Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره دهم، دی ۱۳۹۷
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۲۱

بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر سطوح *miRNA-146a* در گردش خون و سطوح پلاسمایی IL-6 در زنان سالمند غیرفعال

فاطمه فلاح[۱]، فرهاد رحمانی نیا[*۲]، رامین شعبانی[۳]، زهرا حجتی ذی دشتی[۴]

مقاله پژوهشی

مقدمه: پدیده سالمندی با التهاب سیستمیک در ارتباط است. *miR-146a* تنظیم‌کننده منفی حیاتی برای التهاب است و نشان داده شده که سطوح آن با افزایش سن کاهش می یابد. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر پیاده‌روی سریع منظم بر سطوح در گردش خون *miR-146a* و سطوح پلاسمایی اینترلوکین ۶ در زنان سالمند غیرفعال بود.

روش بررسی: در این پژوهش نیمه‌تجربی، ۲۰ زن سالمند (۳/۹±۵/ ۶۳ سال) به طور تصادفی در دو گروه تمرین استقامتی (۱۰ نفر) و شاهد (۱۰ نفر) قرار گرفتند. گروه تمرین سه روز در هفته به مدت دوازده هفته با شدت ۷۵-۷۰ ٪ حداکثر ذخیره ضربان قلب، پیاده‌روی کرد. گروه کنترل در طول دوره مطالعه بدون تمرین باقی ماند. نمونه های خونی قبل و ۷۲ ساعت پس از ۱۲ هفته تمرین، جهت اندازه گیری *miR-146a* و IL-6 جمع‌آوری شد. پس از تجزیه‌و تحلیل داده ها بر اساس نرمال بودن از آزمون تی‌مستقل، تی‌وابسته، یومن‌ویتنی و ویلکاکسون استفاده شد. بررسی های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS v 16 انجام گرفت و سطح معنی داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج نشان داد که در پاسخ به برنامه تمرین استقامتی سطوح *miR-146a* افزایش (p=۰/۰۲۷) و سطوح IL-6 به طور معنی داری کاهش (p=۰/۰۰۱)یافت و این تغییرات با کاهش در شاخص توده بدن (BMI) همراه بود(p=۰/۰۰۲).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش حاضر، پیاده روی سریع می تواند به عنوان یک شکل تمرین موثر در جهت کمک به کاهش عوامل التهابی خون، مورد ملاحظه قرار بگیرد. یافته‌ها هم چنین پیشنهاد می کند *miRNA* ها، می توانند در پاسخ به پیاده‌روی منظم، در افراد سالمند، بهبود یابند.

واژه‌های کلیدی: التهاب، میکرو RNA، *miR-146a*، اینترلوکین ۶، پیاده روی

IRCT20150531022498N23

ارجاع: فلاح فاطمه، رحمانی نیا فرهاد، حجتی ذی دشتی زهرا، شعبانی رامین. **بررسی تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر سطوح** miRNA-146a **در گردش خون و سطوح پلاسمایی** IL-6 **در زنان سالمند غیرفعال**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۹): ۸۹۵-۹۰۹

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، گیلان، ایران
۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
۳- دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، گیلان، ایران
۴- دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، گیلان، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۱۳۳۱۷۳۴۴، پست الکترونیکی: frahmani2001@yahoo.com، کد پستی :۴۱۹۹۸۴۳۶۵۳

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

مقدمه

فرآیند پیری (Ageing)، که به عنوان کاهش عملکرد به واسطه گذر زمان در اکثر موجودات زنده تعریف شده، حس کنجکاوی و هیجان بشر را در سراسر طول تاریخ به خود جذب کرده است. برخی از مطالعات حاکی از این است که فرآیند پیری با یک وضعیت التهاب سیستمیک درجه خفیف مزمن (Chronic low-grade systemic inflammation) در ارتباط است و با افزایش سطوح سرمی برخی از نشانگرهای التهابی شامل اینترلوکین ۶ (IL-6)، پروتئین واکنشی C (CRP) و فاکتور نکروز تومور (TNF) مشخص می شود (۱). افزایش نشانگرهای التهابی احتمالاً با افزایش بافت چربی به ویژه چربی احشایی، یائسگی و افزایش آسیب اکسیداتیو همراه بوده (۳, ۲) و در نهایت موجب افزایش خطر ابتلا به بیماری هایی مانند بیماری های قلبی عروقی، سرطان و بیماری های شناختی در افراد سال خورده می شود (۲, ۱).

علاوه بر شاخص های التهاب کلاسیک، microRNAها یا miRNAs که در سال های اخیر به یک موضوع مهم پژوهشی تبدیل شده اند، ابزار حساس تری برای غربالگری این فرآیندهای فیزیولوژیکی به‌شمار می روند. شواهد حاکی از این است که چندین miRNAs به احتمال زیاد در التهاب دوران سالمندی نقش دارند (۴). تحقیقات نشان داده اند که اکثریت miRNAها دچار عملکرد تنظیمی ضعیفی همراه با سن می گردند و فراوانی برخی از آن ها به طور قابل توجهی در افراد مسن در مقایسه با افراد جوان کاهش می‌یابد (۵). microRNA ها، مولکول های پروتئینی غیرکدشده کوچکی هستند که در زنجیره تک رشته ای آن ها ۲۳-۱۷ نوکلئوتید وجود دارد. آن‌ها بیان ژن هدف را در سطح پس ترجمه ای از طریق اتصال به ریشه‌های ترجمه نشده ´۳ و ´۵ از RNAهای پیک (mRNAs) ، تنظیم می کنند. microRNA ها می توانند از انواع سلول های مختلف (مانند سلول های عضلانی) به خون و دیگر مایعات بدن رها شده و از طریق ورود به برخی از عناصر مانند لکوسیت ها، وزیکول ها، اگزوزوم ها و اتصال با لیپوپروتئین های با چگالی بالا (HDL)، گردش کنند. این ویژگی microRNA را نسبت به آنزیم های تجزیه‌کننده (RNases) درون‌زا، مقاوم می سازد و این موجب شده است تا این مولکول‌ها به عنوان نشانگرهای احتمالی وضعیت سلامتی و بیماری، مورد مطالعه قرار گیرند (۶). *miR-146a* در مسیرهای التهابی مانند NF-□kB (فاکتور رونویسی هسته ای کاپا B) و TLR (نوعی گیرنده غشایی انتقال پیام) نقش ایفا می کند و می تواند به طور منفی بیان سایتوکاین التهابی مانند IL-6 و IL-1ß (اینترلوکین ۱ بتا) را تنظیم کند. در بدن پستانداران، پدیده سالمندی و افزایش التهاب سیستمیک، به سرکوب بیان *miR-146a* می انجامد. بنابراین کاهش بیان آن با افزایش سایتوکاین های التهابی در افراد سالمند، مرتبط است (۷, ۴). انجام فعالیت جسمانی، وضعیت التهابی را تحت تاثیر قرار می دهد (۶).

درک رایج این است که یک وهله کوشش تمرین به یک پاسخ التهابی موقت می انجامد و این در حالی است که تمرین منظم اثرات محافظتی و ضدالتهابی (Anti-inflammatory) دارد (۸). فعالیت ورزشی هم چنین تنظیم و بیان microRNAها را در سلول های مختلف و متعاقباً در گردش خون (تحت عنوان c-miRNAs)، تحت تاثیر قرار می دهد. نتایج برخی مطالعات، نشان می‌دهد که *miR-146a* احتمالاً به تحریکات فیزیولوژیکی مختلف پاسخ داده و به این ترتیب نقش مهمی را در پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی بازی می کند (۱۵-۹, ۶). هرچند در برخی از پژوهش ها که تاثیر تمرینات هوازی بر بیان سطوح *miR-146a*، در آزمودنی های سالمند مورد بررسی قرار گرفت، برنامه تمرین، تغییری در سطوح *miR-146a* گردش خون، ایجاد نکرد (۱۷, ۱۶). در پژوهش های انجام شده در گذشته به خوبی به نقش تمرینات استقامتی در کاهش عوامل التهابی اشاره شده است (۲۰-۱۸). با این حال از میان انواع فعالیت های جسمانی تاثیر فعالیت هایی مانند پیاده روی بر روی التهاب و به ویژه نشانگرهای ژنتیکی التهاب مانند *miR-146a* کمتر به طور سیستماتیک مورد بررسی قرار گرفته است. تنها در یک مطالعه مقطعی (۲۰۱۷) که در طی ۱۰ سال انجام گرفت گزارش شده است که سطوح سرمی *miR-146a* در میان

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

آزمودنی های سالمندی که زمان دویدن و فعالیت بیشتری داشتند نسبت به سالمندان تمرین نکرده بیشتر بوده است (۲۱). پیاده‌روی (Walking) برای جلوگیری از بسیاری خطرات در سالمندان، مناسب است، زیرا حفظ و یا افزایش سطوح فعالیت پیاده روی، برای افراد مختلف، از جمله افراد چاق، سال خورده و با سطوح آمادگی جسمانی پایین که انجام فعالیت های شدیدتر برای آن ها دشوار است، به آسانی قابل اجرا و نظارت است (۲۲). با این که گزارش شده است تمرین با شدت متوسط نیز می تواند برای کسب سلامتی مفید باشد (۲۳)، به نظر می‌رسد، مردان و زنانی که با شدت متوسط رو به بالا تمرین می‌کنند، می توانند کاهش در تعداد بیشتری از نشانگرهای التهابی را، نسبت به تمرین با شدت پایین، نشان دهند (۲۴). در برخی پژوهش ها که از پیاده‌روی به عنوان برنامه تمرین استفاده کرده اند، افزایش حجم و شدت پیاده‌روی در کاهش نشانگرهای التهاب موثر بوده است (۲۶, ۲۵) و در برخی موارد، انواع برنامه های تمرین در حجم و شدت های کم نتوانسته این اثر را آشکار نماید (۳۰-۲۷). هم چنین، تاثیر مزمن شدت های متفاوت فعالیت های هوازی بر *miR-146a* به خوبی روشن نشده است، تنها در یک پژوهش در دسترس نشان داده شده است که انجام یک وهله ۴۰ دقیقه ای فعالیت تردمیل شدید با شدت ۸۰ درصد VO2max (حداکثر اکسیژن مصرفی) می تواند سطوح وزیکول‌های حاوی *miR-146a* را نسبت به قبل تمرین افزایش دهد (۱۵).

از آن جایی که در ایران جمعیت بسیاری، در سنین بالا یا در آستانه ورود به آن هستند، میزان سلامت عمومی در مقابل ناتوانی‌های مربوط به سالمندی، به دنبال آن افزایش به کارگیری مراقبت‌های پزشکی، به یک نگرانی حیاتی تبدیل شده است. مطابق یافته ها تا به امروز، به نقش *miR-146a* در تنظیم مسیرهای التهابی و کاهش سایتوکاین هایی مانند IL-6 اشاره شده است (۷, ۴)، اگر چه مکانیزم های تحت پوشش این پدیده و کاهش این ژن در دوران سالمندی نیز تا حدودی ناشناخته مانده است، با این حال پژوهش‌ها به نقش تمرین با شدت های بالاتر در کاهش نشانگرهای التهاب اشاره کرده‌اند (۲۰, ۱۵). بنابراین با توجه به ارتباط احتمالی میان *miR-146a* و IL-6، این که آیا فعالیت‌هایی مانند پیاده‌روی با شدت بالا می تواند در تنظیم متقابل این دو شاخص در جهت کاهش التهاب سیستمیک در دوران سالمندی اثر گذار باشد، نیاز به بررسی های بیشتری دارد. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر ۱۲ هفته پیاده روی با شدت بالا بر بیان *miR-146a* در گردش و سطوح پلاسمایی IL-6 در زنان سالمند غیرفعال، انجام گرفت.

روش بررسی

پژوهش حاضر از نوع نیمه‌تجربی، به شکل میدانی انجام گرفت. تعداد افراد نمونه مطالعه حاضر با توجه به میزان اثر گزارش شده در مقاله Banzet و همکاران (۲۰۱۳) و با استفاده از نرم افزار G*power تعیین شد (۳۱). با توجه به میزان اثر ۰/۷۴، میزان خطای آلفای= ۰/۰۵ و میزان خطای بتای=۰/۸۰ در فرمول آماری t، تعداد نمونه مورد نیاز هر گروه ۷ نفر تخمین زده شد که با احتساب احتمال ریزش، در ابتدا ۱۴ نفر به هر گروه اختصاص داده شد.

بنابراین، از میان زنان سالمند منطقه باغستان شهر البرز که به طور داوطلبانه برای شرکت در پژوهش، ثبت‌نام اولیه انجام داده بودند، ۲۸ زن بر اساس معیارهای مورد نظر در پژوهش انتخاب شده و سپس به صورت تصادفی در دو گروه پیاده‌روی با شدت بالا و گروه شاهد قرار گرفتند. معیارهای ورود به مطالعه شامل داشتن سن در محدوده ۶۰ تا ۷۵ سال، غیرفعال بودن و شاخص توده بدن (BMI) از ۲۲ تا ۴۰(kg/m2) بود و معیارهای خروج از مطالعه شامل داشتن هر نوع بیماری التهابی مزمن مانند بیماری های قلبی-عروقی، تنفسی، دیابت و...، داشتن اعتیاد به سیگار و الکل، داشتن رژیم دارویی خاص به ویژه استفاده مداوم از داروهای ضدالتهاب، محدودیت در مفاصل حرکتی ران و زانو یا استفاده از وسایل کمکی برای راه رفتن بود. سپس همه آزمودنی ها فرم رضایت نامه کتبی برای شرکت در پژوهش، امضاء کردند. یک هفته قبل از اجرای برنامه پژوهش از چهار آزمودنی (دو نفر از گروه تمرین و دو نفر از گروه کنترل) یک آزمون آزمایشی (Pilot studty) به عمل آمد

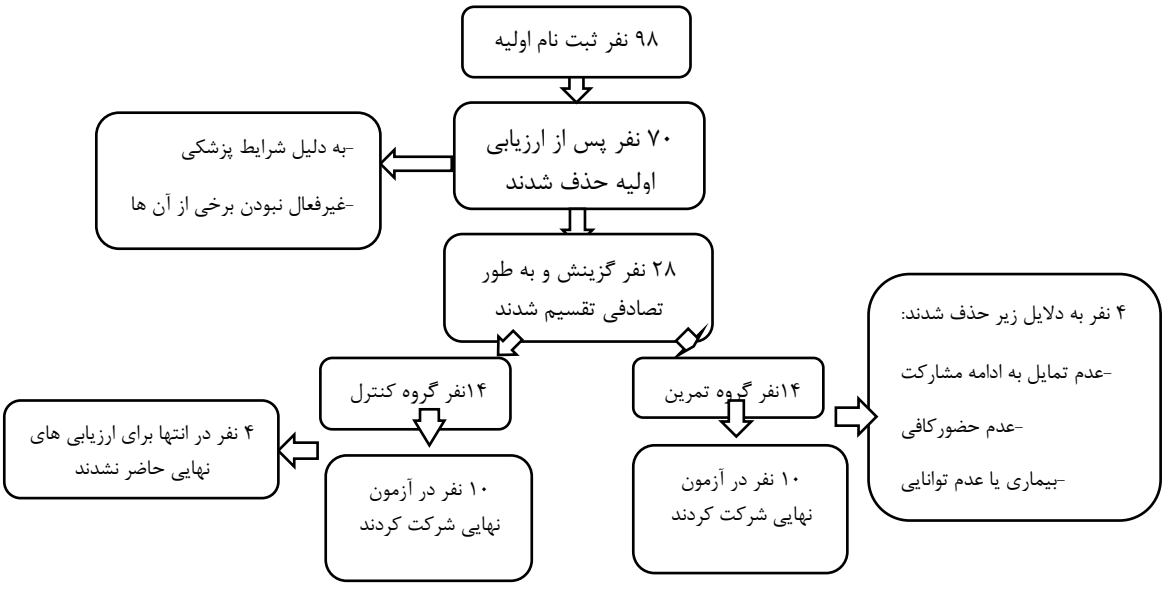
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

تا اطمینان حاصل شود که آزمودنی ها قادر به انجام پیاده روی با شدت تعیین شده هستند. سپس برنامه تمرین به مدت ۱۲ هفته انجام شد و در این مدت گروه کنترل به روال زندگی خود ادامه دادند. در نهایت برخی از آزمودنی ها به دلایل مختلف از هر دو گروه تمرین و شاهد حذف شده و در هر گروه ۱۰ نفر مطالعه را به پایان رساندند. در طول انجام پژوهش ضربان قلب آزمودنی ها توسط ضربان سنج پولار مدل V-800 مورد نظارت قرار گرفت. برنامه تمرینی شامل پیاده‌روی شدید به مدت ۱۲ هفته، سه جلسه در هفته و با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد حداکثر ذخیره ضربان قلب (HRRmax) بر اساس دستورالعمل های کالج آمریکایی علوم ورزشی (ACSM) انجام گرفت (۳۲). به این ترتیب که ضربان قلب حداکثر (HR_{max})، از طریق فرمول ۲۲۰- سن، پیش بینی شد و شدت نهایی از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

درصد) × (ضربان قلب استراحت– ضربان قلب حداکثر)]

ضربان قلب استراحت + [(شدت تمرین

در شش هفته اول، برنامه پیاده روی برای گروه تمرین به میزان ۷۰ درصد HRRmax در نظر گرفته شد و زمان تمرین هفته اول از ۳۰ دقیقه آغاز شد و در پایان هفته ششم به ۴۵ دقیقه افزایش یافت. در شش هفته دوم شدت تمرین ۷۵ درصد HRRmax بود و زمان تمرین از ۴۵ دقیقه شروع شد و تا پایان برنامه تمرین به ۶۰ دقیقه افزایش یافت (۳۳). قبل از شروع تمرین، گرم‌کردن برای ۱۰ دقیقه، شامل راه رفتن آهسته، سپس فعالیت ها و تمرینات کششی، انجام می گرفت. پس از اتمام تمرین در هر جلسه پنج دقیقه به سرد کردن بدن اختصاص داده می شد. قد و محیط دور کمر آزمودنی‌ها (سانتی‌متر) به وسیله یک متر نواری، وزن بدن آزمودنی‌ها (کیلوگرم)، درصد چربی، درصد عضله، درصد چربی احشایی و BMI (کیلوگرم/مجذور متر) آن ها با حداقل لباس و بدون کفش توسط دستگاه ترکیب سنج بدن مدل OMRON BF511 Body Composition Monitor، قبل از شروع برنامه تمرین، هم چنین محیط دور کمر و BMI پس از پایان برنامه تمرین نیز اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون از ورید بازویی قبل و سه روز (۷۲ساعت) بعد از آخرین جلسه تمرین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، جمع‌آوری شد، به لوله های EDTA (لوله حاوی مواد ضد انعقاد) انتقال داده شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. نیمی از خون برای استخراج RNA جدا شد و مابقی بـرای استخراج پلاسما، به مـدت ۱۵ دقیقـه و بـا سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد، و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان تجزیه تحلیل برای سایتوکاین IL-6 ذخیره گردید.



دیاگرام ۱. نشان دهنده گزینش و تقسیم تصادفی آزمودنی ها از ابتدا تا پایان دوره تمرین

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

غلظت پلاسمایی IL-6 قبل و ۱۲ هفته پس از دوره تمرین، از طریق کیت تجاری (R&D, US, Minneapolis, MN, Catnum:DY206) و درجه حساسیت بالا مطابق دستوالعمل شرکت سازنده، اندازه گیری شد.

برای استخراج RNA، از ۵۰۰ میکرولیتر خون،۵۰۰ میکرولیتر ترایزول و به ازای هر ۵۰۰ میکرولیتراز ترایزول،۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم که به مخلوط حاصل اضافه شد، استفاده گردید. پس از استخراج RNA، کمیت آن با روش هایUV اسپکتروفتومتری (Thermo Scientific NanoDrop USA2000/2000c Spectrophotometers) و با تعیین جذب در طول موج ۲۶۰ nmبررسی شد. نتایج نشان داد که OD 260/280 تمام نمونه ها ی استخراج شده در حدود ۱.۹۲ تا ۱.۹۷بودند که نشان از کیفیت خوب استخراج بود. هم چنین کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز افقی روی ژل آگارز، مورد بررسی قرار گرفت. باندهای ۱۸s و ۲۸s مرتبط با RNA ریبوزومی به عنوان شاخص کیفیت RNA استخراج شده مد نظر قرار گرفتند.

برای سنتز cDNA تک رشته ای از الگوی mRNA، از کیت سنتز cDNA (Vivantis, cDNA synthesis kit, Malaysia) استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا ۵ میکروگرم از RNA استخراج شده با ۰.۵ میکرولیتر Vivantis RT Enzyme Mix I و ۲ میکرولیتر از بافر آن، ۰.۵ میکرولیتر پرایمر الیگو دی تی، ۱ میکرولیتر Dntp، ۱۰.۵ میکرولیتر DDW (Double distilled water) و ۰.۵ میکرولیتر Random 6 mers، در یک میکروتیوب روی یخ آماده شد و با آب عاری از RNase به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد.

سپس جهت انجام واکنش سنتز cDNA، برنامه‌زیر در ترموسایکلر اجرا شد: ۱۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه جهت انجام واکنش نسخه برداری معکوس، ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت پنج دقیقه جهت غیر فعال سازی آنزیم نسخه‌بردار معکوس، چهار درجه سانتی‌گراد. در نهایت cDNAهای سنتز شده به سرعت بر روی یخ گذاشته یا در فریزر ۲۰- نگه‌داری شدند.

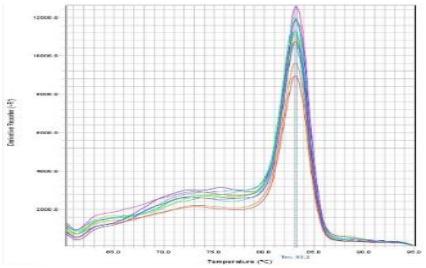
Real Time PCR: ابتدا برای آنالیز صحت سنتز cDNA، واکنش RT-PCR انجام شد. سپس غلظت مطلوب cDNA و پرایمر مربوط به *miR-146a*، با استفاده از آزمایش سریال غلظت مشخص شد. توالی رونوشت ژن‌های مورد نظر از پایگاه اینترنتی www.ncbi.nlm.nih.gov دریافت و آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی مستقیم و معکوس (F&R) برای *miR-146a* و ژن مرجع (*GAPDH*)، توسط نرم‌افزار Oligo 7 طراحی گردید (جدول یک). توالی پرایمرهای طراحی شده با استفاده از نرم‌افزار BLAST در توالی ژنوم انسان جستجو شد تا از ویژگی توالی و یکتا بودن محل اتصال آن‌ها اطمینان حاصل شود.

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز Real Time PCR، ۲ میکرولیتر cDNA، ۰.۴ میکرولیتر از هردو پرایمر F&R ، ۱۰ میکرولیتر مستر میکس GC (SYBR Green) برای PCR به همراه ۲.۷ میکرولیتر DDW در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر برای هر نمونه، با هم ترکیب و درون استریپ ریخته شد. سپس برنامه منحنی ذوب در سه مرحله مجزا انجام گرفت: ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، ۶۰ درجه دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و در نهایت ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد. هم چنین هر مرحله تکثیری کامل، توسط یک مرحله تفکیک که شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت پنج دقیقه و ۴۵ سیکل به صورت ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، ادامه یافت. در نهایت تغییرات ژن *miR-146a* پس از نرمال شدن با *GAPDH*، قبل و بعد از دوره تمرین از طریق روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد (۹). کلیه آزمایشات خونی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی پیشگامان انتقال ژن واقع در آزمایشگاه جامع تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی انجام گرفت.

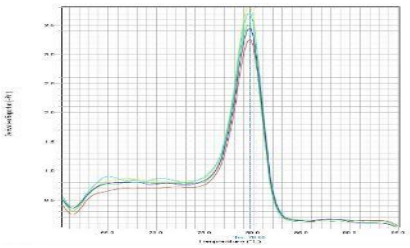
Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

جدول ۱: پرایمرهای Forward و Reverse طراحی شده و توالی های آن ها برای اندازه گیری ژن *miR-146a*

miR-146a-F	5- ATTTTACAGGGCTGGGACAG-3
miR-146a-R	5-TCT TCCAAGCTCTTCAGCAG-3
GAPDH-F	5- GAA GGT GAA GGT CGG AGT CA-3
GAPDH-R	5- TTG AGG TCA ATG AAG GGG TC-3



نمودار۱. منحنی ذوب ژن *miR-146a*



نمودار۲. منحنی ذوب *GAPDH*

تجزیه و تحلیل آماری

در پژوهش حاضر، از آمار توصیفی برای توصیف، طبقه‌بندی و تنظیم داده‌ها از طریق میانگین، انحراف استاندارد، رسم جدول و نمودار استفاده شد. در بخش آمار استنباطی ابتدا از آزمون شاپیروویلک، برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها استفاده گردید. سپس برای داده‌هایی که توزیع آن‌ها نرمال بود، آزمون تی‌مستقل برای تعیین تفاوت بین گروه‌ها و تی‌وابسته برای بررسی تفاوت درون‌گروهی، به کار برده شد. از سویی داده های غیرنرمال از طریق آزمون من‌ویتنی و ویلکاکسون برای تعیین تفاوت بین گروهی و درون گروهی، مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ در نظر گرفته شد و همه تجزیه تحلیل ها از طریق نرم‌افزار SPSS v 16 انجام گرفت.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر دارای تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه آزاد رشت می باشد (کد اخلاق IR.IAU.RASHT.REC.1396.93).

نتایج

اطلاعات فردی مربوط به هر آزمودنی در جدول دو ارائه شده است. نتایج آزمون شاپیروویلک نشان داد که همه متغیرها به جز IL-6 در گروه تمرین پس از دوازده هفته دوره تمرین، توزیع نرمال داشتند. بنابراین نتایج مربوط به آن‌ها از طریق آزمون تی‌مستقل و تی‌وابسته به دست آمده و در جدول سه ارائه شده است.

جدول۲: مشخصات فردی، تن‌سنجی و ترکیب بدن آزمودنی‌ها به تفکیک گروه (میانگین ± انحراف معیار)

متغیرها	گروه کنترل	گروه تمرین	P
سن(سال)	۶۳/۴±۶/۱	۶۳/۳±۲/۷	-
قد(cm)	۱۵۴/۹±۴/۵	۱۵۷/۰±۶/۹	-
وزن(kg)	۶۹/۷±۱۰/۸	۷۱/۲۳±۹/۳	۰/۷۴۹
ضربان قلب استراحت(ضربه در دقیقه)	۷۹±۸	۷۷±۵	۰/۶۰۴
درصد چربی	۳۷/۰±۱۰/۲	۴۳/۰±۳/۶	۰/۱۱۴
درصد عضله	۲۹/۲±۱۱/۲	۲۳/۱±۱/۷	۰/۱۲۷
درصد چربی احشایی	۱۰/۶±۳/۴	۱۰/۵±۱/۵	۰/۶۸۴

نتایج آزمون تی مستقل برای تعیین تفاوت دو گروه مطالعه، قبل از شروع دوره تمرین در سطح معنی داری P≤۰/۰۵

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

جدول ۳: نتایج تعیین تفاوت بین دو گروه پیاده‌روی سریع و شاهد

متغیرها	گروه	مراحل آزمون	میانگین انحراف معیار	درجه آزادی(df)	مقدار t	معنی داری(p)
BMI(kg/m2)	گروه پیاده‌روی	پیش آزمون	۲۹/۰۳ ± ۳/۳۳	۱۸	-۳/۷۱	۰/۰۰۲
		پس آزمون	۲۸/۰۹ ± ۲/۷۰			
	گروه شاهد	پیش آزمون	۲۹/۱۱ ± ۴/۸۲			
		پس آزمون	۲۹/۳۲ ± ۴/۵۵			
دور کمر(cm)	گروه پیاده‌روی	پیش آزمون	۹۴/۶ ± ۵/۳	۹/۱۹	-۲/۵۷	۰/۰۲۹
		پس آزمون	۹۳/۶ ± ۴/۶			
	گروه شاهد	پیش آزمون	۹۲/۱ ± ۳/۴			
		پس آزمون	۹۲/۲ ± ۳/۰			

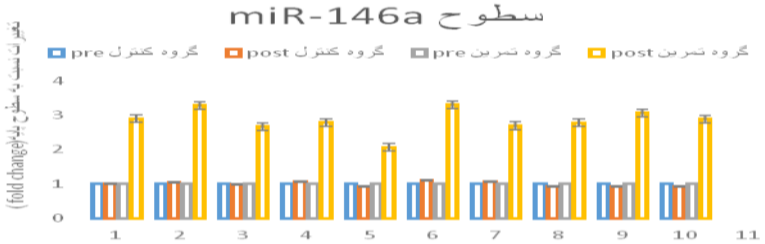
سطح معنی داری P≤۰/۰۵ بوده و علامت * مشخص کننده این است که نتایج آزمون تی مستقل در آن بخش تفاوت معنی دار داشته است.

جدول ۴: نتایج تعیین میزان تفاوت در دو گروه پیاده روی و کنترل در قبل و پس از دوره تمرین

گروه ها	متغیرها	پیش آزمون	پس آزمون	درجه آزادی(df)	ارزش t	ارزش p
		میانگین و انحراف معیار	میانگین و انحراف معیار			
گروه پیاده‌روی	BMI(kg/m2)	۲۹/۰۳ ± ۳/۳۳	۲۸/۰۹ ± ۲/۷۰	۹	۳/۴۰۹	*۰/۰۰۸
	دور کمر(cm)	۹۴/۶ ± ۵/۳	۹۳/۶ ± ۴/۶	۹	۲/۴۶۴	۰/۰۳۶
	IL-6 (pg/ml)	۲/۴۶ ± ۱/۴۵	۲/۳۴ ± ۱/۳۴	۹	۲/۱۹۸	-
گروه شاهد بدون تمرین	BMI(kg/m2)	۲۹/۱۱ ± ۴/۸۲	۲۹/۳۲ ± ۴/۵۵	۹	-۱/۴۸۹	۰/۱۷۱
	دور کمر(cm)	۹۲/۱ ± ۳/۴	۹۲/۲ ± ۳/۰	۹	-۰/۳۱۹	۰/۷۵۷
	IL-6 (pg/ml)	۲/۱۳ ± ۰/۸۵	۲/۱۹ ± ۰/۷۵	۹	-۱/۰۰۲	۰/۳۴۲

سطح معنی داری P≤۰/۰۵ بوده و علامت * مشخص کننده این است که نتایج آزمون تی وابسته در آن بخش تفاوت معنی دار داشته است.

برای متغیر IL-6 در گروه تمرین به دلیل توزیع غیرطبیعی از معادل ناپارامتریک تی‌مستقل، یعنی آزمون آماری من‌ویتنی برای بررسی تفاوت بین‌گروهی و آزمون ویلکاکسون برای بررسی تغییرات درون‌گروهی استفاده شد. نتایج آزمون من‌ویتنی نشان داد که مقدار Z به دست آمده ۳/۶۶۹ - و با میزان معنی‌داری P=۰/۰۰۱ می‌باشد. بنابراین سطوح پلاسمایی IL-6 پس از انجام ۱۲ هفته پیاده‌روی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بدون تمرین، کاهش داشت. نتایج آزمون ویلکاکسون برای بررسی تغییرات درون گروهی در گروه تمرین نشان داد که IL-6 در ۹ آزمودنی پس از دوره تمرین کاهش یافت (p=۰/۰۳۷ و Z=-۲/۰۹۱) و تنها در یک آزمودنی مقادیر آن نسبت به پیش آزمون اندکی افزایش نشان داد.



نمودار ۳: نتایج آزمون تی مستقل برای *miR-146a* نشان داد که میانگین گروه تمرین(۲/۸۴ ۰±۰/۳۵) پس از انجام ۱۲ هفته پیاده روی نسبت به میانگین گروه کنترل (۰/۰۶± ۰/۹۹)، به میزان ۲ تا ۳ برابر افزایش یافت p=۰/۰۲۷، P≤۰/۰۵).

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

بحث

ارتباط نزدیک میان التهاب و فعالیت جسمانی آثار مهمی بر سازگاری تمرین و سلامتی دارد. با این حال، تا کنون اطلاعات محدودی در زمینه پاسخ microRNA های درگیر در مسیرهای التهابی (c-inflammamiR) به تمرین حاد و مزمن در دسترس است. با در نظر گرفتن نقش مهم این ژن های کوچک در ارتباطات سلولی، و پتانسیل آن ها به عنوان نشانگرهای زیستی در پژوهش حاضر تغییر سطوح *miR-146a* در گردش خون در پاسخ به ۱۲ هفته پیاده روی با شدت ۷۰ تا ۷۵ درصد HRRmax، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پیاده روی سریع منجر به افزایش بیان *miR-146a* در گردش می شود (P≤۰/۰۵). هم چنین، سطوح پلاسمایی واسطه التهابی مانند IL-6، BMI و دور کمر، در آزمودنی های زن سالمند، پس از انجام سه ماه پیاده روی منظم، به طور معنی داری کاهش یافت (P≤۰/۰۵).

امروزه درباره تنظیم و عملکرد پدیده های اپی ژنتیکی مانند miRNAها در پاسخ به تمرینات طولانی مدت استقامتی، اطلاعات کمی در دسترس است. برخی از مطالعات گذشته آثار یک وهله تمرین هوازی یا مقاومتی را بر بیان *miR-146a* مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که سطوح آن در پاسخ به تمرین حاد افزایش می یابد و این افزایش به دنبال تمرین استقامتی (۳۴) و با شدت بالا (۱۵) به میزان بیشتری آشکار می شود. این واضح است که فعالیت ورزشی منجر به اختلالات فیزیکی و شیمیایی مانند تغییر در pH (سطح اسیدیته بدن)، دمای موضعی، پاسخ التهابی حاد مانند استرس برشی نوتروفیل ها، افزایش سیستماتیک در سایتوکاین ها و فاکتورهای رشد (مانند IL-6 و هورمون رشد) می شود که همه این واکنش ها از اقدامات ضروری سیستم ایمنی بدن نسبت به خطر بوده و هر کدام به نوبه خود می تواند فرآیندهای تنظیم کننده ژنی و به دنبال آن نیمرخ miRNA ها را تغییر دهد (۳۵). در تایید این آثار، باگیش و همکاران (۲۰۱۴) سطوح برخی از miRNA ها را در دونده های مرد سالم، پس از یک وهله دوی ماراتن ارزیابی کردند. آن ها گزارش کردند سطوح *miR-146a* بلافاصله پس از تمرین نسبت به سطوح استراحتی افزایش و ۲۴ ساعت پس از آن کاهش یافت (۳۶). این یافته ها ممکن است نشان دهد که miRNA های التهابی ممکن است پاسخ متفاوت و ویژه ای در پاسخ به تمرین حاد و مزمن داشته باشند. در توجیه این فرآیندها سه مسیر اصلی شناخته شده است که ژن های مورد هدف miRNAها و ژن هایی که بیان شان به واسطه تمرین تحت تاثیر قرار می گیرد در آن ها درگیر می شوند که شامل مسیر پروتئولیزی به واسطه یوبیکوئیتین (ubiquitin-mediated proteolysis pathway)، مسیر سیگنالینگ جانوس کیناز(-Jak STAT signaling pathway) و مسیر سیگنالینگ Hedgehog (مسیر درگیر در القا و مرگ سلول های سرطانی) می باشند. نشان داده شده است که اغلب ژن های هدف miRNA ها و ژن های تغییر یافته در اثر تمرین در مسیر پروتئولیزی وابسته به یوبیکوئیتون درگیر می شوند. با این که در پژوهش حاضر اجزای عملکردی این مسیر مورد بررسی قرار نگرفت اما گزارش ها حاکی از این است که مسیرهای یوبیکوئیتین و جانوس کیناز، نقش کلیدی نظارتی در عملکرد التهاب دارند و از طریق تمرین تحت تاثیر قرار می گیرند. برای مثال بر پایه روش های متعدد و پیچیده آشکار شده است که ژن های حاضر در این مسیرها موجب تغییر تنظیم NF-kB می شوند که در کنترل عملکرد ایمنی و التهابی نقش دارد (۳۵).

بنابراین این مکانیزم ها توجیه می کنند که چرا در سالمندی همراه با کاهش *miR-146a* میزان التهاب و نشانگر IL-6 افزایش می یابد و اگر تمرین بتواند در بیش تنظیمی این micRNA های ضدالتهابی نقش داشته باشد احتمالاً می تواند در کاهش التهاب سیستمیک در سالمندی و عوارض پس از آن موثر واقع شود. از سویی نشان داده شده است که افزایش این نشانگرها پس از تمرین حاد بر خلاف مکانیزم های اثر گذار بر سایتوکاین ها نه تنها منجر به سرکوب آن ها پس از اتمام تمرین نشده، بلکه باعث تنظیم افزایشی آن ها می شود. به جز مسیرهای یاد شده مورد هدف *miR-146a*، این ژن کوچک با پاسخ های التهابی سلول های دیگر مانند CD80 (از سلول های سیستم ایمنی) و GLUT3 (از واسطه های داخل سلولی) در

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

ارتباط بوده و می تواند در کاهش این عوامل به دنبال تمرین حاد نقش داشته باشد (۹,۳۵). با این حال، نتایج پژوهش دی گونزالو و همکارانش (۲۰۱۵) این آثار تمرین را آشکار نکرد. آن ها به بررسی تغییر در سطوح نشانگرهای التهابی مانند IL-6 و هم چنین برخی از miRNA ها مانند *miR-146a* به طور هم زمان، پس از سه کوشش متفاوت فعالیت هوازی پرداختند و نشان دادند که اگر چه سطوح نشانگر التهابی IL-6 بلافاصله پس از فعالیت های ماراتن و نیمه ماراتن افزایش یافت و ۲۴ ساعت بعد به مقادیر پایه بازگشت، در هیچ کدام از زیرمجموعه های *miR-146a* به ویژه پس از یک دوی ۱۰ کیلومتری و مسابقه ماراتن، تغییری مشاهده نشد (۱۶). البته آثار مشاهده شده در این پژوهش ناشی از یک وهله تمرین بوده و احتمالاً نیاز است تا تحقیقات بیشتری بر روی آثار درازمدت فعالیت جسمانی و به ویژه فعالیت هوازی در این زمینه صورت گیرد. زیرا باید توجه داشت که افزایش سریع در سطوح miRNAها به دنبال تمرین حاد را بعید است که به توان از طریق فرآیند رونویسی ژن توجیه کرد. فرآیندهای قابل قبول ممکن است پردازش پس از رونویسی ژن های موجود اما غیرفعال(یا ژن های قبل از بلوغ) یا افزایش سریع در ترشح سلولی و خروج miRNAهای داخل سلولی باشد. در مقابل افزایش miRNAها پس از تمرین مزمن منظم علاوه بر فرآیندهای ناشی از تمرین حاد، رونویسی از ژن را نیز تحریک می کند (۹). از سوی دیگر انتشار miRNA از بافت های عضلانی محیطی به دنبال تمرینات هوازی شدید و اکسنتریک (برونگرا) که موجب آسیب های میکروسکوپی به سلول های عضلانی می شوند، ممکن است به افزایش در سطوح c-miRNA، کمک کند(۳۷). در نتیجه به دلیل آثار مفید تمرینات هوازی، ACSM خاطر نشان کرده است که پیاده روی سریع و با شدت بالا (در محدوده ۹۰-۵۵ درصد حداکثر ضربان قلب یا ۸۵-۴۰ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره) یکی از شکل های ساده تمرین و با فواید سلامتی بسیار است (۳۲). بنابراین در پژوهش حاضر اثر ۱۲ هفته پیاده روی سریع با افزایش تدریجی در مدت زمان جلسات تمرین در زنان سالمند مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که سطوح *miR-146a* در پاسخ به تمرین به میزان ۲ تا ۳ برابر افزایش یافت. همسو با نتایج پژوهش حاضر باگیش و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کردند که سطوح برخی از miRNA ها از جمله *miR-146a* در پاسخ به هر دو تمرین حاد و ۹۰ روز تمرین مداوم (شامل بیشتر تمرینات هوازی و هم تمرینات مقاومتی) در افراد تمرین کرده و بالای ۱۸ سال به طور قابل توجهی تغییر می کند. بنابراین این مولکول ها می توانند هم به استرس های اولیه و هم سازگاری طولانی مدت تمرین، پاسخ دهند. با این حال در این پژوهش شدت تمرین مانند پژوهش حاضر به دقت مورد نظارت قرار نگرفت (۹).

از آن جایی که علاوه بر عضله اسکلتی، انواع بافت های دیگر درگیر در فعالیت ورزشی مانند عضله قلب، عضلات صاف، پلاکت ها و لکوسیت های پلاسمایی و به ویژه عضلات اندوتلیوم عروقی می توانند miRNAهایی مانند *miR-146a* (که در گسترش عروق و سازگاری با تمرین نیز نقش دارد) به فضای خارج سلولی و خون آزاد کنند، بنابراین نتایج پژوهش حاضر و مطالعات مشابه ممکن است قابل توجیه باشد (۳۸). با این حال ناهمسو با نتایج پژوهش حاضر ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) تاثیر پنج ماه پیاده روی روی تردمیل را بر روی ۱۲۰ عدد miRNAs موجود در پلاسما در افراد سالمند چاق بررسی کردند. با این که طول دوره پژوهش طولانی تر و تعداد جلسات تمرین نیز بیشتر (۴ جلسه در هفته) بود، اما تغییری در *miR-146a* پس از پایان دوره تمرین مشاهده نکردند (۱۷). جونیور و همکارانش (۲۰۱۷) نیز تاثیر دو هفته برنامه دایره ای و پیاده‌روی با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد ذخیره ضربان قلب هدف (HRR) را بر روی افراد سالمند دیابتی و غیردیابتی، بررسی کردند و نشان دادند که تنها در افراد دیابتی میزان *miR-146a* پس از برنامه تمرین افزایش معنادار داشت و این آثار در افراد سالمند غیردیابتی مشاهده نشد اگر چه این نتیجه موجب شد که این *miR-146a* به عنوان یک نشانگر آنتی دیابتیک در سالمندان در نظر گرفته شود (۶). هم چنین در یک مطالعه اخیر، تاثیر پنج ماه پیاده روی بر روی تردمیل با یک شدت پیش رونده (از ۵۰ درصد

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

HRR آغاز شد و در انتها به ۷۰ درصد رسید) بر روی افراد سالمند بررسی شد و در فراوانی چهار عدد miRNA افزایش مشاهده شد، اما در سطوح *miR-146a* تغییری مشاهده نشد که این نتیجه با نتیجه به دست آمده از پژوهش حاضر هم خوانی نداشت (۱۷). البته همان طور که پیش‌تر اشاره شد، حجم و شدت تمرین از عوامل اثرگذار در سازگاری با تمرین می‌باشند، بنابراین شاید حجم یا شدت برنامه تمرین آن ها برای آشکار شدن آثار مفید تمرین در سالمندان سالم حتی با وجود التهاب درجه خفیف سیستمیک، کافی نبوده است.

در پژوهش حاضر نشانگر التهابی IL-6، ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین به طور معنی داری کاهش یافت که با نتایج پژوهش فریدینریچ و همکارانش (۲۰۱۵) همسو نبود. آن ها هیچ تغییر معنی داری را در میزان نشانگرهای IL-6 و TNF-α پس از شش و ۱۲ ماه تمرین هوازی نسبت به سطوح پایه مشاهده نکردند و نشان دادند که مدت زمان انجام تمرین در محدوده ضربان قلب هدف (یعنی محدوده ۷۵-۶۵ درصدی ضربان قلب ذخیره)، به طور بالقوه ای عامل اثرگذارتری نسبت به مدت زمان کل تمرین انجام شده، در کاهش نشانگرهای التهابی است. بنابراین پیشنهاد کردند که احتمالاً انجام دوره های طولانی از تمرین شدید می تواند در کاهش التهاب مزمن در زنان ۵۰ تا ۷۵ ساله موثرتر واقع شود (۲۰). در پژوهش حاضر، شدت بالای ضربان قلب هدف در آزمودنی های سالمند و در مدت زمان کوتاه تری نسبت به پژوهش پژوهش فریدینریچ و همکاران در نظر گرفته شد و کاهش معنی داری در سطوح IL-6 مشاهده گردید. نتایج نشان داد که انجام پیاده روی با شدت بالا، آثار مفیدی بر نشانگرهای التهاب و تنظیم کننده های آن خواهد گذاشت. همسو با نتایج پژوهش حاضر محققان، نشان داده اند در آزمودنی هایی که سن آن ها بیشتر از ۶۰ سال است، آمادگی جسمانی پایین و درصد چربی بالا دارند یا چاق هستند، حتی حجم متوسط تمرین نیز می تواند به کاهش بزرگی در مقادیر CRP و IL-6 بیانجامد. زیرا بافت چربی به عنوان منبعی از سایتوکاین های پیش التهابی، شناخته شده است (۳۹, ۲۰). با این حال باید توجه داشت در پژوهش حاضر تفاوت قابل توجه و اما غیرمعنی داری در ترکیب بدن (درصد چربی و توده عضلانی) میان گروه تمرین و شاهد قبل از شروع برنامه تمرین وجود داشته و بنابراین شاید یکی از دلایل احتمالی تغییرات مشاهده شده این باشد که آزمودنی ها در گروه تمرین با ویژگی های فوق، سطوح بالاتری از التهاب را دارا هستند و ممکن است از انجام تمرین منظم و با شدت بالا، فواید کافی را کسب نمایند. از سویی، برنامه تمرینی که به تواند کاهش بیشتری در بافت چربی ایجاد کند، احتمالا می تواند منجر به کاهش بیشتری در سطوح سایتوکاین های موجود در گردش خون، شود. از آن جا که شاخص توده بدن، پس از ۱۲ هفته پیاده روی کاهش معنادار داشت، احتمالاً با کاهش در نشانگرهای التهاب، در ارتباط بوده است. ناهمسو با این نتایج پیلچ و همکارانش (۲۰۱۸) اخیرا نشان داده اند که به دنبال ۱۲ هفته پیاده روی با چوب دستی مخصوص (پیاده روی نوردیک)، علیرغم کاهش توده چربی و افزایش توده بدون چربی، تغییری در سطوح IL-6 زنان میانسال حاصل نشد (۳۰). اتفاق نظر در گذشته بر این بوده که فعالیت جسمانی به طور بالقوه می تواند از طریق دو دسته مکانیزم در کنترل وضعیت التهابی نقش داشته باشد: اول، از طریق کنترل منبع مستقیم التهاب (به طور عمده کاهش جرم بافت چربی) و دوم از طریق تحریک غیرمستقیم ترشح سایتوکاین های ضدالتهابی از عضله اسکلتی (۸). IL-6 که یک نشانگر التهابی در دوران سالمندی است، به عنوان اولین مایوکاینی شناخته می شود که به میزان زیادی از عضلات به دنبال فرآیند انقباض عضلانی، رها می شود. این IL-6 آزاد شده از عضله نقش مخالفی ایفا کرده، اثرات ضدالتهابی داشته و به عنوان مسدود کننده مسیرهای سیگنالینگ التهاب، عمل می کند (۱۸). این نشانگر آزاد شده از عضله در پی انجام فعالیت ورزشی، وقتی وارد گردش خون می شود، می تواند سطوح سایتوکاین های ضدالتهابی اینترلوکین ۱۰ (IL-10) و آنتاگونیست گیرنده اینترلوکین ۱ (IL-ra) افزایش دهد و به این ترتیب در ارائه نقش ضدالتهابی، موثر واقع شود (۸) حتی گزارش شده است افزایش IL-6 پس از انجام یک وهله کوشش تمرینی حاد و شدید (۱۸)،پس از رهایی از عضله در طی

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

انقباض عضلانی، دارای اثر ضدالتهابی است(۲۰) ، این وضعیت می تواند اثرات قدرتمند ضدالتهابی پس از انجام سطوح بالایی از تمرینات شدید، منظم و در محدوده اثرگذار ضربان قلب هدف را توجیه کند. بنابراین تغییرات گزارش شده در پژوهش حاضر ممکن است به دلیل مجموع فرآیندهای متقابل میان نشانگرهای خونی مانند *miR-146a* و سایتوکاین ها، مکانیزم های جداگانه هر کدام در پاسخ به تمرین و تغییرات معنی دار در ترکیب بدن مانند BMI باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که miRNAهای التهابی به واسطه تمرین استقامتی شدید تحت تاثیر قرار گرفته و بهبود می یابند. این آثار ممکن است در کاهش وضعیت التهاب سیستمیک مزمن در سالمندی نقش مهمی داشته باشد. بنابراین مطابق نتایج پیشنهاد می شود که سالمندان با انتخاب یک سبک زندگی فعال و با انجام تمرینات منظم با شدت متوسط رو به بالا، می توانند در جهت کاهش عوامل خطر مرتبط با سالمندی و بیماری گام بردارند. از محدودیت های پژوهش حاضر می توان به ناتوانی در همسان سازی سطح فعالیت بدنی پیش از شروع برنامه تمرین، عدم نظارت دقیق بر تغذیه و خواب آزمودنی ها اشاره کرد. هم چنین پیشنهاد می شود پژوهش حاضر با میزان آزمودنی های بیشتر، در انواع و شدت های متفاوت تمرین، با بررسی تعداد بیشتری از miRNAهای التهابی و ارتباط متقابل آن ها با سایتوکاین ها انجام گیرد.

سپاسگزاری

از تمامی عزیزانی را که ما را در جهت انجام پژوهش حاضر، یاری کردند به ویژه از همکاری کارکنان آزمایشگاه بیوتکنولوژی پیشگامان انتقال ژن دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، صمیمانه تشکر می شود. پژوهش حاضر از پایان نامه دکتری دانشگاه آزاد رشت که با هزینه شخصی انجام گردیده استخراج شده است.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1- Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, et al. ***Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases***. J Am Med Dir Assoc 2013;14(12): 877-82.

2- Singh T, Newman AB. ***Inflammatory markers in population studies of aging***. Ageing Res Rev 2011;10(3): 319-29.

3- Shabani R, Yosefizad L, Fallah F. ***Effects of eight weeks of endurance-resistance training on some inflammatory markers and cardiovascular endurance in sedentary postmenopausal women***. Iranian J Obstetrics, Gynecology Infertility 2017; 20(1): 23-30.[Persian]

4- Olivieri F, Rippo MR, Procopio AD, Fazioli F. ***Circulating inflamma-miRs in aging and age-related diseases***. Front Genet 2013;4:121.

5- ElSharawy A, Keller A, Flachsbart F, Wendschlag A, Jacobs G, Kefer N, et al. ***Genome wide miRNA signatures of human longevity.*** Aging Cell 2012; 11(4): 607-16.

6- Junior GSM, Souza VC, Machado-Silva W, Henriques AD, Alves AM, Morais DB, et al. ***Acute strength training promotes responses in whole blood circulating levels of miR-146a among older adults with type 2 diabetes mellitus***. Clin Interv Aging 2017;12:1443-50.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

7- Jiang M, Xiang Y, Wang D, Gao J, Liu D, Liu Y, et al. ***Dysregulated expression of miR- 146a contributes to age related dysfunction of macrophages***. Aging Cell 2012;11(1): 29-40.

8- Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. ***The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease***. Nat Rev Immunol 2011;11(9): 607-15.

9- Baggish AL, Hale A, Weiner RB, Lewis GD, Systrom D, Wang F, et al. ***Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training***. The J physiol 2011; 589(16): 3983-94.

10- Sawada S, Kon M, Wada S, Ushida T, Suzuki K, Akimoto T. ***Profiling of circulating microRNAs after a bout of acute resistance exercise in humans.*** PloS One 2013; 8(7): e70823.

11- Denham J, Prestes PR. ***Muscle-enriched microRNAs isolated from whole blood are regulated by exercise and are potential biomarkers of cardiorespiratory fitness***. Front Genet 2016;7:196.

12- Cui S, Sun B, Yin X, Guo X, Chao D, Zhang C, et al. ***Time-course responses of circulating microRNAs to three resistance training protocols in healthy young men***. Sci Rep 2017; 7(1): 2203.

13- Van Craenenbroeck AH, Ledeganck KJ, Van Ackeren K, Jürgens A, Hoymans VY, Fransen E, et al. ***Plasma levels of microRNA in chronic kidney disease: patterns in acute and chronic exercise.*** Am J Physiology-Heart Cir Physiol 2015; 309(12): H2008-H16.

14- Nielsen S, Åkerström T, Rinnov A, Yfanti C, Scheele C, Pedersen BK, et al. ***The miRNA plasma signature in response to acute aerobic exercise and endurance training***. PloS one 2014; 9(2): e87308.

15- Guescini M, Canonico B, Lucertini F, Maggio S, Annibalini G, Barbieri E, et al. ***Muscle releases alpha-sarcoglycan positive extracellular vesicles carrying miRNAs in the bloodstream***. Plos One 2015;10(5):e0125094.

16- de Gonzalo-Calvo D, Dávalos A, Montero A, García-González Á, Tyshkovska I, González-Medina A, et al. ***Circulating inflammatory miRNA signature in response to different doses of aerobic exercise***. J applied physiology 2015;119(2):124-34.

17- Zhang T, Brinkley TE, Liu K, Feng X, Marsh AP, Kritchevsky S, et al. ***Circulating MiRNAs as biomarkers of gait speed responses to aerobic exercise training in obese older adults***. Aging 2017; 9(3): 900-13.

18- Petersen Am, Pedersen B. ***The role of IL-6 in mediating the anti inflammatory***. J Physiol Pharmacol 2006; 57: 43-51.

19- Geffken DF, Cushman M, Burke GL, Polak JF, Sakkinen PA, Tracy RP. ***Association between physical activity and markers of inflammation in a healthy elderly population***. Am J Epidemiol 2001; 153(3): 242-50.

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

20- Friedenreich CM, O'Reilly R, Shaw E, Stanczyk FZ, Yasui Y, Brenner DR, et al. ***Inflammatory marker changes in postmenopausal women after a year-long exercise intervention comparing high versus moderate volumes***. Cancer Prev Res 2016; 9(2):196-203.

21- Kangas R, Törmäkangas T, Heinonen A, Alen M, Suominen H, Kovanen V, et al. ***Declining Physical Performance Associates with Serum FasL, miR-21, and miR-146a in Aging Sprinters***. BioMed Research International 2017; 2017: 14.

22- Morris JN, Hardman AE. ***Walking to health***. Sports medicine. 1997;23(5):306-32.

23- Santos Rd, Viana VAR, Boscolo RA, Marques V, Santana MGd, Lira FSd, et al. ***Moderate exercise training modulates cytokine profile and sleep in elderly people***. Cytokine 2012;60(3):731-5.

24- Elosua R, Bartali B, Ordovas JM, Corsi AM, Lauretani F, Ferrucci L. ***Association between physical activity, physical performance, and inflammatory biomarkers in an elderly population: the InCHIANTI study***. J Gerontol Series A Biol Sci Med Sci 2005; 60(6): 760-7.

25- Nicklas BJ, Hsu FC, Brinkley TJ, Church T, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, et al. ***Exercise training and Plasma Creactive Protein and Interleukin 6 in elderly people***. J Am Geriatr Soc 2008; 56(11): 2045-52.

26- Farinha JB, Steckling FM, Stefanello ST, Cardoso MS, Nunes LS, Barcelos RP, et al. ***Response of oxidative stress and inflammatory biomarkers to a 12-week aerobic exercise training in women with metabolic syndrome***. Sports Med Open 2015;1(1):19.

27- Beavers KM, Hsu FC, Isom S, Kritchevsky SB, Church T, Goodpaster B, et al. ***Long-term physical activity and inflammatory biomarkers in older adults.*** Med sci sport Exer 2010; 42(12): 2189-96.

28- Forti LN, Van Roie E, Njemini R, Coudyzer W, Beyer I, Delecluse C, et al. ***Load-specific inflammation mediating effects of resistance training in older persons***. J Am Med Dir Assoc 2016; 17(6): 547-52.

29- Libardi CA, De GS, Cavaglieri CR, Madruga VA, Chacon-Mikahil M. ***Effect of resistance, endurance, and concurrent training on TNF-α, IL-6, and CRP***. Med Sci Sports Exer 2012;44(1):50-6.

30- Pilch W, Tota Ł, Piotrowska A, Śliwicka E, Czerwińska-Ledwig O, Zuziak R, et al. ***Effects of Nordic Walking on Oxidant and Antioxidant Status: Levels of Calcidiol and Proinflammatory Cytokines in Middle-Aged Women***. Oxidative Med Cellular Longevity 2018; 2018: 6.

31- Banzet S, Chennaoui M, Girard O, Racinais S, Drogou C, Chalabi H, et al. ***Changes in circulating microRNAs levels with exercise modality.*** J Appl Physiol 2013;115(9):1237-44.

32- Pescatello LS, Thompson WR, Gordon NF. ***A preview of ACSM's guidelines for exercise testing***

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019

and prescription. ACSM's Health & Fitness J 2009;13(4):23-6.

33- Buyukyazi G, Ulman C, Çelik A, Çetinkaya C, Şişman A, Çimrin D, et al. ***The effect of 8-week different-intensity walking exercises on serum hepcidin, IL-6, and iron metabolism in pre-menopausal women***. Physiol Int 2017; 104(1): 52-63.

34- Wardle SL, Bailey ME, Kilikevicius A, Malkova D, Wilson RH, Venckunas T, et al. ***Plasma microRNA levels differ between endurance and strength athletes.*** Plos One 2015;10(4):e0122107.

35- Radom-Aizik S, Zaldivar Jr F, Oliver S, Galassetti P, Cooper DM***. Evidence for microRNA involvement in exercise-associated neutrophil gene expression changes.*** J Appl Physiol 2010;109(1):252-61.

36- Baggish AL, Park J, Min PK, Isaacs S, Parker BA, Thompson PD, et al. ***Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise***. J Appl Physiol 2014;116(5):522-31.

37- Clarkson P. ***Eccentric exercise and muscle damage.*** International J Sports Med 1997;18(S 4): S314-S7.

38- Zhang Y, Liu D, Chen X, Li J, Li L, Bian Z, et al. ***Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration***. Mol Cell 2010; 39(1):133-44.

39- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. ***Adipose tissue as an endocrine organ***. Molecular Cellular Endocrinology 2010; 316(2):129-39.

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 9 | Jun 2019

Received: 7 Jun 2018
Accepted: 13 Oct 2018

Investigation on the effect of endurance training on blood circulating levels of Mir-146a and plasma levels of il-6 in sedentary elderly women

Fateme Fallah[1], Farhad Rahmani Nia[*2], Ramin Shabani[3], Zahra Hojati Zidashti[4]

Original Article

Introdution: Ageing is associated with systemic inflammation. MicroRNA-146a (miR-146a) is a critical negative regulator of inflammation and its level was found to decrease with ageing. The aim of this study was to analyze the effect of regular brisk walking on blood circulating levels of miR-146a and plasma levels of Interlukine-6 (IL-6) in sedentary elderly women.

Methods: In this quasi-experimental study, 20 aged women (63.5±3.9 years) were randomly allocated to the endurance training (n=10), and control groups (n=10). Training group (TG) walked at 70-75% maximum heart rate reserve (HRRmax), three times a week for twelve weeks. Control group remained untrained during the study period. Blood samples were collected before and 72 hours after the last session of endurance training for measuring concentration of miR-146a and IL-6. Independent T-test, Paired T-test, Mann Whitney, and Wilcoxon were used after the data analysis base on normalization. Statistical analysis was performed using SPSS software version 24 and the significant level was set at $P \leq 0.05$.

Results: The results revealed that the levels of miR-146a increased (P=0.027) and the levels of IL-6 decreased (P=0.001) significantly in response to the endurance training protocol, and these changes were associated with a decrease in body mass index (BMI) (P=0.002).

Conclusion: According to the result of the present study, brisk walking training may be considered as an effective training mode for helping to decrease the blood inflammatory factors. The findings also suggest that microRNAs can be improved, after regular walking, in old adult.

Keywords: Inflammation, MicroRNAs, miR-146a, InterLukine-6, Walking.

Citation: Fallah F, Rahmani Nia F, Shabani R, Hojati Zidashti Z. **Investigation on the effect of endurance training on blood circulating levels of mir-146a and plasma levels of il-6 in sedentary elderly women.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 26(9): 895-909.

[1]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Guilan, Iran.
[2]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Guilan University, Guilan, Iran.
[3]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Guilan, Iran.
[4]Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanities, Rasht Branch, Islamic Azad University, Guilan, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09113317344, **email:** frahmani2001@yahoo.com

Downloaded from jssu.ssu.ac.ir at 13:22 IRST on Wednesday February 27th 2019