

The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training on Some Micro RNAs Associated with Vascular Abnormalities and Insulin Resistance in Men with Type 2 Diabetes

Siavash Saghari¹ , Dariush Sheikholeslami-Vatani² 

1. Department of Physical Education and Sports Sciences, Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. E-mail: saghari.siavash@gmail.com

2. Corresponding Author, Department of Sports Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. E-mail: d.vatani@uok.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research	Introduction: Diabetes mellitus is the most prevalent endocrine disorder worldwide and is responsible for approximately 4 million deaths annually. The present study aimed to investigate the effect of eight weeks of aerobic training on certain microRNAs associated with vascular dysfunction and insulin resistance in men with type 2 diabetes.
Article history: Received: 9 December 2024 Received in revised form: 16 August 2025 Accepted: 9 September 2025 Published online: 21 September 2025	Methods: A sample of 40 men with type 2 diabetes (mean age: 49.2 ± 2.1 years) from Kermanshah city were selected and randomly assigned into two groups: an aerobic exercise group and a control group. The aerobic exercise protocol consisted of progressively increasing intervals over eight weeks, with three sessions per week at an intensity of 60-70% of maximum heart rate. Blood samples were collected 48 hours before the first training session and 48 hours after the final training session. Plasma levels of miR-222, miR-221, and miR-21 were measured using the real-time PCR technique. Data were analyzed using paired and independent t-tests, with statistical significance set at $p \leq 0.05$.
Keywords: Aerobic Exercise, Angiogenesis, MicroRNAs, Type 2 Diabetes,	Results: Eight weeks of aerobic training significantly affected the levels of miR-221 ($p = 0.001$), miR-222 ($p = 0.001$), and miR-21 ($p = 0.003$) in men with type 2 diabetes. Moreover, a significant difference was observed between the two groups in the mean changes of all three microRNAs, favoring the exercise group ($p = 0.001$ for all comparisons).
	Conclusion: The findings of this study indicate that eight weeks of aerobic training increases angiogenic factors in men with type 2 diabetes.

Cite this article: Saghari S., Sheikholeslami-Vatani D. The Effect of Eight Weeks of Aerobic Training on Some Micro RNAs Associated with Vascular Abnormalities and Insulin Resistance in Men with Type 2 Diabetes. *Journal of Sport Biosciences*. 2024; 17 (2):93-107.
DOI: <http://doi.org/10.22059/JSB.2025.385184.1666>.



Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
| Web site: <https://jsb.ut.ac.ir/> | Email: jsb@ut.ac.ir.

Extended Abstract

Introduction

Diabetes is the most common endocrine disorder worldwide, responsible for nearly four million deaths each year. Its rapid rise has led the World Health Organization to label it a hidden epidemic. Type 2 diabetes is particularly linked to cardiovascular disease, which is the leading cause of death in this population. Patients with type 2 diabetes often experience a higher prevalence of vascular complications, such as intimal thickening and diabetic cardiomyopathy. The latter is characterized by ventricular remodeling, fibrosis, and impaired cardiac function. MicroRNAs (miRNAs) like miR-21, miR-221, and miR-222 play crucial roles in regulating vascular remodeling and endothelial function. Evidence suggests that exercise can influence their expression, potentially offering cardiovascular benefits. However, the specific effects of aerobic training on these miRNAs in individuals with type 2 diabetes are still unclear. This study aimed to investigate the impact of an eight-week aerobic exercise program on the expression of miR-21, miR-221, and miR-222 in men with type 2 diabetes.

Methods

This experimental study involved 40 men aged 40 to 55 years with type 2 diabetes, who were randomly assigned to either an aerobic training group or a control group. The inclusion criteria required participants to have no major cardiovascular or renal complications, to be non-smokers, to not be following any special diet or therapy, and to not engage in regular physical activity. All participants provided written informed consent. The training group engaged in treadmill-based aerobic exercise three times a week for eight weeks. Each session lasted between 30 to 45 minutes, with the intensity gradually increasing from 60% to 70% of their maximal heart rate. Each workout included warm-up and cool-down periods. Anthropometric measurements and fasting blood samples were collected both at the beginning of the study and 48 hours after the final session. Serum samples were analyzed for glucose and lipid profiles, and were also stored for microRNA extraction. The levels of miR-21, miR-221, and miR-222 were quantified using reverse transcription stem-loop quantitative PCR (RT stem-loop qPCR) and normalized against miR-139-5p. Relative expression changes were assessed using $\Delta\Delta C_t$ analysis.

Results

After eight weeks, the aerobic training group demonstrated significant reductions in body weight ($p =$

0.000) and Body Mass Index (BMI) ($p = 0.001$). In contrast, the control group experienced slight increases in both weight ($p = 0.038$) and BMI ($p = 0.037$). Serum analysis revealed notable increases in specific microRNAs within the aerobic training group: miR-222 increased from $2.52 \pm 1.06 \mu\text{L}$ to $3.67 \pm 0.04 \mu\text{L}$ ($p = 0.001$), miR-221 rose from $2.19 \pm 0.75 \mu\text{L}$ to $3.15 \pm 0.89 \mu\text{L}$ ($p = 0.001$), and miR-21 increased from $1.01 \pm 0.298 \mu\text{L}$ to $1.92 \pm 0.755 \mu\text{L}$ ($p = 0.002$). These findings suggest that eight weeks of structured aerobic exercise improved body composition and enhanced the levels of vascular-related microRNAs, indicating a potential molecular mechanism for the cardiovascular benefits of exercise in men with type 2 diabetes.

Conclusion

A study found that eight weeks of aerobic exercise influenced vascular-related microRNAs in men with type 2 diabetes. Specifically, the level of miR-21 decreased, while the levels of miR-221 and miR-222 increased. These changes may indicate early adaptations in cardiovascular and metabolic health, suggesting that these microRNAs could serve as potential biomarkers. More research is needed to identify the best exercise protocols and to confirm the clinical significance of these findings.

Ethical Considerations:

Compliance: This research was conducted following the ethical standards set by the institutional research committee.

Funding: This research did not receive any specific grants from funding agencies, whether public, commercial, or not-for-profit.

Authors' contribution: Conceptualization, methodology, data collection, analysis, and drafting were conducted by Siavash Saghari. Oversight, methodological guidance, and manuscript revision were provided by Dariush Shekholeslami-Vatani.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments: The authors would like to express their gratitude to all those who supported this study.

تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر برخی از micro RNAs مرتبط با ناهنجاری های عروقی و مقاومت به انسولین در مردان مبتلا به دیابت نوع دو

سیاوش ساغری^۱، داریوش شیخ الاسلامی وطنی^۲

^۱ گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: saghari.siavash@gmail.com

^۲ نویسنده مسئول، گروه علوم ورزشی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: d.vatani@uok.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: پژوهشی	مقدمه: دیابت شایع ترین بیماری غدد در جهان و مسئول حدود چهار میلیون مرگ در سال است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر برخی از micro RNAs مرتبط با ناهنجاری های عروقی و مقاومت به انسولین در مردان مبتلا به دیابت نوع دو انجام شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۹	روش پژوهش: ۴۰ مرد مبتلا به دیابت نوع دو (با میانگین سن 49.2 ± 2.1 سال) شهر کرمانشاه به عنوان نمونه در نظر گرفته شدند و به صورت تصادفی در دو گروه تمرین هوازی و کنترل قرار گرفتند. برنامه تمرین هوازی به صورت تناوبی فزاینده به مدت هشت هفته و هر هفته سه جلسه و با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه اجرا شد (خون گیری ۴۸ ساعت پیش از اولین جلسه تمرین و ۴۸ ساعت پس از اتمام جلسات تمرینی انجام گرفت). سطوح پلاسمایی miR-21، miR-221، miR-222 از طریق روش PCR-Realtime اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آزمون های تی وابسته و تی مستقل در سطح $P \leq 0.05$ انجام گرفت.
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۲۵	یافته ها: هشت هفته تمرینات هوازی تأثیر معناداری بر سطوح miR-21 ($P=0.003$)، miR-221 ($P=0.001$) و miR-222 ($p=0.001$) مردان مبتلا به دیابت نوع دو داشت. همچنین تفاوت معناداری بین میانگین تغییرات دو گروه در خصوص هر سه متغیر به نفع گروه تجربی وجود داشت (در هر سه مورد، $P=0.001$).
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۸	نتیجه گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی سبب افزایش عوامل آنژیوژنز در مردان مبتلا به دیابت نوع دو می شود.
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۳۰	
کلیدواژه ها: آنژیوژنز، تمرین هوازی، دیابت نوع دو، Micro RNAs	

استناد: ساغری، سیاوش؛ شیخ الاسلامی وطنی، داریوش. تأثیر هشت هفته تمرین هوازی بر برخی از micro RNAs مرتبط با ناهنجاری های عروقی و مقاومت به انسولین در مردان مبتلا به دیابت نوع دو. نشریه علوم زیستی ورزشی، ۱۴۰۲، ۱۷(۲)، ۹۳-۱۰۷.

DOI: <http://doi.org/10.22059/JSB.2025.385184.1666>

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کپیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است. آدرس نشریه: <https://jsb.ut.ac.ir/> | ایمیل: jsb@ut.ac.ir



مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری غدد در جهان و مسئول حدود چهار میلیون مرگ در سال است. سازمان بهداشت جهانی^۱ با توجه به آمار و روند رو به افزایش بیماری دیابت در جهان آن را به عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام کرد [۱]. افزایش چشمگیر جمعیت دیابتی‌ها در دو دهه اخیر، با رشد دو تا سه برابری مرگ‌ومیرهای قلبی-عروقی مرتبط با دیابت همراه بوده است [۲]. ریسک بروز عوارض قلبی-عروقی در جمعیت مبتلا به دیابت به‌طور چشمگیری بالاست، تا جایی که این عوارض به‌عنوان عامل اصلی مرگ‌ومیر در این بیماران شناخته می‌شوند. شواهد نشان می‌دهد شیوع بیماری‌های قلبی-عروقی در مبتلایان به دیابت نوع دو، در مقایسه با افراد سالم، بین دو تا چهار برابر بیشتر است. ترکیب و تجمع چندین فاکتور خطرزا مانند اختلال در سیستم متابولیکی ناشی از دیابت، اختلال در عملکرد عروقی و تغییرات در ظرفیت کاری قلب در این بیماران، به تشدید این ریسک منجر می‌شود [۲، ۳]. همچنین مشخص شده است که دیابت با افزایش ضخیم شدن درون‌لایه آژ جمله تصلب شرایین همراه است. ضخیم شدن درون‌لایه شامل تکثیر و مهاجرت سلول‌های عضله صاف عروقی (VSMCs) در درون‌لایه شریان است [۴]. از دیگر عوارض پاتولوژیک قلبی در بیماران دیابتی، کاردیومیوپاتی دیابتی است. در این عارضه، بازسازی بطن در غیاب انسداد عروق کرونری و فشار خون به اختلال عملکرد بطن چپ منجر می‌شود، همچنین به رسوب کالژن، هایپرتروفی میوکاردی یا بزرگ شدن بیمارگونه قلب، نکروز و فیبروز میوکاردی منجر می‌شود. کاردیومیوپاتی ناشی از دیابت می‌تواند به شکل‌های کاردیومیوپاتی اتساع‌یافته، کاردیومیوپاتی هایپرتروفیک و کاردیومیوپاتی محدودکننده باشد که با کاهش برون‌ده قلبی و تغییر در سوخت‌وساز قلبی همراه است [۵]. ارتباط بین کاردیومیوپاتی دیابتی و سختی میوکاردی مستقل از فشار خون بالا و وقوع هایپرتروفی قلبی در برخی پژوهش‌ها نشان داده شده است. فیبروز و تغییر شکل میوکارد، لیپوتوکسیته، تغییر در فعالیت مسیرهای سیگنالی، اختلال در عملکرد میتوکندری، میکرو RNA ها و سازوکارهای دیگر از جمله اتوفاژی، نکروز، آپوپتوز، التهاب و اختلال عملکرد اندوتلیال اشاره کرد که احتمالاً در ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی نقش دارند [۶، ۷]. در این خانواده چهار عضو به‌عنوان اعضای ویژه قلبی شناخته شده‌اند که به آنها myomiRs می‌گویند و miR-21 به‌عنوان یک عامل مهم در بیماری‌های قلبی-عروقی شناخته شده است. بیان miR-21 در سیستم قلبی-عروقی بالاست که بیان آن در بیماری‌های قلبی-عروقی مانند هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی مختل می‌شود [۸]. بر اساس گزارش سکار و همکاران (۲۰۱۶) miR-21 در اختلالات قلبی-عروقی ناشی از دیابت نقش دارد [۹]. مهار miR-21 در مدل‌های حیوانی دارای بیماری قلبی به بهبود عملکرد قلبی منجر شد. بنابراین miR-21 را می‌توان به‌عنوان هدف درمانی در بیماری‌های قلبی مطرح کرد. همچنین گزارش شده است که دو microRNA که سبب ضخیم شدن درون‌لایه می‌شوند عبارت‌اند از miR-221 و miR-222 که در شریان‌های بیماران دیابتی افزایش می‌یابند [۹]. miR-221 و miR-222 با ترویج تخریب mRNA کدکننده p27Kip1 در VSMC ها ضخیم شدن درون‌لایه را تسریع می‌کنند. اینکه آیا این افزایش miR-22 و miR-222 در پاسخ به دیابت سبب افزایش ضخیم شدن درون‌لایه می‌شود، هنوز مشخص نیست. همچنین محققان بیان کردند که تغییرات در سیگنال‌دهی انسولین مرتبط با دیابت به افزایش فعال‌سازی مسیر ERK-1/2 منجر می‌شود. فعال‌سازی طولانی‌مدت این مسیر موجب افزایش بیان miR-22 و miR-222 می‌شود [۱۰]. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد تمرینات ورزشی می‌تواند روی بیان miR-21، miR-221 و miR-222 اثرگذار باشد. در این زمینه وکیلی و همکاران (۱۴۰۱) بیان کردند که اجرای هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا توانست بیان miR-21 را در رت‌های دیابتی افزایش دهد [۱۰]. کاربا

1. World Health Organization (WHO)

2. Intima

و همکاران (۲۰۱۸) تمرینات ورزشی هوازی می‌تواند روی بیان miR-21 تأثیرات مثبتی داشته باشد [۱۱]. اکبری و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که تمرینات هوازی به مدت شش هفته توانست miR-222 را افزایش دهد [۱۲].

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته و نتایج پژوهش‌های بیان شده فاکتورهای رگ‌زایی و شاخص‌های مرتبط با دیابت نوع دو به وسیله تمرین هوازی تحت تأثیر قرار می‌گیرند و این رویکرد نوین می‌تواند راهبرد بسیار بالارزشی در توسعه روش‌های درمانی جدید در بیماری دیابت باشد. از این رو فرایندهای تنظیمی که موجب تغییر در فاکتورهای مرتبط با ناهنجاری عروقی می‌شوند، می‌تواند از طریق تمرین هوازی تحت تأثیر قرار گیرند. مراجعه به اطلاعات قبلی نشان می‌دهد که همواره تأثیرات تمرینات ورزشی بر روی بیماران دیابتی نوع دوم مفید بوده است، ولی نتایج این تحقیقات هم ضد و نقیض است و تاکنون نقش تمرینات هوازی بر روی microRNA ها بررسی نشده است. از طرفی شدت و مدت و نوع تمرین در کاهش علائم خطرزا و متعاقباً پی‌شگیری و تخفیف آثار ناهنجاری‌های پاتولوژیک و بهبود کیفیت زندگی مؤثر است. با وجود این، بررسی پژوهش‌های انجام گرفته، نشان می‌دهد که هیچ تحقیقی آثار همزمان تمرین ورزشی و دیابت نوع دوم را بر microRNA ها و مسیرهای سیگنالینگ آن در آنژیوژنز عروقی را بررسی نکرده است. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر تمرین هوازی بر میزان اثر microRNA مرتبط با ناهنجاری‌های عروقی شامل miR-221، miR-222 و miR-21 انجام گرفت.

روش‌شناسی پژوهش

شرکت‌کنندگان

این پژوهش از نوع تجربی و از نظر هدف پژوهشی، کاربردی بود. شرکت‌کنندگان پژوهش حاضر مردان مبتلا به دیابت نوع دو با دامنه سنی $49/2 \pm 2/1$ سال بودند. در این پژوهش با هماهنگی مراکز انجمن دیابت استان کرمانشاه از افراد واجد شرایط برای شرکت در تحقیق دعوت به عمل آمد و سپس از افرادی که اعلام آمادگی کرده بودند، درخواست شد برای اندازه‌گیری قند خون ناشتا، قد، وزن، محیط دور کمر و شکم و اندازه‌گیری درصد چربی بدن با استفاده از کالیپر به سالن ورزشی مراجعه کنند. از بین آنها ۴۰ مرد مبتلا به دیابت نوع دو با دامنه سنی ۴۰-۵۵ سال به صورت هدفمند انتخاب شدند. پس از توضیح مراحل پژوهش و اخذ رضایت‌نامه کتبی از شرکت‌کنندگان، به طور تصادفی در دو گروه، تمرین هوازی و گروه کنترل قرار گرفتند. شرکت‌کنندگان می‌توانستند هر زمان که مایل بودند از ادامه همکاری انصراف دهند.

معیارهای ورود به تحقیق شامل عدم ابتلا به سابقه بیماری خاص (سکته قلبی، آریتمی کنترل نشده، عوارض مربوط به دیابت نوع دو مانند زخم پای دیابتی و نفروپاتی)، عدم شرکت در فعالیت بدنی منظم، استعمال نکردن دخانیات، نداشتن رژیم غذایی و شیوه درمانی خاص و داشتن آمادگی لازم برای شروع فعالیت بدنی، و معیارهای خروج از تحقیق شامل غیبت بیش از دو جلسه، عدم تمایل به ادامه تمرینات، تغییر دوز یا نوع داروی مصرفی و هرگونه منع پزشکی برای ادامه کار بود.

گروه تمرین به صورت منظم در تمرینات هوازی روی تردمیل طی هشت هفته و هر هفته سه جلسه ۳۰ تا ۴۵ دقیقه‌ای شرکت کردند (جدول ۱). به منظور رعایت اصل اضافه بار در تمرینات هوازی از تمرین هوازی با شدت ۶۰ درصد ضربان قلب بیشینه، چهار ست و با فاصله استراحتی پنج دقیقه شروع شد و در نهایت با ۷۰ درصد ضربان قلب بیشینه، شش ست و چهار دقیقه استراحت بین ست‌ها پایان یافت [۱۳].

جدول ۱ نشان‌دهنده برنامه تمرین ورزشی در این پژوهش است. در ضمن پیش از اجرای برنامه تمرین ۱۰ دقیقه گرم کردن شامل دویدن آرام ۲ تا ۳ دقیقه، حرکات کششی ۵ دقیقه و دویدن آرام ۲ تا ۳ دقیقه دویدن آرام و در پایان فعالیت مشابه برای سرد کردن در نظر گرفته شد.

جدول ۱. برنامه تمرینات هوازی

گروه تمرینی	زمان تمرین	شدت تمرین (درصد ضربان قلب بیشینه)	تعداد ست‌ها	استراحت بین ست‌ها (دقیقه)	مدت تمرین (دقیقه)
تمرین هوازی	هفته اول	۶۰	۴	۵	۳۵
	هفته دوم	۶۰	۴	۵	۳۵
	هفته سوم	۶۰	۵	۵	۴۰
	هفته چهارم	۶۵	۵	۵	۴۰
	هفته پنجم	۶۵	۵	۵	۴۰
	هفته ششم	۶۵	۶	۴	۴۵
	هفته هفتم	۷۰	۶	۴	۴۵
	هفته هشتم	۷۰	۶	۴	۴۵

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی پس از ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی شبانه، آزمودنی‌ها رأس ساعت هشت صبح در محل خون‌گیری حاضر شدند و نمونه خون اولیه به مقدار ۵ سی‌سی از ورید قدامی بازویی توسط متخصصان خون آزمایشگاه از آنها گرفته شد. پس از آنکه نمونه خون سانتریفیوژ شد، سرم آن جدا شده و اندازه‌گیری سطح گلوکز ناشتا، نیم‌رخ لیپیدی در همان روز نمونه‌گیری انجام گرفت و بقیه سرم به‌منظور اندازه‌گیری سایر فاکتورها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد. پس از جمع‌آوری داده‌های اولیه، برنامه تمرین از ۴۸ ساعت بعد به مدت هشت هفته آغاز شد. پس از اتمام دوره تمرین، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین مجدداً اندازه‌گیری آنزوپومتریک و آزمایشگاهی در شرایط و زمان مشابه آزمون‌های اولیه و با همان ابزار توسط محقق و متخصص آزمایشگاه انجام گرفت [۱۳].

استخراج microRNA خون

به‌منظور استخراج microRNA از کیت استخراج ایرایزول RNA تولید شرکت زیست فناوری رنا کد دسترسی (RB1001) و طبق دستورالعمل زیر استفاده شد. همچنین برای بررسی سطوح microRNA از روش RT steam-loop house keeping استفاده شد. ابتدا مقدار ۵۰۰ میکرولیتر خون به‌همراه یک میلی‌لیتر از بافر ایرایزول با یکدیگر مخلوط شد، به‌صورتی که محلول همگنی حاصل شود، سپس میکس به میکروتیوب دو میلی‌لیتر منتقل شد. محلول میکس در دمای محیط به مدت پنج دقیقه ثابت قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به مجموعه اضافه شد و به‌صورت بالا و پایین به شدت ۱۰-۱۵ ثانیه تکان داده شده و دوباره به مدت پنج دقیقه در محیط رها

شد. تیوب حاوی میکس در سرعت به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از اتمام این مرحله دو فاز به صورت مشخص قابل مشاهده بود، فاز شفاف رویی که حاوی RNA بود، جدا شده و به داخل تیوب دیگر منتقل شد، ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰ درصد سرد به آن اضافه شده و سپس به مدت هشت دقیقه در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان تیوب از فریزر خارج و شبیه مرحله قبل سانتریفیوژ شد، مایع داخل تیوب پس از سانتریفیوژ دور ریخته شد. در این مرحله گاهی ولی نه معمولاً لکه‌های بی‌رنگ یا مایل به سفید در بدنه و کف تیوب مشاهده شد. سانتریفیوژ با اضافه کردن اتانول ۸۰ درصد جهت شست‌وشو تکرار شد و پس از خارج کردن اتانول و خشک کردن (محتوای داخل تیوب) در این مرحله روش air-dry استفاده شد. ۲۰-۵۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بسته به میزان رسوب به آن اضافه و با پیپت RNA داخل تیوب حل شد. سپس ۵ ماکرولیتر از آن به منظور تأیید کیفیت بر روی ژل آگارز یک درصد ران شد تا پس از تأیید از آن در سنتز cDNA استفاده شود به منظور DNA زدایی از محصول RNA استخراجی به کمک DNaseI پس از تأیید کیفیت RNA بر وی ژل ۱ درصد آگاروز به مقدار ۰/۵ میکرولیتر DNase I به غلظت ۲ یونیت بر میکرولیتر به تیوب حاوی RNA به غلظت ۵- ماکروگرم اضافه و سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد.

سنتز microRNA

مطابق جدول ۲، سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA زیست‌فناوران رنا انجام گرفت. تمامی مواد از شرکت زیست‌فناوران رنا تهیه شد. پس از اتمام فرایند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه (Ct) سنجش بیان متغیرهای موردنظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی صورت گرفت. ΔCt هر نمونه با استفاده از کنترل داخلی (miR-139-5p) و miRNA محاسبه شد (با تفریق Ct ها از کنترل داخلی). سپس $\Delta\Delta Ct$ مربوطه برای هر نمونه با کم کردن ΔCt آن نمونه از میانگین ΔCt گروه کنترل محاسبه شد. در نهایت از رابطه ریاضیاتی برای گزارش تغییرات بیان کمی متغیرها استفاده شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای MicroRNAs مورد بررسی

نام پرایمر	توالی پرایمر از پایگاه miRBase
miR-21	AGCCCCUGCCCACCGCACACUG
miR-221	AGCUACAUGUCUGCUGGGUUUC
miR-222	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU

نحوه حذف کردن RNA از میکروتیوب‌ها و سر سمپلرها

تمامی سرسمپلرها و میکروتیوب‌های مورد استفاده برای استخراج microRNAs به صورت overnight در محلول DEPC با غلظت یک‌دهم درصد قرار داده شد و سپس با استفاده از آون در دمای ۴۵ درجه خشک شد، سپس سمپلرها و میکروتیوب‌ها دو بار منظم اتوکلاو شدند.

روشی آماری

برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. همچنین به منظور بررسی تغییرات درون گروهی از آزمون t وابسته، و برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی و پس از محاسبه تغییرات پیش‌آزمون-پس‌آزمون (محاسبه دلتا) از آزمون t مستقل استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، و سطح معناداری $\alpha \leq 0/05$ استفاده شد.

یافته‌های پژوهش

آزمون کولموگروف-اسمیرنوف نشان داد که داده‌های به‌دست‌آمده برای تمامی متغیرهای مورد اندازه‌گیری در هر دو گروه توزیع طبیعی دارند. ویژگی‌های توصیفی ۴۰ آزمودنی شرکت‌کننده در دو گروه پژوهش (از پیش تا پس‌آزمون) در جدول ۱ خلاصه شده است.

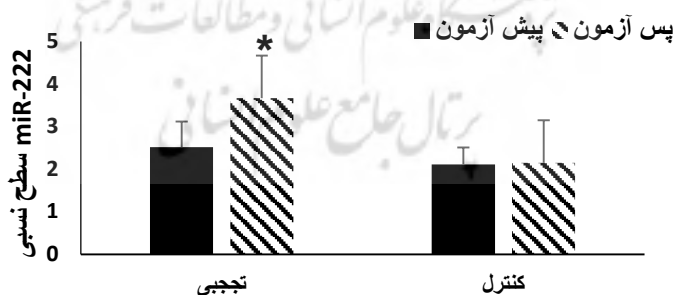
جدول ۳. ویژگی‌های توصیفی آزمودنی‌های شرکت‌کننده در پیش تا پس از هشت هفته مداخله (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد)

گروه تمرین هوازی (n = ۲۰)		گروه کنترل (n = ۲۰)	
پیش‌آزمون	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	پس‌آزمون
سن (سال)	۴۸/۰۱ $\pm$ ۳/۰۱	۵۰/۰۰ $\pm$ ۴/۰۳	
قد (سانتی‌متر)	۱۷۲/۰۵ $\pm$ ۲/۰۵	۱۷۵/۰۵ $\pm$ ۴/۴۴	
وزن (کیلوگرم)	۷۹/۰۶ $\pm$ ۱/۰۳	۷۹/۰۱ $\pm$ ۱/۰۱*	۸۰/۳۸ $\pm$ ۳/۰۷**
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۵/۰۱ $\pm$ ۱/۰۲	۲۴/۹۴ $\pm$ ۱/۰۵*	۲۵/۱۰ $\pm$ ۲/۰۱**

* تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون، ** تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون

جدول ۳ نشان می‌دهد که در گروه تمرین هوازی از پیش به پس‌آزمون وزن بدن ($P = ۰/۰۰۰$) و شاخص توده بدن ($P = ۰/۰۰۱$) به‌طور معناداری کاهش یافت. درحالی‌که وزن بدن ($P = ۰/۰۳۸$) و شاخص توده بدن ($P = ۰/۰۳۷$) در گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافت (جدول ۳).

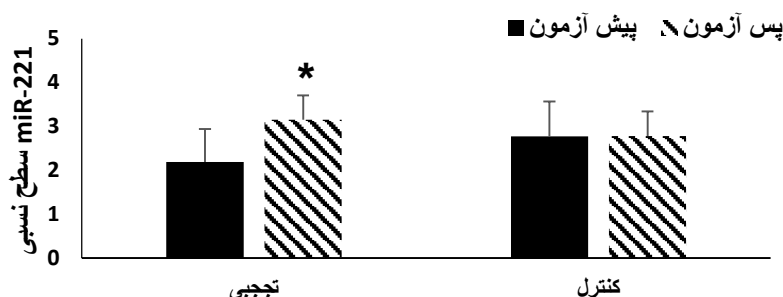
بررسی تغییرات درون‌گروهی (پس از هشت هفته مداخله) نشان داد که افزایش سطوح سرمی miR-222 در مردان مبتلا به دیابت نوع دو گروه هوازی از $۲/۵۲ \pm ۱/۰۶$ میکرولیتر در پیش‌آزمون به $۳/۶۷ \pm ۰/۰۴$ میکرولیتر در پس‌آزمون معنادار بود ($t_9 = ۴/۱۲$; $P = ۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).



نمودار ۱. سطوح سرمی miR-222 آزمودنی‌های دو گروه در پیش و پس از هشت هفته مداخله

* تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون

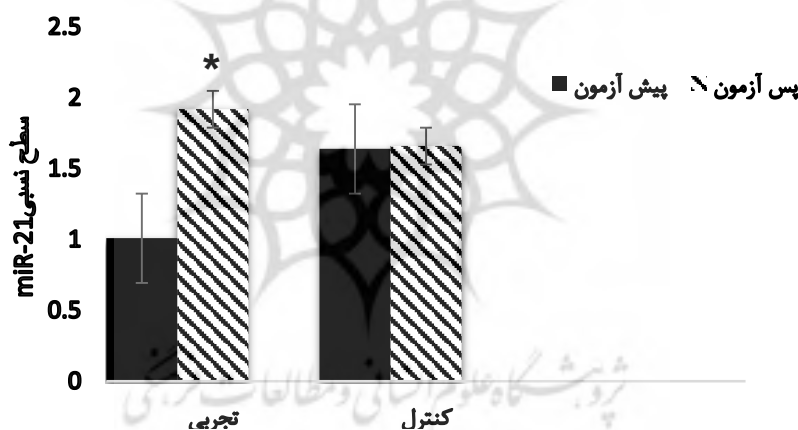
همچنین مقایسه میزان تغییرات پیش‌آزمون و پس‌آزمون miR-221 بین دو گروه کنترل و هوازی، تفاوت معنی‌داری را نشان داد، به گونه‌ای که بررسی تغییرات درون گروهی نشان داد که افزایش سطوح سرمی miR-221 در مردان مبتلا به دیابت نوع دو گروه هوازی از $2/19 \pm 0/754$ میکرولیتر در پیش‌آزمون به $3/15 \pm 0/889$ میکرولیتر در پس‌آزمون رسید ($t_9 = 2/56$; $P = 0/001$).



نمودار ۲. سطوح سرمی miR-221 آزمودنی‌های دو گروه در پیش و پس از هشت هفته مداخله

* تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون

در نهایت، سطوح سرمی miR-21 در مردان مبتلا به دیابت نوع دو گروه هوازی به‌طور معناداری از $1/01 \pm 0/298$ میکرولیتر در پیش‌آزمون به $1/92 \pm 0/755$ میکرولیتر در پس‌آزمون افزایش یافت ($t_9 = -30/23$; $P = 0/002$) (نمودار ۳).



نمودار ۳. سطوح سرمی miR-21 آزمودنی‌های دو گروه در پیش و پس از ۸ هفته مداخله

* تفاوت معنادار نسبت به پیش‌آزمون

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد هشت هفته تمرین هوازی موجب کاهش سطوح miR-21 در افراد مبتلا به دیابت نوع دو شد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های نقی‌زاده و همکاران (۲۰۲۴)، رائد حمید و همکاران (۲۰۲۴) و امانی شلمزاری و همکاران (۲۰۲۰) همخوانی دارد [۱۴-۱۶]. در پژوهش نقی‌زاده و همکاران (۲۰۲۴) مشخص شد که هشت هفته تمرین هوازی به کاهش miR-21 در بافت مغز رت‌ها منجر شده است [۱۴]. رائد حمید و همکاران (۲۰۲۴) نیز کاهش miR-21 را پس از اجرای تمرینات هوازی و مصرف مکمل منیزیم در رت‌های دیابتی مشاهده کردند [۱۵]. در پژوهش امانی شلمزاری و همکاران (۲۰۲۰) نیز مشخص شد که تمرینات هوازی می‌تواند miR-21 را در رت‌های دارای سرطان کاهش دهد [۱۶]. از طرفی، نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق قربان‌زاده و همکاران (۲۰۱۷) و زلفی و

همکاران (۲۰۲۴) همخوانی ندارد [۱۷، ۱۸]. قربانزاده و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که هشت هفته تمرین طولانی اختیاری به همراه مصرف کروکتین موجب افزایش miR-21 در بافت قلب رت‌ها می‌شود. مصرف مکمل و تفاوت در مدت و شدت تمرین هوازی از علل ناهمسویی است [۱۷]. زلفی و همکاران (۲۰۲۴) افزایش miR-21 را پس از اجرای هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در مردان مبتلا به بیماری‌های سندروم متابولیک مشاهده کردند [۱۸]. از علل ناهمسویی شاید بتوان به تفاوت در شدت و پروتکل ورزشی و همچنین تفاوت در نوع بیماری آزمودنی‌ها اشاره کرد.

miR-21 یکی از miRNA های است که در شرایط هیپوکسی تنظیم می‌شود و قادر است HIF-1 α را فعال کند که نقش کلیدی در سازگاری سلول به شرایط کمبود اکسیژن دارد [۱۹]. در تمامی شرایط، HIF-1 α را هدف قرار می‌دهد و سازوکار خود را از طریق این فاکتور اجرا می‌کند. تحقیقات نشان داده‌اند که هر دو نوع تمرین ورزشی تناوبی و مقاومتی موجب افزایش سطح HIF-1 α می‌شوند، حتی زمانی که هیپوکسی وجود ندارد [۲۰]. فعالیت ورزشی از محدود شرایطی است که HIF-1 α را به طور مستقل از هیپوکسی تحریک می‌کند. پس از تولید، HIF-1 α می‌تواند عناصر واکنش‌دهنده به هیپوکسی را که روی ژن‌های هدف در هسته قرار دارند، شناسایی کرده و رونویسی از ژن‌های سازگار با هیپوکسی مانند آنژیوژنز، گلیکولیز، اریتروپوئیتین و بیوستنز کاتکولامین‌ها را آغاز کند [۱۹]. وگت و همکاران (۲۰۰۱)، همچنین miR-21 با هدف قرار دادن HIF-1 α موجب فعال شدن مسیر فسفاتیدیل اینوزیتول تری کیناز (PI3K) از طریق پیام‌دهی پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود، که در نهایت به فعال شدن مسیر پروتئین کیناز (Akt/PKB) می‌انجامد [۲۰]. این مسیر با کاهش فعالیت پروتئین‌های آپوپتوتیک و افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوز، موجب افزایش بقای سلول‌های اندوتلیال می‌شود [۱۹، ۲۱]. در شرایط هیپوکسی، آدنوزین در عضله اسکلتی تجمع می‌یابد و از طریق اتصال به گیرنده خود (A2) موجب افزایش غلظت cAMP می‌شود که این امر به نوبه خود موجب افزایش سطح mRNA پروتئین VEGF می‌شود [۲۰]. miR-21 ژن‌های مختلفی را در بیماری‌های قلبی هدف قرار می‌دهد. اهداف عمده miR-21 عبارت‌اند از PDCCD4، SPRY12 و PTEN که در تأثیرات قلبی-عروقی آن میانجی‌گری می‌کنند. مسیر سیگنالی ERK- MAPK در فیبروبلاست‌های قلبی توسط miR-21 تنظیم می‌شود که تأثیر کلی بر ساختار و عملکرد قلبی دارد. در اختلال قلبی، سطح miR-21 در فیبروبلاست‌های قلبی افزایش می‌یابد که با مهار SPRY1 سبب افزایش فعالیت مسیر سیگنالی ERK- MAPK می‌شود [۸]. در تحقیق حاضر مشخص شد که اجرای هشت هفته تمرین هوازی به کاهش سطح miR-21 نسبت به گروه کنترل منجر شد. به طور کلی miR-21 در رشد طبیعی عضلات درگیر می‌شود و تکثیر و تمایز عضلات قلبی و عضله اسکلتی را به ترتیب به وسیله HADC4 (سرکوب‌کننده تمایز عضلات از طریق سرکوب MEF2) و سرکوب فعالیت سطح پروتئین عامل پاسخ سرمی (SRF) تعدیل می‌کند. miR-21 سبب تکثیر میوبلاست‌ها (حداقل از طریق کاهش سطح SRF که یک تنظیم‌کننده حیاتی برای تمایز عضلانی است) می‌شود [۱۰].

نتایج این تحقیق نشان داد که هشت هفته تمرین هوازی موجب افزایش بیان miR-221 شده است. در این خصوص پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که تمرینات هوازی می‌توانند به افزایش بیان miR-221 منجر شوند. در ادامه، چند تحقیق با نتایج مشابه آورده شده است. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش صادقان و همکاران (۲۰۲۲) و لی و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی دارد [۲۲، ۲۳]. صادقان و همکاران (۲۰۲۲) افزایش miR-221 را پس از اجرای هشت هفته تمرین مقاومتی در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب مشاهده کردند [۲۲]. تحقیق لی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که تمرین هوازی به افزایش سطح miR-221 در پلاسما در افراد چاق منجر می‌شود [۲۳].

¹. Crocetin

اما نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش منداونکا و همکاران (۲۰۲۰) همخوانی ندارد [۲۴]. منداونکا و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که تمرینات هوازی به کاهش سطح miR-221 در موش‌های چاق منجر می‌شود [۲۴]. از علل ناهم‌سویی شاید بتوان به وزن موش‌ها و تفاوت در پروتکل تمرینی اشاره کرد.

تغییرات در miR-221 متعاقب تمرین ورزشی، به‌طور چشمگیری با حداکثر بار کاری و کراتین کیناز مرتبط است. این یافته‌ها مبنایی برای تعریف miRNA ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی و نقش فیزیولوژیکی آنها در سازگاری قلبی-عروقی ناشی از تمرین طولانی‌مدت است. با هدف قرار دادن رونوشت‌های متعدد، miR-221 جنبه‌های متعددی از پاسخ سلولی به هیپوکسی، مانند مهار آپوپتوز، تغییرات از تنفس میتوکندری به گلیکولیز، و القای رگ‌زایی را تنظیم می‌کند. بنابراین تغییرات miR-221 ممکن است منعکس‌کننده یک پاسخ سلولی اولیه به هیپوکسی پس از تمرینات حاد، مانند افزایش آپوپتوزیس سلولی و متابولیسم میتوکندری باشد [۲۲]. علاوه بر این، پاسخ التهابی فرایند دیگری است که با ورزش همراه است. همچنین miR-21 به‌عنوان تعدیل‌کننده‌های حیاتی در پاسخ التهابی شناسایی شده‌اند. می‌توان استدلال کرد که تغییرات سطوح miR-21، miR-221 در این تحقیق ممکن است منعکس‌کننده روند اولیه التهابی باشد که پس از فعالیت هوازی رخ می‌دهد [۲۲].

نتایج نشان داد که هشت هفته تمرین موجب افزایش miR-222 در مردان مبتلا به دیابت نوع دو شد. از پژوهش‌های همسو می‌توان به پژوهش صادقیان و همکاران (۲۰۲۲)، اشمیتز و همکاران (۲۰۱۸) و میرزایی و همکاران (۱۴۰۲) اشاره کرد [۲۴-۲۲]. صادقیان و همکاران (۲۰۲۲) افزایش miR-222 را پس از اجرای هشت هفته تمرین مقاومتی در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب مشاهده کردند [۲۲]. اشمیتز و همکاران (۲۰۱۸) نیز پس از اجرای هشت هفته تمرین تناوبی، افزایش miR-222 را در قلب رت‌ها مشاهده کردند [۲۵]. میرزایی و همکاران (۱۴۰۲) افزایش معنادار miR-222 را پس از اجرای شش هفته تمرین هوازی-مقاومتی در رت‌های نر جوان مشاهده کردند [۲۶].

MicroRNA های ۲۲۱ و ۲۲۲ در آسیب و زیست‌شناسی عروق نقش مهمی دارند. در رده‌های مختلف سلول‌های عضلانی MicroRNA های ۲۲۱ و ۲۲۲، فرایندهای بازساختی را از طریق هدف قرار دادن تنظیم‌کننده‌های مهم چرخه سلولی از جمله P27 و P57 درگیر در افزایش بیان پروتئین‌های انقباضی فعال می‌کنند. آخرین MicroRNA متأثر از نوع تمرین let-7d است که در گونه‌های مختلف موجودات حفظ شده است و در فرایندهای تکوینی نقش اساسی بر عهده دارد [۲۷]. به‌نظر می‌رسد که این MicroRNA از طریق هدف قرار دادن گیرنده انسولین (INSR) و سوبسترای ۲ گیرنده انسولین (IRS-2) مربوط به سلول‌های عضلانی در تنظیم متابولیسم گلوکز نقش ایفا می‌کند [۲۷]. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که MicroRNA های ۲۲۱ و ۲۲۲ سه هدف اصلی دارند که عبارت‌اند از P27 و P57 و let-7a، این سه پروتئین نقش اساسی در بیماری‌ها دارند. پروتئین P27 یکی از شناخته‌شده‌ترین پروتئین‌های مرتبط با چرخه سلولی است که در هیستولوژی تشخیص استفاده می‌شود. P27 یک مهارکننده چرخه Cyclin dependent kinase است که حرکت چرخه سلولی را از مرحله G1 به S به‌وسیله باند به CyclinDCDK1 و CyclinE-CDK2 مهار می‌کند. کاهش سطح بیان پروتئین P27 در بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت نوع دو، سرطان پستان، سرطان پروستات، ریه و مری گزارش شده است [۲۸].

علاوه بر این، همبستگی قوی بین miR-222 و miR-21 وجود دارد. افراد با آمادگی هوازی پایین دارای سطوح گردش خون بالاتری از miR-222 و miR-21 هستند. بنابراین شاید بتوان طولانی بودن مدت پژوهش را از دلایل بروز تغییرات در سطوح miR-222 و miR-21 دانست. به‌نظر می‌رسد بیان این miRNA و تأثیرات مفید/مضر آن به نوع، شدت و مدت ورزش بستگی دارد [۲۹].

افزایش حاد در سطوح miR-222 در گردش به تغییرات فیزیولوژیکی به طور خاص مرتبط با فعالیت ورزشی هوازی بستگی دارد. از این نظر، استرس هیپوکسیک در طول فعالیت ورزشی هوازی موجب افزایش سطح miR-222 سلولی می شود. علاوه بر این، miR-222 یکی از فراوان ترین miRNAها در اگزوزوم های آزاد شده از کاردیومیوسیت های ایسکمیک است [۳۰]. علاوه بر سیگنال دهی هیپوکسیک، تنش برشی ممکن است یک محرک فیزیولوژیکی مهم در طول فعالیت ورزشی هوازی باشد، زیرا miR-29c به عنوان miRNA بالا تنظیم شده در سلول های اندوتلیال ناف انسانی (HUVECs) تحت تنش برشی در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است. با این حال، سازوکارهای دقیق انتشار miRNA انتخاب شده در جریان خون و غلظت اگزوزومی هدایت شده miRNA ها به ویژه در پاسخ به ورزش تا حد زیادی ناشناخته است [۲۵].

به نظر می رسد که پاسخ miR-21، miR-222 و miR-221 به فعالیت ورزشی بتواند شاخص زیستی مناسبی برای ارزیابی میزان سطح سلامتی افراد دیابتی باشد. با توجه به نتایج متناقض تحقیقات، هنوز شدت و مدت مناسب ورزشی برای این بیماران در هاله ای از ابهام است. بنابراین برای تعیین میزان دقیق رابطه و تأثیر انواع مختلف تمرین های ورزشی بر این شاخص ها به انجام تحقیقات بیشتری نیاز است. از محدودیت های پژوهش حاضر می توان به عدم کنترل دقیق رژیم غذایی و کالری دریافتی شرکت کنندگان، عدم کنترل عوامل روانی و استرسی و نیز عدم اطمینان از میزان پایداری دقیق افراد به داروهای خود در طول تحقیق اشاره کرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان بدین وسیله مراتب قدردانی خود را از همه عزیزانی که در انجام این تحقیق همکاری داشتند، به عمل می آورند.

References

- [1]. Lamia M, Rahman S, Ali Asghar R, Morteza Jourkesh. The Combined Effect of High-Intensity Interval Training and Soy Isoflavone Diet on MicroRNA-133 Gene in Ovariectomized Rats. DOI: 10.5812/jkums-122938
- [2]. Kordi N, Shafiee N, Mirzaei S, Minavand k, Heidari N. The Effect of Continuous and Interval Cardiac Rehabilitation Exercise Training on Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- α), Interleukin 1 Beta (IL-1 β), and Interleukin 6 (IL-6) in Patients with Coronary Artery Bypass Graft. Journal of Isfahan Medical School. 2018;36(486):737-42. DOI: 10.22122/jims. v36i486.10019 (In Persian)
- [3]. Kordi N, Pakzad Hasanlu F, Arab Taheri Z. Effect of eight-week aerobic and periodic exercises on IGF-1 and lipid profile in elderly men. Journal of Caspian Health and Aging. 2018;3(2):7-13. DOI: 10.22088/cjhaa.3.2.7 (In Persian)
- [4]. Shafiee N, Kordi N, Gadrani K, Saleh Fard Z, Jung F, Heidari N. Cardiac rehabilitation in coronary artery bypass grafting patients: Effect of eight weeks of moderate-intensity continuous training versus high-intensity interval training. Clinical hemorheology and microcirculation. 2023;83(3):305-14. DOI:10.3233/CH-221605. PMID: 36683497
- [5]. Fernandes T, Baraúna VG, Negrão CE, Phillips MI, Oliveira EM. Aerobic exercise training promotes physiological cardiac remodeling involving a set of microRNAs. American journal of physiology Heart and circulatory physiology. 2015;309(4):H543-52. DOI: 10.1152/ajpheart 00899.

- [6]. Kordi N, Azizi M, Samadi M, Tahmasebi W. Can Methamphetamine-Induced Cardiotoxicity be Ameliorated by Aerobic Training and Nutrition Bio-shield Superfood Supplementation in Rats After Withdrawal? *Cardiovascular toxicology*. 2024;24(7):687-99. DOI: 10.1007/s12012-024-09871-4.
- [7]. Kordi N, Saydi A, Karami S, Marzetti E, Wong A. Aerobic exercise impacts the expression of pro- and anti-apoptotic genes in rat myocardium during treatment and after methamphetamine withdrawal. *Comparative Exercise Physiology*. 2025;1-10. DOI: 10.1163/17552559-bja10052
- [8]. Cheng Y, Zhang C. MicroRNA-21 in cardiovascular disease. *Journal of cardiovascular translational research*. 2010;3(3):251-5. DOI: 10.1007/s12265-010-9169-7
- [9]. Sekar D, Venugopal B, Sekar P, Ramalingam K. Role of microRNA 21 in diabetes and associated/related diseases. *Gene*. 2016;582(1):14-8. doi: 10.1016/j.gene.2016.01.039.
- [10]. Vakili J, Ghalehghir S, Khani M, Alamdari K, Sbu J. The effect of eight weeks high intensity interval training on the expression of cardiac miRNA-21 and miRNA-1 in wistar male rats. *Journal of Sport and Exercise Physiology*. 2022;15:82-92. DOI: 10.52547/joeppa.15.4.82 (In Persian)
- [11]. Improta Caria AC, Nonaka CKV, Pereira CS, Soares MBP, Macambira SG, Souza BSF. Exercise Training-Induced Changes in MicroRNAs: Beneficial Regulatory Effects in Hypertension, Type 2 Diabetes, and Obesity. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(11). DOI: 10.3390/ijms19113608
- [12]. Akbari J, Shirvani H, Shamsoddini A, Bazgir B, Samadi M. Investigation of expression of myocardial miR-126, miR-29a and miR-222 as a potential marker in STZ- induced diabetic rats following interval and continuous exercise training. *Journal of diabetes and metabolic disorders*. 2022;21(1):189-95. DOI: 10.1007/s40200-021-00957-2.
- [13]. Attarzadeh Hosseini SR, Mir E, Hejazi K, Mir Sayeedi M. The Effect of eight weeks combined training on some insulin resistance markers in middle-aged men. *Medical Journal of Mashhad university of Medical Sciences*. 2015;58(3):129-36. DOI: 10.22038/mjms.2015.4521 (In Persian)
- [14]. Naghizadeh N, Riyahi Malayeri S, Roozbahani M, Khademi A, Shirvani H. The Effectiveness of Endurance Training and Nano Curcumin Supplementation on the Expression of Mir-21 and P53 Genes in Brain Tumor Tissue in an Animal Model of Glioblastoma Multiform. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*. 2024;12(1):26-35. DOI: 10.22038/jnfh.2023.73964.1455
- [15]. Hamid RR, Hoseini R, Rahim HA. Impact of Combined Aerobic Training and Magnesium Supplementation on Serum Biomarkers and microRNA-155 and microRNA-21 Expression in Adipose Tissue of Type 2 Diabetic Rats: An Eight-Week Interventional Study. *Biological trace element research*. 2025;203(2):861-71. DOI: 10.1007/s12011-024-04186-5.
- [16]. Amani-Shalamzari S, Agha Alinejad H, Shahbazi S, Alizadeh S. The Effect of endurance training on expression of miR-21 and its downstream in breast cancer bearing mice. *Journal of Basic Research in Medical Sciences*. 2020;7(2):47-57. DOI:10.7(2):47-57. URL
- [17]. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Dariushnejad H, Abhari A, Chodari L, Mohaddes G. Cardioprotective Effect of Crocin Combined with Voluntary Exercise in Rat: Role of Mir-126 and Mir-210 in Heart Angiogenesis. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2017;109(1):54-62. DOI: 10.5935/abc.20170087
- [18]. Zolfi HR, Shakib A, Niknam Z, pashaei z. Impact of high-intensity interval training on Mir-21 and Mir-122 expression and metabolic parameters in middle-aged men with metabolic syndrome. *Jorjani*

- Biomedicine Journal. 2023;11(3):25-9.doi: 10.61186/jorjanibiomedj.11.3.25
- [19]. Choudhry H, Harris AL. Advances in Hypoxia-Inducible Factor Biology. Cell metabolism. 2018;27(2):281-98. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.10.005
- [20]. Vogt M, Puntschart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H. Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985). 2001;91(1):173-82. DOI: 10.1152/jappl.2001.91.1.173
- [21]. Akraminia P, KheirAndish R, Kordi N, Saydi A. Which one of the types of programmed cell death is reduced by aerobic exercise? Journal of Exercise & Organ Cross Talk. 2024;4(3):207-27. DOI: 10.22122/jeoct.2024.489986.1132
- [22]. Sadeghian H, Siahkohian M, Akbarpour Beni M, Bolboli L. Effects of 8 Weeks Resistance Training on the Expression of MicroRNAs Associated With Adipose Tissue Angiogenesis in Rats on a High-Fat Diet. Journal of Vessels and Circulation. 2022;3(1):17-26. DOI: 10.52547/joeppa.15.4.42
- [23]. Li Y, Yao M, Zhou Q, Cheng Y, Che L, Xu J, et al. Dynamic Regulation of Circulating microRNAs During Acute Exercise and Long-Term Exercise Training in Basketball Athletes. Frontiers in physiology. 2018;9:282. DOI:10.3389/fphys.2018.00282
- [24]. De Mendonça M, de Sousa É, da Paixão AO, Araújo Dos Santos B, Roveratti Spagnol A, Murata GM, et al. MicroRNA miR-222 mediates pioglitazone beneficial effects on skeletal muscle of diet-induced obese mice. Molecular and cellular endocrinology. 2020;501:110661. DOI: 10.1016/j.mce.2019.110661
- [25]. Schmitz B, Rolfes F, Schelleckes K, Mewes M, Thorwesten L, Krüger M, et al. Longer Work/Rest Intervals During High-Intensity Interval Training (HIIT) Lead to Elevated Levels of miR-222 and miR-29c. Frontiers in physiology. 2018;9:395. DOI: 10.3389/fphys.2018.00395
- [26]. Mirzaei B, Shahsavary A, Fadaei Chafy MR, Rajabi S. The effect of Aerobic-Resistance Training on the Expression of miR-222 and cTnT, Cx43, Ki67 Genes, and Cardiomyocyte Proliferation in Pre-Pubertal, Young, and Old Male Rats. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2024;33(229):1-13. J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (229): 1-13. DOI: (In Persian)
- [27]. Kumar S, Li L, Gupta S. MicroRNA modulation in metabolic syndrome: A novel insight into cardiometabolic diseases. 2024. p. 555-74. DOI:10.1016/B978-0-323-85732-1.00010-4
- [28]. Gulde S, Pellegata NS. Chapter 8 - CDKN1B (p27) defects leading to pituitary tumors. In: Stratakis CA, editor. Gigantism and Acromegaly: Academic Press; 2021. p. 157-72. DOI: 10.1016/B978-0-12-814537-1.00006-3
- [29]. Horak M, Zlamal F, Iliev R, Kucera J, Cacek J, Svobodova L, et al. Exercise-induced circulating microRNA changes in athletes in various training scenarios. PloS one. 2018;13(1):e0191060. DOI: 10.1371/journal.pone.0191060
- [30]. Knyrim M, Rabe S, Grossmann C, Gekle M, Schreier B. Influence of miR-221/222 on cardiomyocyte calcium handling and function. Cell & Bioscience. 2021;11(1):160. DOI: 10.1186/s13578-021-00676-4