمل کارخانه مربوطه استفاده شد. پرایمرهای ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزارهای موجود ($Primer^3$) و ($PrimerExpress^{®}$) بررسی توالی‌های مربوط در (Gene Bank) پرایمرها و طراحی و انتخاب و سپس با نرم‌افزار (oligo 7) چک شدند و از لحاظ ارزیابی اختصاصی در nebi/primer blast چک گردید (جدول ۲). ارزش‌های چرخه‌های آستانه[14] (Ct) میکرو RNA با استفاده از کنترل درونی U6 snRNA نرمال شدند. به طور ویژه، میزان بیان mRNA نسبی از حاصل تفریق Ct مربوط به U6 snRNA از Ct مربوط به mRNA مورد نظر به دست آمد که باز از مقدار به دست آمده در نمونه مرجع (کنترل) کسر شد. fold change با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد.

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

Accession No.	Symbol Gene	Forward	Reverse	product length (bp)
NC_051345.1	miR-195	5’- CTGGCTCTAGCAGCACAGAAAT -3’	5’- CCTGGAGCAGCACAGCCAATA -3’	70

[9] Diethyl pyrocarbonate
[10] Ribonuclease
[11] Complementary DNA
[12] Deoxyribonuclease
[13] Ethylenediaminetetraacetic acid
[14] Cycle threshold

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

همچنین غلظت گلوکز خون ناشتا با کیت سنجش قندخون کلور چک مدل (TD-4230) به روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد. غلظت انسولین خون ناشتا از طریق کیت الایزای مخصوص رت، محصول شرکت (کرایواستات دی‌بیوتیک) شانگهای چین با روش ایمنی‌سنجی مبتنی بر روش الایزای ساندویچی اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان مقاومت به انسولین از شاخص HOMA-IR با رابطه زیر استفاده شد (۲۸):

$$\text{HOMA-IR} = [\text{Glucose (mg/dL)} \times \text{insulin (mU/L)}] / 405$$

روش آماری

نتایج بر اساس تغییر فولد ژن‌خانه (GAPDH) مشخص و نسبت به گروه کنترل نرمال‌سازی شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف‌استاندارد گزارش شد. توزیع نرمال داده‌ها از طریق آزمون شاپیرو–ویلک تایید شد. سپس از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه به منظور تفاوت‌های بین گروهی و به دنبال آن از آزمون تعقیبی بونفرونی برای مشاهده تفاوت‌های موجود استفاده شد. تمامی تحلیل‌ها در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۷) صورت گرفت.

یافته‌ها

با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه (جدول ۳)، تنها در مقادیر بیان ژن miR-195 تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد (شکل ۴، P=۰/۰۰۱، $F_{۳,۱۶}$=۱۳/۷۹۲). در سایر شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (گلوکز خون ناشتا: شکل ۱، P=۰/۷۸۰، $F_{۳,۱۶}$=۰/۷۸۰؛ انسولین: شکل ۲، P=۰/۰۸۰، $F_{۳,۱۶}$=۲/۶۹۹؛ مقاومت به انسولین (HOMA-IR): شکل ۳، P=۰/۲۴۲، $F_{۳,۱۶}$=۱/۵۴۲)؛ لذا آزمون تعقیبی بونفرونی به منظور مشاهده محل‌های اختلاف، در شاخص miR-195 مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۳. نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه به منظور بررسی تفاوت‌های بین گروهی

شاخص	منبع	جمع مربعات	df	میانگین مربع	ارزش F	P
گلوکز خون ناشتا	بین گروه	۶۹/۲۰۰	۳	۲۳/۰۶۷	۰/۳۶۴	۰/۷۸۰
	درون گروه	۱۰۱۴/۸۰۰	۱۶	۶۳/۴۲۵		
	کل	۱۰۸۴/۰۰۰	۱۹			
انسولین خون ناشتا	بین گروه	۰/۶۲۵	۳	۰/۲۰۸	۲/۶۹۹	۰/۰۸۰
	درون گروه	۱/۲۳۶	۱۶	۰/۰۷۷		
	کل	۱/۸۶۱	۱۹			
مقاومت به انسولین	بین گروه	۰/۰۳	۳	۰/۰۱۲	۱/۵۴۲	۰/۲۴۲
	درون گروه	۰/۱۲۵	۱۶	۰/۰۰۸		
	کل	۰/۱۶۱	۱۹			
miR-195	بین گروه	۳/۲۲۸	۳	۱/۰۷۶	۱۳/۷۹۲	۰/۰۰۱*
	درون گروه	۱/۲۴۸	۱۶	۰/۰۷۸		
	کل	۴/۴۷۶	۱۹			

* نشان‌دهنده معنی‌داری کمتر از P<۰/۰۱

با توجه به آزمون تعقیبی بونفرونی (جدول ۴)، در مقادیر بیان ژن miR-195 افزایش معنی‌داری در گروه تمرین نسبت به گروه‌های کنترل (P=۰/۰۰۱) و مکمل (P=۰/۰۱۰) مشاهده شد. در گروه تمرین+مکمل هر چند سطح بیان miR-19 نسبت به گروه تمرین کاهش (P=۰/۷۹۵) نشان داد اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. این تغییر نسبت به گروه کنترل همچنان افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد (P=۰/۰۰۲). در سایر موارد نیز مقایسه بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P≥۰/۰۵).

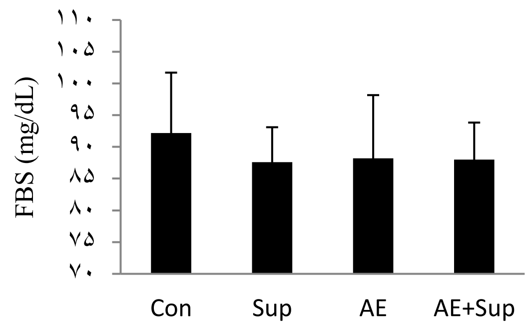
جدول ٤. نتایج حاصل از آزمون تعقیبی بونفرونی به منظور تشخیص محل تفاوت‌ها

شاخص	گروه	گروه	اختلاف میانگین	معنی‌داری
miR-195	تمرین	کنترل	۱/۰۶۶	۰/۰۰۱*
		مکمل	۰/۶۶	۰/۰۱۰*

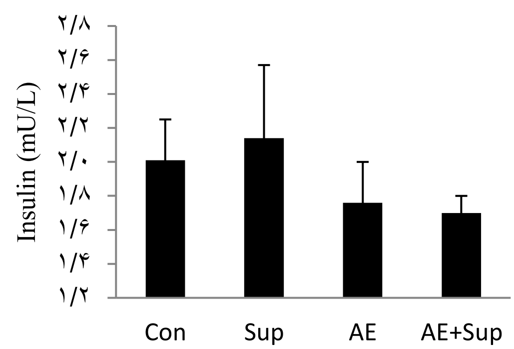
http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

	تمرین+مکمل	۰/۲۸	۰/۷۹۵
تمرین+مکمل	کنترل	۰/۷۸۶	۰/۰۰۲*
	مکمل	۰/۳۸۴	۰/۲۷۱
مکمل	کنترل	۰/۴۰۲	۰/۲۲۲

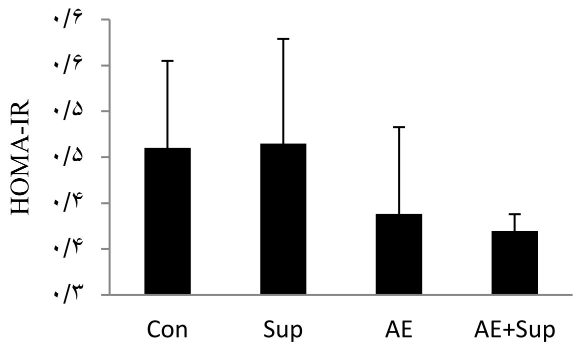
* اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵



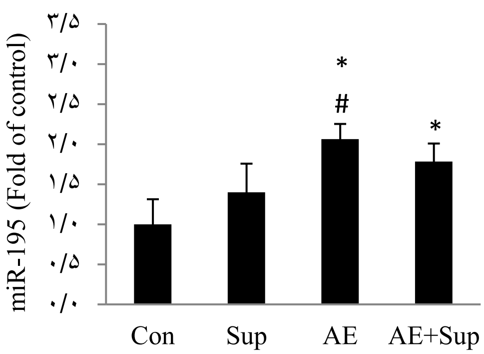
شکل ۱. مقادیر گلوکز خون ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه
Con: کنترل سالم، AE: تمرین هوازی، Sup: مکمل و AE+Sup: تمرین+مکمل



شکل ۲. مقادیر انسولین در گروه‌های مورد مطالعه
Con: کنترل سالم، AE: تمرین هوازی، Sup: مکمل و AE+Sup: تمرین+مکمل



شکل ۳. مقادیر مقاومت به انسولین در گروه‌های مورد مطالعه
Con: کنترل سالم، AE: تمرین هوازی، Sup: مکمل و AE+Sup: تمرین+مکمل



شکل ٤. مقادیر miR-195 در گروه‌های مورد مطالعه
Con: کنترل سالم، AE: تمرین هوازی، Sup: مکمل و AE+Sup: تمرین+مکمل
* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه Con # نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه Sup

بحث

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر تمرین هوازی دویدن با مکمل عصاره هیدرو-الکلی میوه قره‌قات بر شاخص‌های گلایسمیک و بیان ژن miR-195 در بافت قلب موش‌های صحرایی سالم نر نژاد ویستار پرداخته است. طبق نتایج مطالعه حاضر، در مقادیر گلوکز خون ناشتا، انسولین خون ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. به عبارت دیگر، تمرین هوازی دویدن یا مکمل‌دهی قره‌قات به تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر، تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های ذکر شده اعمال نکردند. که البته این نتایج دور از انتظار نبود، چرا که نمونه‌های حیوانی مورد استفاده کاملاً سالم بودند. نتایج کیندلویتز و همکاران (۲۰۲۱) با مطالعه حاضر همسو بود. آنها نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی تردمیل با شدت متوسط منجر به تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تمرین و کنترل در مقادیر انسولین و گلوکز نشد (۱۳).

قره‌قات یک میوه دارویی است که به دلیل محتوای بالای آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، اسید اسکوربیک، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها و اسید فنولیک شناخته شده است (۲۹, ۳۰). قره‌قات از دیرباز در طب شرقی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های التهابی و قلبی-عروقی مورد استفاده قرار می‌گرفت. در همین راستا کاهش حاد

خفیف (۱۸ درصد) و همچنین مزمن معنی‌دار (۳۵ درصد) قند خون پس از غذا با استفاده از مصرف عصاره قره‌قات در موش‌های صحرایی سالم گزارش شده است (۲۳). افزایش میزان گلوکز و گلیکوژن عضله و کبد با مصرف قره‌قات در موش‌های صحرایی که به تمرین شنا پرداختند، نشان داده شد (۳۱). هرچند که برخی از مطالعات افزایش انسولین خون با استفاده از قره‌قات را بیان کرده‌اند (۲۳, ۲۴). با این حال، یک مطالعه نشان داد که قره‌قات خاصیت انسولینوتروپیک (تحریک یا تأثیر بر تولید و فعالیت انسولین) ندارد و تأثیر آن بر کاهش قند خون با مکانیسم‌های دیگری است (۲۲). در هر صورت، اطلاعات علمی در خصوص اثرات قره‌قات همزمان با فعالیت ورزشی هوازی بر شاخص‌های گلایسمیک محدود بوده و نیز غالباً سایر گیاهان هم‌خانواده، مورد مطالعه قرار گرفته است.

از سوی دیگر، طبق نتایج مطالعه حاضر مقادیر بیان ژن miR-195 بین گروه‌های مورد مطالعه به طور معنی‌داری متفاوت بود. به عبارت دیگر، مقادیر بیان ژن miR-195 در گروه AE نسبت به گروه‌های Con و Sup و در گروه AE+Sup نسبت به گروه Con به طور معنی‌داری بالاتر بود. این نتایج نشان می‌دهد که هشت هفته تمرین هوازی به تنهایی یا با مصرف مکمل قره‌قات منجر به افزایش مقادیر بیان ژن miR-195 در بافت قلبی موش‌های صحرایی سالم می‌شود. ناهمسو با مطالعه حاضر کیندلویتز و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که هشت هفته تمرین هوازی تردمیل (۶۰ دقیقه در روز، چهار روز در هفته) با شدت متوسط منجر به تغییر معنی‌دار بیان ژن miR-195 موش‌های صحرایی نسبت به گروه کنترل نشد (۱۳). مطالعه آنها با ما در تعداد روزهای تمرینی (چهار در مقابل پنج جلسه در مطالعه حاضر) تفاوت داشت و احتمالاً این نتایج از فرضیه ما حمایت می‌کند؛ چرا که افزایش تعداد جلسات تمرینی این احتمال که شرایط استرس اکسیداتیو می‌تواند غالب باشد را تشدید می‌کند و از این منظر ممکن است مشاهده افزایش miR-195 قابل توجیه باشد.

بیان تنظیم نشده miR-195 با برخی از شرایط پاتولوژیک میوکارد از جمله هایپرتروفی، فیبروز، آپوپتوز، ترمیم، آریتمی و نارسایی قلبی مرتبط است (۳۲) و از همین روی به عنوان یکی از اهداف درمانی مشکلات قلبی–عروقی پیشنهاد شده‌است (۱۲). مطالعات قبلی در ارتباط با اثرات تعاملی ورزش و miR-195 بر بافت قلب بیشتر در نمونه‌های دارای مشکلات قلبی–عروقی یا متابولیکی تمرکز داشته است. ما فرض کردیم تمرین در طولانی مدت به دلایل مختلفی چون افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو می‌تواند مشکلاتی مانند اختلالات متابولیکی را در بافت قلب به همراه داشته باشد. لذا مطالعه حاضر به نحوی طراحی گردید تا تأثیر تمرین هوازی بر وضعیت بیان miR-195 و نقش محافظتی قره‌قات را مورد ارزیابی قرار دهد.

هرچند اثربخشی فعالیت ورزشی منظم با افزایش عوامل آنتی‌اکسیدانی و تعدیل وضعیت متابولیک در حفظ و بهبود عملکرد قلب مرتبط است (۱۹). اما افزایش مصرف اکسیژن ناشی از فعالیت ورزشی به ویژه از نوع دویدن و به خصوص در افرادی که به تازگی به تمرین روی آورده‌اند، باعث تشکیل ROS و به دنبال آن ایجاد التهاب و القای استرس اکسیداتیو شده و به طور بالقوه می‌تواند باعث خستگی و آسیب عضلانی و نهایتاً تضعیف عملکرد ورزشی شود (۳۳). علاوه بر این، خستگی ناشی از تمرینات هوازی به شکل یک فیدبک منفی با استرس اکسیداتیو و تولید ROS بیشتر همراه است که شرایط را وخیم‌تر می‌کند (۱۷). از همین روی مزایای سلامتی ناشی از فعالیت ورزشی شدید با تجمع بیش از حد ROS محدود می‌شود. در همین راستا، اخیراً miR-195 به عنوان یک microRNA کلیدی برای ایجاد استرس اکسیداتیو عنوان شده است (۳۴). miR-195 با هدف قرار دادن میتوفوسین ۲[15] (MFN2)، تعدیل‌کننده دینامیک میتوکندری است و در نتیجه عملکرد میتوکندری را مختل کرده و به طور همزمان، عوامل حذف کننده ROS از قبیل SOD را برای محافظت در برابر سطوح متوسط استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۳۴). در واقع وجود سطح مناسبی از miR-195 می‌تواند استرس اکسیداتیو و التهاب را تعدیل کند (۳۵). اما تنظیم مثبت غیرکنترل شده miR-195 آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف را تسریع می‌کند (۳۶). بر همین اساس در مطالعه حاضر نحوه پاسخ miR-195 به تمرین هوازی دویدن مدنظر بود که نتایج ما افزایش معنی‌دار آن را نشان داد.

با این حال، اتخاذ راهکارهایی که به جلوگیری از کاهش مزایای سلامت بخشی فعالیت ورزشی به خصوص کاهش احتمال آسیب به بافت‌های حیاتی از جمله سیتم قلبی–عروقی منجر می‌شود، مورد نیاز است (۳۴). استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از راهکارهای مطمئن در این مسئله به شمار می‌رود. مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است به کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت ورزشی کمک کنند (۳۱). از همین رو در مطالعه حاضر مکمل‌دهی قره‌قات مدنظر قرار گرفت که نتایج کاهش بیان miR-195 افزایش یافته ناشی از تمرین هوازی از طریق مکمل قره‌قات در گروه تمرین+مکمل نسبت به گروه تمرین به تنهایی را نشان داد. همچنین لازم به ذکر است مکمل قره‌قات به تنهایی باعث افزایش اندک miR-195 می‌شود، اما نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست. اما افزایش معنی‌دار miR-195 ناشی از تمرین هوازی را به نحوی کاهش داد که با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. طبق جستجوهای صورت گرفته به نظر می‌رسد تا کنون در ارتباط با اثرات متقابل تمرین هوازی و مکمل‌دهی قره‌قات بر بیان miR-195 مطالعه‌ای صورت نگرفته است و مطالعه حاضر اولین گزارش در این مورد است.

[15] Mitofusin 2

هرچند مکانیسم‌های مولکولی که اثرات مفید مکمل‌دهی قره‌قات را بر کاهش بیان miR-195 قلبی نشان دهد هنوز شناسایی نشده‌اند. اما ثابت شده است که قره‌قات حاوی مقادیر بالای آنتوسیانین است (۳۰) و این ترکیب می‌تواند پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات-۵ را با سرکوب و کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپوزومی اسید چرب سنتاز، استیل-کوآنزیم CoA-A کربوکسیلاز و استئاروئیل- دساتوراز-۱ فعال کنند و باعث کاهش استرس اکسیداتیو شوند. همچنین اثر آنتوسیانین‌ها بر بیوژنز میتوکندری به واسطه افزایش بیان ژن‌های PGC-1α، TFAM و NRF2 و کاهش استرس اکسیداتیو به خوبی نشان داده شده است (۳۷). بخش قابل توجهی از بهبود عملکرد قلبی به ویژه در مقابله با کاردیومیوپاتی از طریق افزایش گیرنده گاما کواکتیواتور-۱ آلفا با تکثیرکننده پراکسی زوم فعال شده[16] (αPGC-1) صورت می‌گیرد. گزارشات نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین PGC-1α و بیوژنز میتوکندری وجود دارد که می‌تواند وقوع آپوپتوز و فیبروز میوکارد را کاهش دهد (۳۸).

کاهش miR-195 از طریق مکانیسم‌های متعدد، اختلال عملکرد قلبی را در سلول‌های عضله قلبی ناسالم کاهش می‌دهد. یکی از این مکانیسم‌ها مسیری است که هدف مستقیم miR-195 یعنی مسیر SIRTI می‌باشد، که در آن miR-195 جریان پایین دست این پروتئین را با اثر مستقیم بر SIRTI تنظیم می‌کند و از استرس شبکه آندوپلاسمی و آپوپتوز جلوگیری می‌کند. BCL-2 دومین مسیری است که هدف مستقیم miR-195 است. BCL-2 مسئول کنترل مرگ برنامه ریزی شده و تکثیر سلولی است. افزایش بیان miR-195 در بافت قلبی با بیان BCL-2 همبستگی معکوس دارد (۳۸). آنتوسیانین‌ها به طور مؤثر آپوپتوز پلاکتی را با تأثیر بر بیان پروتئین‌های خانواده BCL-2 و مسیر BCL-2/BCL-XL ترویج می‌کنند و از همین روی پتانسیل درمانی مناسبی برای مقابله با مشکلات ناشی از ترومبوتیک قلبی دارند (۳۹). در هر صورت، مطالعات در ارتباط با اثرات قره‌قات به تنهایی یا همزمان با تمرین ورزشی بر بیان miR-195 بافت قلبی بسیار محدود است و بررسی و درک بهتر مسیرها و مکانیسم‌های دخیل نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرینات هوازی دویدن به تنهایی و همراه با مکمل قره‌قات منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر بیان ژن miR-195 می‌شود، اما مکمل قره‌قات به تنهایی تأثیری نداشت. علاوه بر این، ممکن است ترکیب مکمل‌دهی قره‌قات همراه با تمرین هوازی بخشی از افزایش miR-195 را نسبت به گروه تمرین هوازی کاهش دهد و از این طریق منجر به کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از تمرین هوازی شود. همچنین تمرین و مکمل قره‌قات به صورت جداگانه و ترکیبی تأثیری بر شاخص‌های گلیسمی در بافت قلب موش‌های صحرایی سالم نداشت. با این حال، با توجه به اینکه بررسی حاضر اولین مطالعه‌ای است که در خصوص اثرات تمرین هوازی به تنهایی یا در ترکیب با مکمل‌دهی قره‌قات بر بیان ژن miR-195 بافت قلبی موش‌های صحرایی سالم صورت گرفته است و هنوز اطلاعات دقیقی در رابطه با مکانیسم‌های دخیل در آن موجود نیست، نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از عوامل محترم دانشگاه تبریز به ویژه همکاران محترم در آزمایشگاه حیوانی کمال قدردانی را دارند.

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

Reference

1. Vakili J, Gir SG, Khani M, Alamdari KA. The effect of Eight Weeks High-Intensity Interval Training (HIIT) on the Expression of miRNA-21 and miRNA-1 in Diabetic Male Rats. Research in Medicine: Journal of Research in Medical Sciences. 2022;46(4) [In Persian].
2. Zhang X, Ji R, Liao X, Castillero E, Kennel PJ, Brunjes DL, et al. MicroRNA-195 regulates metabolism in failing myocardium via alterations in sirtuin 3 expression and mitochondrial protein acetylation. Circulation. 2018;137(19):2052-67.
3. He JF, Luo YM, Wan XH, Jiang D. Biogenesis of MiRNA-195 and its role in biogenesis, the cell cycle, and apoptosis. Journal of biochemical and molecular toxicology. 2011;25(6):404-8.
4. Van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006;103(48):18255-60.
5. Klimczak-Tomaniak D, Haponiuk-Skwarlińska J, Kuch M, Pączek L. Crosstalk between microRNA and oxidative stress in heart failure: A systematic review. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(23):15013.
6. Shen Y, Zhang W, Lee L, Hong M, Lee M, Chou G, et al. RETRACTED: down-regulated microRNA-195-5p and up-regulated CXCR4 attenuate the heart function injury of heart failure mice via inactivating JAK/STAT pathway. Elsevier; 2020.
7. Wang J, Pan Y, Dai F, Wang F, Qiu H, Huang X. Serum miR-195-5p is upregulated in gestational diabetes mellitus. Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2020;34(8):e23325.

[16] Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 alpha

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

Male Wistar Rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2023;10(1):67-82.
20. Arazi H, Eghbali E, Suzuki K. Creatine supplementation, physical exercise, and oxidative stress markers: a review of the mechanisms and effectiveness. Nutrients. 2021;13(3):869.
21. Khoramshahi S, Kordi M, Delfan M, Gaeini A, Safa M. Effect of five weeks of high-intensity interval training on the expression of miR-23a and Atrogin-1 in gastrocnemius muscles of diabetic male rats. 2017 [In Persian].
22. SHAFIEI NR, Parizadeh S, Zokaei N, GHORBANI A. Effect of hydro-alcoholic extract of Vaccinium arctostaphylos on insulin release from rat-isolated langerhans islets. 2011.
23. Feshani AM, Kouhsari SM, Mohammadi S. Vaccinium arctostaphylos, a common herbal medicine in Iran: amolecular and biochemical study of its antidiabetic effects on alloxan-diabetic Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology. 2011;133(1):67-74.
24. Dashti S, Ghorbani A, Mohebbi M, Gholamnezhad Z. The antihyperglycemic and hypolipidemic effects of Ribes khorassanicum hydro-ethanolic extract co-administration in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled trial. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2022;12(2):145.
25. Nakos I, Kadoglou NP, Gkeka P, Tzallas AT, Giannakeas N, Tsalikakis DG, et al. Exercise training attenuates the development of cardiac autonomic dysfunction in diabetic rats. in vivo. 2018;32(6):1433-41.
26. Parekh J, Chanda S. In vitro antibacterial activity of the crude methanol extract of Woodfordia fruticosa Kurz. flower (Lythraceae). Brazilian Journal of Microbiology. 2007;38:204-7.
27. Mehri K, Hamidian G, Babri S, Farajdokht F, Oskuye ZZ. Exercise and insulin glargine administration in mothers with diabetes during pregnancy ameliorate function of testis in offspring: Consequences on apelin-13 and its receptor. Life Sciences. 2024;342:122517.
28. Dabagh Nikookheslat S, Amirsasan R, Khani M, Nikkhesal M. The effect of eight weeks of high-intensity interval training on p-mTOR, T-mTOR, and fibrosis of cardiac tissue and insulin resistance in diabetic male Wistar rats. J Sport Exerc Physiol. 2023;16(1):56–66 [In Persian].
29. Ciulca S, Roma G, Alexa E, Radulov I, Cocan I, Madosa E, et al. Variation of polyphenol content and antioxidant activity in some bilberry (Vaccinium myrtillus L.) populations from Romania. Agronomy. 2021;11(12):2557.
30. Bayazid AB, Chun EM, Al Mijan M, Park SH, Moon S-K, Lim BO. Anthocyanins profiling of bilberry (Vaccinium myrtillus L.) extract that elucidates antioxidant and anti-inflammatory effects. Food and Agricultural Immunology. 2021;32(1):713-26.
31. Tung Y-T, Wu M-F, Lee M-C, Wu J-H, Huang C-C, Huang W-C. Antifatigue activity and exercise performance of phenolic-rich extracts from Calendula officinalis, Ribes nigrum, and Vaccinium myrtillus. Nutrients. 2019;11(8):1715.
8. Tagoma A, Alnek K, Kirss A, Uibo R, Haller-Kikkatalo K. MicroRNA profiling of second-trimester maternal plasma shows upregulation of miR-195-5p in patients with gestational diabetes. Gene. 2018;672:137-42.
9. Duan Y, Zhou B, Su H, Liu Y, Du C. miR-150 regulates high glucose-induced cardiomyocyte hypertrophy by targeting the transcriptional co-activator p300. Experimental cell research. 2013;319(3):173-84.
10. Christian P, Su Q. MicroRNA regulation of mitochondrial and ER stress signaling pathways: implications for lipoprotein metabolism in metabolic syndrome. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2014;307(9):E729-E37.
11. Zheng D, Ma J, Yu Y, Li M, Ni R, Wang G, et al. Silencing of miR-195 reduces diabetic cardiomyopathy in C57BL/6 mice. Diabetologia. 2015;58:1949-58.
12. Ding H, Yao J, Xie H, Wang C, Chen J, Wei K, et al. MicroRNA-195-5p downregulation inhibits endothelial mesenchymal transition and myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy by targeting Smad7 and inhibiting thetransforming growth factor beta 1-Smads-Snail pathway. Frontiers in Physiology. 2021;12:709123.
13. Kindlovits R, Bertoldi JMCRJ, Rocha HNM, Bento-Bernardes T, Gomes JLP, de Oliveira EM, et al. Molecular mechanisms underlying fructose-induced cardiovascular disease: exercise, metabolic pathways and microRNAs. Experimental Physiology. 2021;106(5):1224-34.
14. Olver TD, McDonald MW, Klakotskaia D, Richardson RA, Jasperse JL, Melling CJ, et al. A chronic physical activity treatment in obese rats normalizes the contributions of ET-1 and NO to insulin-mediated posterior cerebral artery vasodilation. Journal of Applied Physiology. 2017;122(4):1040-50.
15. Medeiros RF, Gaique TG, Bento-Bernardes T, Motta NA, Brito FC, Fernandes-Santos C, et al. Aerobic training prevents oxidative profile and improves nitric oxide and vascular reactivity in rats with cardiometabolic alteration. Journal of Applied Physiology. 2016;121(1):289-98.
16. Mora S, Cook N, Buring JE, Ridker PM, Lee I-M. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events: potential mediating mechanisms. Circulation. 2007;116(19):2110-8.
17. Moradi S, Habibi A, SHAKERIAN S, Tabande MR. The effect of continuous and interval aerobic exercise on the levels of malondialdehyde, dopamine, and glutathione peroxidase in the hippocampus of rats with pseudo-parkinsonism diseases. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2020;19(2):187-201 [In Persian].
18. Thirupathi A, Wang M, Lin JK, Fekete G, István B, Baker JS, et al. Effect of different exercise modalities on oxidative stress: A systematic review. BioMed Research International. 2021;2021(1):1947928.
19. Karimiasl A, Ghasemikalateh F, Rahmani A, Norouzi HR. The Effect of High-Intensity Interval Training and Endurance Training Along With Jujube Supplement Consumption on the State of Oxidative Stress and Antioxidant Capacities of Testicular Tissue of Immature

http://dx.doi.org/10.22049/jahssp.2024.29740.1656

32. Chen H, Untiveros GM, McKee LA, Perez J, Li J, Antin PB, et al. Micro-RNA-195 and-451 regulate the LKB1/AMPK signaling axis by targeting MO25. PloS one. 2012;7(7):e41574.
33. Thirupathi A, Pinho RA, Ugbolue UC, He Y, Meng Y, Gu Y. Effect of running exercise on oxidative stress biomarkers: a systematic review. Frontiers in physiology. 2021;11:610112.
34. Purohit PK, Edwards R, Tokatlidis K, Saini N. MiR-195 regulates mitochondrial function by targeting mitofusin-2 in breast cancer cells. RNA biology. 2019;16(7):918-29.
35. Xia H, Zhao H, Yang W, Luo X, Wei J, Xia H. MiR-195-5p represses inflammation, apoptosis, oxidative stress, and endoplasmic reticulum stress in sepsis-induced myocardial injury by targeting activating transcription factor 6. Cell biology international. 2022;46(2):243-54.
36. Zhang R, Garrett Q, Zhou H, Wu X, Mao Y, Cui X, et al. Upregulation of miR-195 accelerates oxidative stress-induced retinal endothelial cell injury by targeting mitofusin 2 in diabetic rats. Molecular and cellular endocrinology. 2017;452:33-43.
37. Gomes JVP, Rigolon TCB, da Silveira Souza MS, Alvarez-Leite JI, Della Lucia CM, Martino HSD, et al. Antiobesity effects of anthocyanins on mitochondrial biogenesis, inflammation, and oxidative stress: A systematic review. Nutrition. 2019;66:192-202.
38. Kashef M, Salehpour M, Shahidi F, Nejatmand N. Comparing the Effect of Six Weeks of Aerobic and Resistance Training on Expression miR-195 in Male Rats with Diabetic Cardiomyopathy. Journal of Isfahan Medical School. 2023;40(704):1128-37 [In Persian].
39. Yan Y, Jing M, Jinju T, Liyi C, Yin S, Ni H, et al. Plant Food Anthocyanins Induced Platelet Apoptosis Via BCL-2/BCL-XL Pathway. American Society of Hematology Washington, DC; 2014.