

The effect of eight weeks high intensity intermittent training (HIIT) on the expression of miRNA-1 and miRNA-21 in sedentary adolescent boys

Ramin Amirsasan^{1*}, Mostafa Armanfar¹, Javad Hesari²

¹Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: amirsasan@tabrizu.ac.ir

Received: 12 July 2017 Accepted: 3 September 2017 First Published online: 4 July 2019

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 August- September; 41(3):16-23

Abstract

Background: The microRNA (miRNA) is a new class of biomarkers that are involved in many biological processes and gene expression. The present study examined the effect of eight weeks of high intensity intermittent training (HIIT) on the levels of miRNA-1 and miRNA-21 in adolescent boys.

Methods: In this experimental study, 22 adolescent boys in a randomly were allocated in two equal groups: HIIT group and control group. Training programs were conducted 3-4 times per week for 8 weeks. The HIIT program consisted of 6-8 running sprints (30-60 seconds) with a 3.5-4 min recovery. Mentioned indicators assessments were performed 18-24 hours pre and post intervention.

Results: The miRNA-1 was significantly higher after 8 week HIIT than they were pre-exercise training (pre-HIIT vs. post-HIIT) ($P < 0.05$). However, miRNA-21 was significantly lower after the training period ($P < 0.05$).

Conclusion: The miRNA-1 and miRNA-21 can be used as an indicator to assess the adaptations associated with exercise training.

Keyword: High Intensity Intermittent Training, Mirna-1, Mirna-21, Adolescent Boys.

How to cite this article: Amirsasan R, Armanfar M, Hesari J. [The effect of eight weeks high intensity intermittent training (HIIT) on the expression of miRNA-1 and miRNA-21 in sedentary adolescent boys]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2019 August- September; 41(3):16-23. Persian.

مقاله پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر بیان *miRNA-1* و *miRNA-21* پسران نوجوان غیر فعالرامین امیرساسان^{۱*}، مصطفی آرمان فر^۱، جواد حصار^۲

^۱گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۲گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
 *نویسنده مسئول: ایمیل amirsasan@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۶/۴/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۲ انتشار برخط: ۱۳۹۸/۴/۱۳
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۸؛ ۴۱(۳): ۱۶-۲۳

چکیده

زمینه: microRNA (miRNA) دسته جدیدی از شاخص‌های زیستی هستند که در بسیاری از فرآیندهای زیستی و بیان ژن درگیر هستند. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (High Intensity Intermittent Training, HIIT) بر غلظت *miRNA-1* و *miRNA-21* پسران نوجوان انجام شد.
روش کار: در این مطالعه نیمه تجربی، ۲۲ پسر نوجوان (۱۷-۱۵ ساله) انتخاب و پس از همگن‌سازی بر اساس سن، برخی شاخص‌های پیکرشناختی و میزان آمادگی هوازی به صورت تصادفی در دو گروه کنترل و تمرین جایگزین شدند. سپس، هشت هفته (هر هفته ۳-۴ جلسه) تمرین HIIT را اجرا کردند که هر جلسه تمرین شامل ۸-۶ تکرار دویدن ۶۰-۳۰ ثانیه‌ای با شدت تمام و ۴-۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار بود. در نهایت، مقادیر هر یک از شاخص‌های فوق‌الذکر، ۲۴-۱۸ ساعت قبل و بعد از مداخله تمرینی اندازه‌گیری شد.
یافته‌ها: پس از هشت هفته تمرین HIIT، غلظت پایه *miRNA-1* نسبت به دوره پیش از تمرین افزایش یافت ($P < 0.05$)، در حالی که غلظت *miRNA-21* کاهش یافت ($P < 0.05$).
نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد استفاده از تغییرات *miRNA-1* و *miRNA-21* ممکن است شاخص مناسبی برای ارزیابی سازگاری‌های مرتبط با تمرینات ورزشی باشد.

کلید واژه‌ها: تمرینات تناوبی شدید، *miRNA-1*، *miRNA-21*، پسران نوجوان.

نحوه استناد به این مقاله: امیرساسان ر، آرمان فر م، حصار ج. تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر بیان *miRNA-1* و *miRNA-21* پسران نوجوان غیر فعال. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تبریز. ۱۳۹۸؛ ۴۱(۳): ۱۶-۲۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

سوخت و ساز کربوهیدرات و چربی عضلات اسکلتی در مقایسه با تمرینات استقامتی تداومی سستی خواهد شد (۴). استفاده از برنامه‌های تمرینی کوتاه مدت که بتواند سازگاری‌های عملکردی مطلوب را در کوتاه‌ترین زمان ممکن به وجود آورد از اهمیت بسیاری برخوردار است. با این حال، در مقایسه با حجم گسترده مطالعاتی که سازگاری‌های فیزیولوژیکی به تمرینات استقامتی را در افراد غیر ورزشکار و ورزشکار شرح داده‌اند، مطالعات نسبتاً اندکی، پاسخ‌های عملکردی و فیزیولوژیکی به تمرینات HIIT را بررسی کرده‌اند. علاوه بر تلاش محققان برای استفاده از روش‌های تمرینی دارای کارایی بالاتر، آنها به دنبال دستیابی به شاخص‌ها و روش‌های نوینی برای ارزیابی مناسب سازگاری با تمرینات ورزشی هستند (۵). در این راستا، microRNA ها یا به اختصار miRNA ها مولکول‌های RNA کوتاهی با طول ۱۹ تا ۲۳ نوکلئوتید هستند که از طریق کنترل بیان ژن‌های مختلف به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی گستره وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی شامل تکامل اولیه سلولی، تمایز سلولی، تکثیر و آپوپتوز عمل می‌کنند. بنابراین تغییر بیان miRNA ها نقش مهمی را در فرآیندهای فیزیولوژیکی و سوخت و ساز مختلف از جمله بسیاری از سازگاری‌ها با تمرینات ورزشی و بیماری‌های مختلف (از جمله سرطان) ایفا می‌کند. از این رو مطالعات بسیاری در جهت بررسی بیولوژی و عملکرد این دسته از RNAها انجام شده است. همین‌طور تلاش‌های چشم‌گیری به منظور توسعه روش‌های تشخیص و سنجش آنها صورت گرفته است (۶). میزان جفت شدن miRNA با هدفش عامل اصلی در تشخیص ساز و کار کنش متقابل بین mRNA-miRNA است. در صورتی که mRNA هدف تقریباً به صورت کامل با miRNA جفت شود، شکسته و تجزیه می‌شود در غیر این صورت از ترجمه آن جلوگیری می‌شود. miRNA اصولاً از ناحیه 3'-UTR به ژن هدف متصل می‌شود، با این حال بررسی‌ها نشان داده است که miRNA ها می‌توانند به 5'-UTR و توالی‌های کد کننده نیز متصل شوند اما اطلاعات کمی در این زمینه در دسترس است. بنابراین یک miRNA ممکن است صدها miRNA را تنظیم کند و در نتیجه شبکه‌هایی از بیان ژن را تحت تاثیر قرار دهد. آن چه واضح است این است که بیولوژی miRNA بسیار پیچیده و در عین حال سازمان یافته در جهت تنظیم بیان شبکه‌های ژنی مختلف است. miRNA ها نقش مهمی را در همه فرآیندهای زیستی شامل تعیین سرنوشت سلولی، تکثیر و مرگ سلولی، ایفا می‌کنند. علاوه بر این فرآیندهای ضروری، miRNA ها در فعالیتهای سلولی مختلف مانند پاسخ ایمنی، ترشح انسولین، سنتز میانجی‌های عصبی و ریتم شبانه‌روزی نقش دارند. miRNA ها همچنین می‌توانند مسیرهای انکوژنی یا سرکوبگر تومورها را کنترل کنند. این مسئله در حالی

تمرین تناوبی شدید (HIIT) از روش‌های جدید تمرینات ورزشی است که در سال‌های اخیر مورد توجه ورزشکاران، مربیان و پژوهشگران علوم ورزشی قرار گرفته است. اگرچه تعریفی از HIIT (که مورد توافق تمام محققان باشد) وجود ندارد، معمولاً تمرینات HIIT به جلسات تکراری نسبتاً کوتاه و متناوب تمرینی گفته می‌شود که اغلب با حداکثر تلاش و توان بدنی انجام می‌شود و یا در شدتی نزدیک به شدت اکسیژن مصرفی بیشینه (VO_{2max}) انجام می‌شود (یعنی در حدود بیشتر از ۹۰ درصد VO_{2max}) (۱). بسته به شدت فعالیت ورزشی، یک وهله تلاش و فعالیت ممکن است چند ثانیه تا چند دقیقه طول بکشد، که وهله‌های فعالیت با استفاده از چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت پایین از یکدیگر جدا می‌شوند (۲). HIIT در وهله‌های تکراری کوتاه مدت تا متوسط فعالیت (۱۰ ثانیه تا ۵ دقیقه) با شدتی بالاتر از آستانه بی‌هوازی و لاکتات اجرا می‌شود که با دوره‌های استراحت فعال کم شدت یا غیر فعال از یکدیگر جدا می‌شود تا بازگشت به حالت اولیه نسبی را فراهم سازد. بهینه‌سازی HIIT به بهینه‌کردن شدت، مدت، تعداد وهله‌های تمرینی، به علاوه شکل فعال یا غیر فعال و مدت استراحت بین وهله‌های تمرینی باز می‌گردد. در پژوهش‌های مختلف، تاثیر تمرینات HIIT بر دامنه وسیعی از متغیرهای عملکردی از جمله VO_{2max} (۲)، آستانه بی‌هوازی، آستانه لاکتات (LT)، آستانه تهویه‌ای (VT) و اولین نقطه تجمع لاکتات در خون (OBLA) در مقایسه با سایر اشکال تمرینی مورد ارزیابی قرار گرفته است. برای مثال، در پژوهشی Burgomaster و همکاران (۲۰۰۵)، نشان دادند که شش جلسه تمرین تناوبی سرعتی (آزمون وینگیت ۳۰ ثانیه‌ای با ۴ دقیقه استراحت بین هر وهله آزمون) به مدت دو هفته، موجب افزایش فعالیت سیرتات سنتاز و ظرفیت استقامتی طی دوچرخه‌سواری در حدود ۸۰ درصد VO_{2max} شده است (۳). همچنین، نتایج مطالعات انجام شده، نشان می‌دهد که انجام تمرینات HIIT برای مدت زمان طولانی‌تر می‌تواند باعث بهبود عملکرد، به همراه تغییر قابل توجه برخی متغیرهای فیزیولوژیکی از قبیل LT، VT2، VT1 و VO_{2max} گردد (۱). Gibala و همکاران، با مقایسه تاثیر شش جلسه HIIT (۶-۴×۳۰ ثانیه در ۲۵۰ درصد VO_{2peak} ؛ ۴۰ دقیقه استراحت بین هر وهله تمرینی) و تمرین استقامتی تداومی (۱۲۰-۹۰ دقیقه دویدن در ۶۵ درصد VO_{2max}) در دو گروه از مردان فعال گزارش کردند که زمان اجرای تایم تریل دوچرخه سواری در هر دو گروه کاهش یافت. همچنین، نمونه‌برداری عضلانی افزایش در ظرفیت اکسایشی عضلانی را نشان داد. افزایش در ظرفیت بافیری عضلانی و ظرفیت گلیکوژنی بین دو گروه مشابه بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با وجود اختلاف در حجم تمرین برای دو گروه، تمرینات تناوبی سرعتی باعث سازگاری‌های سریع‌تری در برخی اجزای

باشد. با این حال تاکنون مطالعه‌ای در این رابطه صورت نگرفته است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر غلظت *miRNA-1* و *miRNA-21* پسران نوجوان غیرفعال صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

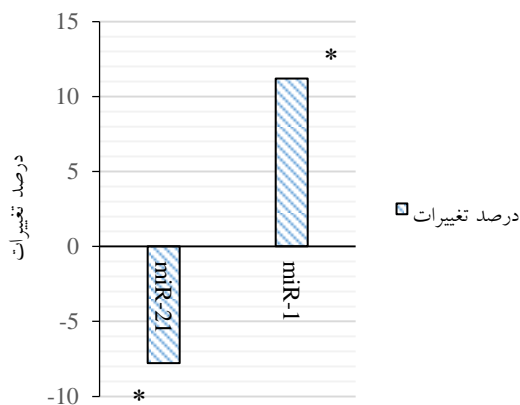
در مطالعه حاضر از میان دانش‌آموزان پسر نوجوان شهر خرم‌آباد، پس از شرح کامل موضوع، اهداف و روش تحقیق و پرسش و پاسخ‌های متعدد، با در نظر گرفتن معیارهای سن و شاخص‌های پیکرسنجی شامل قد، وزن و درصد چربی انتخاب شدند. حجم نمونه مناسب بر اساس مطالعات قبلی، در سطح معنی داری (آلفا یا خطای نوع اول) پنج درصد و توان (بتا یا خطای نوع دوم) تعیین شد. سپس تعداد ۲۲ نوجوان غیرفعال سالم و واجد شرایط با در نظر گرفتن امکان انصراف داوطلبین پس از تکمیل فرم رضایت آگاهانه توسط والدین و پرسشنامه سلامتی به عنوان آزمودنی در نظر گرفته شدند. سپس، با حضور در محل آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی شاخص‌های قد، وزن و درصد چربی آزمودنی‌ها اندازه‌گیری شد. پیش از شروع تمرینات توصیه‌هایی در مورد متعادل بودن وعده‌های غذایی و خواب شبانه کافی (۸-۹ ساعت) به آزمودنی‌ها و والدین‌شان داده شد. در ادامه آزمودنی‌ها به صورت تصادفی و بر اساس غلظت *IGF-I* و VO_{2max} و توان بی‌هوازی اوج در دو گروه همسان ۱۱ نفره تمرین HIIT و کنترل (بدون فعالیت) جایگزین شدند. همه این افراد با هدف آشناسازی و افزایش آمادگی اولیه در یک برنامه تمرین تداومی هوازی (با شدت ۶۰-۶۵ درصد ضربان قلب ذخیره به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه، ۳ جلسه در هفته) به مدت دو هفته شرکت کردند. سپس آزمودنی‌ها در یک برنامه هشت هفته‌ای (هر هفته شامل ۳-۴ جلسه تمرین) تمرین HIIT شرکت کردند. هر جلسه برنامه تمرین تناوبی بی‌هوازی شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن (شامل حرکات کششی، درجا زدن و حرکات جنبشی)، ۸-۶ تکرار دویدن ۶۰-۳۰ ثانیه‌ای با شدت تمام و ۴-۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار) و بخش بازگشت به حالت اولیه بود. در اولین هفته برنامه تمرینی تناوبی شدید، آزمودنی‌ها شش مرتبه و هر مرتبه به مدت ۳۰ ثانیه با تمام توان می‌دویدند. پس از چهار هفته به تدریج مدت زمان دویدن به ۴۵ ثانیه و در نهایت در دو هفته نهایی تمرینات به ۶ تا ۸ تکرار ۶۰ ثانیه‌ای تبدیل گردید. طی هر جلسه تمرینی ابتدا ۳-۴ تکرار دویدن با تمام توان با ۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار اجرا شد و سپس آزمودنی‌های نوجوان ۵ دقیقه استراحت داشته و ۳-۴ تکرار دویدن بعدی را اجرا نمودند (۱۴). رژیم غذایی روزانه آزمودنی‌ها طی دوره تحقیق (با استفاده از پرسشنامه‌ی یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته) کنترل شد. همه آزمودنی‌های در حین تمرینات بدنی هیچ محدودیتی در رابطه با دسترسی و نوشیدن آب نداشتند. خون‌گیری

است که خود *miRNA* ها می‌توانند به وسیله آنکوژن‌ها یا سرکوئیک‌های تومور تنظیم شوند (۷). در راستای بررسی پاسخ و سازگاری این شاخص با تمرینات ورزشی، چندین مطالعه تأثیر تمرینات ورزشی بر پاسخ و سازگاری *miRNA* را بررسی و نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند (۸، ۹). *miRNA-1* یکی از اصلی‌ترین *miRNA* هایی است که در مطالعات متعددی به عنوان شاخص ارزیابی سازگاری با تمرینات ورزشی و بررسی پاسخ‌های زیستی به تمرینات ورزشی مورد ارزیابی قرار گرفته است. به عنوان مثال، McCarthy و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که در اثر یک دوره اضافه‌بار عملکردی میزان بیان *miRNA-1* به طور معنی‌داری در عضلات نعلی و پلاتناریس کاهش می‌یابد (۱۰). با این حال، Drummond و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که میزان بیان *miRNA-1* تقریباً ۳-۶ ساعت پس از فعالیت ورزشی در نمونه‌های انسانی جوان کاهش می‌یابد، اما در نمونه‌های مسن تغییر معنی‌داری ندارد، هرچند علاوه بر متغیر مستقل فعالیت بدنی در این تحقیق مصرف اسیدهای آمینه شاخه دار نیز تجویز شد (۱۱). در پژوهش دیگری گزارش شد که یک جلسه فعالیت ورزشی استقامتی باعث افزایش معنی‌دار بیان *miRNA-1* در عضلات فعال می‌شود (۱۲). Nielsen در نمونه‌های انسانی مشاهده کرد که بیان *miRNA-1* در بلافاصله و ۲۴۰ دقیقه پس از یک جلسه تمرین استقامتی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد اما در ۶۰ دقیقه بعد از تمرین به میزان معنی‌داری افزایش می‌یابد، در حالی که بعد از ۱۲ هفته تمرین استقامتی این روند مقداری متفاوت بود به این صورت که میزان بیان *miRNA-1* در همان زمان‌های ذکر شده، تحت تأثیر همان جلسه حاد استقامتی قرار نمی‌گیرد (۱۳). همچنین، *miRNA-21* یکی دیگر از اجزای این گروه از متغیرها است به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. *miRNA-21* باعث تحریک تکثیر و تهاجم سلولی شده و Apoptosis سلولی را مهار می‌کند. بنابراین این مولکول به عنوان یک Oncomir شناخته می‌شود. همچنین افزایش این *miRNA* باعث کاهش بیان پروتئین‌های بازدارنده تومور و افزایش بیان پروتئین‌های آنکوژن می‌شود. با توجه به افزایش بیان این آنکوژم در بافت‌های سرطانی می‌توان از آن برای تشخیص به موقع و پیشگیری از متاستاز بهره برد و چون این *miRNA* بر سلول‌های تومور اثر گذاشته و خاصیت آنکوژنی و ضد آپوپتوزی دارد باعث اختلال در مسیر آپوپتوز می‌گردد که به نفع بقای سلول سرطانی می‌باشد. نقش ضد آپوپتوزی این بیومارکر تا حدی نامشخص باقی مانده است؛ با این وجود، با توجه به اطلاعات فوق تحقیقات روی آن می‌تواند چشم‌اندازی در تشخیص مراحل اولیه و درمان سرطان باشد (۷). همچنین، باید خاطر نشان شود که تأثیر تمرینات HIIT در دوره نوجوانی و پیش از بلوغ ممکن است اثرات مهمی بر سطح سلامتی و دستیابی به سقف تعیین شده توسط عوامل ژنتیکی داشته

شاپیرو بررسی و پس از تایید طبیعی بودن توزیع داده‌ها تفاوت‌های درون گروهی و بین گروهی با استفاده از آزمون‌های پارامتریک مورد ارزیابی قرار گرفت. در جدول شماره ۱ مشخصات پیکرشناختی آزمودنی‌ها ارائه شده است. به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت بین میانگین و دامنه تغییرات miRNA-1 و miRNA-21 قبل و بعد از هشت هفته تمرین HIIT معنی‌دار بوده است. همچنین، بیان miRNA-21 به طور معنی‌داری کاهش یافته است، در حالی که miRNA-1 به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0.05$) (نمودار ۱). میانگین و دامنه تغییرات miRNA-1 و miRNA-21 گروه کنترل و HIIT تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما پس از هشت هفته تفاوت بین گروه HIIT و کنترل دامنه تغییرات miRNA-1 و miRNA-21 معنی‌دار بود.

جدول شماره ۱: مشخصات آنتروپومتریک و فیزیولوژیک آزمودنی‌ها (هر گروه ۱۱ نفر)

شاخص‌ها	میانگین	انحراف استاندارد
سن (سال)	۱۵/۶	۰/۶
وزن (کیلوگرم)	۶۲/۷	۱۵/۱
قد (سانتی‌متر)	۱۶۹	۳/۹
درصد چربی (%)	۱۷/۹	۳/۳



نمودار ۱: تغییرات بیان miRNA-21 و miRNA-1 قبل و بعد از تمرینات HIIT * معنی‌داری درون گروهی در سطح $P < 0.05$.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت بین میانگین و دامنه تغییرات غلظت miRNA-1 و miRNA-21 قبل و بعد از هشت هفته تمرین HIIT معنی‌دار بوده و غلظت مقادیر پایه سرمی miRNA-21 به طور معنی‌داری کاهش و غلظت miRNA-1 به طرز معنی‌داری افزایش یافته است. از اینرو، می‌توان ابراز داشت که هشت هفته تمرین تناوبی شدید موجب کاهش معنی‌دار miRNA-21 سرمی پسران نوجوان گردیده است. برخی مطالعات افزایش غلظت miRNA-21 را پس از یک وهله فعالیت ورزشی مختلف

۲۴-۱۸ ساعت قبل از اولین و آخرین جلسه تمرینی (ساعت ۹-۸ صبح روز بعد) انجام شد. نمونه‌گیری‌ها به مقدار ۴-۳ میلی‌لیتر خون از ورید آنته کوربیتال (بدون افزودن ماده ضد انعقاد جهت جداسازی سرم) انجام شد. تمام نمونه‌های خونی بعد از لخته شدن در دمای محیط، برای جداسازی سرم در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند. نمونه‌های سرمی تا زمان اندازه‌گیری غلظت miRNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج RNA از نمونه‌های خونی، به ۶۰ میلی‌لیتر از نمونه داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد سپس ۰/۲ میلی‌لیتر به آن کلروفرم اضافه شد و حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAasefree انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول اضافه شد و بعد از هم زدن در دمای ۲۰- باقی ماندند. روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند. با سمپلر مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقیمانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۶/۱ تا ۸/۱ بود. کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج می‌شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها طبق زمانبندی‌های گروه کالیبره شده بودند. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon استفاده و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. برای ارزیابی بیان ژن از تکنیک PCR Time Real و دستگاه شرکت Biosystem Applied استفاده شد. در این مرحله متعلق به شرکت Exiqon بود. طبق دستورالعمل کیت برای یک نمونه ۱۰ لاندا ترکیبی از mix master پرایمر و cDNA در نظر گرفته شد و میزان بیان miRNA-1 و miRNA-21 نسبت به گروه کنترل و مرحله قبل از تمرین استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ ارزیابی شد. آزمون‌های ویلک-شاپیرو و لوین برای تعیین وضعیت توزیع و همگنی واریانس‌ها و از آزمون تحلیل واریانس (2×2) برای ارزیابی تغییرات درون و بین گروهی شاخص‌های اندازه‌گیری شده استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ در سطح $P < 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا وضعیت توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون ویلک-

گزارش کرده‌اند که *miRNA* ها ممکن است نه تنها توسط فعالیت ورزشی حاد بلکه توسط تمرینات ورزشی طولانی مدت نیز تحت تأثیر قرار نگیرند و تفاوتی نیز بین تمرینات مختلف وجود نداشته باشد. همچنین، *miRNA-1* از طریق افزایش تمایز و تکثیر میوبلاست‌های اولیه و سلول‌های ماهواره‌ای می‌تواند به تمایز سلول‌های عضلانی کمک نماید (۲۲). علاوه بر این، وضعیت انرژی سلول و در نتیجه فعال‌سازی پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفوسفات (AMPK) احتمالاً نقش مهمی در بروز آثار مرتبط با *miRNA* ها دارد. AMPK برای تثبیت RNA پیامبر VEGF القا شده بر اثر هیپوکسی ضروری است، اما مهار AMPK موجب تقویت پاسخ RNA پیامبر VEGF به فعالیت ورزشی حاد می‌گردد (۲۳). این مسئله احتمالاً توضیح می‌دهد که چرا تمرینات بسیار شدید در واقع اثر منفی بر سطوح VEGF و اثر افزایشی بیشتری بر سطوح IGF-I دارند (۲۴). از سوی دیگر، این مطلب همچنین یکی از دلایلی است که تمرینات HIIT، با سرعت بیشتری موجب افزایش چگالی مویرگی و ظرفیت اکسایشی عضله اسکلتی در پاسخ به ترشح عوامل رشدی موضعی و در گردش می‌گردد (در هر دو دوره بازگشت به حالت اولیه و طی فعالیت ورزشی) (۲۵). علاوه بر این، محرک‌های مکانیکی همانند بار کل تحمیل شده به عضله و جریان خون عضله اسکلتی و در نتیجه استرس فرسایشی (shear stress) ایجاد شده در طی فعالیت بدنی موجب افزایش سطوح *miRNA* ها، *miRNA* ها و پروتئین‌های مرتبط با آنها می‌گردد (۷). علاوه بر مباحث فوق، در راستای نتایج مطالعه حاضر برخی مطالعات نشان داده‌اند که سطوح در گردش *miRNA-1* و *miRNA-21* افراد دارای آمادگی جسمانی پایین به ترتیب به طور قابل توجهی بیشتر و کمتر از مقادیر آن در افراد تمرین کرده و دارای سطوح آمادگی بالاتر است. همچنین، میزان *miRNA-21* در طی بروز هیپرتروفی قلبی پاتولوژیک به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و به عنوان نشانگر زیستی بروز استرس اکسایشی، التهاب و ایجاد وضعیت پاتولوژیک در کاردیومیوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیالی در نظر گرفته می‌شود. از این رو، محققان معتقدند که *miRNA-1* و *miRNA-21* را می‌توان به عنوان یک نشانگر زیستی مناسب برای ارزیابی میزان بروز سازگاری تمرینی و افزایش آمادگی جسمانی (در سطح سلولی) در نظر گرفت (۲۶-۲۸). منبع سلولی دقیق اندازه‌گیری و رهایش *miRNA-21* و *miRNA-1* مشخص نشده است و نیازمند انجام مطالعات بیشتری در سطح مدل‌های انسانی و حیوانی است. با این حال، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که *miRNA-21* از بافت‌های مختلفی به ویژه سلول‌های اندوتلیال بافت‌های عروقی به میزان بالایی به درون گردش خون آزاد می‌شود. علاوه بر این، یکی دیگر از منابع تولید *miRNA-21* بافت عضله قلبی است (۸). به علاوه، افزایش بیش از حد غلظت *miRNA-21* بیان چندین پروتئین کلیدی درگیر در

به ویژه وهله‌های ورزشی استقامتی و شدید گزارش کرده‌اند (۸، ۱۵، ۱۶). برای مثال، Baggish و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که پس از یک وهله دوچرخه‌سواری تا واماندگی، غلظت *miRNA-21* به طور قابل توجهی (۱/۹ برابر افزایش یافته است) (۸). با این حال، نتایج بیشتر این مطالعات نشان داده است که این افزایش تنها یک پاسخ موقت و گذار بوده و غلظت آن پس از حدود یک ساعت به مقدار پیش از فعالیت ورزشی رسیده است و افزایش ناشی از ورزش سطوح *miRNA-21* نمی‌تواند نشان دهنده سطوح حالت پایه (استراحتی) و سازگاری به وجود آمده در این شاخص بر اثر تمرینات ورزشی باشد (۸). با این حال، برخی محققان مانند باگیش گزارش کرده‌اند که این پاسخ و افزایش ۲۴ ساعته ممکن است تنها نشان‌دهنده یک پاسخ کوتاه مدت به جلسه تمرین ورزشی باشد و همچنین پس از ۱۲ هفته تمرین استقامتی سطوح استراحتی *miRNA-21* کاهش یافته بود و پاسخ حاد آن به یک ساعت فعالیت دوچرخه‌سواری در ۶۵ درصد توان بیشینه (P_{max}) در آزمودنی‌های تمرین کرده تفاوتی نداشت (۱۷). تأثیر دقیق انواع مختلف فعالیت ورزشی و تأثیر حجم و شدت فعالیت ورزشی بر پاسخ و سازگاری *miRNA* ها به طور دقیق مشخص نشده است. با این حال، در یک مطالعه گزارش شده است که تمرینات سرعتی شدید موجب بیشترین افزایش در غلظت *miRNA-1* و *miRNA-21* سرمی گردید (۱۶). همچنین، در برخی مطالعات نشان داده شده است که دوره زمانی تغییرات در *miRNA* ها با تغییرات سایر عوامل هورمونی مرتبط با رشد به ویژه در طی فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی دارای شباهت زیادی است (۱۸). سازوکارهای مختلفی برای افزایش *miRNA* های ناشی از فعالیت ورزشی گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به بروز آسیب عضلانی و شروع فرآیندهای رونویسی اشاره نمود (۱۹). Cui و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که در طی فعالیت ورزشی غلظت *miRNA* ها ممکن است بر اساس تعادل بین برداشت/رهایش سلولی یا بر اثر تعادل کاتابولیسم و آنابولیسم بین بافت‌های مختلف بدن تعیین شود (۲۰). به علاوه، یکی دیگر از فرضیاتی که به عنوان دلایل افزایش غلظت *miRNA* ها در طی یک وهله فعالیت ورزشی گزارش شده است بروز هیپوکسی کوتاه مدت و موضعی است که در سطح بافت عضلانی روی می‌دهد و موجب رهایش انواع مختلف *miRNA* از بافت عضلانی به درون گردش خون می‌گردد. همچنین، Nicoli و همکاران (۲۰۱۰) نقش *miRNA-21* در بروز آثار رشدی آن از طریق انسجام بین پاسخ‌های همودینامیک عروقی و پیام‌رسانی عامل رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF) و تقویت آثار GH و IGF-I را مورد تأیید قرار داده است و گزارش شده است که غلظت بسیاری از *miRNA* ها و به ویژه *miRNA-2* با افزایش عملکرد عوامل هورمونی مرتبط با رشد دارای ارتباط نزدیکی است (۲۱). با این حال، برخی محققان

میزان سازگاری با تمرینات ورزشی در پسران نوجوان نابالغ باشد. با این حال، به نظر می‌رسد برای تعیین میزان دقیق رابطه و تاثیر انواع مختلف تمرینات ورزشی بر این شاخص‌ها به انجام تحقیقات بیشتری نیاز است.

قدردانی

مطالعه حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجویی دکتری در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز می‌باشد. از تمام افرادی که در این تحقیق همکاری کرده‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. ملاحظات اخلاقی: پروتکل این مطالعه در کمیته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع IR.TBZMED.REC.1396.258 به تایید رسیده است.

منابع مالی: منابع مالی این طرح تحقیقاتی توسط نویسندگان تامین شده است.

منافع متقابل: مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان: ۱. رامین امیرساسان به عنوان استاد راهنما در انتخاب موضوع، طراحی پروتکل، تحلیل نتایج و تدوین مقاله و ۲. مصطفی آرمان‌فر در انتخاب موضوع، طراحی پروتکل، اجرا، تحلیل نتایج و تدوین مقاله و ۳. جواد حصاری به عنوان استاد مشاور در طراحی و اجرای پروتکل تحقیق نقش داشتند، همچنین، اساتید راهنما و مشاور مقاله نسخه نهایی تهیه شده را خوانده و تایید کرده‌اند.

مسیرهای عمومی مرتبط با رشد و نمو سلولی (از قبیل مسیرهای پیام‌رسانی Wnt، ErbB، mTOR، β -TGF، MAPK، ایمنی (پیام‌رسانی سلول‌های B و T) و استرس (مسیر p53) را مهار می‌کند. با این حال، این نکته باید خاطر نشان شود که اطلاعات محدودی درباره منشأ miRNA‌های در گردش خون و نقش‌های فیزیولوژیک آنها وجود دارد؛ در نتیجه نتایج به دست آمده تا زمان به دست آمده اطلاعات بیشتر باید با احتیاط مورد تفسیر قرار گیرند (۲۹). مطالعات آینده باید نقش سایر miRNAها، به صورت جداگانه یا در ترکیب با یکدیگر، بر سازگاری با فعالیت ورزش را بررسی کنند. همچنین، باید استفاده از فناوری‌های جایگزین برای دستکاری گونه‌های مختلف miRNA در داخل بدن، و نیز استفاده در مدل‌های داخل بدن مختلف را برای شناسایی miRNA‌های مختلف درگیر در سازگاری با تمرینات ورزشی و بهبود عملکرد ورزشی مورد ارزیابی و بررسی قرار دهند. همچنین، برخی از مطالعات اولیه همبستگی خطی مثبتی را بین تغییرات ناشی از ورزش در سطوح miRNA-20a و نیز تغییرات ناشی از تمرین در VO_{2max} و سایر عوامل جسمانی مرتبط با آمادگی را نشان داده‌اند؛ این مسئله نشان می‌دهد که بین سطوح خونی انواع miRNA با تمرین‌پذیری نشانگرهای آمادگی قلبی-عروقی ارتباط وجود دارد و می‌تواند به عنوان نشانگرهای بالقوه ارزیابی سازگاری با تمرین استفاده شوند (۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از غلظت miRNA-1 و miRNA-21 ممکن است شاخص زیستی مناسبی برای ارزیابی

References

- Laursen P B, Jenkins D G. The scientific basis for high-intensity interval training. *Sports Med* 2002; **32**(1): 53-73. doi: 10.2165/00007256-200232010-00003.
- Gibala M J, McGee S L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc Sport Sci Rev* 2008; **36**(2): 58-63. doi: 10.1097/JES.0b013e318168e c1f.
- Burgomaster K A, Hughes S C, Heigenhauser G J, Bradwell S N, Gibala M J. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol* 2005; **98**(6): 1985-1990. doi: 10.1152/jappphysiol.01095.
- Gibala M J, Little J P, Van Essen M, Wilkin G P, Burgomaster K A, Safdar A, et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J physiol* 2006; **575**(3): 901-911. doi: 10.1113/jphysiol.2006.112094
- Hough P. High-intensity interval training. *Advanced Personal Training. Science to Practice* 2016: **149**.
- Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; **116**(2): 281-297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5
- Prior B M, Yang H, Terjung R L. What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* 2004; **97**(3): 1119-1128. doi: 10.1152/jappphysiol.00035.2004
- Baggish A L, Hale A, Weiner R B, Lewis G D, Systrom D, Wang F, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J physiol* 2011; **589**(16): 3983-3994. doi: 10.1113/jphysiol.2011.213363.
- Bye A, Røsjø H, Aspenes S T, Condorelli G, Omland T, Wisløff U. Circulating microRNAs and aerobic

- fitness—the HUNT-Study. *PLoS one* 2013; **8**(2): e57496. doi: 10.1371/journal.pone.0057496.
10. McCarthy J J, Esser K A. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 2007; **102**(1): 306-313. doi: 10.1152/jappphysiol.00932.
 11. Drummond M J, McCarthy J J, Fry C S, Esser K A, Rasmussen B B. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. *Am J Physiol-Endoc M* 2008; **295**(6): E1333-E1340. doi: 10.1152/ajpendo.90562.20.08.
 12. Safdar A, Abadi A, Akhtar M, Hettinga B P, Tarnopolsky M A. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. *PLoS one* 2009; **4**(5): e5610. doi: 10.1371/journal.pone.0005610
 13. Nielsen S, Scheele C, Yfanti C, Åkerström T, Nielsen A R, Pedersen B K, et al. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. *J physiol* 2010; **588**(20): 4029-4037. doi: 10.1113/jphysiol.2010.189860.
 14. Siahkoushian M, Khodadadi D, Shahmoradi K. Effects of high-intensity interval training on aerobic and anaerobic indices :Comparison of physically active and inactive men. *Sci & Sport* 2013; **28**(5): e119-e125. doi: 10.1016/j.scispo. 2012.11.006
 15. Tonevitsky A G, Maltseva D V, Abbasi A, Samatov T R, Sakharov D A, Shkurnikov M U, et al. Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. *BMC Physiol* 2013; **13**(1): 9. doi: 10.1186/1472-6793-13-9.
 16. Wahl P, Wehmeier U F, Jansen F J, Kilian Y, Bloch W, Werner N, et al. Acute Effects of Different Exercise Protocols on the Circulating Vascular microRNAs-16,-21, and-126 in Trained Subjects. *Front Physiol* 2016; **7**. doi: 10.3389/fphys.2016.00643
 17. Nielsen S, Åkerström T, Rinnov A, Yfanti C, Scheele C, Pedersen B K, et al. The miRNA plasma signature in response to acute aerobic exercise and endurance training. *PLoS one* 2014; **9**(2): e87308. doi: 10.1371/journal.pone.0087308.
 18. Wahl P, Mathes S, Köhler K, Achtzehn S, Bloch W, Mester J. Acute metabolic, hormonal, and psychological responses to different endurance training protocols. *Horm Metab Res* 2013;**45**(11): 827-833. doi: 10.1055/s-0033-1347242.s
 19. Uhlemann M, Möbius-Winkler S, Fikenzer S, Adam J, Redlich M, Möhlenkamp S, et al. Circulating microRNA-126 increases after different forms of endurance exercise in healthy adults. *Eur J Prev Cardiol* 2014; **21**(4): 484-491 doi: 10.1177/2047487312467902
 20. Cui S F, Wang C, Yin X, Tian D, Lu Q J, Zhang C Y, et al. Similar responses of circulating microRNAs to acute high-intensity interval exercise and vigorous-intensity continuous exercise. *Front physiol* 2016; **7**: 102. doi: 10.3389/fphys.2016.00102
 21. Nicoli S, Standley C, Walker P, Hurlstone A, Fogarty K E, Lawson N D. MicroRNA-mediated integration of haemodynamics and Vegf signalling during angiogenesis. *Nature* 2010; **464** (7292): 1196-1200. doi: 10.1038/nature08889
 22. Aoi W, Ichikawa H, Mune K, Tanimura Y, Mizushima K, Naito Y, et al. Muscle-enriched microRNA miR-486 decreases in circulation in response to exercise in young men. *Front Physiol* 2013; **4**: 80. doi: 10.3389/fphys.2013.00080.
 23. Zwetsloot K A, Westerkamp L M, Holmes B F, Gavin T P. AMPK regulates basal skeletal muscle capillarization and VEGF expression, but is not necessary for the angiogenic response to exercise. *J Physiol* 2008; **586**(24): 6021-6035. doi: 10.1113/jphysiol.2008.159871
 24. Gliemann L, Gunnarsson T P, Hellsten Y, Bangsbo J. 10-20-30 training increases performance and lowers blood pressure and VEGF in runners. *Scand J Med Sci Spor* 2015; **25**(5): e479-e489. doi: 10.1111/sms.12356
 25. Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J physiol* 2004; **557**(2): 571-582. doi: 10.1113/jphysiol.2003.057711
 26. Tatsuguchi M, Seok H Y, Callis T E, Thomson J M, Chen J-F, Newman M, et al. Expression of microRNAs is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy. *J mol cell cardiol* 2007; **42**(6): 1137-1141. doi: 10.1016/j.yjmcc. 2007.04.004
 27. Sayed D, Hong C, Chen I-Y, Lypowy J, Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2007; **100**(3): 416-424. doi: 10.1161/01. RES.0000257913.42552.23
 28. Weber M, Baker M B, Moore J P, Searles C D. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. *Biochem Bioph Res Co* 2010; **393**(4): 643-648. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.045
 29. Baggish A L, Park J, Min P-K, Isaacs S, Parker B A, Thompson P D, et al. Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise. *J Appl Physiol* 2014; **116**(5): 522-531. doi: 10.1007/s00216-013-7340-0.