



تأثیر تمرین تنابی شدید و عصاره آویشن بیان ژن P53 بافت کبد و مقاومت به انسولین مosh‌های دیابتی نوع دو

نادر عفر اوی: دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران
حسین عابد نظری: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (* نویسنده مسئول)
 abednazari@gmail.com
معصومه هلالی زاده: استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران
ماندانا غلامی: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

تمرین تنابی،
دیابت نوع دو،
آویشن،
آپوپتوز،
ژن P53

زمینه و هدف: دیابت نوع دو شایع‌ترین بیماری درون‌ریز است که به دلیل عدم تحمل گلوکز و دراثر برهم‌خوردن تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین رخ می‌دهد. پژوهش‌های اخیر نقش حیاتی p53 را در توسعه دیابت نشان می‌دهد. هدف پژوهش حاضر مطالعه تغییرات بیان ژن P53 بافت کبد و شاخص مقاومت به انسولین پس از انجام تمرین تنابی و مصرف عصاره آویشن شیرازی در مosh‌های چاق دیابتی نوع دو بود.

روش کار: جامعه آماری پژوهش حاضر را ۳۶ مosh‌های صحرایی نر تشکیل دادند. جامعه آماری پس از ۲۰ هفته تغذیه با رژیم پرچرب و با تزریق درون صفاقی STZ ۲۵ میلیگرم/کیلوگرم دیابتی شدند. گلوکز ناشتابی بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم/د سی لیتر ملاک دیابتی نوع دوم بود. Mosh‌های دیابتی در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند. پروتکل تمرینی به صورت هشت هفته تمرین تنابی، پنج جلسه در هفته با تناوب شدید ۲ دقیقه‌ای با ۲ تا ۸۰ تا ۹۰ در صد VO_{2max} و تناوب استراحت یک دقیقه‌ای با ۵۰ تا ۶۵ در صد VO_{2max} اجرا شد. عصاره آویشن بصورت گاواظ به میزان ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم برای ۵ روز در هفته داده شد.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دواعملی نشان داد در مقایسه با گروه کنترل، تمرین تنابی شدید به کاهش معنی‌دار گلوکز و شاخص مقاومت به انسولین منجر شد. تمرین تنابی به کاهش بیان ژن P53 در سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P < 0.009$). تمرین تنابی و مصرف عصاره آویشن همچنین به کاهش غیر معنی‌دار بیان ژن P53 در سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه کنترل منجر شد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تمرین تنابی شدید (High-intensity interval training-HIIT) و مصرف عصاره آویشن می‌تواند از نتایج این پژوهش در جهت ارزیابی بهبود وضعیت افراد دیابتی نوع دو استفاده کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Afravi N, Abednatanz H, Helalizade M, Gholami M. The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. Razi J Med Sci. 2023;29(11):346-361.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats

Nader Afravi: PhD Student of Exercise physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department of physical education and sport science, Tehran, Iran

Hossein Abednatanzi: Assistant Professor of Exercise Physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department physical education and sport science, Tehran, Iran (*Corresponding author) abednazari@gmail.com

Masome Helalizade: Assistant Professor of Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute, Sport Medicine Research Center, Tehran, Iran

Mandana Gholami: Associate Professor of Exercise Physiology, Science and research branch, Islamic Azad University, Faculty of Humanities, Department of physical education and sport science, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Type 2 diabetes is the most common endocrine disease occurs due to glucose intolerance due to imbalance between reserves and insulin demand. Diabetes can also cause damage and cell death or apoptosis (1, 2). Recent research shows the vital role of p53 in the development of diabetes. The aim of this study was to study changes in p53 gene expression in liver tissue and insulin resistance index after HIIT and *Zataria multiflora* (Thyme) extract in obese type 2 diabetic rats.

Methods: The statistical population of the study consisted of male Wistar rats from Royan Institute. All rats were fed a high-fat diet (45 to 60% fat) for 5 months or 20 weeks. After the rats became obese and reached an average weight of about 407 ± 50 g, to create a type 2 diabetic model, 25mg/kg STZ was injected intraperitoneally. Rats with fasting glucose between 150 to 400 mg/dl was considered as a criterion for diabetes and all rats were diabetic divided into 4 groups control, HIIT, Thyme, HIIT-Thyme. HIIT protocol, performed for five sessions per week with 2-minute alternation of 2 and 8 intervals with 80 to 90% VO_{2max} and a one-minute rest cycle with 50 to 56% vo_{2max}. Running time increased from 16 minutes in the first week to 34 minutes in the eighth week. Thyme extract was given by gavage at a dose of 200 mg / kg 5 days a week for eight week. At the end of the training period and 48 hours after the last training session, the experimental training groups and after 12 hours of fasting, the rats were anesthetized and sacrificed by ether anesthetic. Blood samples were collected from the heart. Glucose was measured using an auto-analyzer. Insulin measured by a special kit of Pars Azmoun Company. The insulin resistance index was calculated using the formula and the expression of liver tissue P53 genes expression was also measured by RT-PCR. Statistical analyze performed with one-way ANOVA and two-factor analysis of variance test for comparison between groups and determination of the effect size and post-hoc method.

Results: According to the results, these findings were observed: The mean weight in the experimental groups of exercise, thyme and HIIT-Thyme groups increased slightly compared to control group. The mean concentration of glucose in the exercise group was significantly lower than the control group ($P = 0.001$) and also in the HIIT-Thyme group, there was no significant difference ($P = 0.99$) compared to the thyme group. Moreover, in the Thyme-HIIT group there was a significant decrease ($P = 0.001$) compared to the control group. Also, HIIT led to a significant reduction in glucose and insulin resistance index ($P < 0.05$). The mean insulin concentration in the HIIT group was significantly higher than the control group ($P = 0.005$) group and in the HIIT-Thyme group was not significantly different compared to the thyme group ($P = 0.218$); however, the Thyme group had a significant increase compared to the control group. The mean insulin resistance index in the HIIT group (2.04) and Thyme-HIIT was significantly lower than the control group but Thyme group was not significantly different from the control group ($P = 0.994$). HIIT reduced P53 gene expression in hepatocytes

Keywords

HIIT,
Type 2 Diabetes,
Thyme,
Apoptosis,
P53 gene

Received: 17/12/2022

Published: 07/02/2023

compared with controls ($P < 0.009$). HIIT and consumption of Thyme extract also significantly reduced P53 gene expression in hepatocytes compared with the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: The P53 gene, which is a tumor suppressor gene, is mutated and inactive in a wide range of cancers, this gene has been given the title of "protector of the genome", now new research shows that this gene has profound effects on metabolism and other. Its activation can lead to obesity and type 2 diabetes, and for this reason another name was given to this gene "protector against obesity" (11). While the role of this gene is well known during decades of cancer research, little information is available about its role in metabolism. Previous studies have shown that the role of P53 in metabolism and its function is important for tumor suppression (12), this gene also has effects on heart disease, obesity and type 2 diabetes (13). P53 gene regulates glucose transporters. Maintaining proper function of glucose transporters is crucial in glucose homeostasis and suppression of diabetes (11). P53 regulates the function of glucose transporters by influencing their transcription and transport. For example, p53 activated by genotoxic stress can directly bind to GLUT1 and GLUT4 promoters and repress their transcription. P53 also suppresses GLUT3 expression, but this occurs through an indirect mechanism by inhibiting I κ B kinase or IKK (11).

P53 gene negatively regulates glycolysis. It affects glucose levels by directly regulating degradation (glycolysis) and synthesis (gluconeogenesis). Following DNA damage, p53 can reprogram the cell's energy production strategies from glycolysis to mitochondrial respiration (or oxidative phosphorylation) in order to suppress tumor progression (11). The first p53 target gene identified to inhibit glycolysis is TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) (30). TIGAR overexpression reduces the level of fructose 2, 6-bisphosphate (Fru-2, 6-P2), which activates the glycolysis promoter PFK1 (6-phosphofructo-1-kinase). P53 also regulates the stability of phosphoglycerate mutase (PGM), another enzyme important for the completion of glycolysis through the conversion of 3-phosphoglycerate (3-PG) to 2-phosphoglycerate (2-PG). It has been shown that the pentose phosphate pathway (PPP), an alternative mechanism for glucose consumption for energy production, is partially blocked by p53 through a direct interaction between p53 and its rate-limiting enzyme, glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD). (30). P53 also negatively regulates pyruvate dehydrogenase kinase-2 (PDK2) through both transcriptional and post-translational mechanisms to activate the PDH complex that converts pyruvate to acetyl-CoA to shift the balance from glycolysis to mitochondrial respiration (28, 31). The results of the present study show a significant decrease in the expression of the P53 gene in the liver tissue in the intense interval training group, and also the decrease in the expression of this gene in the interaction group of interval training - thyme can indicate the effect of interval training on the decrease in the expression of the P53 gene in the liver tissue. According to the mentioned regulatory pathways, but in the thyme group alone, no significant decrease in the expression of this gene was observed, which can be inferred that when using thyme extract to use its medicinal, antioxidant and anti-inflammatory properties, performing periodic exercises its effectiveness can be improved by further reducing the expression of the P53 gene. Suppression of hepatic glucose production by reducing the expression of the P53 gene can effectively improve diabetes and be used to treat it, in a way, it can be said that targeting components in the gluconeogenic pathway can improve hyperglycemia (10, 11).

HIIT with thyme extract in diabetic rats led to improved glycemic profile and changes in glucose and insulin levels, as well as positive and appropriate changes in the expression of P53 gene expression in hepatic tissue.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Afravi N, Abednatanzi H, Helalizade M, Gholami M. The Effect of HIIT and Thyme Extract on P53 Gene Expression in Liver Tissue and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Rats. Razi J Med Sci. 2023;29(11):346-361.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

روی ترمیم آپوپتوز را کاهش می‌دهد، در حالی که تمرين ورزشی اجباری سطوح اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد^(۴). بنابراین تأثیر فعالیت ورزشی بر القا یا مهار آپوپتوز هنوز مورد تردید و مطالعه می‌باشد و یکی از راه‌های درمانی و پیشگیرانه، انجام فعالیت بدنی و ورزشی به شکل منظم برای بیماران دیابتی می‌باشد. اما اینکه این فعالیت ورزشی از چه نوع و با چه شدت و پرتوکلی انجام شود، سوالی است که محققین همیشه در پی کشف آن هستند. با توجه به نقش انجام فعالیت و تمرين های ورزشی در پیشگیری و کنترل چاقی و دیابت، اجرای شیوه های مختلف تمرينی مناسب برای پیشگیری و کاهش شیوع چاقی و نیز کمک به کاهش روند اضافه وزن و چاقی و عوارض و عواقب ناشی از آن مانند بیماری های قلبی و عروقی و متابولیکی مثل کبد چرب و دیابت و سلطان و مانند این ها در جامعه ضرورت پیدا می کند. پژوهش ها نشان دادند تمرين استقامتی با حجم بالا در دیابت نوع دو، قند خون را در کنترل می کند. تمرينات تناوبی شدید (High-intensity interval training: HIT) که معمولاً با شدت های بالاتر از ۹۰ درصد حداکثر ضربان قلب و دوره استراحت های کم و مدت زمان کمتر از ۲۰ دقیقه انجام می شود، با به کارگیری و درگیر کردن بهتر و بیشتر تارهای عضلانی و فراخوانی قوی تر دستگاه های سوخت وسازی و متابولیکی می تواند از طریق سازوکار سلولی و مولکولی، متابولیسم کل بدن را در جهت ثابت تحت تأثیر قرار دهد^(۵). از این رو با انجام تمرينات تناوبی شدید، همان طور که پیش تر ذکر شد، عضلات بیشتری درگیر خواهد شد.

پژوهش ها حاکی از این است تمرين تناوبی با شدت بالادرمجموم یک روش با زمان کارآمد برای ایجاد سازگاری های فیزیولوژیکی می باشد، ولی در مورد تأثیر این نوع تمرينات در دیابت نوع دو کمتر مطالعه شده است. لذا، در پا سخ به درگیری بی شتر عضلات اسکلتی، میزان مایوکین های ترشح یافته از عضلات اسکلتی افزایش می یابد و با فعال کردن متابولیسم عضلانی بسیاری از مسیرهای مربوط به متابولیسم چربی و جذب گلوکز خون را افزایش و باعث بالا رفتن هرچه بهتر متابولیسم می شود^(۶). با توجه به تولید رادیکال های آزاد توسط دیابت و فعالیت ورزشی و

مقدمه

د یا بت نوع دو یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیکی می‌باشد که به دلیل عدم تعادل بین ذخایر و تقاضای انسولین و عدم تحمل گلوکز رخ می‌دهد. پیش‌بینی می‌شود تعداد افراد دیابتی در دنیا، به ۳۶۶ میلیون در سال ۲۰۳۰ برسد. این بیماری با افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات و لیپید همراه می‌باشد که با افزایش قند ناشی از کمبود ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و یا ترکیبی از هردو مشخص می‌شود. افزایش قند خون از طریق افزایش تولید محصولات نهایی گلیکوزیله پیش‌رفته باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد، از طریق اختلال در تولید رادیکال‌های درون زاد آزاد مثل سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد که به آسیب سلول منجر می‌شود^(۱). حفظ ثبات سطح گلوکز خون توسط برداشت و ذخیره سازی گلوکز از وظایف کبد به شمار می‌رود. این بیماری متابولیسم درون سلولی اغلب بافت‌ها از جمله کبد را متاثر می‌کند و به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی نیز محسوب می‌شود. به دلیل این که اندام‌های اصلی بدن برای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می‌باشد به هورمون انسولین نیاز دارند، این کاهش منجر به کاهش مصرف گلوکز توسط اندام‌ها و افزایش قند خون و گلوکونئوتز می‌شود. محل ترشح انسولین، سلول‌های بتای پانکراس است. لذا، کاهش تولید انسولین می‌تواند مهم ترین نشانه بیماری دیابت باشد. دیابت همچنین می‌تواند منجر به آسیب بافتی و مرگ سلولی یا آپوپتوز شود. آپوپتوز مرگ برنامه‌ریزی و حفاظت شده سلولی می‌باشد که نقش مهمی را در هوموستاز و رشد و نمو اندام‌ها و از بین بردن سلول‌های فرسوده، ایفا می‌کند^(۲). پژوهش‌ها حاکی از این است که اختلال در این مسیر می‌تواند باعث تجمع سلول‌های جهش یافته و در نهایت منجر به مرگ بیمار شود^(۳). همچنین پژوهش‌ها افزایش شیوع آپوپتوز در کبد نمونه‌های دیابتی را گزارش می‌کنند.

برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهند فعالیت ورزشی شدید موج-ب آپوپت-وز لنفوس-یت روده‌های موش آزمایشگاهی شده، اما دویden اختیاری بر

کمی در اختیار است. پژوهش های پیشین نشان داده اند، نقش P53 در متابولیسم و عملکرد آن برای سرکوب تومور مهم است (۱۲). این ژن همچنین دارای تأثیراتی بر بیماری قلبی، چاقی و دیابت نوع دو می باشد (۱۳). در ژن P53، رایج ترین SNP در اسید آمینه ای ۷۲ رخ می دهد جایی که یک توالی نوکلئوتیدی یکی از دو اسید آمینه ای پرولین (P72) یا آرژنین (R72) را کد می کند. مطالعات گسترش دیگر را که بین دیابت نوع دو ارتباطی وجود دارد. پروفسور مورفی و همکارانش به مطالعه ای موش هایی پرداختند. نتایج مطالعه آن ها نشان داد به دنبال رژیم پرچرب، موش های R72 چهار علائم پیش دیابت و مقاومت به انسولین می شوند. مورفی و همکارانش همچنین دو ژن دیگر را که به وسیله ای p53 کنترل می شوند، شناسایی نمودند که در کبد موش های R72 نسبت به موش های P72 به طرز محسوسی متفاوت می باشند: ژن Npc1L1 با جذب کلسترول و ژن TNF با مقاومت به انسولین ناشی از چاقی ارتباط دارند (۱۱).

لذا، در این مطالعه در نظر است تأثیرات تمرینی تناوبی هوازی شدید به همراه عصاره آویشن بر بیان ژن P53 بافت کبد موش های دیابتی نوع دو گزارش گردد تا شاید بتوان از اثر بخشی و نقش آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آویشن در کنار طراحی برنامه ورزشی تناوبی متناسب با رژیم غذایی برای دیابتی ها استفاده کرد. امید است نتایج حاصل از این پژوهش در علوم پزشکی و ورزشی پس از مطالعات انسانی مشابه به عنوان راهی نجات بخش در بهبود عوارض ناشی از دیابت مانند قلب دیابتی و آسیب های کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

روش کار

جامعه آماری پژوهش حاضر را موش های صحرایی نر تشکیل می دهند که تعداد ۳۶ سر موش نر با میانگین وزن ۱۱۰ گرم به عنوان نمونه در نظر گرفته شدند. پس از دو هفته آشنازی با محیط آزمایشگاه و رسیدن به میانگین وزن حدود ۱۹۰ گرم تحت رژیم پر

نهاییتاً ایجاد آپوپتوز یکی از مواردی که توجه محققین را به خود جلب کرده است یافتن راه کارهایی برای کاهش عوایق منفی ناشی از دیابت و تولید رادیکال های آزاد است. در همین زمینه، مصرف عوامل آنتی اکسیدانی می تواند موثر باشد. محققان زیادی در سراسر دنیا در تلاش هستند تا با استفاده از روش های گوناگون از بیماری دیابت پیشگیری کنند و یا آن را درمان کنند و یا عوارض بیماری دیابت را کاهش دهند. امروزه استفاده از گیاهان دارویی و عصاره ها برای درمان بیماری ها افزایش یافته است. گیاهان دارویی و مشتقات آن ها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت قدمی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آن ها تاکنون شواهد معتبری یافت نشده است (۷).

آویشن با نام علمی *vulgaris Thymus* از قدیمی ترین گیاهان دارویی جهان و متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) و حاوی ترکیبات تانن، فلاونویید، ساپونین و مواد تلخ و ترکیب فنولی به نام تیمول، کارواکرول، پاراسامین، لینالول، سینئول، ترپنویید، گلیکوزید، کافئیک و رزمارینیک اسید می باشد (۸). این گیاه دارای اثر نیرو دهنده، هضم کننده، ضدا سپا سم، باد شکن، ضدقارچی، ضدباکتریایی، ضدغفعونی کننده، ضد تشنج، ضدکرم، ضد رماتیسم، خلط آور و آنتی اکسیدان می باشد (۹). هیپرگلیسیمی حاد و مزمن موجب القاء استرس اکسیداتیو و افزایش پراکسیدا سیون لیپیدی خواهد شد (۱۰).

ژن P53 که یک ژن سرکوبگر تومور است در طیف وسیعی از سرطان ها دچار جهش شده و غیر فعال می گردد. به این ژن لقب "محافظ ژنوم" داده شده است. حال پژوهش های جدید نشان می دهد که این ژن دارای تأثیرات عمیقی بر متابولیسم است و غیر فعال شدن آن می تواند به چاقی و دیابت نوع دو منجر شود و به همین دلیل لقب دیگری به این ژن داده شد "محافظ در برابر چاقی" (۱۱). در حالی که نقش این ژن در طی دهه ها تحقیق بروی سرطان کاملاً شناخته شده است، در مورد نقش آن در متابولیسم اطلاعات

مقاومت به انسولین آن‌ها اندازه‌گیری شد که اطلاعات آن در جداول یافته‌ها آمده است (۱۵).

تهیه و روش مصرف آویشن: برگ و سرشاخه‌های جوان‌گیاه مورد مطالعه از ارتفاعات استان فارس جمع آوری و نمونه هرباریوم در داششگاه شیراز با کد ۲۴۹۹۳ مورد تأیید قرار گرفت. پس از خشک کردن نمونه‌های جمع آوری شده در سایه، به وسیله آسیاب پودر گردید. سپس در ظروف شیشه‌ای یک لیتری در بسته ریخته و به نسبت ۷۰ درصد الکل طبی و ۳۰ درصد آب مقطر اضافه نموده و به مخلوط ۷۲ ساعت فرصت داده شد تا خوب خیس بخورد. بعد از این مدت از مخلوط به روش عصاره‌گیری تحت فشار انجام شد. آنالیز عصاره‌ی جمع آوری شده به وسیله روتاری تغليظ و سپس با دستگاه انکوباتور تا حد امکان رطوبت گیری شد. هنگام استفاده عصاره‌ی جامد با آب مقطر به محلول تبدیل شده و مورد استفاده قرار گرفت در طی دوره آزمایش به موش‌های گروه آویشن، و گروه آویشن و تمرین تناوبی، آویشن با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم) رقیق شده در آب مقطر و به روش گواژ خوارانده شد (۱۶).

پروتکل تمرین تناوبی: برنامه هشت هفته تمرین هوازی، پنج جلسه در هفته با افزایش تدریجی تناوب شدید از سرعت ۲۲ الی ۳۸ متر بر دقیقه (۸۰ تا ۹۰ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$) و تناوب استراحت با سرعت ۱۶ تا ۲۲ متر در دقیقه (۵۰ تا ۵۶ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$) طبق جدول ۱ پروتکل انجام شد. موش‌ها یک هفته قبل از شروع پروتکل به منظور آشنازی با تردمیل سه روز در هفته با سرعت ۵ متر در دقیقه با شبیب صفر در صد با زمان ۱۰ و ۱۲ و ۱۵ دقیقه روی تردمیل راه رفتند. گروه کنترل نیز در طول اجرای پروتکل به همین ترتیب روی تردمیل راه رفتند. برای تعیین سرعت حداکثر از پروتکل رودریگرز و همکاران استفاده شد (۱۷). برای اندازه‌گیری حداکثر اکسیژن مصرفی ($\text{VO}_{2\text{max}}$) به دلیل عدم دسترسی به ابزار مستقیم (مانند دستگاه آنالیز گازهای تنفسی) و با توجه به پژوهش‌های انجام شده، پروتکل غیرمستقیم با دقیت زیاد مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که هر

چرب قرار گرفتند. پس از ۵ ماه تغذیه با رژیم پرچرب و رسیدن به میانگین وزنی حدود ۴۰ گرم، در چهار گروه کنترل، تمرین تناوبی، آویشن و گروه تمرین تناوبی-آویشن قرار گرفتند و در پایان ۲۵ سر در چهار گروه با میانگین وزنی حدود ۳۴۷ گرم باقی ماندند. موش‌های صحرایی در قفس هایی از جنس پلی کربنات شفاف در دمای حدود ۲۰ تا ۲۴ درجه و رطوبت نسبی حدود ۶۵ تا ۶۵ درصد نگهداری شدند و چرخه روشناهی-تاریکی نیز هر ۱۲ ساعت یکبار به طور دقیق توسط تنظیم کننده الکترونیکی نور تنظیم می شد. جهت تغذیه موش‌های صحرایی از رژیم پر چرب استاندارد تهیه شده از پژوهشکده زیست فناوری رویان استفاده شد که شامل ۴۵ درصد انرژی کل از چربی مشتق شده از روغن حیوانی (حاوی ۲۴ گرم چربی، ۲۴ گرم پروتئین و ۴۱ گرم کربوهیدرات در هر ۱۰۰ گرم بود. رژیم پر چرب ۴۵ درصد به مدت سه ماه و رژیم پر چرب ۶۰ درصد به مدت دو ماه داده شد. دسترسی موش‌های صحرایی به غذا به صورت نامحدود بود و آب در بطری‌های ۵۰۰ میلی لیتری در تمامی قفس‌ها وجود داشت (۱۴).

روش دیابتی کردن موش‌ها از طریق تزریق STZ: برای القای دیابت از رژیم غذایی پر چرب به مدت ۲۰ هفته و سپس تزریق محلول تازه تهیه شده از STZ در سرم فیزیولوژیکی قابل تزریق و به صورت داخل صفاقی (۲۵ میلی گرم/کیلوگرم) استفاده شد. در این مطالعه سعی شد با رژیم پر چرب و دوز حداقل STZ استفاده شود تا سلول‌های پانکراس کمتر تخربی شوند و دیابت نوع دو ایجاد شود. یک هفته پس از تزریق، گلوکز خون ناشستایی با ایجاد جراحت کوچک در دم موش‌ها یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار گرفته و توسط دستگاه گلوکومتر نوار خوانده شد و اندازه‌گیری گردید و قند خون بین ۱۵۰ تا ۴۰۰ میلی گرم/دسی لیتر به عنوان معیاری برای اطمینان از ابتلای موش‌ها به دیابت نوع دو در نظر گرفته شد. برای اطمینان بیشتر از دیابتی شدن موش‌ها و دقت کار از ۷ سر موش به طور تصادفی خون گیری از دم به عمل آمد و گلوکز و انسولین و شاخص

جدول ۱- پروتکل تمرین تنابی

Total time protocol(min) زمان کل (دقیقه)	Cold down. شدت سرد	Velocity of Rest interval شدت تناب	Time of Rest interval زمان تناب	Velocity of Intense interval سرعت تناب	Time of Intense interval زمان تناب	Number of Intense intervals تعداد تناب	Warm up. شدت گرم	Weeks هفته
	5 min کردن ۵ دقیقه			شدید	شدید	شدید	کردن ۵ دقیقه	
16	10m/min	16 m/min (50%)	1 min	30 m/min (80%)	2min	2 intervals	10m/min	1&2.th
22	10m/min	18 m/min (52%)	1 min	32 m/min (85%)	2min	4 intervals	10m/min	3&4.th
28	10m/min	20 m/min (54%)	1 min	34 m/min (90%)	2min	6 intervals	10m/min	5&6.th
34	10m/min	22 m/min (56%)	1 min	36 m/min (95%)	2min	8 intervals	10m/min	7&8.th

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش

Oligo Name Genes	Primer Sequence (5' → 3')	Product size
P53	For: CCCAGGGAGTGCAAAGAGA Rev CAGCTCTCGAACATCTCGA	133 bp
GapDh	For: GCCTGGAGAACCTGCCA Rev: GGAAGAATGGGAGTTGCTGT	bp 137

مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول محاسبه شد (۱۸).

* ۰/۴۰۵ (گلو کز (میلی گرم/دسی لیتر) = انسولین(μ UI/ml) = مقاومت به انسولین(HOMA-IR)

روش بیان ژن p53 بافت کبد: به منظور اندازه گیری بیان ژن بافت کبد جدا و بلا فاصله توسط ازت مایع به فریزر -۸۰- سانتی گراد منتقل شد. مقداری از بافت کبد برای انجام مراحل ریل تایم درون RNA later قرار داده شد و سپس در فریزر منفی -۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در مرحله بعد RNA با استفاده از کیت RiboEx Total RNA isolation استخراج و در نهایت بررسی کمی solution (GeneAll) و کیفی آن با استفاده از دستگاه نانودارپ و ژل آگاراز یک درصد انجام شد. پس از اطمینان از خلاصه و کیفیت RNA استخراج شده، cDNA با استفاده از FIRE Script RT cDNA Synthesis کیت (Solis

دو هفته یکبار موش‌ها در یک وهله تمرینی پس از ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه سپس با سرعت ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲ دقیقه شروع به دویدن کردن و هر ۳ دقیقه ۳ متر در دقیقه به سرعت افزوده شد تا اینکه هر کدام از موش‌ها که نتوانستند ادامه دهند و روی شوکر باقی ماندند و به واماندگی رسیدند، آن سرعت به عنوان سرعت حداکثر آنان در نظر گرفته می‌شد که خلاصه پروتکل در جدول ۱ آمده است (۱۷).

نمونه‌گیری: با خاتمه دوره تمرینی و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین گرووهای تجربی تمرینی و پس از ۱۲ ساعت ناشتاپی موش‌ها توسط ماده بی هوشی اتر بی هوش و قربانی شدند. نمونه‌های خون از طریق خونگیری از قلب جمع آوری شد و در دمای ۲۰- سانتی گراد نگهداری شد. گلوکز با استفاده از دستگاه اتو آنالیز و انسولین توسط کیت مخصوص شرکت پارس آزمون اندازه گیری شدند. شاخص

یافته‌ها

میانگین وزن موش‌ها مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳ نشان می‌دهد وزن بعد از اعمال رژیم پرچرب افزایش داشته است. اطلاعات توصیفی گلوکز و انسولین و شاخص مقاومت انسولین موش‌ها که پس از خون‌گیری از دم اندازه گیری شده نیز حاکی از دیابتی شدن موش‌ها می‌باشد.

جدول ۴ هم اطلاعات توصیفی متغیرهای را نشان می‌دهد. جدول ۵ نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعییبی بنفرونی و نیز اندازه اثرگروه‌ها را نشان می‌دهد. نمودار ۱ بیان زن p53 را در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد.

با توجه به جداول نتایج زیر به دست می‌آید: میانگین وزن (گرم) در گروه‌های تجربی تمرين (۳۷۳/۱۲)، آوشن (۳۳۲/۲۵) و تمرين - آوشن (۳۵۲/۲۱) نسبت به کنترل (۳۱۷) افزایش غیر معنی دار داشت. میانگین غلظت گلوکز (میلی گرم بر دسی

BioDyne) ساخته شد و به فریزر -۲۰- سانتی گراد منتقال داده شد. سپس برای بررسی بیان زن p53 بافت کبد، پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش توسط نرم‌افزار Primer3 طراحی و توسط شرکت بیوتکنولوژی پیشگام سنتز گردید. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS22 تجزیه و تحلیل شدند. برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی (میانگین و انحراف استاندارد) استفاده شد. آزمون کولموگروف - اسمنرنف جهت تعیین طبیعی بودن توزیع داده‌ها و آزمون لوین برای تجانس واریانس‌ها و از آمار استنباطی تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعییبی بن فرونی جهت مقایسه تفاوت بین گروه‌ها و از آزمون تحلیل واریانس دو عاملی و شاخص تعیین اندازه اثر جهت مقایسه میزان تاثیرهای از متغیرهای مستقل استفاده گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS22 انجام شد و سطح معنی داری p≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۳- اطلاعات توصیفی اولیه موش‌های صحرایی پس از رژیم پرچرب HFD و القای دیابت با STZ برای تشخیص دیابت نوع دوم

وزن در شروع پروتکل (گرم)	وزن پس از رژیم پرچرب (گرم)	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	انسولین (μUI/ml)	شاخص مقاومت به انسولین
۱۹۳/۳۴±۱۹/۴۶	۴۰۹/۰۳±۵۱/۶۹	۳۶۳/۰۰±۱۲۴/۵	۳/۹۲±۰/۴۹	۳/۵۶±۱/۴۳

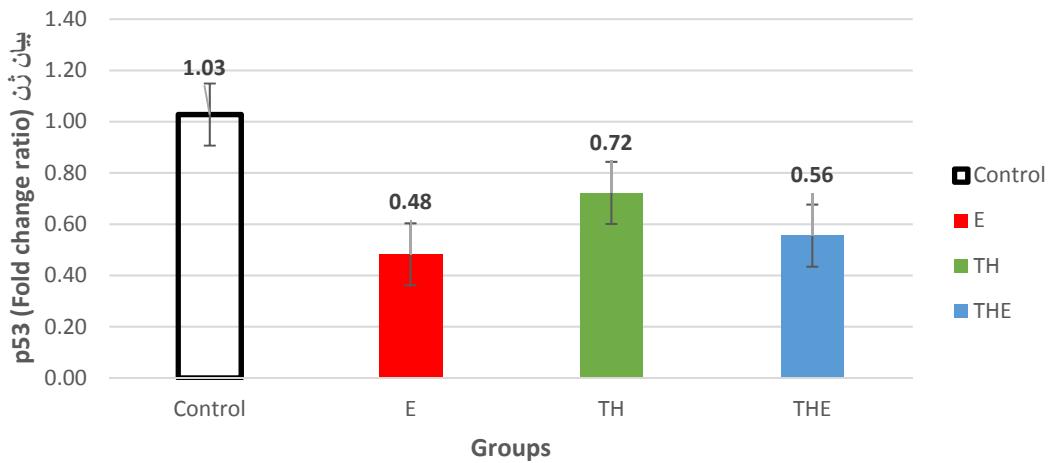
جدول ۴- اطلاعات توصیفی متغیرهای مختلف در چهار گروه

Groups /variable متغیر / گروه	Control(n=6)	Interval training(n=8)	Thyme Extract(n=4)	HIIT&Thyme (n=7)	وزن پس از رژیم پرچرب (گرم)
Weight after HFD (گرم)	۴۸.۴۲±۳۸۶.۶۶	۶۴.۶۴±۴۰۷.۳۷	۴۳.۴۹±۴۱۴.۷۵	۶۵.۵۳±۴۲۱.۸۵	۳/۵۶±۱/۴۳
Weight after Protocol.8w(گرم)	۷۱.۳±۳۱۷	۵۴.۲۸±۳۷۳.۱۲	۶۷.۷۳±۲۳۲.۲۵	۳۹.۳۱±۲۵۲.۷۱	۶۰.۳۱±۱۲۱.۲۸
وزن پس از هشت هفته پروتکل (گرم)	۳۲۲.۸۳	۴۰۰.۴±۱۳۸.۲۵	۱۱۷±۱.۴۱	۱.۲۵±۱۱.۲۲	۱.۵۱±۹.۶۴
Glucose (میلی گرم/دسی لیتر)	۳۹.۳۹±	۴۰.۰۰±۱۰.۰۰	۰.۳۸±۰.۲۴	۰.۳۶±۱.۶۹	۰.۳۱±۰.۵۵
گلوکز					
Insulin (μUI/ml)	۰.۵۲±۳.۸۹	۱.۳۵±۶.۲۲	۱.۲۵±۱۱.۲۲	۱۱۷±۱.۴۱	۱.۵۱±۹.۶۴
انسولین					
HOMA.IR	۰.۳۳±۳.۱۸	۰.۳۵±۲۰.۰۴	۰.۳۸±۰.۲۴	۰.۳۶±۱.۶۹	۰.۳۱±۰.۵۵
شاخص مقاومت به انسولین					
P53.gen.Fold. change	۰.۲۵±۱۰.۰۲	۰.۲۷±۰.۴۸	۰.۳۷±۰.۷۲	۰.۳۸±۰.۲۴	۰.۳۶±۱.۶۹

جدول ۵- نتایج تحلیل واریانس دو عاملی و تعقیبی بنفرونی و نیز اندازه اثرگروه ها

Effect Size	Sig.	F	Group	Group	متغیر/شاخص آماری Variable/Statistical index
.11	.12	2.60	HIIT	Control	وزن(گرم)
.001	.91	0.012	Thyme		Weight (گرم)
.026	.46	0.56	HIIT&Thyme		
.735	0.001	58.26	HIIT	Control	گلوکز(میلی گرم بر میلی لیتر)
.806	0.001	87.17	Thyme		(میلی گرم/دسمی لیتر) Glucose
.752	0.001	63.71	HIIT&Thyme		
.025	.472	0.527	HIIT	Control	انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر) (μUI/ml) Insulin
.837	0.001	108.09	Thyme		
.404	0.001	14.22	HIIT&Thyme		
.514	0.001	22.17	HIIT	Control	شاخص مقاومت به انسولین HOMA.IR
.275	.01	7.97	Thyme		
.219	.024	5.90	HIIT&Thyme		
.281	0.009	8.20	HIIT	Control	بیان ژن p53 (Fold Cheng)p53
.041	.35	0.89	Thyme		P53.gen.Fold. change
.10	.13	2.39	HIIT&Thyme		

بیان ژن p53 (Fold change ratio)



نمودار ۱- بیان ژن p53 در گروههای مختلف

و در گروه تمرین آویشن نسبت به کنترل کاهش معنی دار داشت ($P=0.001$). میانگین غلظت انسولین ($\mu\text{UI}/\text{ml}$) در گروه تمرین (6.22 ± 0.6) نسبت به کنترل (8.89 ± 0.89) افزایش معنی دار داشت ($P=0.005$) و در گروه

لیتر) در گروه تمرین (13.8 ± 2.5) نسبت به کنترل (33.3 ± 8.3) کاهش معنی دار داشت ($P=0.001$) و در گروه تمرین-آویشن (12.1 ± 2.8) نسبت به گروه آویشن (11.7 ± 0.992) تفاوت معنی داری نداشت ($P=0.992$)

چرب آزاد (FFA) از طریق کاهش فعال سازی AKT فسفوریله شده (PKB)، آپوپتوز سلول های بتا پانکراس را افزایش می دهدند (۱۹). کاملاً شناخته شده است که AKT به طور معمول سلول ها را در برابر آپوپتوز با واسطه p53 با فسفوریلاسیون و فعال کردن تنظیم کننده اصلی منفی p53، یعنی MDM2 محافظت می کند (۲۰). در یک مطالعه ای که از سلول های بتا تحت درمان با FFA برای تقلید از چاقی احشایی ناشی از اختلال عملکرد و آپوپتوز پانکراس استفاده شد، فعال شدن p53 منجر به القای microRNA miR34a شد که سلول های بتا را به آپوپتوز حساس کرده و مسیر انسولین را مهار کرده و منجر به اختلال در ترشح انسولین می شود (۲۰). در سلول های بتای لوزالمعده و در سلول های جزایر انسولین ساز، نشان داده شده است که سیتوکین های پیش التهابی γ -IFN- α و TNF- α برای افزایش تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS-reactive oxygen species)، و القای p53 و آپوپتوز به طور هم افزایی عمل می کنند (۱۱). سرانجام مشخص شد که ROS در آپوپتوز سلول های بتا با واسطه FFA نقش دارد و نشان داده شد که هم تولید ROS و هم فعال شدن p53 اثرات پایین دستی NAPDH اکسیداز ۲ (NOX2) است (۲۱). این محققان در یافتنند که FFAs، سیتوکین های التهابی و ROS می توانند در بالادست p53 عمل کنند تا آپوپتوز با واسطه p53 سلول های بتا پانکراس را القا کنند. چندین پروتئین تنظیم کننده p53 نیز در مرگ و بقای سلول های بتا پانکراس تأثیرگذار هستند. این موارد شامل ARF-BP1، ایزوفرم های کوتاه شده N-Terminal p53، microRNA miR-200 و TCF7L2 و MULE یا ARF-BP1 است. HUWE1 شناخته می شود) یک لیگاز E3 یوبی کوتین از p53 است که عملکرد p53 را در سلول های β کنترل می کند (۱۱).

کبد نیز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات دارد زیرا مسئول تعادل سطح گلوکز خون با استفاده از گلیکونئوتیز و گلیکوژنولیز (۲۲). در حضور بیماری کبدی، هموستاز متابولیکی گلوکز در دیابت و اختلالات

تمرين-آویشن (۹/۶۴) نسبت به گروه آویشن (۱۱/۲۲) تفاوت معنی داری نداشت ($P=0/218$ ، اما گروه آویشن نسبت به کنترل افزایش معنی داری داشت. میانگین شاخص مقاومت به انسولین (HOMA) در گروه تمرين (۲۰۴) و تمرين آویشن (۱/۶۹) نسبت به گروه کنترل (۳/۱۸) کاهش معنی داری داشت و آویشن (۳/۲۴) نسبت به کنترل تفاوت معنی داری نداشت ($P=0/994$). میانگین نسبت بیان ژن P53 در گروه تمرين تناوبی (۰/۴۸) نسبت به کنترل (۱/۰۲) کاهش معنی دار داشت ($P=0/009$) و گروه تمرين-آویشن (۰/۵۵) و آویشن (۰/۷۲) نسبت به کنترل کاهش غیر معنی دار داشت.

بحث

یافته های پژوهش حاضر نشان داد که تمرين تناوبی شدید و عصاره آویشن منجر به کاهش معنی دار گلوکز و افزایش انسولین و کاهش معنی دار مقاومت به انسولین موش های دیابتی نوع دوم تغذیه شده با رژیم پر چرب گردید و بیان ژن سرکوبگر تومور و مرتبط با چاقی P53 را در گروه های تجربی نسبت به کنترل در بافت کبدی کاهش داد.

اولین مدرک مرتبط با p53 و ابتلا به دیابت نوع ۲ در سال ۲۰۰۹ منتشر شد، زمانی که مینا مینو و همکارانش نشان دادند هار فعالیت P53 به وسیله حذف siRNA در سلول ها و یا به وسیله حذف ژن TP53 در موش ها، حساسیت را افزایش داده و باعث کاهش بیان سایتوکاین های التهاب زا در بافت چربی موش ها می شود و به طور مناسبی از توسعه مقاومت به انسولین آنها جلوگیری می کند (۱۱، ۱۳).

سلول های بتا لوزالمعده مسئول ترشح انسولین در جریان خون هستند. این با تحریک جذب گلوکز سطح گلوکز در گردش خون را کاهش می دهد (۱). از دست دادن عملکرد سلول های بتا در پانکراس، ترشح انسولین را کاهش می دهد و منجر به افزایش قند خون و دیابت می شود. مسیرهای متعدد سیگنالینگ برای تنظیم عملکرد سلول های بتای لوزالمعده بر روی p53 جمع می شوند. ورید و همکاران نشان دادند که اسیدهای

نقش P53 در تشکیل مقاومت به انسولین در کبد در بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) - Nonalcoholic fatty liver disease نیز نشان داده شده است. ناهنجاری های کبدی مانند استئاتوز کبدی Nonalcoholic -NASH و استئو ھپاتیت غیر الکلی (steatohepatitis) می تواند به فیبروز، سیروز و سرطان سلول های کبدی منجر شود. NAFLD به دلیل تجمع تری گلیسیرید کبدی با افزایش سطح اسیدهای چرب آزاد در گردش، به مقاومت به انسولین مرتبط است. هر دو این عوامل باعث تشدید وضعیت التهاب و در نهایت تشکیل یک چرخه معیوب می شود. نقش P53 برای القا سمیت سلولی که باعث تشدید آسیب کبدی در مدل های مختلف موش NAFLD تایید شد. در مطالعه دیگری تأثیر p53 بر روی آپوپتوز بررسی شد. مکانیسم اساسی که باعث حذف سلول های کبدی در NAFLD می شود نشان داد مقدار p53 به شدت به استئاتوز کبد بستگی دارد و در نتیجه به التهاب مرتبط بود. در حالی که تنظیم مجدد p53 با کاهش تنظیم ضد آپوپتوز Bcl-2 همراه بود (۲۹).

ژن P53 ناقل های گلوکز را تنظیم می کند. حفظ عملکرد مناسب ناقلين گلوکز در هموستاز گلوکز و سرکوب دیابت بسیار حیاتی است (۱۱). P53 با تأثیرگذاری بر رونویسی و انتقال آنها، عملکرد ناقلين گلوکز را تنظیم می کند. به عنوان مثال، p53 که توسط استرس ژنتوکسیک فعل می شود می تواند مستقیماً به پرموترهای GLUT1 و GLUT4 متصل شود و رونویسی آنها را سرکوب کند. P53 همچنین بیان GLUT3 را سرکوب می کند، اما این از طریق مکانیسم غیر مستقیم با مهار IKK کیناز یا IkB اتفاق می افتد (۱۱).

ژن P53 به طور منفی گلیکولیز را تنظیم می کند. با تنظیم مستقیم تحریب (گلیکولیز) و سنتز (گلوکونوژن) بر سطح گلوکز تأثیر می گذارد. به دنبال آسیب DNA، p53 می تواند استراتژی های تولید انرژی سلول را از گلیکولیز تا تنفس میتوکندری (یا فسفوریلاسیون اکسیداتیو) به منظور سرکوب پیشرفت تومور، دوباره برنامه ریزی کند (۱۱). اولین ژن هدف

متabolیکی، مختل می شود (۲۳). چندین مطالعه نشان داده است که p53 مسیرهای متabolیکی اولیه را هم به عنوان بخشی از نقش ضد توموری و هم به عنوان پروتئینی مسئول حفظ هموستاز گلوکز تنظیم می کند (۲۱). در یک مطالعه تحقیقاتی، جوندگانی که با رژیم غذایی پر چرب، ساکارز بالا تغذیه می شدند ویا با چاقی همراه بودند، میزان فراوانی پروتئین p53 در کبد افزایش یافت، در حالی که AMPK و SIRT1 تنظیم منفی داشتند (۲۴). در مطالعه دیگری گزارش شده است که p53 باعث تنظیم مجموعه ای از ژن های گلوکونوژنیک و ژن های تنظیمی گلوکونوژن در سلول های کبدی اولیه کشت شده و سلول های کبدی فاقد p53 که با اختلال در تولید گلوکز مشاهده شدند می شود (۲۵). با این حال، در شرایط دیابتی، افزایش قند خون بیان p53 را از طریق مهار سیگنالینگ AMPK / SIRT1 افزایش می دهد مسیرهایی در سلول های کبدی، که باعث تجمع چربی و مقاومت به انسولین می شود (۱۱). استفاده از متفورمین برای فعال کردن مسیر سیگنالینگ AMPK / SIRT1 نیز به مهار گلوکز بالا منجر شد که قاعده ای بیان پروتئین p53 را کاهش می دهد؛ هر چند بیان بیش از حد p53 باعث کاهش بیان SIRT1 می شود و سیگنالینگ AMPK فعال شده با متفورمین را که با کاهش تری گلیسیریدها همراه هست را مهار می کند (۲۶).

سلول های هپاتومای انسانی (HepG2) در معرض غلظت های بالای گلوکز هستند که نشان داده شده است AMPK و SIRT1 را مهار می کنند، تجمع چربی را القا می کند و باعث مقاومت به انسولین می شود و فعال شدن AMPK و SIRT1 توسط متفورمین منجر به کاهش فراوانی پروتئین p53 می شود (۲۷). بیان بیش از حد p53 باعث کاهش فراوانی SIRT1 می شود و توانایی متفورمین برای فعل کردن AMPK و کاهش تری گلیسیریدهای سلولی محدود می کند. این ها یافته ها حاکی از وجود یک رابطه متقابل بین سیگنالینگ AMPK-SIRT1 کبدی و پروتئین p53 در شرایط مصرف مواد مغذی اضافی و در پاسخ به متفورمین وجود دارد (۲۸).

واسطه P53 در کبد نیز در مدل موش تاریخته ay نشان داده شد که چاقی و دیابت را ایجاد می کند و ارتباط فیزیولوژیکی برای گلوکونئوژنر تنظیم شده با p53 در توسعه دیابت فراهم می کند (۲۵). به خوبی شناخته شده است که افزایش بیان و فعالیت p53 در سلول‌های چربی موش‌های چاق اتفاق می‌افتد (۳۲). همان طور که در بالا ذکر شد، در موش‌های تاریخته Ay با رژیم غذایی پرچرب / ساکاراز تغذیه می‌شوند، پیری با واسطه p53 در بافت چربی برای ایجاد فنتوتیپ‌های دیابت مانند و مقاومت به انسولین بسیار مهم است (۳۳). پیری با واسطه P53 در بافت چربی با افزایش بیان Cdkn1A / p21 و سیتوکین‌های پیش التهابی و همچنین کاهش بیان سیتوکاین‌های ضد التهابی ارتباط دارد. این گروه نشان داد که بیان بیش از حد p53 مخصوص بافت چربی با تنظیم بیان آنزیم‌های گلوکونئوژنیک به روش پاراکرین بر عملکرد کبد تأثیر می‌گذارد. بعداً همان گروه دریافتند که التهاب مزمن با واسطه p53 در بافت چربی منجر به نارسایی قلبی می‌شود و این نشان دهنده ارتباط بین مقاومت به انسولین / دیابت و بیماری‌های قلبی عروقی است (۳۴، ۱۱).

پژوهش‌ها نشان می‌دهد روش‌های مختلف تمرینی، تأثیر مثبتی بر حساسیت به انسولین، کنترل گلیسمی و سایر عوامل خطر مرتبط با دیابت نوع دو دارد و حتی تمرین کوتاه مدت حاد توانسته حساسیت به انسولین در عضله موش‌های سلولی-مولکولی برای افزایش برداشت مکانیسم‌های سلولی-مولکولی برای افزایش برداشت گلوکز توسط انسولین با تمرین ورزشی می‌توان گفت تا حدودی به افزایش بیان و فعالیت پروتئین‌های کلیدی شناخته شده برای تنظیم متابولیسم گلوکز در عضلات و کبد می‌تواند مربوط باشد. در خصوص اثرات مفید تمرین ورزشی هوازی بر دیابت می‌توان گفت فعالیت ورزشی می‌تواند بر متابولیسم گلوکز در افراد دیابتی به وسیله دو مکانیسم مجزا اثر داشته باشد، یکی افزایش ظرفیت اکسیداتیو میتوکندری در بافت‌های محیطی و کبد و دومی سرکوب تولید گلوکز کبدی است (۱۰).

TIGAR p53 که برای مهار گلیکولیز شناسایی شد، است (تنظیم کننده گلیکولیز و آپوپتوز ناشی از TP53) (۳۰). بیان بیش از حد TIGAR باعث کاهش سطح فروکتوز ۲، ۶-بیس فسفات (Fru-2,6-P2)، که محرك گلیکولیز (PFK1) را فعال می‌کند. همچنین ثبات فسفوگلیسیرات موتاز (PGM)، آنزیم دیگری را که برای تکمیل گلیکولیز از طریق تبدیل ۳-فسفوگلیسیرات (PG-۳) به ۲-فسفوگلیسیرات (PG-۲) مهم است، تنظیم می‌کند. نشان داد شده که مسیر پنتوز فسفات (PPP)، یک مکانیسم جایگزین برای مصرف گلوکز برای تولید انرژی، تا حدی از طریق تعامل مستقیم بین p53 و آنزیم محدود کننده سرعت آن، گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (G6PD) تو سطح p53 مسدود شده است (۳۰). همچنین پیروات دهیدروژناز کیناز ۲ (PDK2) را از طریق هر دو روش رونویسی و پس از ترجمه برای فعال کردن کمپلکس PDH که پیروات را به استیل-CoA تبدیل می‌کند تا تعادل را از گلیکولیز به تنفس میتوکندری تغییر دهد به طور منفی تنظیم می‌کند (۳۱، ۲۸).

همچنین ژن P53 به طور مثبت گلوکونئوژنر را تنظیم می‌کند. مطالعات اخیر در مورد گلوکونئوژنر، راهی مستقیم برای p53 برای افزایش سطح گلوکز کشف کرده است. در تلاش برای تعریف مسیرهای متابولیکی تنظیم شده با p53 در سلول‌های HepG2 مشتق از کبد با استفاده از تجزیه و تحلیل، گلدشتاین و همکاران چندین ژن هدف p53 را که در سنتز گلوکز نقش دارند را شناسایی کردند (۲۵). آن‌ها نشان دادند که فعال شدن p53 توسط nutlin-3a، ترکیبی که باعث تثبیت p53 می‌شود به دلیل توانایی آن در مهار MDM2، باعث افزایش بیان ژن‌های درگیر در گلوکونئوژنر (PCK2، G6PC) و در تامین پیش‌سازهای گلوکوژنیک (GK، AQP9، AQP3 و GOT1) می‌شود. علاوه بر این، این گروه دریافتند که p53 باعث افزایش تولید گلوکز کبدی در سلول‌های HepG2 و سلول‌های کبدی موش در محیط گلوکوژنیک می‌شود. القای آنزیم‌های گلوکونئوژنیک با

پراکسیداسیون لیپیدی خواهد شد و عصاره آویشن در جلوگیری از استرس اکسیداتیو کمک می‌کند (۳۷، ۳۸). بنابراین ممکن است آویشن با محتوای فلاونوئیدی خود از کاهش وزن موش‌های دیابتی در مطالعه حاضر جلوگیری کرده باشد و حتی افزایش غیر معنی دار وزن هم در گروه تمرین و آویشن داشتیم و در گروه تمرین هم احتمالاً به دلیل افزایش اشتها در نتیجه افزایش فعالیت هورمون‌ها و نروپیتایید‌های اشتها در نتیجه انجام فعالیت‌های ورزشی میزان و رفتار دریافت غذا توسط موش‌ها افزایش یافته و احتمالاً گروه تمرین و نیز آویشن بیشتر غذا مصرف می‌کردند که لازم است در پژوهش‌های آتی و تكمیلی هورمون‌ها و نروپیتایید‌های مرتبط با چاقی و اشتها اندازه گیری و ارتباط سنجی شود و نیز میزان غذای مصرفی هر یک از موش‌ها به طریقی انداره گیری شود که جزو محدودیت‌های این پژوهش بود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد هشت هفته تمرین تنابوی و آویشن در موش‌های صحرایی نر دیابتی باعث کاهش معنی دار گلوكز ناشتا و افزایش معنی دار میزان انسولین سرم موش‌های صحرایی دیابتی شد اما در مورد تغییرات انسولین در تمرینات تنابوی در این زمینه، ایزدی و همکاران، افزایش انسولین سرم همراه با کاهش گلوكز خون را در پاسخ به تمرینات HIIT طولانی مدت در موش‌های دیابتی نوع دو گزارش نموده‌اند (۳۹). با این حال، موافق با پژوهش حاضر، رشیدی و همکارانش در سال ۲۰۱۶ در مطالعه‌ای روی موش‌های صحرایی دیابتی که با دیابتی شده بودند، تأثیر دوازده هفته تمرین هوای STZ نیکوتین آمید و به صورت دویden روی تریدمیل را روی موش‌های صحرایی دیابتی بررسی کردد و گزارش کرددند برنامه تمرینی به کاهش معنی دار سطوح گلوكز ناشتا در گروه دیابتی هوایی نسبت به گروه دیابتی کنترل منجر شد و سطوح انسولین سرم در گروه دیابتی هوایی بالاتر از گروه دیابتی کنترل بود، اما این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نبود (۴۰). از این رو، بر پایه یافته‌های مطالعه حاضر و سایر مطالعات پیشین، جدا از تغییرات ژنتیکی مذکور، کاهش گلوكز خون را می‌توان به نوعی به

نتایج پژوهش حاضر، کاهش معنی دار بیان ژن P53 را در بافت کبد در گروه تمرین تنابوی شدید نشان می‌دهد. همچنین کاهش بیان این ژن در گروه تعاملی تمرین تنابوی - آویشن می‌تواند اثر گذاری انجام تمرین تنابوی را بر کاهش بیان ژن P53 بافت کبدی بر طبق مسیرهای تنظیمی اشاره شده نشان دهد ولی در گروه آویشن تنها، کاهش معنی داری در بیان این ژن مشاهده نشد که می‌توان استنباط کرد در هنگام استفاده از عصاره آویشن جهت استفاده از خواص دارویی و آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن انجام تمرینات تنابوی می‌توان اثر بخشی آن را از طریق کاهش بیشتر بیان ژن P53 بهبود بخشد. سرکوب تولید گلوكز بدی همراه با کاهش بیان ژن P53 می‌تواند به طور موثر دیابت را بهبود بخشد، برای درمان آن مورد سوء استفاده قرار گیرد، به نوعی می‌توان گفت هدف قرار دادن اجزای موجود در مسیر گلوكونئوزنیک می‌تواند هیپرگلیسمی را بهبود بخشد (۱۰، ۱۱).

در پژوهش حاضر نتایج نشان داد که عصاره هیدرو الکلی گیاه آویشن شیرازی به لحاظ داشتن ترکیبات ترپنoid و فلاونوئید همانند سایر گیاهان تیره نعناع اثر هیپوگلیسمیک داشت. در تحقیقی که توسط لی و همکاران انجام شد اثر آنتی اکسیدانی عصاره آویشن به اثبات رسید (۳۵). دورمانا و همکاران در پژوهشی بیان کردند یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدانی های طبیعی، ترکیبات فنولی موجود در اسنس‌های گیاهی است و خاصیت ضدیابتی با خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه ارتباط دارد (۳۶).

آویشن دارای مقادیر فراوانی ترکیبات فنلی از خانواده فلاونوئیدها است. فلاونوئیدها از چند جهت بر دیابت تأثیر می‌گذارند. این ترکیبات موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات و لیپید و کاهش هیپرگلیسمی، دیس لیپیدمی و مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی ممانعت می‌کنند. فلاونوئیدها (به خصوص کوئرستین) از کاهش وزن در دیابت نیز جلوگیری می‌کنند. هیپرگلیسمی حاد و مزمن موجب القاء استرس اکسیداتیو و افزایش

هوایی از نوع تمرینات تناوبی می‌تواند اثر بخشی آن را بهبود بخشد.

حدودیت‌ها و پیشنهادات: با توجه به این که این مطالعه از نوع مطالعات حیوانی می‌باشد و به پیشنهادات کاربردی منتهی نمی‌شود و تنها اثر بخشی متغیرهای مستقل را گزارش و بحث می‌کند، انجام مطالعات بیشتر و تکمیلی در این زمینه ضروری می‌باشد. از جمله محدودیت‌های این پژوهش می‌توان به عدم کنترل دقیق تأثیر احتمالی استرس ناشی از شوک دستگاه نوارگردان و عدم اندازه گیری میزان کالری مصرفی توسط موش‌ها و نیز عدم اندازه گیری همزمان عوامل بیشتری از شاخص‌های آپوپتوزی و آنتی آپوپتوزی و نیز شاخص‌های پیش‌التهابی و التهابی و ضد التهابی و شاخص‌های اکسیدانی و آنتی اکسیدانی مرتبط با سازوکارهای ارائه شده با توجه به پر هزینه بودن آن‌ها اشاره کرد. البته در این مقاله بخشی از دیتاها گزارش شده و اطلاعات بیشتری دریافت شده و با توجه به یافته‌های ارائه شده، به محققان دیگر پیشنهاد می‌شود که در کنار اندازه گیری عوامل آپوپتوزی و آنتی آپوپتوزی اندازه گیری این شاخص‌ها و کنترل این عوامل را مد نظر قرار دهند.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از رساله دکتری نادر عفراوی بود و با کد اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1399.004 در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تایید شد. لذا، از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

References

- Monzemi AH, Etemad Z, Nazari A, Mohammadi M. The effect of eight weeks of endurance training along with cinnamon extract consumption on expression of angiogenic markers in endothelial dysfunction of the coronary arteries in streptozotocin-diabetic male rats. J Sport Exerc Physiol. 2022;11:20.
- Rajabi A, Akbarnejad A, Siahkohian M, Yari M. The response of TNF- α , IL-6 serum levels and lipid profiles to two aerobic training frequencies with the same volume in obese middle-aged women with type

افزایش سنتز و ترشح انسولین از سلول‌های بتا و کاهش مقاومت به انسولین و افزایش حساسیت انسولینی و در نتیجه بهبود عملکرد سلول‌های بتا نسبت داد.

به طور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به اینکه اثر بخشی تمرینات تناوبی شدید بر روی افراد و آزمودنی‌های دیابتی توسط محققین قبلی هم مطالعه شده و با نقد و چالش‌های متعدد روپرور بوده از جمله اینکه خود این تمرینات می‌تواند منجر به افزایش التهاب و شاخص‌های التهابی در آزمودنی‌های دیابتی گردد (۳۹، ۴۰). اما با توجه به نتایج پژوهش حاضر در مورد تاثیر آن بر کاهش بیان ژن شاخص آپوپتوزی ژن P53 می‌توان استنباط کرد در هندگام استفاده این نوع برنامه‌های تمرینی استفاده از عصاره آویشن جهت استفاده از خواص دارویی و آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن و تاثیر احتمالی آن در بهبود این شاخص‌ها می‌تواند اثر بخشی آن را از طریق کاهش بیشتر بیان ژن P53 نیز بهبود بخشد. لذا، برای افراد دیابتی انجام این تمرینات به ویژه همراه با آویشن می‌تواند باعث کاهش بیان ژن P53 گردد و در بهبود سطوح گلوکز به واسطه تاثیر مولفه‌های ژنتیکی موثر در رهایی گلوکز کبدی و در بیماران دیابتی نوع دو موثر می‌باشد و آویشن هم به دلیل ترکیبات متنوع ویتامینی و پروتئینی و ترکیبات فنلی و جایگزین خوب برای نقش گلوکز و نیز نقش‌های متعدد آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و ... موجب تنظیم متابولیسم کربوهیدرات‌ها به ویژه گلوکز و نیز تنظیم متابولیسم لیپید و کاهش هیپرگلیسمی و دیس لیپیدمی و کاهش مقاومت به انسولین می‌شوند و از استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی افراد دیابتی نوع دو که دیابت مرتبط با ورزش و عموماً همراه با اضافه وزن و چاقی نیز می‌باشد، ممانعت می‌کنند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر مصرف آویشن به تنهایی نمی‌تواند در این زمینه‌ها و تغییرات ژن P53 موثر باشد و استفاده از برنامه‌های تمرینی ورزشی

- 2 diabetic. *J Sport Exerc Physiol.* 2021;14(1):59–72.
3. Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. *Circul Res.* 2000;87(12):1123–32.
 4. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15(7):718–24.
 5. Godin G, Desharnais R, Valois P, Lepage L, Jobin J, Bradet R. Differences in perceived barriers to exercise between high and low intenders: observations among different populations. *Am J Health Prom.* 1994;8(4):279–85.
 6. Khajehlandi A, Abednatanzi H, Nikbakht H. The effect of swimming training and aloe vera extract on lipid profile of male diabetic rats. *J Isfahan Med School.* 2017;34(411):1515–22.
 7. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharma Assoc* (1996). 2002;42(2):217–26.
 8. Naghdi Badi H, Makkizadeh M. Review of common Thyme. *J Med Plants.* 2003;2(7):1–12.
 9. Rana P, Soni G. Antioxidant potential of thyme extract: alleviation of N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress. *Hum Experim Toxicol.* 2008;27(3):215–21.
 10. Poblete-Aro C, Russell-Guzman J, Parra P, Soto-Munoz M, Villegas-Gonzalez B, Cofre-Bolados C, et al. Exercise and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Revista medica de Chile.* 2018;146(3):362–72.
 11. Kung CP, Murphy ME. The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *J Endocrinol.* 2016;231(2):R61.
 12. Beyfuss K, Hood DA. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle. *Redox Rep.* 2018;23(1):100–17.
 13. Lacroix M, Riscal R, Arena G, Linares LK, Le Cam L. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: Implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer. *Mol Metab.* 2020;33:2–22.
 14. Zou F, Mao X qing, Wang N, Liu J, Ou-Yang J ping. Astragalus polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of AMPK. *Acta Pharmacol Sinica.* 2009;30(12):1607–15.
 15. Gheibi S, Bakhtiarzadeh F, Ghasemi A. A review of high fat diet-streptozotocin model for induction of type 2 diabetes in rat. *Iran J Endocrinol Metab.* 2016;18(2):135–48.
 16. Mehran M, Hoseini H, Hatami A, Taghizadeh M. Investigation of components of seven Species of Thyme Essential oils and comparison of their antioxidant properties. *J Med Plants.* 2016;15(58):134–40.
 17. Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* 2007;6(1):1–7.
 18. Shidfar F, Jazayeri S, Mousavi SN, Malek M, fateme Hosseini A, Khoshpey B. Does supplementation with royal jelly improve oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetic patients? *Iran J Public Health.* 2015;44(6):797.
 19. Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, Briaud I, Rhodes CJ. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic β -cells (INS-1). *J Biol Chem.* 2002;277(51):49676–84.
 20. Liu R, Chen Y, Liu G, Li C, Song Y, Cao Z, et al. PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers. *Cell Death Dis.* 2020;11(9):1–12.
 21. Pitolli C, Wang Y, Candi E, Shi Y, Melino G, Amelio I. p53-mediated tumor suppression: DNA-damage response and alternative mechanisms. *Cancers.* 2019;11(12):1983.
 22. Wang SZ, Yu YJ, Adeli K. Role of gut microbiota in neuroendocrine regulation of carbohydrate and lipid metabolism via the microbiota-gut-brain-liver axis. *Microorganisms.* 2020;8(4):527.
 23. Wewer Albrechtsen NJ, Pedersen J, Galsgaard KD, Winther-Sørensen M, Suppli MP, Janah L, et al. The liver- α -cell axis and type 2 diabetes. *Endocrine Rev.* 2019;40(5):1353–66.
 24. Gotoh T, Vila-Caballer M, Santos CS, Liu J, Yang J, Finkelstein CV. The circadian factor Period 2 modulates p53 stability and transcriptional activity in unstressed cells. *Mol Biol Cell.* 2014;25(19):3081–93.
 25. Goldstein M, Kastan MB. The DNA damage response: implications for tumor responses to radiation and chemotherapy. *Ann Rev Med.* 2015;66(1):129–43.
 26. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK, Lum JJ, DeBerardinis RJ, Zhao F, et al. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. *Cancer Res.* 2007;67(14):6745–52.
 27. Nelson LE, Valentine RJ, Cacicedo JM, Gauthier MS, Ido Y, Ruderman NB. A novel inverse relationship between metformin-triggered AMPK-SIRT1 signaling and p53 protein abundance in high glucose-exposed HepG2 cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(1):C4–13.
 28. Murtaza I, Laila O. P53 transcription factor and diabetes: is there any link. *J Adv Biol.* 2016;9:1825–33.
 29. Strycharz J, Drzewoski J, Szemraj J, Sliwinska A. Is p53 involved in tissue-specific insulin resistance formation? *Oxid Med Cell Long.* 2017;2017.
 30. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MNC, Nakano K, Bartrons R, et al. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell.* 2006;126(1):107–20.
 31. Cheung EC, Vousden KH. The role of p53 in glucose metabolism. *Curr Opin Cell Biol.*

- 2010;22(2):186–91.
32. Homayounfar R, Jeddi-Tehrani M, Cheraghpour M, Ghorbani A, Zand H. Relationship of p53 accumulation in peripheral tissues of high-fat diet-induced obese rats with decrease in metabolic and oncogenic signaling of insulin. *General Compar Endocrinol.* 2015;214:134–9.
 33. Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nature Med.* 2009;15(9):1082–7.
 34. Shimizu I, Yoshida Y, Katsuno T, Tateno K, Okada S, Moriya J, et al. p53-induced adipose tissue inflammation is critically involved in the development of insulin resistance in heart failure. *Cell Metab.* 2012;15(1):51–64.
 35. Lee SJ, Umano K, Shibamoto T, Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005;91(1):131–7.
 36. Dorman HJD, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkainen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food chemistry.* 2003;83(2):255–62.
 37. Testa R, Bonfigli AR, Genovese S, De Nigris V, Ceriello A. The possible role of flavonoids in the prevention of diabetic complications. *Nutrients.* 2016;8(5):310.
 38. Yeylaghi Ashrafi MR, Abednatanzi H, Ghazalian F. The effect of eight weeks of high intensity interval training and n-chromosomal royal jelly on G6Pase gene expression in hepatocytes, glucose levels and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *Razi J Med Sci.* 2020;27(10):135–50.
 39. Eizadi M, Soory R, Ravasi A, Baesy K, Choobineh S. Relationship between TCF7L2 Relative Expression in Pancreas Tissue with Changes in Insulin by High Intensity Interval Training (HIIT) in Type 2 Diabetes Rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci.* 2017;24(12):981–93.
 40. Rashidi M, Soori R, Choobineh S, Ravasi AA, Baesi K. The effect of an aerobic exercise on MTNR1B gene expression, insulin and glucose levels in pancreas of induced diabetic rat with streptozotocin-nicotinamide. *Koomesh.* 2016.