Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2022; Vol. 46; No. 4

The effect of Eight Weeks High- Intensity Interval Training (HIIT) on the Expression of miRNA-21 and miRNA-1 in Diabetic Male Rats

Javad Vakili[1*], Sohrab Ghale Gir[1], Mostafa Khani[1], Karim Azali Alamdari[2]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2. Department of Sport Sciences, Faculty of Education and Psychology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

Received: June 13, 2022; Accepted: July 19, 2022

Abstract

Background and Aim: Diabetes is a group of metabolic disorders that affect the structure and function of other organs in the body, such as the myocardium, and is referred to as cardiomyopathy. However, due to the role of exercise in preventing and treating diabetes complications, the present study was performed to determine the effect of diabetes and high- intensity interval training (HIIT) on tissue expression of miRNA-1 and miRNA-21 in the left ventricle of diabetic male rats.

Methods: In this experimental study, twenty adult Wistar male rats were selected and randomly divided into two groups: diabetic and diabetic with HIIT (T) protocols. Accordingly, the rats underwent the HIIT program on smart electronic tape recorders for eight weeks, five days a week. HIIT training was performed with an intensity of 90-85% of maximum speed 6-12 times for 2 minutes and with 3-minute active rest intervals with an intensity of 30% VO2max. At the end of the study contract, all rats were anesthetized and operated on 48 hours after the last intervention without a painless method to determine changes in miR-1 and miR-21 gene expression by real-time PCR in left ventricular tissue.

Results: The results showed that the quantitative relative expression of miRNA-1 in the HIIT + diabetes group was (0.00005 ± 0.000001) and diabetes control (0.00018 ± 0.000005). The Quantitative relative expression of miRNA-21 in the HIIT + diabetes group was (0.00025 ± 0.000001) and in the diabetes control group (0.00011 ± 0.000016). Eight weeks of HIIT training significantly increased the relative expression of miRNA-21 and decreased the expression of miRNA-1 in diabetic rats ($P < 0.05$). In contrast, the results showed that after eight weeks of diabetes, the relative expression of miRNA-21 decreased significantly, and the expression of miRNA-1 increased ($P < 0.05$).

Conclusion: Based on the results of this study, it seems that miRNA-210 can be used as an indicator to assess the adaptations associated with exercise training.

Keywords: High- Intensity Interval Training; miRNA-1; miRNA-21; rats; diabetes

Please cite this article as: Vakili J, Ghale Gir S, Khani M, Azali Alamdari K. The effect of Eight Weeks High- Intensity Interval Training (HIIT) on the Expression of miRNA-21 and miRNA-1 in Diabetic Male Rats. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(4):99-110.

[*]**Corresponding Author:** Javad Vakili; Email: vakili@tabrizu.ac.ir

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۶، شماره ۴، سال ۱۴۰۱ شمسی، صفحات ۹۹ تا ۱۱۰

تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر بیان miRNA-1 و miRNA-21 بطن چپ رت‌های نر دیابتی

جواد وکیلی[1*]، سهراب قلعه‌گیر[1]، مصطفی خانی[1]، کریم آزالی علمداری[2]

۱- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۸

خلاصه

سابقه و هدف: دیابت نوعی اختلال متابولیک است که ساختار و عملکرد دستگاه‌های بدن از جمله میوکارد را تحت تأثیر قرار می‌دهد که به آن کاردیومیوپاتی دیابتی گفته می‌شود. با این‌حال با توجه به نقش فعالیت ورزشی در پیشگیری و درمان عوارض دیابت، تحقیق حاضر با هدف تعیین تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر بیان بافتی miRNA-1 و miRNA-21 در بطن چپ رت‌های نر دیابتی طی دی و بهمن ۱۴۰۰ در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شد.

روش کار: در یک طرح تحقیقی تجربی، ۲۰ سر رت نر بالغ (سن: ۰/۳ ± ۱۲ هفته؛ وزن: ۱۲ ± ۲۳۴ گرم) نژاد ویستار انتخاب و پس از دریافت رژیم غذایی پرچرب (حاوی ۴۵ درصد چربی) و القای دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین به‌طور تصادفی در دو گروه همگن ۱۰ سری شامل دیابتی و دیابتی با تمرین تناوبی شدید (T) تقسیم شدند و به مدت هشت هفته و پنج روز هفته، برنامه HIIT را روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند اجرا کردند. تمرین HIIT با شدت ۹۰-۸۵ درصد سرعت بیشینه در ۱۲-۶ وهله دو دقیقه‌ای و با تناوب‌های استراحت فعال سه دقیقه‌ای با شدت ۳۰ درصد $VO2_{max}$ اعمال شد. در انتهای قرارداد تمرین، تمامی موش‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله به روش بدون درد برای بررسی تغییرات بیان ژن miR-1، miR-21 روش real-time PCR در بافت بطن چپ قلب بی‌هوش و جراحی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیان نسبی کمّی miRNA-1 در گروه HIIT + دیابت (۰/۰۰۰۰۰۱ ± ۰/۰۰۰۰۵) و کنترل دیابت (۰/۰۰۰۰۰۵ ± ۰/۰۰۰۱۸) و بیان نسبی کمّی miRNA-21 در گروه HIIT + دیابت (۰/۰۰۰۰۰۱ ± ۰/۰۰۰۲۵) و کنترل دیابت (۰/۰۰۰۰۱۶ ± ۰/۰۰۰۱۱) بود. همچنین هشت هفته تمرین HIIT باعث افزایش معنادار بیان نسبی miRNA-21 (P= ۰/۰۰۱) و کاهش بیان miRNA-1 (P= ۰/۰۰۲) در رت‌های دیابتی شد و در مقابل نتایج نشان داد که پس از هشت هفته ابتلا به دیابت بیان نسبی miRNA-21 به طور معناداری کاهش و بیان miRNA-1 افزایش یافته است (P= ۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ارزیابی بیان miRNA-1 و miRNA-21 بعد از تمرین‌های ورزشی ممکن است شاخص مناسبی برای ارزیابی سازگاری‌های قلبی- عروقی و به ویژه هایپرتروفی ناشی از تمرین‌ها باشد.

واژگان کلیدی: تمرین‌های تناوبی شدید، miRNA-1، miRNA-21، بافت قلب، رت، دیابت.

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Vakili J, Ghale Gir S, Khani M, Azali Alamdari K. The effect of Eight Weeks High- Intensity Interval Training (HIIT) on the Expression of miRNA-21 and miRNA-1 in Diabetic Male Rats. Pejouhesh dar Pezeshki. 2022;46(4):99-110.

[*]**نویسنده مسئول مکاتبات:** جواد وکیلی؛ آدرس پست الکترونیکی: vakili@tabrizu.ac.ir

CC BY NC

مقدمه

دیابت به اختلالی گفته می‌شود که با هایپرگلایسمی و عدم تحمل گلوکز شناخته می‌شود. در این بیماری، بافت‌های مختلفی ازجمله اعصاب مرکزی و محیطی، کلیه‌ها و قلب و عروق با مشکلات پاتولوژیک مواجه می‌شوند (۱). از جمله عوارض پاتولوژیک مرتبط با قلب در دیابت کاردیومیوپاتی دیابتی است که در آن بازسازی (remodelling) بطنی در غیاب انسداد عروق کرونری و فشارخون منجر به اختلال عملکرد قلبی به‌ویژه در بطن چپ شده و همچنین به بزرگ شدن بیمارگونه قلب یا هایپرتروفی میوکاردی، فیبروز و نکروز میوکاردی و رسوب کلاژن منجر می‌شود. در کاردیومیوپاتی یا بیماری عضله قلب ناشی از دیابت که می‌تواند به شکل کاردیومیوپاتی اتساع یافته، کاردیومیوپاتی هایپرتروفیک و کاردیومیوپاتی محدودکننده باشد، کاهش برون‌ده قلبی و تغییر در متابولیسم قلبی رخ می‌دهد (۲). مطالعات اپیدمیولوژیک متعددی ارتباط بین کاردیومیوپاتی دیابتی و وقوع هایپرتروفی قلبی و سختی میوکاردی مستقل از فشارخون بالا را نشان داده‌اند (۳). در علت‌شناسی کاردیومیوپاتی قلبی مکانیسم‌های مختلفی در بیان علل وقوع و پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی مطرح شده است که ازجمله لیپوتوکسیتی، اختلال در عملکرد میتوکندری، فیبروز و تغییر شکل میوکارد، تغییر در فعالیت مسیرهای سیگنالی، میکرو RNA ها و مکانیسم‌های دیگر ازجمله التهاب، اتوفاژی، آپوپتوز یا نکروز، سیستم الومرتلومراز و اختلال عملکرد اندوتلیال اشاره کرد که تصور می‌شود در ایجاد کاردیومیوپاتی دیابتی نقش داشته باشند (۴). در این خانواده چهار عضو به‌عنوان اعضای ویژه قلبی شناخته شده‌اند که به آنها myomiRs اطلاق می‌شود و miR-1 ازجمله آنهاست و بنا به گزارش Rao و همکاران miR-1 فراوان‌ترین miRNA بیان‌شده در قلب از دوران رشد جنینی تا بزرگ‌سالی است (۵) که در بازسازی عضله قلبی درگیر است و بیان آن در هایپرتروفی قلبی پاتولوژیک و نارسایی قلبی مختل می‌شود (۶) و بر این اساس در علت شناسی این عارضه نقش دارد (۷). Melo و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده‌اند miR-1 در اثر انفارکتوس قلبی در کاردیومیوسیت‌ها کاهش می‌یابد (۸). Sayed و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیان کردند miR-1 قلبی در ابتدای اضافه‌بار فشاری تنظیم پایین می‌شود (۹). این یافته از نقش miR-1 در هایپرتروفی ناشی از اضافه‌بار فشاری پاتولوژیک حمایت می‌کند (۹). همچنین miR-21 نیز به‌عنوان یک فاکتور مهم در بیماری‌های قلبی- عروقی شناخته شده است و شواهد نشان می‌دهد که بیان آن در سیستم قلبی- عروقی بالا است و در بیماری‌های قلبی- عروقی مانند هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی بیان آن مختل می‌شود (۱۰). بر اساس گزارش Sekar و همکاران (۲۰۱۶) miR-21 در اختلالات قلبی-عروقی ناشی از دیابت نقش دارد (۱۱). مهار miR-21 در مدل‌های حیوانی بیماری قلبی عملکرد قلبی را بهبود بخشید و این یافته‌ها miR-21 را به‌عنوان هدف درمانی در بیماری‌های قلبی مطرح می‌کند (۱۲).

از سوی دیگر، تمرین تناوبی شدید (HIIT) از روش‌های جدید تمرین‌های ورزشی است که در سال‌های اخیر مورد توجه ورزشکاران، مربیان و پژوهشگران علوم ورزشی قرار گرفته است که معمولاً تمرین‌های HIIT به جلسات تکراری نسبتاً کوتاه و متناوب تمرینی اشاره 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}) (۱۳). 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 (۱۴). استفاده از برنامه‌های تمرینی کوتاه مدت که بتواند سازگاری‌های عملکردی مطلوب را در کوتاه‌ترین زمان ممکن نسبت به تمرینات استقامتی و مقاومتی به وجود آورد از اهمیت بسیاری برخوردار است. با این حال، در مقایسه با تمرینات استقامتی و مقاومتی، مطالعات کم‌تری پاسخ‌های عملکردی و فیزیولوژیکی به تمرین‌های HIIT بررسی کرده‌اند. برای مثال، در پژوهشی

Burgomaster و همکاران (۲۰۰۵)، نشان دادند در مقایسه با تمرین‌های استقامتی، تنها شش جلسه تمرین تناوبی سرعتی (۳۰ ثانیه فعالیت با چهار دقیقه استراحت بین هر وهله) طی دو هفته، سبب افزایش عملکرد بدنی و ظرفیت استقامتی شده است(۱۵). در راستای بررسی پاسخ و سازگاری این شاخص با تمرین‌های ورزشی، چندین مطالعه تاثیر تمرین‌های ورزشی بر پاسخ و سازگاری miRNA را بررسی و نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند (۱۷، ۱۶). همچنین، باید به این نکته اشاره شود که برخی از این miRNAها ویژه عضله یا سایر بافت‌ها هستند و در سایر بافت‌ها بیان نمی‌شوند. از این‌رو انجام مطالعه‌ای روی موش‌ها که امکان ارزیابی در سطح بافتی را برای شاخص‌هایی مانند miRNAها که در انسان نیز قابل ردیابی است امکان مقایسه را ممکن است فراهم آورد. علاوه بر این، پژوهش‌ها نشان داده است که فعالیت‌های بدنی بر بسیاری از فرآیندهای سلولی- مولکولی تاثیر می‌گذارد، اما تعداد پـژوهش‌های انجام شده در حوزه تاثیر فعالیت ورزشی و تمرین‌های ورزشی بر انواع miRNA بسیار اندک است. با این وجود، همین تعداد پژوهش نشان می‌دهد که هم فعالیت بدنی بـر بیان و غلظت miRNA ها اثر می‌گذارد و هـم تغییر در miRNA سبب ایجاد سازگاری‌های ناشی از فعالیت بدنی و تمرین‌های ورزشی می‌شود (۱۸). از این‌رو، از آنجا که تاثیر دقیق انواع مختلف فعالیت ورزشی بر پاسخ و سازگاری انواع miRNA به طور دقیق مشخص نشده است (۱۹). بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته HIIT بر بیان miR-1 و miR-21 در بافت بطن چپ قلب رت‌های نر بالغ نژاد ویستار بهمن و اسفند ۱۴۰۰ در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شد.

روش کار

در تحقیق تجربی حاضر در شرایط آزمایشگاهی تحت کنترل با اندازه‌گیری‌های پس‌آزمون انجام شد. به این دلیل، ۲۰ سر رت نر سفید نژاد ویستار (تعداد رت‌های مورد مطالعه بر اساس فرمول تعیین اندازه نمونه و بر اساس نتایج مطالعات پیشین و نرم‌افزار R و جی پاور محاسبه شده است (۲۰) سه ماهه و با محدوده وزنی ۲۲۵ الی ۳۰۰ گرم از آزمایشگاه حیوانی دانشگاه علوم پزشکی ایران خریداری و در ابتدا، رت‌ها به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاه سازگار شدند. از زمان حضور رت‌ها در آزمایشگاه تا انتهای مداخلات، دمای آزمایشگاه در محدوده ۲ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ۵۰ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته (شروع روشنایی از ساعت ۷:۰۰ صبح الی ۱۹:۰۰ عصر) شبانه تنظیم شد. لازم به ذکر است که پس از آن، در طی دوره تحقیق تمامی حیوانات به‌صورت آزادانه به آب و غذای استاندارد حیوانی (پلت تهیه‌شده از شرکت خوراک سازان اصفهان) دسترسی داشتند که این میزان غذای مصرفی به‌صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت شد. گروه‌های تمرین به مدت هفت روز تحت برنامه آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان قرار گرفتند و در طی این دوره شیب نوارگردان صفر درصد سرعت ۱۰ متر در دقیقه و مدت تمرین نیز ۱۰-۵ دقیقه در روز بود تا رت‌ها با روش تمرین بر روی نوارگردان آشنا شوند. پس از آشناسازی، رت‌ها در دو گروه ۱۰ تایی تحت عنوان گروه کنترل دیابتی (C) و دیابتی با تمرین (T) قرار گرفتند.

شیوه القای دیابت:

پس از دوره آشناسازی دوهفته‌ای، طبق پروتکل Sasidharan و همکاران (۲۰۱۳) القای دیابت نوع۲ انجام گرفت که در طی آن ابتدا دو هفته مصرف غذای پرچرب (۴۵ درصد چربی، ۲۱ درصد پروتئین ۳۴ درصد کربوهیدرات) اعمال شد و به دنبال آن یک دوز ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (IP) اسم استرپتوزوتوسین (شرکت Sigma- Aldrich، آمریکا) حل‌شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار (PH= ۵/۴) بعد از شش ساعت ناشتایی به‌صورت درون صفاقی تزریق شد. برای اطمینان از القای دیابت، پس از یک هفته نمونه خونی از ورید دمی رت‌ها جمع‌آوری شد تا غلظت گلوکز خون به‌وسیله گلوکومتر اندازه‌گیری شود. رت‌هایی که غلظت گلوکز خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی

لیتر داشتند به عنوان نمونه نهایی وارد تحقیق شدند (۲۱). وزن رت‌ها در مرحله ابتدایی، میانی و انتهایی تحقیق اندازه‌گیری شد.

پروتکل تمرین:

روش تمرینی بر اساس پروتکل تمرین در مطالعه Brown و همکاران (۲۰۱۷) بود. بر این اساس رت‌ها به مدت هشت هفته و در پنج روز هفته (شنبه، یکشنبه، سه‌شنبه، چهارشنبه و پنجشنبه) تحت یک برنامه تمرین تناوبی شدید (HIIT) بر روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند قرار گرفتند. در ابتدا جهت تعیین شدت تمرین‌های یک آزمون سنجش سرعت بیشینه بر اساس آزمون فزاینده استاندارد Bedford و همکاران (۱۹۷۹) اجرا شد که به‌وسیله Leandro و همکاران (۲۰۰۷) برای رت‌های نژاد ویستار استانداردسازی شده است. این آزمون شامل ۱۰ مرحله سه‌دقیقه‌ای است که با سرعت پنج متر بر دقیقه شروع و در هر سه دقیقه سه متر در دقیقه تا زمان رسیدن به واماندگی افزایش می‌یابد. زمان رسیدن به خستگی عدم توانایی رت‌ها در ادامه دویدن روی نوار گردان باوجود ایجاد شوک الکتریکی در نظر گرفته شد. این آزمون هر دو هفته یک‌بار تکرار شد تا شدت تمرین‌های بعدی بر اساس نتایج آزمون جدید تنظیم شود (۲۲). پروتکل تمرین HIIT در طول دوره با گرم کردن به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه (برابر با شدت ۴۰-۳۰٪ VO_{2max}) شروع و با همین شیوه سرد کردن خاتمه یافت. تمرین اصلی بعد از گرم کردن شامل تمرین تناوبی با شدت ۹۰-۸۵ درصد سرعت بیشینه در ۱۲-۶ وهله دو دقیقه‌ای و با تناوب‌های استراحت فعال سه دقیقه‌ای با شدت ۳۰ درصد $VO2_{max}$ اعمال شد (۲۰). در طی این دوره گروه کنترل سالم هیچ‌گونه فعالیتی نداشتند و برای ایجاد شرایط یکسان با سایر گروه تمرینی، پنج روز در هفته به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه بر روی نوارگردان بی‌حرکت قرار داده شدند. برای تحریک رت‌ها برای دویدن از محرک الکتریکی با ولتاژ کم تعبیه‌شده در قسمت انتهایی نوارگردان، استفاده شد.

جدول ۱- پروتکل تمرین تناوبی با شدت بالا

ردیف	هفته	وهله‌های فعالیت	سرعت دویدن (درصدی از حداکثر سرعت)	مدت تناوب‌های فعالیت (دقیقه)	مدت تناوب‌های استراحت (دقیقه)
۱	اول	۶	۹۰-۸۵	۲	۳
۲	دوم	۷	۹۰-۸۵	۲	۳
۳	سوم	۸	۹۰-۸۵	۲	۳
۴	چهارم	۹	۹۰-۸۵	۲	۳
۵	پنجم	۱۰	۹۰-۸۵	۲	۳
۶	ششم	۱۱	۹۰-۸۵	۲	۳
۷	هفتم	۱۲	۹۰-۸۵	۲	۳
۸	هشتم	۱۲	۹۰-۸۵	۲	۳

تغذیه رت‌ها:

در این پژوهش روزانه تقریباً ۲۰ گرم پلت در اختیار هر حیوان موجود در قفس قرار داده شد و در طی دوره مقدار غذای مصرفی آنهاروزانه به‌طور دقیق اندازه‌گیری و ثبت شد. دسترسی آزاد به آب نیز روزانه از طریق تجهیز هر کدام از قفس‌ها به بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری انجام شد (۲۱). در نهایت، تمامی رت‌ها پس از گذشت ۴۸ ساعت از آخرین جلسه تمرین و در حالت ناشتایی (۱۴-۱۲ ساعت) پس از تزریق کتامین ($90\ mg.kg^{-1}$) درون صفاقی و زایلازین ($90\ mg.kg^{-1}$) توسط متخصص کارآزموده بی‌هوش و جراحی شدند. نمونه‌برداری بافتی و شستوشو با سرم نرمال سالین در نیتروژن مایع ۱۹۶- و دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد، برای بررسی بیان miR-1 و miR-21 نگه‌داری شدند.

استخراج RNA:

برای استخراج RNA از نمونه‌های بافت قلبی، به ۶۰ میلی‌لیتر از نمونه داخل میکروتیوب، یک میلی‌لیتر ترایزول اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد سپس ۰/۲ میلی‌لیتر بـه آن کلروفـرم اضافه شد و حدود دو تـا سه دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، سپس میکروتیوب‌ها بـه مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد بـا 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 چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند. بـا سمپلر مایع رویی با دقت خارج شد و یک میلی‌لیتر اتانول خالص بـه آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت پنج دقیقه در دمای چهار 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 اسپکتروفتومتر ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۶/۱ تا ۸/۱ بـود. 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.

سنتز cDNA :

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon استفاده و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

ارزیابی بیان ژن:

برای ارزیابی بیان ژن از تکنیک PCR Time Real و دستگاه شرکت Biosystem Applied استفاده شـد. mix master Green SYBR استفاده شده در این مرحله متعلق بـه شرکت Exiqon بود. طبق دستورالعمل کیت برای یک نمونه ۱۰ لانداى 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 اسـتفاده از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ ارزیابی شد. از پرایمرهای زیر نیز استفاده شد.

miR21: GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACT CCA

miR-1: GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACG GGT

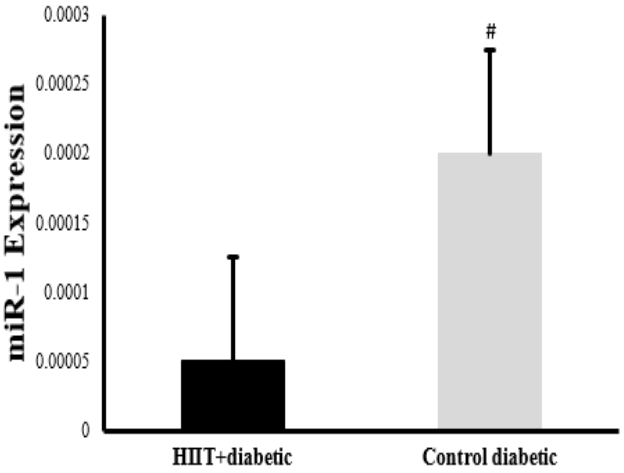
روش‌های آماری:

آزمون‌های ویلک- شاپیرو و لوین برای تعیین وضعیت توزیع و از آزمون تی مستقل برای ارزیابی تغییرات شاخص‌های اندازه‌گیری شده استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS26 در سطح $P < ۰/۰۵$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

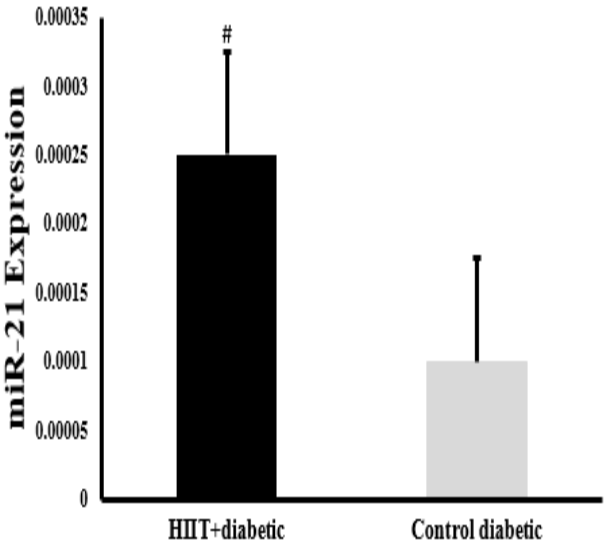
ابتدا وضعیت توزیع طبیعی داده‌ها برای ۲۰ سر رت نر بالغ نژاد ویستار با مشخصات (سن: ۰/۳ ± ۱۲ هفته؛ وزن: ۱۲ ± ۲۳۴ گرم) با استفاده از آزمون ویلک- شاپیرو بررسی و پس از تائید طبیعی بودن توزیع داده‌ها، تفاوت‌های بین گروهی با استفاده از آزمون‌های پارامتریک ارزیابی شد. نتایج نشان داد بیان نسبی کمّی miRNA-1 در گروه HIIT + دیابت (۰/۰۰۰۰۰۱ ± ۰/۰۰۰۰۵) و کنترل دیابت (۰/۰۰۰۰۰۵ ± ۰/۰۰۰۱۸) بود نمودار ۱ همچنین بیان نسبی کمّی miRNA-21 در گروه HIIT + دیابت (۰/۰۰۰۰۰۱ ± ۰/۰۰۰۲۵) و کنترل دیابت (۰/۰۰۰۰۱۶ ± ۰/۰۰۰۱۱) بود نمودار ۲ به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هشت هفته تمرین HIIT سبب افزایش معنادار بیان نسبی miRNA-21 و کاهش بیان miRNA-1 در رت‌های دیابتی شده است (P=۰/۰۰۱) و در مقابل نتایج نشان داد که پس از هشت هفته ابتلا به دیابت بیان نسبی miRNA-21 با میزان تغییرات **Fold change** (۰/۷ ± ۲/۲ برابری) به طور معنای‌داری کاهش و بیان

miRNA-1 با میزان تغییرات Fold change (۱/۱ ± ۳/۱ برابری) افزایش یافته است (P=۰/۰۰۲) (شکل ۱ و ۲).



نمودار ۱- تغییرات بیان miRNA-1 بعد از تمرینات HIIT نسبت به گروه کنترل.

معناداری بین گروهی (P < ۰/۰۵).



نمودار ۲- تغییرات بیان miRNA-21 بعد از تمرین‌های HIIT نسبت به گروه کنترل.

معناداری بین گروهی (P < ۰/۰۵).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مبنی بر کاهش بیان miR-1 و افزایش بیان miR-21 در بافت قلبی پس از تمرین‌های HIIT در راستای نتایج مطالعه کاره و همکاران، برناردو و همکاران، فتحی و همکاران (۲۰۱۹) و آرمان‌فر و همکاران (۲۰۲۰) قرار دارد (۲۳). در این راستا، کاره و همکاران نشان دادند بیان miR-1 در هایپرتروفی فیزیولوژیک در اثر تمرین اینتروال کاهش می‌یابد (۲۴). تمرین شدید miR-1 و miR-133 را کاهش می‌دهد که به این‌صورت می‌تواند سبب افزایش سرعت ترجمه mRNA و سنتز پروتئین شود (۲۳). مقایسه یک دوره تمرین تناوبی شدید با استقامتی تداومی روی رت‌های دیابتی نشان داد هر دو نوع روش تمرینی سبب کاهش معنادار بیان ژن miR-1 نسبت به گروه کنترل می‌شود، اما این کاهش در گروه تناوبی شدید نسبت به گروه استقامتی بیشتر بود بنابراین، همان‌طور که Bernardo و همکاران (۲۰۱۰) نیز عنوان کردند، برای روشن‌تر شدن شکاف‌ها در زمینه ارتباط miR-1 با هایپرتروفی فیزیولوژیک، ارتباط آن با مسیرهای پیام‌رسانی هایپرتروفیک و تأثیر پروتکل‌های تمرینی مختلف نیاز به تحقیقات بیشتری است (۲۵). در زمینه تأثیر تمرین بر miR-21 قلبی نیز مطالعه پیشینه نشانگر محدود بودن تحقیقات در این زمینه است. در مطالعات مرتبط عیسی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۶) بر روی مدل‌های سرطانی گزارش کردند تمرین‌های ورزشی اینتروال به مدت پنج هفته سبب تنظیم منفی miR-21 شد (۲۶). امیرساسان و همکاران (۲۰۱۹) نیز تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر مقادیر miR-1 و miR-21 را در پسران نوجوان اندازه‌گیری کردند و نتایج حاکی از افزایش miR-1 و کاهش miR-21 بود (۲۷).

در راستای نتایج مطالعه حاضر می‌توان ابراز داشت که در بیماری‌های قلبی، miR-21 ژن‌های مختلفی را هدف قرار می‌دهد. اهداف عمده miR-21 عبارت‌اند از PDCD4، PTEN، SPRY12 که در تاثیرات قلبی-عروقی آن میانجی‌گری می‌کنند (۱۰). miR-21 مسیر سیگنالی ERK-MAPK را در فیبروبلاست‌های قلبی تنظیم می‌کند که تأثیر کلی بر ساختار و عملکرد قلبی دارد. سطح miR-21 در فیبروبلاست‌های قلبی در اختلال قلبی افزایش می‌یابد که با مهار SPRY1 سبب افزایش فعالیت مسیر سیگنالی ERK-MAPK می‌شود (۱۰). این مکانیسم، بقای فیبروبلاستی و رهایش فاکتورهای رشدی را

تنظیم می‌کند که به این‌صورت فیبروز درون‌سلولی و هایپرتروفی قلبی را کنترل می‌کند. در شرایط آزمایشگاهی، سرکوب miR-21 در بیماری القاشده با اضافه بار فشاری، فعالیت ERK-MAPK قلبی را کاهش داده، فیبروز درون‌سلولی را مهار می‌کند و اختلال عملکرد قلبی را کاهش می‌دهد (۱۰). همچنین، به نظر می‌رسد نقش آنتی‌هایپرتروفیک miR-1 نیز با مهار برخی اهداف پروهایپرتروفیک اعمال شود. برای مثال، miR-1 ترجمه mRNA های کدکننده کالمودولین (Caml1, Calm2) را سرکوب می‌کند (۷). miR-1 همچنین اثر مهاری بر بیان Mef2a و Gata4 دارد که در مسیر سیگنالی کلسیم، فاکتورهای نسخه‌برداری کلیدی هستند (۷). بنابراین، miR-1 اثر مهاری بر مسیر پیام‌رسانی وابسته به کلسیم دارد که بسیاری از ژن‌های هایپرتروفیک را در پایین‌دست فعال می‌کنند (۷) که با کاهش بیان آن پس از تمرین‌های HIIT همراستا است.

در این تحقیق بیان miRNA-1 و miRNA-21 پس از هشت هفته تمرین HIIT به طور معناداری کاهش یافت. کاهش miRNA-21 و miRNA-1 پس از تمرین نسبت به گروه کنترل نمود یافته است، با نتایج برخی مطالعات از جمله Nilsen و همکاران (۲۰۱۴)، کلر و همکاران (۲۰۱۰) و Nilsen و همکاران (۲۰۱۰) همسو است (۱۸, ۲۸, ۲۹). در کل miRNA-21 و miRNA-1 در رشد طبیعی عضلات درگیر هستند و تکثیر و تمایز عضلات اسکلتی و عضله قلبی را به ترتیب به وسیله سرکوب فعالیت سطح پروتئین عامل پاسخ سرمی (SRF) و HADC4 (سرکوب کننده تمایز عضلات از طریق سرکوب MEF2) تعدیل می‌کنند. همچنین، miRNA-1 از طریق افزایش تمایز و تکثیر میوبلاست‌های اولیه و سلول‌های ماهواره‌ای می‌تواند به تمایز سلول‌های قلبی و عضلانی کمک کند (۳۰). در مقابل، miRNA-21 سبب تکثیر میوبلاست‌ها (حداقل به وسیله کاهش سطح SRF (که یک تنظیم‌کننده حیاتی برای تمایز عضلانی است) و مهار تمایز آنها می‌شود و همچنین رونویسی PTB2 (که در هنگام تمایز سلول عضلانی، موجب اسپلایسینگ رونوشت‌ها به صورت متمایز می‌شود) را مهار می‌کند. در ظاهر miRNA-1 و miRNA-21 به رغم منشأ یکسان (رونوشت پلی‌سیسترونی مشترک)، اثرات متضادی بر رشد عضله اسکلتی دارند (۳۱). مشخص شده که تمایز سلول‌های جوانه‌ای به کاردیو میوسیت‌ها توسط miRNA-1 افزایش می‌یابد (۳۰).

ولی شایان ذکر است که با اینکه بیان اکثر myomiRها در هر دوی عضلات قلبی و اسکلتی اتفاق می‌افتد و فقط miRNA-206 ویژه عضله اسکلتی و miRNA-208a ویژه عضله قلبی است (۳۲)، بنابراین ما احتمال دادیم که شاید تغییرات مشاهده شده در مقدار سرمی miRNA-1 در تحقیق ما ریشه در تغییرات ناشی از تمرین در عضلات قلبی و یا عضلات صاف بستر عروق و ... داشته باشند که تایید قطعی این مساله نیازمند بررسی‌های دقیق تر در آینده است (۳۳). لازم به ذکر است که مکانیسم‌های ناشی از تمرین ورزشی بر توازن پروتئین عضلانی و در نتیجه میوژنز در سطوح مختلفی شامل سنتز پروتئین، تنظیم در سطح نسخه‌برداری mRNA، دستکاری ساختاری غیرژنتیکی DNA، تثبیت mRNAها، دستکاری‌های هنگام ترجمه (بیان پروتئین) و پس ترجمه‌ای و در نهایت در سطح تجزیه پروتئین اتفاق می‌افتند(۳۴). در این بین دستکاری ساختاری غیرژنتیکی DNA و یا هیستون‌های منجر شونده به تغییر بیان پروتئین (تنظیم اپی‌ژنتیک) توسط سه مکانیسم عمده شامل الف) متیلاسیون باقی‌مانده‌های سیتوزینی DNA، ب) دستکاری شیمیایی (آسیلاسیون، متیلاسیون و یا فسفوریلاسیون) برخی باقی‌مانده‌های خاص دم‌های هیستونی و ج) تنظیم نسخه برداری توسط میکروRNAها (miRNAها) کنترل می‌شوند (۳۵). همچنین تثبیت mRNA نیز توسط دو نوع متفاوت از مولکول‌های RNA کوچک شامل RNAهای کوچک مداخله‌گر (siRNA) و miRNA ها در سطح پس از نسخه‌برداری انجام می‌شود. با این‌حال در مورد تاثیر تمرین ورزشی بر تنظیم miRNAها در عضله لازم به ذکر است با اینکه آنها برای رشد و بازسازی عضله مورد نیاز هستند، ولی نقش آنها در حفظ و سازگاری عضله در دوران بزرگسالی تاکنون هنوز شناسایی نشده است(۳۶). سطوح برخی miRNAها مانند miRNA-1 و

miRNA-21 عضله ساقی موش توسط تغییر فشار مکانیکی حدود ۵۰ درصدکاهش می‌یابد (۳۷). در انسان‌ها تمرین مقاومتی سبب کاهش بیان miRNA-1 در عضله شده است (۳۸) و تاثیر تمرین استقامتی نیز در این زمینه تایید شده است (۳۴). به این ترتیب، به دلیل اینکه miRNA-1 بر ژن IGF-1 و گیرنده آن اثر می‌کند، پیشنهاد شده است که کاهش miRNA-1 سبب فعال شدن آبشارهای سیگنالینگ IGF-1/protein kinase B خواهد شد (۳۹).

همچنین دویدن بر روی تردمیل سبب افزایش بیان miRNA-1 همراه با miRNA-107 و miRNA-181 و کاهش بیان miRNA-23 می‌شود و نتیجه‌گیری شده است که این تغییرات ایجاد شده در بیان میکرو RNAهای مذکور در فوق همراه با تغییرات در بیان سایر انواع دیگری از miRNAها می‌تواند سبب دستکاری مقدار بیوژنز میتوکندریایی بهبود تحویل اکسیژن به بافت‌ها از طریق افزایش تراکم مویرگی شود (۴۰). همچنین لازم به ذکر است که سازگاری بیان miRNA-1 نسبت به تمرین‌های ورزشی عمدتاً به صورت عدم تغییر (۴۱) یا کاهش (۳۷) بیان بروز می‌کند. در این راستا، Deramond و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کرده‌اند که miRNA-1 در پاسخ به تمرین‌های مقاومتی کاهش می‌یابد (۳۸) اما در پاسخ به یک جلسه تمرین استقامتی میزان آن افزایش می‌یابد (۱۸). همچنین Soci (۲۰۱۱) هم با بررسی تاثیر تمرین‌های استقامتی بلندمدت (۱۰هفته شنا، پنج روز در هفته) با شدت متوسط و بالا در موش‌های صحرایی کاهش بیان miRNA-1 در عضله قلب را در هر دو گروه مشاهده کردند (۴۲). در کل یکی از اهداف کاهش miRNA-1 می‌تواند فعال‌سازی مسیرهای مرتبط با عامل رشد شبه انسولینی-۱ (IGF-I) و گیرنده آن از طریق فعال‌سازی آبشار پیام‌رسانی مرتبط با پروتئین کیناز IGF-I/B باشد (۳۴). در این راستا گزارش شده است که miRNA-1 و miRNA-21 با فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی IGF-1/PI3K/AKT سبب هایپرتروفی در سلول‌های قلبی می‌شوند. همچنین، به نظر می‌رسد فعال‌سازی سلول‌های ماهواره‌ای با تغییر در بیان miRNA-1 نسبت به تمرین‌های مقاومتی در ارتباط است. در این شبکه نقش اصلی miRNA-1 سرکوب فاکتور HDAC4 است. HDAC4 در عضلات اسکلتی به مقدار بالایی بیان می‌شوند که مستقیماً به MEF2 متصل می‌شوند و بیان ژن های وابسته به MEF2 را سرکوب می‌کند. در اهمیت عملکرد HDACs باید گفت که نقش بسیار حیاتی در روند میوژنیک عضله اسکلتی و قلبی دارند، به طوری که تنظیم نامناسب فعالیت HDAC4 با هیپرتروفی قلبی و مرگ ناگهانی همراه است (۴۳). به علاوه، ورزش سبب افزایش فعالیت کلسیم کالمودولین در عضلات اسکلتی و در نتیجه فسفوریله شدن HDAC4 می‌شود و می‌تواند به وسیله فعال‌سازی با کلسیم در سازگاری‌های متابولیک مشارکت کند(۴۳).

به علاوه، در یک مطالعه انسانی گزارش شده است که یک وهله فعالیت ورزشی استقامتی حاد سبب افزایش بیان miRNA-1 و miRNA-21 در عضله چهارسررانی شده است، در حالی که سطوح استراحتی این دو miRNA پس از ۱۲ هفته تمرینی استقامتی به طور معناداری کمتر از سطوح پیش از تمرین بوده است. همچنین پاسخ سطوح miRNA به فعالیت ورزشی به وضعیت تمرینی آزمودنی (تمرین کرده یا تمرین نکرده) وابسته بود (۱۸). به علاوه، یکی دیگر از دلایل افزایش غلظت miRNAها در طی هر وهله فعالیت ورزشی بروز هیپوکسی کوتاه‌مدت و موضعی است که در سطح بافت عضلانی روی می‌دهد (۴۴).

با این حال نتایج مطالعه حاضر در راستای نتایج برخی مطالعات نیست. برای مثال، ناهمسو با این تحقیقات، گزارش شده است، تمرین استقامتی miR-1 را در کاردیومیوسیت‌ها افزایش می‌دهد که در اثر انفارکتوس قلبی کاهش یافته است (۸). همچنین، فتحی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند تمرین استقامتی به مدت ۱۴ هفته سبب هایپرتروفی قلبی شد که با افزایش miR-1 قلبی همراه بود (۴۵). به هرحال، پژوهش حاضر دارای محدودیت‌های روش‌شناسی از جمله عدم اندازه‌گیری پروتئین‌های پایین دستی ناشی از بیان این دو miRNA در

سطح بافتی (به ویژه بافت عضلانی) و بسیاری دیگر از پروتئین‌های کمک‌کننده به شناسایی جزئیات بیشتر پیامدهای حاصل از تغییر این پروتئین‌ها در اثر انواع مختلف تمرین ورزشی و ...، بود که تفسیر دقیق نتایج، آن را نیازمند تایید در پژوهش‌های آینده می‌کند. پژوهش‌های آتی باید نقش سایر miRNAها، به صورت جداگانه و یا در ترکیب با یکدیگر، استفاده از فناوری‌های جایگزین برای دستکاری گونه‌های مختلف miRNA در داخل بدن در کنار سایر دستکاری‌های معمول مانند داروها، هورمون‌ها و محرک‌های محیطی مانند مواجهه با هیپوکسی، سرما یا گرما و همچنین استفاده از مدل‌های درون بدن محیط زنده و در محیط آزمایشگاه برای شناسایی انواع miRNA درگیر در سازگاری با تمرین‌های ورزشی و بهبود عملکرد ورزشی را مورد ارزیابی قرار دهند (۱۷).

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که استفاده از رابطه بین بیان miRNA-21 و miRNA-1 ممکن است شاخص زیستی مناسبی برای ارزیابی میزان سازگاری با تمرین‌های ورزشی در افراد دیابتی باشد. با این حال، برای تعیین میزان دقیق رابطه و تاثیر انواع مختلف تمرین‌های ورزشی بر این شاخص‌ها به انجام تحقیقات بیشتری نیاز است.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل طرح رساله دکتری در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز است. از تمام افرادی که در این تحقیق همکاری کرده‌اند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه، در دانشگاه علوم پزشکی تبریز استان آذربایجان شرقی بررسی، و با کد اخلاق IR.TABRIZU,REC.1400.050 ثبت شده است.

منابع مالی

منابع مالی این طرح تحقیقاتی توسط نویسندگان تامین شده است.

مشارکت نویسندگان

تمام مولفان مجری و همکار طرح نسخه نهایی مقاله را خوانده و تایید کرده‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

References

1. Lee MMY, McMurray JJV, Lorenzo-Almorós A, Kristensen SL, Sattar N, Jhund PS, et al. Diabetic cardiomyopathy. Heart. 2019;105(4):337-45.

2. 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-H52.

3. Aneja A, Tang WW, Bansilal S, Garcia MJ, Farkouh ME. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options. The American journal of medicine. 2008;121(9):748-57.

4. Li H, Fan J, Chen C, Wang DW. Subcellular microRNAs in diabetic cardiomyopathy. Annals of Translational Medicine; Vol 8, No 23 (December 2020): Annals of Translational Medicine. 2020.

5. Rao PK, Toyama Y, Chiang HR, Gupta S, Bauer M, Medvid R, et al. Loss of Cardiac microRNA-Mediated Regulation Leads to Dilated Cardiomyopathy and Heart Failure. Circulation Research. 2009;105(6):585-94.

6. Karakikes I, Chaanine A ,Kang S, Mukete B, Jeong D, Zhang S, et al. Therapeutic Cardiac-Targeted Delivery of miR-1 Reverses Pressure Overload–Induced Cardiac Hypertrophy and Attenuates Pathological Remodeling. Journal of the American Heart Association. 2013;2:e000078.

7. Jugdutt BI, Dhalla NS. Cardiac remodeling: molecular mechanisms: Springer Science & Business Media; 2013.

8. Melo SFS, Barauna VG, Neves VJ, Fernandes T, da Silva Lara L, Mazzotti DR, et al. Exercise training restores the cardiac microRNA-1 and− 214 levels regulating Ca 2+ handling after myocardial infarction. BMC Cardiovascular Disorders. 2015;15(1):1-8.

9. Sayed D, Hong C, Chen I-Y, Lypowy J, Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. Circulation research. 2007;100(3):416-24.

10. Cheng Y, Zhang C. MicroRNA-21 in cardiovascular disease. Journal of cardiovascular translational research. 2010;3(3):251-5.

11. Sekar D, Venugopal B, Sekar P, Ramalingam K. Role of microRNA 21 in diabetes and associated/related diseases. Gene. 2016;582(1):14-8.

12. Bonci D. MicroRNA-21 as therapeutic target in cancer and cardiovascular disease. Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery (Discontinued). 2010;5(3):156-61.

13. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for high-intensity interval training. Sports Medicine. 2002;32(1):53-73.

14. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? Exercise and sport sciences reviews. 2008;36(2):58-63.

15. Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. Journal of applied physiology. 2005;98(6):1985-90.

16. 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 Journal of physiology. 2011;589(16):3983-94.

17. Bye A, Røsjø H, Aspenes ST, Condorelli G, Omland T, Wisløff U. Circulating microRNAs and aerobic fitness–the HUNT-Study. PloS one. 2013;8(2):e57496.

18. Nielsen S, Scheele C, Yfanti C, Åkerström T, Nielsen AR, Pedersen BK, et al. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. The Journal of physiology. 2010;588(20):4029-37.

19. Wahl P, Mathes S, Köhler K, Achtzehn S, Bloch W, Mester J. Acute metabolic, hormonal, and psychological responses to different endurance training protocols. Hormone and Metabolic Research. 2013;45(11):827-33.

20. Brown MB, Neves E, Long G, Graber J, Gladish B, Wiseman A, et al. High-intensity interval training, but not continuous training, reverses right ventricular hypertrophy and dysfunction in a rat model of pulmonary hypertension .Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2017;312(2):R197-r210.

21. Sasidharan SR, Joseph JA, Anandakumar S, Venkatesan V, Ariyattu Madhavan CN, Agarwal A. An Experimental Approach for Selecting Appropriate Rodent Diets for Research Studies on Metabolic Disorders. BioMed Research International. 2013;2013:752870.

22. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, Manhães-de-Castro R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. J Strength Cond Res. 2007;21(3):751-6.

23. Wisløff U, Ellingsen Ø, Kemi OJ. High-intensity interval training to maximize cardiac benefits of exercise training? Exercise and sport sciences reviews. 2009;37(3):139-46.

24. Ooi JY, Bernardo BC, McMullen JR. The therapeutic potential of miRNAs regulated in settings of physiological cardiac hypertrophy. Future medicinal chemistry. 2014;6(2):205-22.

25. Bernardo BC, Weeks KL, Pretorius L, McMullen JR. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. Pharmacology & therapeutics. 2010;128(1):191-227.

26. Isanejad A, Alizadeh AM, Shalamzari SA, Khodayari H, Khodayari S, Khori V, et al. MicroRNA-206, let-7a and microRNA-21 pathways involved in the anti-angiogenesis effects of the interval exercise training and hormone therapy in breast cancer. Life sciences. 2016;151:30-40.

27. 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. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences. 2019;41(3):16-23.

28. 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.

29. Keller P, Vollaard NB, Gustafsson T, Gallagher IJ, Sundberg CJ, Rankinen T, et al. A transcriptional map of the impact of endurance exercise training on skeletal muscle phenotype. Journal of applied physiology. 2010;110(1):46-59.

30. Chen J-F, Mandel EM, Thomson JM, Wu Q, Callis TE, Hammond SM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. Nature genetics. 2006;38(2):228.

31. van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. Trends in Genetics. 2008;24(4):159-66.

32. Horak M, Novak J, Bienertova-Vasku J. Muscle-specific microRNAs in skeletal muscle development. Developmental biology. 2016;410(1):1-13.

33. Margolis LM, Rivas DA. Potential role of microRNA in the anabolic capacity of skeletal muscle with aging. Exercise and sport sciences reviews. 2018;46(2):86-91.

34. Francaux M, Deldicque L. Exercise and the control of muscle mass in human. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2018:1-15.

35. Pareja-Galeano H, Sanchis-Gomar F, García-Giménez JL. Physical exercise and epigenetic modulation: elucidating intricate mechanisms. Sports medicine. 2014;44(4):429-36.

36. Kirby TJ, McCarthy JJ, Peterson CA, Fry CS . Synergist ablation as a rodent model to study satellite cell dynamics in adult skeletal muscle. Skeletal Muscle Regeneration in the Mouse: Springer; 2016. p. 43-52.

37. McCarthy JJ, Esser KA. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. Journal of applied physiology. 2007;102(1):306-13.

38. Drummond MJ, McCarthy JJ, Fry CS, Esser KA, Rasmussen BB. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2008;295(6):E1333-E40.

39. Elia L, Contu R, Quintavalle M, Varrone F, Chimenti C, Russo MA, et al. Reciprocal regulation of microRNA-1 and IGF-1 signal transduction cascade in cardiac and skeletal muscle in physiological and pathological conditions. Circulation. 2009;120(23):2377.

40. Safdar A, Abadi A, Akhtar M, Hettinga BP, Tarnopolsky MA. miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. PloS one. 2009;4(5):e5610.

41. Davidsen PK, Gallagher IJ, Hartman JW, Tarnopolsky MA, Dela F, Helge JW, et al. High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression. Journal of applied physiology. 2010;110(2):309-17.

42. Soci UPR, Fernandes T, Hashimoto NY, Mota GF, Amadeu MA, Rosa KT, et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. Physiological genomics. 2011;43(11):665-73.

43. McGee SL. Exercise and MEF2–HDAC interactions. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. 2007;32(5):852-6.

44. 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. Frontiers in physiology. 2013;4:80.

45. Fathi M, Gharakhanlou R, Rezaei R. The Changes of Heart miR-1 and miR-133 Expressions following Physiological Hypertrophy Due to Endurance Training. Cell Journal (Yakhteh). 2020;22(Suppl 1):133.