

Article history:

Received: 2024/9/7
Revised: 2024/10/21
Accepted: 2024/10/27
Published: 2024/12/21

How to cite:

Jamshidi M, Nazarali P, Rezaeinezhad N. The effect of high-intensity interval training on p53 and p16 genes expression in pancreatic tissue of aged rats fed with high-fat diet. *EBNESINA* 2024;26(4):31-41.
DOI: 10.22034/26.4.31

Original Article

The effect of high-intensity interval training on p53 and p16 genes expression in pancreatic tissue of aged rats fed with high-fat diet

Masumeh Jamshidi¹, Parvaneh Nazarali¹, Najmeh Rezaeinezhad²

Abstract

Background and aims: Exercise training is linked to increased energy expenditure and the modulation of inflammatory factors and oxidative stress. This study aimed to investigate the effects of high-intensity interval training (HIIT) on the expression of the p53 and p16 genes in the pancreatic tissue of aged rats fed a high-fat diet.

Methods: This experimental study utilized a post-test design involving 20 male Wistar rats aged 52 weeks, divided into four groups: normal diet, normal diet with training, high-fat diet, and high-fat diet with training. The training groups engaged in treadmill exercises for eight weeks, three days a week, with each session lasting 22 minutes. The expression levels of p53 and p16 genes in pancreatic tissues were measured using the real-time PCR method.

Results: Significant differences were observed among the four groups regarding the expression of p53 ($p=0.0001$) and p16 ($p=0.003$) genes. Notable differences in p53 expression were found between the normal diet and high-fat diet groups ($p=0.001$), as well as between the normal diet with training and both high-fat diet with training ($p=0.013$) and the high-fat diet ($p=0.0001$). For p16, differences were observed between the high-fat diet groups and both the normal diet ($p=0.017$) and the normal diet with training ($p=0.006$), indicating that exercise reduced and high-fat intake increased the expression of these genes.

Conclusion: HIIT positively influences the expression of p53 and p16 in the pancreatic tissue of aged rats on a high-fat diet. These findings suggest an improvement in pancreatic tissue health and a reduction in the adverse effects of high-fat consumption.

Keywords: High-Intensity Interval Training, Cellular Senescence, Obesity, p53 Genes, p16 Genes

EBNESINA - IRIAF Health Administration

(Vol. 26, No. 4, Serial 89)

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran

✉ Corresponding Author:

Najmeh Rezaeinezhad
Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
Tel: +98 (21) 61118820
E-mail: n.rezaeinezhad@ut.ac.ir



Copyright© 2024. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: <http://www.ebnesina.ajau.ac.ir>

Introduction

The natural aging process is associated with a gradual loss of homeostasis, leading to various physiological changes in cell and tissue function [1]. As individuals age and become senile, oxidative stress increases, resulting in muscle dysfunction and atrophy. To mitigate oxidative stress, cells can prevent damage by halting the cell cycle through the activation of aging markers, specifically the tumor suppressor proteins P53 and p16 [2]. Both P53 and p16 are recognized as markers of aging, with studies showing that their expression increases with age. P53 regulates various biological processes, including stress response, cell cycle, proliferation, aging, and apoptosis. The expression of the p16 gene occurs in most senescent cells, where it acts as a cyclin-dependent kinase inhibitor and tumor suppressor, leading to growth arrest. It has been reported that p16 may play a role in regulating the transcription of age-dependent factors in cells [5]. Physical activity is recognized as a lifestyle intervention with anti-aging effects [6]; however, the exercise response remains unclear, with reports suggesting that it depends on factors such as cellular location, duration, and intensity of the stimulus. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on P53 and P16 gene expression in the pancreatic tissue of mice fed a high-fat diet.

Methods

This experimental study employed a post-test design with a control group. Twenty male Wistar rats, aged 52 weeks, were maintained in standard cages at $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. The animals were divided into four weight-matched groups: a normal diet group, a normal diet + training group, a high-fat diet group, and a high-fat diet + training group. The animals had free access to water and food and were fed either a high-fat diet (60% fat) or a standard diet. All care and ethical principles were fully adhered to according to laboratory animal

care and use guidelines, and the research was approved by the ethics committee. The HIIT protocol was implemented three days per week, with each session lasting 22 minutes, consisting of four minutes of running at 45-55% VO_2max intensity, nine intervals of one minute at 90-95% VO_2max intensity, with one minute of running at 50% VO_2max intensity between each interval [18].

The rats were sacrificed 48 hours after the final training session, following 12 hours of fasting, and the pancreatic tissue was rapidly isolated. For gene expression analysis using real-time PCR, all primers were designed using Allele ID v7.8 software (Macrogen Inc., Seoul, South Korea), with $\beta 2\text{m}$ (beta-2 microglobulin) used as an internal control. Data were analyzed using one-way analysis of variance at a significance level of $p < 0.05$.

Results

The results revealed significant differences in P53 gene expression among the four groups ($p = 0.0001$). Bonferroni post-hoc test results indicated significant differences between the normal diet group and the high-fat diet group ($p = 0.001$), between the normal diet+ training group and the high-fat diet+ training group ($p = 0.013$), and between the normal diet+ training group and the high-fat diet group ($p = 0.0001$). Furthermore, one-way analysis of variance showed significant differences in P16 levels among the four groups ($p = 0.003$). P16 gene expression levels also showed significant differences between the normal diet group and the high-fat diet group ($p = 0.017$), and between the normal diet+ training group and the high-fat diet group ($p = 0.006$). The results demonstrated that exercise led to a decrease in P53 and P16 expression, while a high-fat diet caused an increase in these factors.

Discussion and Conclusion

The results of the present study indicate that HIIT training significantly decreased the relative expression of the P16 and P53 genes in the pancreatic tissue of aged mice fed a high-fat diet. In contrast, the control group (which did not undergo training and was fed a normal diet or a high-fat diet) exhibited higher levels of expression for these genes. Supporting these findings, Dashtiyani et al. reported that continuous and intense interval training reduces the expression of the tumor suppressor genes P53 and PTEN [15]. In contrast, Abdollahi Diba et al. found that endurance training had no significant impact on the expression of cytochrome C and P53 genes in the heart muscle of male rats [11].

These findings indicate that HIIT positively affects the expression of P53 and P16 in the pancreatic tissue of elderly rats fed a high-fat diet. In the training groups, we observed decreased expression of P53 and P16 in the pancreatic tissue, while the high-fat diet groups exhibited increased expression of these factors. These results suggest an improvement in pancreatic tissue health and a reduction in the negative

effects of a high-fat diet.

Ethical Considerations

In the present study, the use of laboratory animals complied with international guidelines for the care and use of laboratory animals. The protocol was also approved by the Research Ethics Committee of Ilam University (Code:IR.ILAM.REC.1402.020).

Funding

There is no funding support.

Authors' Contribution

Authors contributed equally to the conceptualization and writing of the article. All of the authors approved the content of the manuscript and agreed on all aspects of the work.

Conflict of Interest

Authors declared no conflict of interest.

Acknowledgments

We are grateful to all the persons for scientific consulting in this paper.

مقاله تحقیقی

تأثیر تمرینات تناوبی شدید بر بیان ژن p53 و p16 در بافت پانکراس
موش سالمند تغذیه شده با غذای پرچربمعصومه جمشیدی^۱، پروانه نظرعلی^۱، نجمه رضائی نژاد^۲✉

چکیده

زمینه و اهداف: تمرین ورزشی با افزایش مصرف انرژی و تعدیل برخی از فاکتورهای التهابی و استرس اکسیداتیو همراه است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تأثیر تمرین تناوبی شدید بر بیان ژن p53 و p16 در بافت پانکراس موش‌های سالمند تغذیه شده با غذای پرچرب انجام شد.

روش بررسی: در یک مطالعه تجربی با طرح پس‌آزمون، ۲۰ سر موش صحرایی نر و بیستار ۵۲ هفته‌ای به چهار گروه غذای نرمال، غذای نرمال+تمرین، غذای پرچرب و غذای پرچرب+تمرین تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی به مدت ۸ هفته، سه جلسه در هفته و در هر جلسه ۲۲ دقیقه دویدن بر روی تردمیل انجام دادند. بیان ژن p53 و p16 پانکراس با real-time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بین چهار گروه در بیان ژن p53 ($p = 0/0001$) و p16 ($p = 0/003$) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در ژن p53، تفاوت‌ها بین گروه غذای نرمال با گروه غذای پرچرب ($p = 0/001$)، گروه غذای نرمال+تمرین هم با گروه غذای پرچرب+تمرین ($p = 0/013$) و هم با گروه غذای پرچرب ($p = 0/001$) مشاهده شد. در ژن p16 بین گروه غذای پرچرب هم با گروه غذای نرمال ($p = 0/017$) و هم با گروه غذای نرمال+تمرین ($p = 0/006$) تفاوت معنی‌دار وجود داشت. به نحوی که تمرین باعث کاهش و غذای پرچرب باعث افزایش فاکتورهای مورد نظر گردیده بود.

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی شدید تأثیر مثبتی بر بیان فاکتورهای p53 و p16 در بافت پانکراس رت‌های سالمند تغذیه شده با غذای پرچرب دارد. این نتایج ارتقاء سلامت بافت پانکراس و کاهش اثرات منفی غذای پرچرب را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، سالمندی سلولی، چاقی، ژن p16، ژن p53

مقدمه

فرایند طبیعی پیری با از دست دادن تدریجی هموستاز همراه است که به تغییرات فیزیولوژیک متنوعی در عملکرد سلول‌ها و بافت‌ها منجر می‌شود [۱]. با افزایش سن و سالمندی استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد، این موضوع به اختلال در عملکرد عضلات و آتروفی عضلانی منجر می‌شود. برای کنترل استرس اکسایشی سلول‌ها با توقف چرخه سلولی از طریق فعال کردن نشانگرهای پیری، پروتئین‌های سرکوبگر تومور^۱ p53 و p16 از آسیب سلولی جلوگیری می‌کنند [۲]. پروتئین‌های p53 و p16 به‌عنوان نشانگرهای پیری شناخته شده‌اند و مطالعات نشان داده که همزمان با افزایش سن بیان این پروتئین‌ها افزایش می‌یابد. p53 فرایندهای زیستی مانند پاسخ استرس، چرخه سلولی، تکثیر، پیری و آپوپتوز را تنظیم می‌کند. عملکردهای متنوع p53 در تنظیم سوخت‌وساز بافت چربی در مطالعات مورد توجه قرار گرفته است که p53 را با ناهنجاری‌های سوخت و سازی مشاهده شده در پیری، چاقی، التهاب و سرطان مرتبط می‌کند [۳]. p53 همچنین موجب القای پروتئین‌های درگیر در مسیر آپوپتوز، پروتئین‌های شبکه آندوپلاسمی، کاسپاز-۶ و کاسپاز-۹ می‌شود. علاوه بر این p53 موجب سرکوب ژن ضدآپوپتوزی مانند Bcl-2 می‌شود. بنابراین p53 در سطح رونویسی از طریق افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی و کاهش بیان ژن‌های ضدآپوپتوزی موجب تحریک آپوپتوز در سلول‌های توموری می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده‌اند چاقی ناشی از رژیم غذایی پرچرب و بی‌نظمی در سوخت‌وساز چربی در بسیاری از سلول‌ها مانند بافت چربی، آئورت، پانکراس و کبد سبب افزایش بیان ژن p53، p16، p19 و p21 می‌شود [۴]. بیان ژن p16 در بیشتر سلول‌های پیر، مهارکننده کیناز وابسته به سیکلین و سرکوب‌کننده تومور صورت می‌گیرد که سبب توقف رشد می‌شود. گزارش شده است که p16 ممکن است نقشی در تنظیم رونویسی فاکتورهای وابسته به پیری در

سلول‌ها داشته باشد [۵]. فعالیت ورزشی یک مداخله در سبک زندگی با اثرات ضدپیری شناخته شده است که قادر به خنثی کردن چندین نشانه پیری از جمله التهاب مرتبط با افزایش سن است. در مدل موش‌های پیر، فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت GGT^۲ و سطوح p21، p53 و IL-6، نشانگرهای پیری را سرکوب و واسطه‌های التهابی را کاهش می‌دهد [۶]. فعالیت‌های ورزشی با تقویت دفاع اکسایشی در بدن منجر به کاهش التهاب سیستمی در موش‌های چاق می‌شود. ورنر^۳ و همکاران گزارش کردند که فرایند پیری تحت تأثیر تمرینات ورزشی از طریق کاهش سطوح p53 و p16 آئورت موش‌ها، قرار می‌گیرد [۷]. گزارش شده است که فعالیت ورزشی حاد موجب کاهش p53 هسته‌ای به طور مستقیم و یا از طریق تنظیم مثبت Nrf2 که منجر به غیرفعال شدن مسیرهای سیگنالینگ p53-P21Cip1 و p16INK4a-RB می‌شود. با توجه به این اثرات متنوع در شرایط آزمایشگاهی، توضیح نقش عملکردی در داخل بدن p53 در طول پیری دشوار بوده است [۸]. این احتمال وجود دارد که پاسخ تا حدی به محل سلولی آن و همچنین مدت و شدت محرک بستگی داشته باشد.

ارتباط بین آپوپتوز و فعالیت در موش‌های دیابتی در پژوهش قربانزاده و همکاران بررسی شد و کاهش معنی‌دار p53 گزارش شد [۹]. سیدقمی و همکاران تغییر معنی‌دار p53 در عضله اسکلتی پس از تمرینات استقامتی مشاهده نکردند. به نظر می‌رسد شدت و نوع تمرینات می‌تواند تأثیرگذار باشد. تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT)^۴ باعث افزایش کاردیومیوپاتی دیابتی از طریق سرکوب آپوپتوز کاردیومیوسیت با واسطه miR-1 می‌شود [۱۰]. عبداللهی دیبا و همکاران گزارش کردند که تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و p53 در عضله قلب موش‌های صحرایی نر نداشت [۱۱] همچنین رشوان اسماعیل و همکاران گزارش

2. Gamma-glutamyltransferase

3. Werner

4. High-Intensity Interval Training

1. tumor suppressor protein

به چاقی می‌شود و تأثیر فعالیت ورزشی بر این عوامل ضروری به نظر می‌رسد. پس با توجه به موارد مطرح شده این امر ضروری است که به بررسی دقیق تأثیر HIIT بر عملکرد پانکراس و جلوگیری از بیماری‌های التهاب مزمن پانکراس و سرطان پانکراس پرداخت. یافته‌های این مطالعه ممکن است بینش ارزشمندی در مورد مزایای بالقوه HIIT برای کاهش پیری سلولی مرتبط با سن و آسیب‌شناسی‌های مرتبط با آن در جمعیت مسن چاق ارائه دهد. در پژوهش‌های گذشته تأثیر روش‌های مختلف تمرینی بر موارد ذکر شده بررسی و نتایج متفاوتی گزارش شده است، همچنین با بررسی متون علمی موجود مشاهده گردید که مطالعات محدودی درباره بیان p53 و p16 در بافت پانکراس انجام شده است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات HIIT بر بیان ژن p53 و p16 در بافت پانکراس موش‌های تغذیه شده با غذای پرچرب بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی که با طرح پس‌آزمون همراه با گروه کنترل انجام شد، ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۵۲ هفته‌ای در قفس‌های استاندارد در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. چرخه تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) به‌طور دقیق رعایت شد. بعد از گذشت یک هفته از زمان سازگاری با محیط آزمایشگاه، حیوانات بر اساس همسان‌سازی وزنی به چهار گروه تقسیم شدند: گروه غذای نرمال، گروه غذای نرمال + تمرین، گروه غذای پرچرب و گروه غذای پرچرب + تمرین. حیوانات به آب و غذا به‌صورت آزاد دسترسی داشتند و با یکی از دو رژیم غذایی پرچرب (۶۰٪ چربی) یا رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند.

توان هوازی به این صورت برآورد شد که در ابتدای رت‌ها به مدت پنج دقیقه بر روی تردمیل با سرعت شش متر بر دقیقه و شیب صفر درجه گرم کردند. سپس هر سه دقیقه، سرعت تردمیل به‌طور تدریجی ۳ متر بر دقیقه افزایش می‌یافت تا

کردند که اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر فاکتورهای بیان ژن‌های p53 و miR-34a در آزمودنی‌های سالم معنی‌دار نبود [۱۲]. درک تأثیر HIIT بر این عوامل در افراد مسن چاق برای توسعه مداخلات ورزشی هدفمند برای بهبود نتایج سلامتی در این جمعیت مهم است. در حالی که برخی شواهد حاکی از یک اثر سنولیتیک^۱ (قادر به کشتن سلول‌های پیر) بالقوه HIIT بر روی p53 و p16 است، مکانیسم‌های خاص و میزان این اثر در افراد مسن چاق نامشخص است [۱۳]. HIIT به دلیل اثرات بالقوه آن بر عوامل مرتبط با افزایش سن در افراد چاق مورد توجه قرار گرفته است. چندین مطالعه نشان داده‌اند که HIIT ممکن است اثر ضدپیری داشته باشد و به‌طور بالقوه بیان p53 و p16 را کاهش دهد. نظام‌دوست و همکاران گزارش کردند که بیان p53 پس از چهار هفته تمرین تناوبی شدید افزایش می‌یابد [۱۴]. با این حال، اثرات خاص HIIT بر p53 و p16 در افراد مسن چاق به‌طور کامل مشخص نشده است [۱۵، ۱۰]. از طرفی دیگر اختلالات انسولینی و بیماری دیابت در جمعیت سالخورده دارای شیوع بالایی است. از آنجایی که امروزه بیماری‌های مزمن از قبیل انواع دیابت و عوارض ناشی از آن رو به افزایش است، مقاومت به انسولین ناشی از مصرف کالری بیش از حد، فعالیت ورزشی ناکافی و کمبود ترشح انسولین از سلول‌های β ممکن است در ایجاد دیابت نوع دو تأثیرگذار باشند. بنابراین پانکراس برای رفع نیاز بدن شروع به تکثیر سلول‌های β کرده که نتیجه آن سالمندی این سلول‌ها است [۱۶]. بیماری‌های متابولیکی مانند دیابت نوع دو به‌عنوان نتیجه‌ای از استعداد ژنتیکی و عوامل محیطی است که شامل رژیم غذایی پرکالری، چاقی و سبک زندگی بی‌تحرک هستند. با توجه به نقش p53 با ایجاد مقاومت به انسولین از طریق تأثیر بر مسیرهای متابولیکی مانند متابولیسم گلوکز و در نتیجه القای ژن‌های مسیر سیگنالی گیرنده‌های انسولین، انجام پژوهش‌هایی برای بررسی تأثیر رژیم غذایی پرچرب، که منتهی

1. senolytics

جدول ۱- توالی پرایمرهای رفت و برگشت ژن‌های موردنظر جهت Real-time PCR.

نام ژن	سکانس پرایمر	اندازه محصول
p53	Forward: 5'- GGCTCCGACTATACCACTATCC-3' Reverse: 5'- GAGTCTTCCAGCGTGATGATG-3'	104
p16	Forward: 5'- CGTACCCCGATACAGGTGATG-3' Reverse: 5'- ATACCGCAAATACCGCACGA-3'	261
TBP	Forward: 5'- GCGGGGTTCATGAAATCCAGT-3' Reverse: 5'- AGTGATGTGGGGACAAAACGA-3'	147

میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمام پرایمرها به صورت اتصال آگزون-آگزون طراحی شدند (جدول ۱). جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده شد. تکثیر cDNA و مشاهده باند مورد انتظار توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی است. سپس برای هر یک از پرایمرها کارایی PCR اندازه‌گیری و منحنی استاندارد برای آنها رسم گردید.

ملاحظات اخلاقی

در مطالعه حاضر، استفاده از حیوانات آزمایشگاهی منطبق بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی بود. کلیه مراقبت‌ها و اصول اخلاقی به‌طور کامل بر اساس دستورالعمل‌های استفاده و مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شدند. پژوهش حاضر با تأیید کمیته اخلاق اجرا گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق داده‌ها با استفاده از میانگین و انحراف معیار ارائه شده‌اند. همچنین برای بررسی نحوه توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. در ادامه با توجه به پارامتریک بودن داده‌ها برای بررسی تفاوت بین گروهی از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه استفاده شد. همچنین برای تعیین محل تفاوت بین گروه‌ها از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. داده‌های تحقیق حاضر در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ تجزیه و تحلیل شدند. همچنین سطح معنی‌داری برای تمام محاسبات ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

زمانی که حیوانات به واماندگی و خستگی می‌رسیدند و قادر به ادامه تمرین نبودند. ملاک اصلی برای رسیدن به VO_2max ، عدم توانایی رت‌ها در ادامه دادن پروتکل تمرینی با افزایش سرعت بود. به عبارت دیگر، زمانی که رت‌ها نتوانستند تمرین را ادامه دهند و به واماندگی رسیدند، میزان VO_2max آنها را تخمین زده شد [۱۷].

برای آشنایی و سازگاری با HIIT رت‌ها به مدت ۲ هفته بر روی تردمیل تمرین داده شدند، در ابتدای هفته اول از سازگاری با تمرین رت‌ها با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و شیب صفر درجه به مدت ۱۰ دقیقه شروع به تمرین کردند و در آخر هفته دوم با همان سرعت ۱۰ متر بر دقیقه، مدت‌زمان تمرین به ۳۰ دقیقه رسید. رت‌ها به دو گروه کلی HIIT و گروه کنترل تقسیم شدند که با توجه به طرح پژوهش، گروه تمرین به مدت ۸ هفته تحت تمرین قرار گرفتند. برنامه پروتکل HIIT، توجه به پژوهش‌های قبلی [۱۸] بدین صورت طراحی شد که ۳ روز در هفته و هر روز یک جلسه ۲۲ دقیقه‌ای HIIT شامل ۴ دقیقه دویدن با شدت ۴۵ تا VO_2max ۵۵٪، ۹ تناوب ۱ دقیقه‌ای با شدت ۹۰ تا VO_2max ۹۵٪ و ۱ دقیقه دویدن بین هر تناوب با شدت ۵۰٪ VO_2max بود.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی و بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی موش‌های صحرایی با تزریق درون صفاقی ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند سپس با خارج کردن قلب قربانی شدند و به سرعت بافت پانکراس جداسازی شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی و جداکردن قسمت‌های زاید، به نیتروژن مایع انتقال یافته و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR شرکت ماکروژن^۱ (سنول، کره جنوبی) تمام پرایمرها توسط نرم‌افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن $\beta 2m$ (بتا ۲

1. Macrogen Inc.

جدول ۳- نتایج حاصل از روش آماری آزمون تعقیبی بونفرونی بین چهار گروه در دو متغیر p53 و p16

گروه (۱)	گروه (۲)	p53 مقدار P	p16 مقدار P
غذای نرمال	غذای نرمال+تمرین	۰/۰۰۱	۰/۰۱۷
	غذای پرچرب	۰/۰۶۳	۰/۲۳۸
	غذای پرچرب+تمرین	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶
غذای نرمال+تمرین	غذای پرچرب	۰/۰۱۳	۰/۰۹۷
	غذای پرچرب+تمرین	۰/۳۹۰	۱

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تمرین تناوبی شدید منجر به کاهش معنادار در بیان نسبی ژنهای p53 و p16 در بافت پانکراس موش‌های سالمند تغذیه شده با غذای پرچرب می‌شود؛ در صورتی که در گروه‌های کنترل (بدون تمرین با غذای نرمال و غذای پرچرب)، میزان بیان این ژن‌ها در سطح بالاتری بود. پروتئین p53 به‌عنوان یک عامل مولکولی کلیدی پیشنهاد شده است که سوبستراهای متابولیسم و بیوژنز میتوکندری ناشی از تمرین در عضلات اسکلتی را تنظیم می‌کند. اختلال در محتوا و عملکرد میتوکندری با آسیب‌های زیادی مانند اختلالات متابولیک، افزایش سن، دیابت نوع ۲، چاقی و سرطان و همچنین کاهش عملکرد تمرینی همراه است. همسو با نتایج پژوهش حاضر، دشتیان و همکاران گزارش کردند که تمرینات تداومی و تناوبی شدید، بیان ژن‌های سرکوبگر توموری p53 و PTEN را کاهش می‌دهد و مصرف مکمل ویتامین E به همراه این نوع تمرینات می‌تواند تا حدودی باعث اثرات متفاوت در بیان این ژن‌ها شود [۱۵]. در پژوهش دیگری جان بزرگی و همکاران تأثیر هشت هفته تمرین هوازی متعاقب ۵ هفته القای چاقی با رژیم غذایی پرچرب بر بیان پروتئین‌های سالمندی p53 و p16 در بافت پانکراس موش‌های دیابتی را بررسی کردند. نتایج این مطالعه حاکی از کاهش معنی‌داری در بیان ژن‌های p53 و p16 متعاقب تمرین هوازی با شدت متوسط بود. بر اساس یافته‌های این پژوهش تمرین هوازی احتمالاً با کاهش عوامل مربوط به سالمندی سلولی نظیر p53 و p16 در سلول‌های بتا موجب بهتر شدن حساسیت انسولینی و به تأخیر افتادن سالمندی

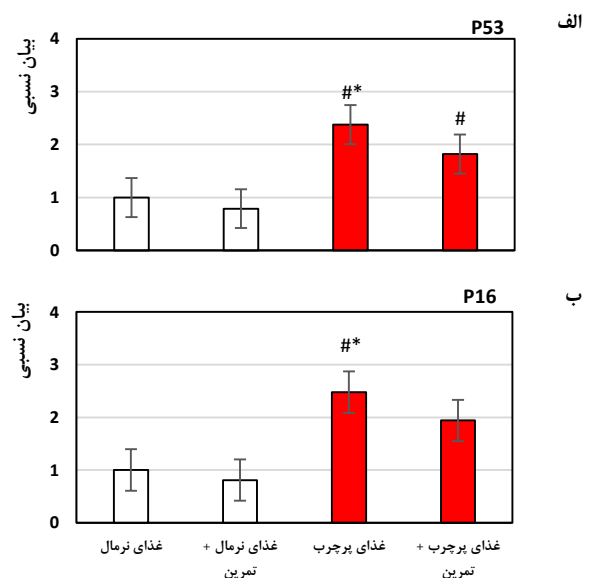
جدول ۲- میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش

متغیرها	غذای نرمال	غذای پرچرب	تمرین + غذای نرمال	تمرین + غذای پرچرب
وزن بدن (گرم)	۴۹۸/۴±۱۶/۸۶	۴۸۸/۰۱±۴/۳۵	۵۲۴/۸±۴/۸۱	۴۹۴/۶±۱۱/۴۱
وزن بافت پانکراس (گرم)	۰/۶۷۲±۰/۱۴	۰/۶۹۲±۰/۱۰	۰/۷۴۲±۰/۰۹	۰/۷۲۰±۰/۱۱
p53 (ng/μl)	۱±۰/۳۲	۰/۷۹±۰/۱۳	۲/۳۸±۰/۳۵	۱/۸۲±۰/۴۰
p16 (ng/μl)	۱±۰/۲۱	۰/۸۱۲±۰/۱۹	۲/۴۸±۱/۰۶	۱/۹۴±۰/۶۱

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار متغیرهای پژوهش در جدول ۲

آمده است. یافته‌های مربوط به بیان ژن حاکی از این بود که مقادیر بیان ژن p53 بین چهار گروه مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p=۰/۰۰۱$)، این تفاوت بین گروه غذای نرمال با گروه غذای پرچرب ($p=۰/۰۰۱$)، گروه غذای نرمال+تمرین با غذای پرچرب+تمرین ($p=۰/۰۱۳$) و گروه غذای نرمال+تمرین با گروه غذای پرچرب ($p=۰/۰۰۰۱$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳ و نمودار ۱-الف). میزان معنی‌داری آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه ($p=۰/۰۰۳$) نشان داد که از لحاظ فاکتور p16 نیز بین چهار گروه مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که مقادیر بیان ژن p16 بین گروه غذای نرمال با گروه غذای پرچرب ($p=۰/۰۱۷$) و گروه غذای نرمال+تمرین با گروه غذای پرچرب ($p=۰/۰۰۶$) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳ و نمودار ۱-ب).



نمودار ۱- میزان تغییرات مقادیر p53 (الف) و p16 (ب) گروه‌های پژوهش

* تفاوت معنی‌دار با گروه غذای نرمال
تفاوت معنی‌دار با گروه غذای نرمال+تمرین

توسط فراوانی mRNA در کبد یا طحال تعیین می‌شود، تسریع می‌کند. علاوه بر این، مصرف بیش از حد مواد غذایی ممکن است تجمع سلول‌های پیر p16INK4a و/یا p53 مثبت را در بافت چربی القا کند [۲۱].

پیری سلولی با توقف رشد برگشت‌ناپذیر مشخص می‌شود. افزایش بیان دو تنظیم‌کننده کلیدی چرخه سلولی مهماری، p16INK4a و p21cip1 و سرکوبگر تومور p53، نشانگرهای اصلی فنوتیپ ترشخی مرتبط با پیری (SASP) در نظر گرفته می‌شوند [۲۲]. SASP واسطه التهاب مزمن با درجه پایین است که پیری بیولوژیکی و شروع بیماری‌های مرتبط با سن را تسریع می‌کند [۲۳]. سالمندان چاق تقویت SASP را از طریق تنظیم مثبت در فعالیت p53، p16 و p21 نشان می‌دهند که خطر ابتلا به اختلالات قلبی عروقی، عصبی و متابولیک را افزایش می‌دهد [۲۴]. HIIT از طریق افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و سطح آنزیم ترمیم DNA، واکنش آسیب DNA را سرکوب می‌کند و تجمع هسته‌ای p53 را کاهش می‌دهد [۲۵]. همین سازگاری‌ها همچنین ممکن است از طریق مهار رونویسی مشابه، با تنظیم مثبت p16 و p21 مخالفت کنند. گزارش شده است که p53 در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ وابسته به میتوکندری اضافی، از جمله اتوفاژی/میتوفاژی و آپوپتوز نقش دارد. نقش p53 در تنظیم آپوپتوز شناخته شده است، زیرا می‌تواند ژن‌های پروآپوپتوز متعددی از جمله Bax و Bid را به صورت رونویسی تنظیم کند تا آسیب DNA را القا کند [۳]. علاوه بر این، p53 خود می‌تواند در سطح میتوکندری قرار گیرد، جایی که می‌تواند سینتیک منافذ انتقال نفوذپذیری را تنظیم کند [۲۶]. قبلاً نشان داده شده بود که فعالیت ورزشی مزمن باعث کاهش نسبت Bax:Bcl-2 همزمان با کاهش سیتوکروم c و آزادسازی پروتئین AIF23 می‌شود که نشان‌دهنده سازگاری‌های ضد آپوپتوز در میتوکندری است [۲۷].

سلولی ناشی از دیابت می‌شود [۱۶]. در مقابل عبداللهی دیبا و همکاران گزارش کردند که تمرینات استقامتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های سیتوکروم C و p53 در عضله قلب موش‌های صحرایی نر نداشت [۱۱]. همچنین رشوان اسماعیل و همکاران گزارش کردند که اثر ۱۲ هفته تمرین هوازی بر فاکتورهای بیان ژن‌های p53 و miR-34a در آزمودنی‌های سالم معنی‌دار نبود [۱۲]. این که چگونه ورزش یا تمرین، بیان این ژن را در درازمدت کاهش می‌دهد مورد بحث است. گزارش شده است که تمرین منظم، استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را تقویت می‌کند [۱۹]. بنابراین با توجه به اینکه یکی از دلایل افزایش بیان p53 افزایش استرس اکسیداتیو است، می‌توان انتظار داشت که سطح بیان ژن p53 به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو کاهش یابد [۱۵]. تأثیر مثبت فعالیت‌های ورزشی بر پارامترهای متعددی از سلامت جسمی، قلبی و متابولیک در موش‌های میانسال و مهمتر از آن، غلبه بر اثرات مخرب اضافی مواد مغذی نشان داده شده است.

در پیری و چاقی، بافت چربی منبع اصلی واسطه‌های التهابی است که در پیدایش دیابت و سایر بیماری‌های مزمن نقش دارد [۲۰]. شفر و همکاران در پژوهشی القای p16 و p53 را در بافت چربی احشایی و القای p21 را در چربی احشایی و زیرجلدی و کبد در موش‌های ۱۲ ماهه که در ۱۶ یا ۳۰ هفته قبل مداخله‌ای با رژیم غذایی سرشار از قند و چربی و/یا ورزش دریافت کردند، مشاهده کردند. به نظر می‌رسد بیان این نشانگرها در سایر بافت‌ها از جمله پانکراس نیز افزایش می‌یابد [۲۱]. آنها بیان کردند که نتایج ترکیبی به اتفاق آرا نشان می‌دهد که مواد غذایی اضافی منجر به القای پیری در بافت‌های متعددی می‌شود که مسئول هماهنگی سلامت متابولیک هستند. در پژوهش حاضر نیز افزایش نشانگرهای پیری در گروه رژیم غذایی پرچرب در مقایسه با غذای نرمال مشاهده شد که می‌تواند تأثیرات رژیم پرچرب بر القای پیری در بافت پانکراس را نشان دهد. گزارش شده است که تغذیه با چربی بالا، بیان p16INK4a مرتبط با افزایش سن را که

1. Senescence-associated secretory phenotype

فاکتورهای p53 و p16 در بافت پانکراس رت‌های سالمند بودیم و در گروه‌های که غذای پرچرب مصرف کردند شاهد افزایش بیان فاکتورهای p53 و p16 در بافت پانکراس رت‌های سالمند بودیم. این نتایج ارتقاء سلامت بافت پانکراس و کاهش اثرات منفی غذای پرچرب را نشان دهد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش باکد اخلاق IR.ILAM.REC.1402.020 به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه ایلام رسیده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از همه افرادی که در طی انجام این تحقیق کمک کردند تشکر نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان

همه نویسندگان در ایده‌پردازی و انجام طرح، همچنین نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بوده‌اند و همه با تأیید نهایی مقاله حاضر مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

منابع مالی

در این پژوهش از هیچ ارگانی کمک مالی دریافت نگردید.

یوسف و همکاران تأثیر HIIT و تمرین مداوم با شدت متوسط به مدت ۱۲ هفته بر بیان ژن بافت چربی، ترکیب بدن و نشانگرهای زیستی خون در سالمندان چاق بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که HIIT استراتژی‌های مداخله‌ای مؤثر در افراد مسن چاق هستند، به نظر می‌رسد HIIT اثرات مفیدتری دارد. به طور خاص، HIIT منجر به پیشرفت‌های بالاتری نسبت به MICT در کاهش وزن، ظرفیت‌های عملکردی، توده بدون چربی و نشانگرهای عضله اسکلتی محتوای میتوکندری، همجوشی و میتوفاژی شد [۴]. علاوه بر این، HIIT آزادسازی IL-6 را تحریک می‌کند [۲۸]، که بیان p16 را با سرکوب فعالیت سیگنالینگ p38 MAPK/NF kB کاهش می‌دهد [۲۹]. تأثیر HIIT بر این مسیرها ممکن است زمینه‌ساز کاهش مشاهده‌شده در التهاب ناشی از SASP و نرخ پیری بیولوژیکی باشد. HIIT ترشح سیتوکین‌های التهابی را تسهیل می‌کند که نشان داده شده است سلول‌های ایمنی را تحریک می‌کند و این امر به نوبه خود سلول‌های پیر را برای آپوپتوز هدف قرار می‌دهند [۳۰]. این تفکیک سلول‌های آسیب‌دیده پایدار همچنین به کاهش التهاب مزمن زمینه‌ای و توسعه عصبی کمک می‌کند.

این یافته‌ها نشان می‌دهد که تمرین تناوبی شدید تأثیر مثبتی بر بیان فاکتورهای p53 و p16 در بافت پانکراس رت‌های سالمند تغذیه‌شده با غذای پرچرب دارد، به نحوی که در گروه‌های که تمرین انجام دادند شاهد کاهش بیان

References

- Carapeto PV, Aguayo-Mazzucato C. Effects of exercise on cellular and tissue aging. *Aging*. 2021;13(10):14522-14543. doi:10.18632/aging.203051
- Chen XK, Yi ZN, Wong GT, Hasan KMM, Kwan JS, Ma AC, Chang RC. Is exercise a senolytic medicine? A systematic review. *Aging Cell*. 2021;20(1):e13294. doi:10.1111/ace1.13294
- Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*. 2003;22(56):9030-9040. doi:10.1038/sj.onc.1207116
- Youssef L, Granet J, Marcangeli V, Dulac M, Hajj-Boutros G, Reynaud O, et al. Clinical and biological adaptations in obese older adults following 12-weeks of high-intensity interval training or moderate-intensity continuous training. *Healthcare*. 2022;10(7). doi:10.3390/healthcare10071346
- Mijit M, Caracciolo V, Melillo A, Amicarelli F, Giordano A. Role of p53 in the regulation of cellular senescence. *Biomolecules*. 2020;10(3):420. doi:10.3390/biom10030420
- Huang CC, Chiang WD, Huang WC, Huang CY, Hsu MC, Lin WT. Hepatoprotective effects of swimming exercise against D-Galactose-Induced senescence rat model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2013;2013:275431. doi:10.1155/2013/275431

7. Werner C, Fürster T, Widmann T, Pöss J, Roggia C, Hanhoun M, et al. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. *Circulation*. 2009;120(24):2438-2447. doi:10.1161/circulationaha.109.861005
8. Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Research Reviews*. 2012;11(2):230-241. doi:10.1016/j.arr.2011.12.005
9. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Dariushnejad H, Chodari L, Mohaddes G. Effects of crocin and voluntary exercise, alone or combined, on heart VEGF-A and HOMA-IR of HFD/STZ induced type 2 diabetic rats. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2016;39(10):1179-1186. doi:10.1007/s40618-016-0456-2
10. Seyedgomi F, Bashiri J, Gholami F. Effect of high intensity endurance training on p53 and cytochrome-c gene expression in male rat soleus muscle. *Armaghane Danesh*. 2017;22(5):608-622. [Persian]
11. Abdollahi-Diba M, Bashiri J, Pourmanaf H, Fekri-Kourabaslou V. The effect of endurance exercise and rosehip extract supplementation on the expression of P53 and cytochrome C genes in male rat heart. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 2022;14(4):246-252. doi:10.34172/jcvtr.2022.31599
12. Rashwan Ismael B, Piralaity E, D. Nikoukheslat S, Rashidpour A, Hamidian G. The effect of aerobic training on the expression genes of p53 and miR-34a in the heart tissue of type 2 diabetic rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. In Press. 2024. doi:10.22077/jpsbs.2024.7154.1849
13. Sadeghi-Tabas S, Saghebjoor M, Sarir H, Hedayati M. Effects of work/rest interval manipulation of high-intensity interval training and detraining on telomerase activity and p53 levels in cardiac muscle. *Science & Sports*. 2020;35(3):170.e171-170.e178. doi:10.1016/j.scispo.2019.06.002
14. Nezamdoost Z, Saghebjoor M, Hoshyar R, Hedayati M, Sadeghi Tabas S. The effect of high-intensity interval training and saffron extract on the expression of some cachexia-related genes in the skeletal muscle of female mice carrying breast cancer cell line. *Sport Physiology*. 2020;12(48):83-104. [Persian] doi:10.22089/spj.2021.9254.2057
15. Dashtiyani AA, Sepehrmanesh M, Tanideh N, Afzalpour ME. The effect of endurance training with and without vitamin E on expression of p53 and PTEN tumor suppressing genes in prostate glands of male rats. *Biochimie Open*. 2017;4:112-118. doi:10.1016/j.biopen.2017.03.005
16. Janbozorgi M, Gaini Aa, Choobineh S, Tabandeh Mr. The effect of eight weeks of aerobic exercise on the expression of senescence proteins p53 and p16 in pancreatic tissue of diabetic mice. *Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders*. 2022;22(1):45-54. [Persian]
17. Hosseini SA, Salehi O, Keikhosravi F, Hassanpour G, Ardakani HD, Farkhaie F, et al. Mental health benefits of exercise and genistein in elderly rats. *Experimental Aging Research*. 2022;48(1):42-57. doi:10.1080/0361073x.2021.1918473
18. Yazdanparast Chaharmahali B, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi Arkhazloo P. The effect of moderate and high intensity interval trainings on cardiac apoptosis in the old female rats. *Report of Health Care*. 2018;4(1):26-35.
19. Qi Z, He J, Zhang Y, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radical Biology & Medicine*. 2011;50(7):794-800. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.022
20. Tchkonina T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, Van Deursen J, Lustgarten J, Scoble H, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell*. 2010;9(5):667-684. doi:10.1111/j.1474-9726.2010.00608.x
21. Schafer MJ, White TA, Evans G, Tonne JM, Verzosa GC, Stout MB, et al. Exercise prevents diet-induced cellular senescence in adipose tissue. *Diabetes*. 2016;65(6):1606-1615. doi:10.2337/db15-0291
22. Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 2014;15(7):482-496. doi:10.1038/nrm3823
23. He S, Sharpless NE. Senescence in health and disease. *Cell*. 2017;169(6):1000-1011. doi:10.1016/j.cell.2017.05.015
24. Farr JN, Xu M, Weivoda MM, Monroe DG, Fraser DG, Onken JL, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nature Medicine*. 2017;23(9):1072-1079. doi:10.1038/nm.4385
25. Eskandari S, Sajadimajd S, Alaei L, Soheilikhah Z, Derakhshankhah H, Bahrami G. Targeting common signaling pathways for the treatment of stroke and alzheimer's: A comprehensive review. *Neurotox Res*. 2021;39(5):1589-1612. doi:10.1007/s12640-021-00381-7
26. Vaseva AV, Moll UM. The mitochondrial p53 pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009;1787(5):414-420. doi:10.1016/j.bbabi.2008.10.005
27. Dashtiyani AA, Afzalpour ME, Tanideh N, Sepehrmanesh M. The comparison of the effect of vitamin E on the expression of p53/PTEN of prostate gland of male rats in two groups of intensive continuous and intermittent exercise training. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2017;7(3):406-415. [Persian]
28. Croft L, Bartlett JD, MacLaren DP, Reilly T, Evans L, Matthey DL, et al. High-intensity interval training attenuates the exercise-induced increase in plasma IL-6 in response to acute exercise. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquée, Nutrition et Métabolisme*. 2009;34(6):1098-1107. doi:10.1139/h09-117
29. Firat A. Microsatellite instability (MSI) and p16/p53 protein status in different subtypes of endometrial carcinoma: with emphasis on tumor aggressiveness. *Journal of Cukurova Anesthesia and Surgical Sciences*. 2023;6(2):338-341. doi:10.36516/jocass.1339847
30. Nakamichi R, Ma S, Nonoyama T, Chiba T, Kurimoto R, Ohzono H, et al. The mechanosensitive ion channel PIEZO1 is expressed in tendons and regulates physical performance. *Science Translational Medicine*. 2022;14(647):eabj5557. doi:10.1126/scitranslmed.abj5557