دانشگاه شهید بهشتی
فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی
پاییز و زمستان ۱۳۹۸، دوره ۱۲، شماره ۲، صفحه‌های:۱۳۵-۱۱۹

تاثیر هشت هفته تمرین مقاومتی شدید و متوسط بر **MicroRNAs** های مرتبط با انتقال معکوس کلسترول در موش‌های سالمند نژاد ویستار

مهدی طاهری گندمانی[۱]، محمد فرامرزی [*۱]، ابراهیم بنی طالبی[۱]، روح الله همتی[۲]

[۱]گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۲/۲۶ اصلاح مقاله: ۱۳۹۷/۰۶/۲۰ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۷/۰۱

چکیده

هدف: سالمندی با اختلالات عمومی در متابولیسم چربی و عوامل التهابی همراه است که به آترواسکروز منجر می‌شود. هدف از این مقاله، بررسی تاثیر دو نوع تمرین مقاومتی شدید و متوسط بر MicroRNA های مرتبط با انتقال معکوس کلسترول در موش‌های سالمند است.

روش ها: سی سر موش صحرایی نر نژاد ویستار مسن (۲۳ ماهه)، به صورت تصادفی براساس وزن موش‌ها در شروع پژوهش در دو گروه تمرینی و یک گروه کنترل، شامل گروه تمرین مقاومتی با شدت متوسط (n=10)، تمرین مقاومتی با شدت بالا (n=10) و گروه کنترل (n=10) قرار گرفتند. تمرین مقاومتی، شامل ۸ هفته تمرین مقاومتی نردبان با شدت زیاد (80% از MVCC) و شدت متوسط (60% از MVCC) و ۵ روز در هفته بود. بعد از دوره تمرین بیان miR-33a و miR-144 و بیان پروتئین ABCA1 به روش RT–PCR اندازه‌گیری شد. تجزیه تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنوا با سطح معنی داری ($P\leq ۰/۰۵$) انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد، میزان بیان miR-33a و miR-144 دو گروه مقاومتی شدید و مقاومتی متوسط به طور معنی‌داری، کمتر از گروه کنترل بود و میزان بیان mRNA ژن ABCA1 گروه مقاومتی شدید، پس از هشت هفته تمرین افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). البته تفاوت میزان بیان miR-33a و miR-144 متعاقب تمرین مقاومتی شدید و متوسط معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). با این حال، در باره بیان mRNA ژن ABCA1 تفاوت معنی داری در دو گروه مقاومتی شدید و متوسط مشاهده شد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد، تمرین مقاومتی با شدت متوسط یا شدید می تواند با کاهش بیان miR-33a و miR-144 افزایش بیان mRNA ژن ABCA1 در بهبود وضعیت تصلب شرایین افراد سالمند مؤثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین مقاومتی، ABCA1، miR-144، miR-33a، آترواسکلروز.

* نویسنده مسئول: شماره تماس: ۰۹۱۳۳۰۴۰۱۹۶، ایمیل: md.faramarzi@gmail.com

مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی با افزایش سن افزایش می‌یابند (۱). عوامل زیادی در بروز و گسترش آترواسکلروز نقش دارد که مهم‌ترین آن کلسترول در گردش است. هنگامی که مقدار آن در خون افزایش می‌یابد، لیپوپروتئین کم‌چگالی[۱] (LDL-C) در ارتباط با گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن آن را تعدیل می‌کند. در نتیجه لیپوپروتئین کم‌چگالی اکسیداز شده سریعاً به وسیله ماکروفاژهای دیواره عروق برداشت می‌شود. این ماکروفاژهای مملو از لیپید، به عنوان سلول‌های فوم شناخته می‌شوند که عامل اصلی پلاک‌های آترواسکلروز هستند (۲-۴). از آنجا که سلول‌های پستانداران نمی‌توانند کلسترول اضافی را کاهش دهند، لذا حذف کلسترول اضافی داخل سلولی ضروری است. ذرات HDL قادر به حذف کلسترول اضافی از سلول‌های محیطی از طریق انتقال معکوس کلسترول هستند. انتقال معکوس کلسترول[۲] (RCT) به فرایند جمع‌آوری کلسترول اضافی از بافت‌های پیرامونی از جمله ماکروفاژهای دیواره سرخ رگی و بازگرداندن آن‌ها به کبد برای پاک‌سازی از طریق صفرا و یا دفع آن از طریق مدفوع گفته می‌شود که در این مرحله ABCA1[۳] نقش مهمی ایفا می‌کند. این فرایند، به ویژه برای ماکروفاژها در پلاک‌های آترواسکلروتیک مهم است (۲، ۳). اولین روند انتقال معکوس کلسترول وابسته به پذیرنده خارج سلولی آن یعنی آپولیپوپروتئین A عاری از لیپید یا دارای حداقل لیپید است که این فرایند توسط ناقل ABCA1 میانجیگری شده و سبب تشکیل ذرات پری بتا[۴] HDL می‌شود (۵). سپس در مرحله بعد و با عمل آنزیم لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز[۵] (LCAT) HDLهای کروی ساخته می‌شوند. عمل آنزیم LCAT آن قدر ادامه می‌یابد، تا ذرات HDL توسط کسب و استریفه شدن بیشتر کلسترول از لیپوپروتئین های دیگر یا توسط ترکیب با ذرات کوچک‌تر HDL بالغ شوند. در این مرحله، تغییر شکل HDL بالغ و انتقال کلسترول به کبد، توسط عمل کلستریل استرترانسفرپروتئین[۶] (CETP) فسفولیپید ترانسفر پروتئین[۷] (PLTP) لیپازکبدی و گیرنده‌های رفتگر نوع[۸] B1 (SR-B1) انجام و سپس در کبد کلسترول توسط آنزیم کلسترول 7a هیدروکسیلاز (CYP7A1) به نمک صفراوی تبدیل و دفع می‌شود (۳، ۴).

تحقیقات در طی دهه اخیر نشان داده‌اند که بسیاری از تنظیم‌های متابولیسم چربی کبدی در سطح تنظیم بیان ژن رخ می‌دهد و از این رو MicroRNAs که بر پایداری mRNA و ترجمه اثر می‌کنند، خود را به عنوان تنظیم‌کننده کلیدی متابولیسم کبدی و به ویژه، متابولیسم چربی‌ها ثابت کرده‌اند (۶, ۷). میکرو RNA ها زیر گروه بزرگی از RNA های غیر کد کننده ۲۵-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که از نظر تکاملی در ژنوم یوکاریوتی حفاظت‌شده می‌باشند. این مولکول‌ها بیان ژن را پس از رونویسی از طریق مهار ترجمه mRNA یا القا تجزیه آن کنترل می‌کنند و این کار را بیشتر از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی (UTR‘3) انتهای mRNA ها انجام می‌دهند (۸).

تحقیقات زیادی نشان داده‌اند MicroRNAs نقش اصلی در مراحل مختل سوخت‌وساز بدن از جمله متابولیسم چربی‌ها دارند (۹). در طول دهه گذشته، MicroRNAs به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی تمام جنبه‌های RCT، از جمله پیدایش HDL، جریان کلسترول سلولی و ترشح صفراوی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۰). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که MicroRNAs نقش مهمی در مهار ABCA1، آپولیپوپروتئین‌های A-I و جریان کلسترول به HDL های نوپای تولیدشده در کبد و روده دارند و از طرفی مهار MicroRNAs درگیر در این فرایند، با افزایش خروج کلسترول از سلول و در نهایت افزایش میزان

و ترکیب HDL پلاسما همراه بوده است (۱۰, ۱۱). به طور خاص، نشان داده شده است که miR-33، miR-144، mir-145 - 148،mir -23 و miR-128-1 نقش اصلی در سوخت‌وساز HDL در بدن ایفا می‌کند. گزارش شده است که miR-33a و miR-33b نقش مهمی در تنظیم ABCA1، عامل بسیار مهم در بیوژنز HDL و جریان کلسترول (6)(CE، ۱۱) دارند. همسو با این نتایج، گزارش‌های اخیر در الگوهای حیوانی مختلف نشان داده‌اند که مهار درمانی miR-33 به افزایش سطح سرمی HDL منجر می‌شود. اثرات مشابه در موش‌های فاقد miR-33 مشاهده شد (۲، ۱۲). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که miR-144 باعث تنظیم جریان کلسترول ماکروفاژها و همچنین پیدایش HDL می‌شود (۱۳). دی آگوار[9] و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که افزایش miR-144 باعث کاهش سطوح کبدی ABCA1 و HDL می‌شود. آن‌ها همچنین نشان دادند که miR-144 باعث کاهش جریان کلسترول و کاهش سنتز HDLهای نوپا می‌شود. در مقابل، خاموش کردن miR-144 باعث افزایش ABCA1 و HDL شد (۷). بنابراین، از کاهش miR-144 می‌توانند به عنوان یک عامل درمانی بالقوه برای درمان چربی خون و آترواسکلروز استفاده کرد (۱۴). از طرف دیگر، تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که تمرین هوازی، مقاومتی و ترکیبی می‌توانند بر سطح و نوع کلسترول تأثیر مثبت داشته باشد. در یک مقاله مروری که توسط استیون[10] و همکاران (۲۰۱۴)، به نگارش درآمد، نشان داده شد که رابطه مستقیمی بین افزایش کلسترول و بیماری‌های قلبی ـ عروقی وجود دارد (۱۵). نیبو[11] و همکارانش (۲۰۱۰) گزارش کردند که مقدار HDL به عنوان تنها شاخص از شاخص‌های چربی است که در اثر تمرین ورزشی بهبود پیدا می‌کند. آن‌ها بیان کردند که حجم تمرین برخلاف شدت تمرین، به عنوان عامل اصلی تغییر از شاخص‌های چربی است و هنگامی که در طول حجم تمرین، شدت تمرین افزایش می‌یابد، به نظر می‌رسد که پایداری افزایش HDL بیشتر است (۱۶). دانو وان[12] و همکاران (۲۰۰۵)، حجم تمرین را به طور مستقیم جهت ارزیابی شدت تمرین کنترل کردند. با این حال، بهبود معنی‌دار در خصوصیات چربی (کاهش LDL و افزایش HDL) را تنها در گروه با شدت زیاد نشان داد. محققین نتیجه گرفتند ورزش با شدت متوسط به بالا می‌تواند در افزایش HDL مؤثر باشد و این می‌تواند اثر مثبتی بر حذف LDL-c توسط HDL داشته باشد (۱۷). وطنی[13] و همکاران (۲۰۱۱)، در مردان سالم به بررسی شدت‌های متفاوت تمرینات مقاومتی بر روی شاخص‌های چربی بعد از ۶ هفته تمرین پرداختند. ۳۰ مرد سالم به طور تصادفی در دو گروه (گروه اول شدت متوسط تمرین با ۵۰ -۴۵ درصد یک تکرار بیشینه و گروه دوم تمرین مقاومتی شدید با ۹۰-۸۰ درصد یک تکرار بیشینه) قرار گرفتند. هر دو گروه، کاهش معنی‌داری بعد از تمرین مقاومتی داشتند، اما افزایش معنی‌دار HDL تنها در گروه با شدت زیاد مشاهده گردید (۱۸). فیت و همکاران (۲۰۰۹)، به بررسی تمرینات مقاومتی و هوازی به مدت ۱۲ هفته و هر هفته ۳ جلسه پرداختند. تمرینات هوازی با ۸۰ -۶۰ درصد ضربان قلب ذخیره و تمرینات مقاومتی با ۱۵-۱۲ تکرار انجام شد. هر دو تمرین هوازی و مقاومتی ۳۰ دقیقه در هر جلسه انجام می‌شد که نتایج کاهش معنی‌داری در کلسترول تام و تری گلیسرید را در دو گروه نشان داد (۱۹). رشید لمیر و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی تأثیر یک جلسه تمرین مقاومتی و هوازی بر بیان ژن ABCA1 لنفوسیت دختران تمرین کرده پرداختند. نتایج تحقیقات آن‌ها به روشنی نشان داد که عملکرد ABCA1 نقش اصلی در فرایند انتقال معکوس کلسترول و نقش مؤثری در پیشگیری از بیماری‌های قلبی ـ عروقی دارد. به این منظور،

۲۴ دختر ورزشکار انتخاب و به طور تصادفی به سه گروه ۸ نفری کنترل، هوازی و مقاومتی تقسیم شدند. نتایج نشان داد که گروه‌های تمرین قدرتی و استقامتی هر دو در نتیجه تمرین، افزایش معنی‌داری را در بیان m-RNA ژن ABCA1 لنفوسیت تجربه کردند، ولی این افزایش در گروه قدرتی بیشتر از تمرین استقامتی بود (۲۰). حاجی قاسمی و همکاران (۲۰۱۸)، به بررسی اثر تمرین مقاومتی سبک بر بیان ژن ABCA1 لنفوسیتی و پروفایل نیم‌رخ خون بیماران عروق کرونر قلب پرداختند. ۲۳ نفر از بیماران مرد عروق کرونر، به طور هدفمند انتخاب و به صورت تصادفی به دو گروه کنترل (۱۱نفر) و تجربی (۱۲نفر) تقسیم شدند. گروه تجربی به مدت ۸ هفته، هفته‌ای سه جلسه یک‌ساعته تمرینات مقاومتی سبک با شدت ۴۰ تا۶۰ درصد یک تکرار بیشینه انجام دادند. قبل و بعد از تمرینات میزان m-RNA ژن ABCA1 اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تمرینات مقاومتی سبک، موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن ABCA1 و کاهش معنی‌دار نسبت LDL به HDL و عدم تغییرات معنی‌دار HDL و LDL بین گروه‌ها شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرینات مقاومتی سبک احتمالاً می‌تواند در بیان ژن ABCA1 مؤثر و در نتیجه در بهبود انتقال معکوس کلسترول و پیشگیری از وقوع ایسکمی‌های بعدی مؤثر باشد (۲۱). قنبری نیاکانی (۲۰۱۰)، به بررسی ۱۲ هفته تمرین ورزشی استقامتی با نوار گردان بر روی بیان ABCA1 و APO-A و Pre-B-HDL در موش‌های صحرایی ویستار پرداخت. او نتیجه گرفت که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان ABCA1 و افزایش غلظت پلاسمایی Apo-A و Pre-B-HDL در موش‌های صحرایی ویستار خواهد شد (۲۲). توفیقی و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی ۱۲ هفته تمرین هوازی منظم روی انتقال معکوس کلسترول زنان غیر فعال پرداختند. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان ABCA1 و APO-A می‌شود (۲۳). با توجه به تحقیقات یاد شده به نظر می‌رسد، اگرچه در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات متابولیسم کلسترول و انتقال معکوس کلسترول توافق وجود دارد، ولی بیشتر مطالعات فوق در آزمودنی‌های غیر سالمند انجام شده است و در کمتر مطالعه‌ای تأثیر شدت‌های مختلف تمرین مقاومتی بر تغییرات لیپوپروتئین‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین، تأثیر تمرینات ورزشی مختلف بر تمامی جنبه‌های سلولی و مولکولی انتقال معکوس کلسترول از جمله MicroRNA ها مشخص نشده است. بنابراین، اگرچه مطالعات زیادی به بررسی اثر MicroRNAهای مختلف بر متابولیسم کلسترول و انتقال معکوس کلسترول و HDL پرداخته‌اند (۲، ۲۴)، اما مطالعه در خصوص مکانیسم‌ها و نقش فعالیت بدنی بر MicroRNAs مرتبط با متابولیسم کلسترول و انتقال معکوس کلسترول پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین، هدف این مقاله، بررسی تأثیر تمرین ورزشی روی دو مورد از MicroRNAهایی است (mir-33و miR-144) که در انتقال معکوس کلسترول و جلوگیری از آترواسکلروز نقش مهمی بر عهده دارند.

روش پژوهش

نمونه‌های پژوهش

پژوهش حاضر از نوع تجربی، با طرح پس آزمون به همراه گروه کنترل و از لحاظ هدف از نوع تحقیقات بنیادی بود. در پژوهش حاضر، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۴۳۷/۲ گرم در سن ۲۳ ماهگی از موسسه انستیتو پاستور ایران تهیه و در شرایط دمایی ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط ۱۲: ۱۲ ساعت تاریکی و روشنایی نگهداری و با غذای مخصوص موش صحرایی و آب تغذیه شدند. همچنین، کلیه قوانین و

نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان)، براساس انجمن ارزیابی و اعتباربخشی بین‌المللی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید شورای تحصیلات تکمیلی دانشگاه انجام شد. بعد از گذشت یک هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاه، به صورت تصادفی، براساس وزن اولیه موش‌ها در دو گروه تمرینی و یک گروه کنترل در سبدهای دو و سه‌تایی قرار گرفتند. گروه‌های تجربی شامل تمرین مقاومتی با شدت متوسط (n=10) و تمرین مقاومتی با شدت بالا (n=10) بود. گروه کنترل شامل ۱۰ سر موش بود که تحت مداخله خاصی قرار نگرفت. گروه‌های تجربی پروتکل‌های تمرین مقاومتی را به شرح زیر انجام دادند.

موش‌ها در هر دو گروه تمرین مقاومتی با شدت زیاد و تمرین مقاومتی با شدت متوسط، به منظور آشنا سازی با نحوه اجرای پروتکل تمرینی پنج روز بدون وزنه تمرین بالا رفتن از نردبان را انجام دادند. پس از آخرین جلسه سازگاری، از حیوانات آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی[۱۴] (MVCC) گرفته شد. سپس حداکثر ظرفیت حمل ارادیبه عنوان بالاترین بار حمل شده موفقیت‌آمیز تعریف شد (۲۵). سپس هر دو گروه تمرین قدرتی نیز به مدت ۵ جلسه در هفته به مدت هشت هفته، تمرینات قدرتی با شدت متوسط و تمرین قدرتی با شدت بالا را انجام دادند. با توجه به سازگاری حیوانات با تمرین در انتهای هر چهار هفته، از حیوانات آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی گرفته شد و شدت تمرین حیوانات بر اساس آزمون جدید تعیین شد (۲۶، ۲۷).

پروتکل پژوهش

تمرین شامل بالا رفتن از یک نردبان تمرینی مخصوص (طول ۱۱۰ سانتی‌متر، شیب ۸۰ درجه، ۲۶ پله و ۲ سانتی‌متر فضای بین هر پله)، شامل دو نوع تمرین مقاومتی با شدت زیاد و تمرین مقاومتی با شدت متوسط بود. در تمرین مقاومتی با شدت زیاد، گروه‌های تمرینی، ۸ هفته تمرین مقاومتی نردبان را در 80% از MVCC، ۱۰-۹ بالا رفتن در هر جلسه و ۵ روز در هفته انجام دادند. در تمرین مقاومتی با شدت متوسط، پروتکل اصلی تمرین با ۶۰ درصد حداکثر بار (MVCC) و ۵ روز در هفته انجام شد و موش‌های صحرایی ۲۰-۱۴ بار از نردبان صعود کردند و بین هر صعود، یک دقیقه استراحت داشتند (۲۶, ۲۷). جهت تعیین حداکثر ظرفیت حمل ارادی، وزنه ۷۵ درصد وزن بدن حیوان به دم آن‌ها متصل و حیوان شروع به بالا رفتن از نردبان با حمل این بار کرد. سپس به ازای هر تکرار موفق ۳۰ گرم به بار تمرینی تکرار شده قبلی اضافه شد. در بالای نردبان، دو دقیقه استراحت بین هر صعود وجود داشت. این روش تا زمانی که موش موفق به صعود کل طول نردبان در ۳ تلاش متوالی می‌شد، تکرار شد. اندازه گیری حداکثر ظرفیت حمل ارادی در شروع هفته اول و چهارم و در پایان هفته هشتم انجام شد (۲۵).

روش های آزمایشگاهی

۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین، آزمودنی ها با تزریق درون صفاقی کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بی‌هوش شدند و نمونه خونی از هر موش حدود ۸ میلی لیتر به طور مستقیم از قلب جمع‌آوری گردید که مقدار ۲ میلی لیتر آن در تیوب‌های حاوی ETDA جهت استخراج گلبول سفید ریخته شد.

جداسازی لنفوسیت‌ها به وسیله محلول RBC Lysis Buffer شرکت سیناکولون (Cat No:EX6122) و کد کالا 1002540052 به شرح ذیل طبق پروتکل

گفته‌شده انجام شد:۱- ابتدا محلول را با آب مقطر به حجم ۱۰ رسانده و سپس به ازای هر ۱۰۰ ماکرو لیتر خون، یک میلی‌لیتر از محلول به آن اضافه شد (۱۰ حجم از محلول رقیق‌شده را به یک حجم از خون). ۲- به مدت ۱۰ دقیقه به صورت آهسته آن را در دمای اتاق به آرامی تکان داده شد. ۳- به مدت ۵ دقیقه، آن را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۴- بعد از خالی کردن محلول رویی، دوباره مراحل ذکرشده تا زمان مشاهده رنگ صورتی در اطراف یا داخل پلت‌های گلبول سفید تکرار پیدا می کرد. در نهایت گلبول‌های سفید جدا شدند و سپس در دمای منفی ۸۰ درجه فریز شده و به آزمایشگاه انتقال یافتند.

استخراج RNA کل (برای ABCA1 و MicroRNAs) به وسیله کیت استخراج RNA شرکت Roche آلمان (12033674001-Cat. No:CK) طبق دستورالعمل کیت انجام شد. صحت RNAهای استخراج‌شده کلیه نمونه‌ها غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب ۲۸۰/ ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که نسبت جذبی برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ و ۱/۹ بود.

به منظور رونویسی معکوس ژن ABCA1، از یک میکروگرم RNA و کیت NORGEN کانادا با شماره تولید ۵۴۴۲۰ و براساس دستورالعمل کارخانه مربوطه استفاده شد. بدین منظور، به ازای هر نمونه ابتدا مستر میکسی (مخلوط اصلی) حاوی ۱۰ میکرولیتر Reaction mix×2 و ۲ میکرولیتر Tru Script Enzym Mix و ۶ میکرولیتر آب مقطر ساخته شد. پس از مخلوط شدن درون میکرو تیوب‌ها تقسیم گردید (میزان مستر میکس ریخته شده در هر میکروتیوب 19 µl). سپس از RNAهای استخراج‌شده هر نمونه به میزان 1µl درون میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده ریخته شد. بنابراین، حجم کلی هر میکروتیوب برای cDNA سازی به ۲۰ میکرولیتر رسید. سپس میکروتیوب‌ها درون دستگاه ترموسایکلر قرار داده شده و فرایند cDNA سازی آغاز شد.

تعیین سطح نسبی mRNA ژن ABCA1 به روش RT-PCR نیمه کمی و با استفاده از کیت NORGEN کانادا با شماره تولید 28323 و براساس دستورالعمل کارخانه مربوطه استفاده شد؛ و برای کنترل تکثیر آن از پرایمرهای ویژه بتا اکتین استفاده گردید. پرایمرهای ABCA1 و B-actin از شرکت تک آزمون فناور مدرس با شماره ثبت ۴۹۶۳۷۵ تهیه شد. بدین منظور، با توجه به پروتکل شرکت سازنده مستر میکس واکنش real-time PCR آماده شد و به درون دستگاه real-time PCR منتقل و فرایند سنجش آغاز شد. در هر دور کار دستگاه، برای شناسایی خطاهای موجود از یک نمونه کنترل فاقد نمونه استفاده گردید که در آن به جای نمونه DNA آب مقطر ریخته شد. پروتکل real time- PCR برای اندازه‌گیری عوامل بر مبنای روش سایبرگرین شامل: دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، ۴۰ چرخه مشتمل بر ۲۲ ثانیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد) و ۲۲ ثانیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد) و ۶۰ ثانیه (۷۰ درجه سانتی‌گراد) و درنهایت مرحله ذوب شدن (ملتینگ) در دمای ۹۵-۵۵ درجه سانتی‌گراد بود. مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده در جدول ۱ آمده است.

سنتز cDNA برای miRNA و SNORD47 به عنوان کنترل داخلی آن به صورت اختصاصی و با

استفاده از کیت اختصاصی شرکت زیست رویش (کد کالا:۲۱۷۰۴۴۷ و ۲۱۷۰۴۴۸) به روش ساقه- حلقه[15] انجام شد. بدین منظور به ازای هر نمونه مورد بررسی دو میکروتیوب جداگانه تهیه کرده و در هر میکروتیوب ۱ میکرولیتر RNA ریخته شد و در میکروتیوب اول ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر RT steam –loop miRNA و به میکروتیوب دوم ۱/۵ میکرولیتر از پرایمر – RT steam loop house keeping اضافه شد و سپس حجم هرکدام

جدول ۱. توالی پرایمرهای ABCA۱ و B–Actin

نام پرایمر	توالی پرایمر از پایگاه NCBI	طول پرایمر (تعداد نوکلئوتید)
ABCA-1 Forward	5′-TCG ATT CAT GGA GTG TGT CAA C 3-′	120
ABCA1 – Reverse	5′-CTG TGA ACA CGA TAC CAG CC3-′	120
B-actin- Forward	5′-CTA TGA GGG TTA CGC GCT CC3-′	120
B-actin –Reverse	5′-ATG TCA CGC ACG ATT TCC CT3-′	120

با اضافه شدن ۱۲/۵ میکرولیتر آب مقطر به ۱۴/۵ میکرولیتر رسید. سپس درب میکروتیوب‌ها بسته و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد گذاشته شدند. بعد از آن لوله‌ها فوراً اسپین شدند و در کولین باکس گذاشته و به هرکدام ۴ میکرولیتر RT Reactin Buffer×5 و ۱ میکرولیتر DNTP MIX و ۰/۵ میکرولیتر RT Enzyme اضافه شد و سپس طبق پروتکل به مدت ۶۰ دقیقه با دمای ۳۷ درجه و ۵ دقیقه با دمای ۷۰ درجه در دستگاه ترموسایکر[۱۶] گذاشته شد. cDNAهای سنتز شده به با ۱۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق شد و طبق برنامه زیر جهت واکنش real-time PCR آماده گردیدند. غلظت پرایمرهای مورد استفاده با توجه به دستورالعمل کیت در ابتدا بر روی نمونه‌ها انجام و نمودار تکثیر مناسب ارزیابی شد. فرایند سنجش و تکثیر miRNA به‌صورت کامل آغاز شد. بدین‌صورت که ابتدا دو میکرو تیوب یکی برای هر miRNA و دیگری برای house keeping برداشته و سپس به ازای هر نمونه ابتدا مستر میکسی حاوی ۱۰ میکرولیتر QPCR Master mix SYBR Greenl×2 و ۰/۸ میکرولیتر پرایمر فوروارد اختصاصی مربوط به آن‌ها و ۰/۸ میکرولیتر پرایمر Reverse و ۶/۴ میکرولیتر آب مقطر، ساخته شد. پس از اتمام تقسیم‌بندی مستر میکس، مقدار 2µl از cDNA کل به عنوان نمونه به میکرو تیوب‌های مختص همان نمونه ریخته شد، که پس از مخلوط شدن به درون دستگاه real-time PCR منتقل و فرایند سنجش آغاز شد. در هر دور کار دستگاه، برای شناسایی خطاهای موجود از یک نمونه کنترل فاقد نمونه NTC استفاده شد که در آن به جای نمونه DNA آب مقطر ریخته شد. پروتکل real time PCR برای اندازه‌گیری عوامل بر مبنای روش سایبرگرین شامل: ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ چرخه مشتمل بر ۲۲ ثانیه (۹۵ درجه سانتی‌گراد)، ۶۰ ثانیه (۵۹ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت مرحله ذوب شدن در دمای ۹۵-۵۵ درجه سانتی‌گراد بود. جهت طراحی پرایمرهای پیشرو 33a-mir و 144-mir و SNORD47 از توالی‌های جدول ۲ استفاده شد.

همچنین، تمام اندازه‌گیری‌ها دو بار بر روی هر نمونه انجام گرفت. فرایند real-time PCR با استفاده از نرم‌افزار Rotor- gene Q Corbett انجام شد.

تحلیل آماری

پس از اتمام فرایند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه (ct) سنجش بیان متغیرهای موردنظر با استفاده از محاسبه ریاضیاتی ctΔΔ-2 صورت گرفت (۲۸). به منظور بررسی برابری واریانس‌ها از آزمون لوین و برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کلموگراف ـ اسمیرنف استفاده شد. از میانگین و انحراف استاندارد برای توصیف ویژگی‌های فردی و برای بررسی اثربخشی مداخلات از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (ANOVA) استفاده شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای پیشرو mir-33a و mir-144 و SNORD47

پایگاه اطلاعاتی مورد استفاده جهت طراحی پرایمر	توالی نوکلئوتیدی	نام پرایمر
miRBase	´۳-TGCAATGCAACTACAATGCAC-´۵	۳۳a-mir
miRBase	´۳-TACAGTATAGATGATGTAC-´۵	۱۴۴-mir
NCBI	´۳-TAATGATTCTGCCAAATG-´۵	SNORD۴۷

جهت بررسی این موضوع که کدام یک از مداخلات بر متغیرهای وابسته اثر بیشتری داشته است از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS20 انجام شد. معنی‌دار بودن تفاوت‌های داده ها در سطح (p<۰/۰۵) محاسبه گردید.

نتایج

جدول ۳، تغییرات وزن و جدول ۴، حداکثر ظرفیت حمل ارادی (MVCC) آزمودنی ها را در گروه‌های مختلف مطالعه نشان می‌دهند. جدول ۵، شاخص‌های توصیفی بیان نسبی mir33 و miR-144 و ABCA1 را در آزمودنی ها را بر حسب مداخله نشان می‌دهد. همان طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، میانگین مقدار mir33 و miR-144 در گروه‌های تمرین مقاومتی متوسط و مقاومتی شدید، کمتر از گروه کنترل بود. همچنین، میانگین بیان ژن ABCA1 در گروه‌های تمرین مختلف با توجه شدت تمرین در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود.

با توجه به ضریب F، مشاهده می‌شود که بین میانگین‌های تعدیل‌شده نمرات mir33 و miR-144 و ABCA1 شرکت‌کنندگان بر حسب عضویت گروهی (گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۱). به منظور بررسی این موضوع که کدام یک از مداخلات بر mir33 و miR-144 و ABCA1 تأثیر بیشتری داشته است، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

جدول ۷، نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه میانگین نمرات متغیرهای وابسته در سه گروه را نشان می‌دهد. با توجه به جدول آزمون تعقیبی، می‌توان گفت که در هر دو متغیر وابسته miR-144 و mir33، تفاوت معنی‌داری بین هر دو گروه مقاومتی شدید و مقاومتی متوسط در مقایسه با گروه کنترل بوده و این تفاوت معنی‌دار است (p<۰/۰۵)، اما بین گروه مقاومتی شدید و مقاومتی متوسط تفاوت معنی‌داری در هیچ‌کدام از متغیرها نمی باشد (p>۰/۰۵). همچنین، در متغیر وابسته ABCA1 تأثیر مداخله تمرین مقاومتی شدید بیشتر از هر دو گروه کنترل و مقاومتی متوسط بوده و این تفاوت معنی‌دار است (p<۰/۰۵)، اما هر چند میزان ABCA1 در گروه مقاومتی متوسط بیشتر از کنترل بود، ولی بین گروه تمرین مقاومتی متوسط و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

جدول ۳. میانگین تغییرات وزن (گرم) گروه‌های تمرین مقاومتی شدید ، مقاومتی متوسط و کنترل

گروه ها	وزن اولیه (گرم)		وزن هفته چهارم (گرم)		وزن نهایی (گرم)	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
تمرین مقاومتی شدید	۴۳۴/۱	۳۷/۸	۴۳۴/۳۷	۳۹/۲	۴۲۴/۶	۳۵
تمرین مقاومتی متوسط	۴۳۲	۳۷/۹	۴۲۵	۳۸/۹	۴۲۶	۳۸/۷
کنترل	۴۴۵/۵۰	۳۳/۱۹	۴۵۲	۳۶/۹۲	۴۴۱/۸۷	۳۳/۹

جدول ۴. میانگین تغییرات MVCC (گرم) گروه‌های تمرین مقاومتی شدید ، مقاومتی متوسط و کنترل

گروه ها	اولیه (گرم) mvcc		هفته چهارم (گرم) mvcc		نهایی (گرم) mvcc	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
تمرین مقاومتی شدید	۳۲۵	۳۵/۴	۴۲۱/۸	۱۶۵/۷	۵۶۳/۵	۷۹/۶
تمرین مقاومتی متوسط	۳۴۰/۸	۴۱/۶	۴۲۵/۲	۸۱/۹	۴۷۴/۷	۷۳/۶
کنترل	۳۴۰/۷	۳۴/۶	۳۴۳	۱۰۹/۳	۳۴۳/۲	۱۰۹/۹

جدول ۵ -آمار توصیفی نمرات mir33 و miR-144 و ABCA1 گروه‌های تمرین مقاومتی شدید ، مقاومتی متوسط و کنترل

گروه ها	ABCA1		144-miR		mir33	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
تمرین مقاومتی شدید	۰/۲۵۵۱	۰/۱۵	۰/۴۳۵۵	۰/۲۰	۴/۴۵۶۷	۱/۵۰
تمرین مقاومتی متوسط	۰/۲۵۷۹	۰/۱۷	۰/۵۸۷۲	۰/۳۱	۱/۲۸۴۷	۰/۵۹
کنترل	۰/۹۹۳۲	۰/۳۱	۱/۰۷۳۵	۰/۴۴	۱/۱۰۸۲	۰/۵۵

جدول ۶. نتایج آنوا در گروه‌های تمرین مقاومتی شدید ، مقاومتی متوسط و کنترل مربوط به mir33 و miR-144 و ABCA1

متغیر	منبع تغییرات	مجموع مجذورات	درجه آزادی	میانگین مجذورات	F	سطح معنی‌داری
mir33	درون‌گروهی	۲/۹۵۱	۲	۱/۴۷۶	۲۹/۱۴	۰/۰۰۱
	بین گروهی	۱/۱۱۴	۲۲	۰/۰۵۱	-	-
miR- 144	درون‌گروهی	۱/۷۸۹	۲	۰/۸۹۵	۷/۹۷۲	۰/۰۰۲
	بین گروهی	۲/۴۶۹	۲۲	۰/۱۱۲	-	-
ABCA1	درون‌گروهی	۵۷/۷۶۹	۲	۲۸/۸۸۴	۳۰/۵۲۳	۰/۰۰۱
	بین گروهی	۲۰/۸۱۹	۲۲	۰/۹۴۶	-	-

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که تمرین مقاومتی باعث کاهش بیان 33a-miR و 144-miR و افزایش بیان ژن ABCA1 لنفوسیتی می‌شود. تحقیقات قبلی نشان داده‌اند که تمرین ورزشی می‌تواند باعث بهبود عوامل مرتبط با انتقال معکوس کلسترول در سطح بیان ژن شوند. رشید لمیر و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی تأثیر یک جلسه تمرین مقاومتی و هوازی بر بیان ژن ABCA1 لنفوسیت دختران تمرین کرده پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که گروه‌های تمرین قدرتی و استقامتی، هر دو در نتیجه تمرین افزایش معنی‌داری را در بیان m-RNA ژن ABCA1 لنفوسیت تجربه کردند، ولی این افزایش، در گروه قدرتی بیشتر از تمرین استقامتی بود. نتایج تحقیقات آن‌ها به روشنی نشان داد که عملکرد ABCA1 نقش اصلی در فرایند انتقال معکوس کلسترول و نقش مؤثری در پیشگیری از بیماری‌های قلبی ـ عروقی دارد. حاجی قاسمی و همکاران (۲۰۱۸)، به بررسی اثر تمرین مقاومتی سبک بر بیان ژن ABCA1 لنفوسیتی و نیم‌رخ لیپیدی خون بیماران مرد عروق کرونر قلب پرداختند. نتایج آنها نشان داد که تمرینات مقاومتی سبک موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن ABCA1 و کاهش معنی‌دار نسبت LDL به HDL و عدم تغییرات معنی‌دار HDL و LDL بین گروه‌ها می‌شود. براساس یافته‌های تحقیق آنها، تمرینات مقاومتی سبک احتمالاً می‌تواند در بیان ژن ABCA1 مؤثر و در نتیجه در بهبود انتقال معکوس کلسترول و پیشگیری از وقوع ایسکمی‌های بعدی مؤثر باشد. قنبری نیاکانی (۲۰۱۰)، به بررسی ۱۲ هفته تمرین ورزشی استقامتی با تردمیل بر روی بیان ABCA1و APO-A و Pre-B-HDL در موش‌های ویستار پرداخت. او نتیجه گرفت که تمرین ورزشی باعث افزایش بیان ABCA۱ و افزایش غلظت پلاسمایی Apo-A و Pre-B-HDL در موش‌های صحرایی ویستار می‌شود (۲۲). توفیقی و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی ۱۲ هفته تمرین هوازی

جدول ۷. نتایج آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه میانگین نمرات متغیرهای وابسته در گروه‌های تمرین مقاومتی شدید ، مقاومتی متوسط و کنترل

متغیر			(تفاوت میانگین‌ها)	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
mir33	مقاومتی شدید	مقاومتی متوسط	-۰/۰۰۲۷	۰/۱۰۹	۱
		کنترل	۰/۷۳۸۰	۰/۱۱۲۵	۰/۰۰۱
	مقاومتی متوسط	مقاومتی شدید	-۰/۰۰۲۷	۰/۱۰۹	۱
		کنترل	-۰/۷۳۵۲	۰/۱۰۹	۰/۰۰۱
	کنترل	مقاومتی شدید	۰/۷۳۸۰	۰/۱۱۲۵	۰/۰۰۱
		مقاومتی متوسط	۰/۷۳۵۲	۰/۱۰۹	۰/۰۰۱
miR- 144	مقاومتی شدید	مقاومتی متوسط	-۰/۱۵۱۶	۰/۱۶۲	۰/۶۲۷
		کنترل	-۰/۶۳۷۹	۰/۱۶۷	۰/۰۰۳
	مقاومتی متوسط	مقاومتی شدید	۰/۱۵۱۶	۰/۱۶۲	۰/۶۲۷
		کنترل	-۰/۴۸۶۳	۰/۱۶۲	۰/۰۱۸
	کنترل	مقاومتی شدید	۰/۶۳۷۹	۰/۱۶۷	۰/۰۰۳
		مقاومتی متوسط	۰/۴۸۶۳	۰/۱۶۲	۰/۰۱۸
ABCA1	مقاومتی شدید	مقاومتی متوسط	۳/۱۷	۰/۴۷	۰/۰۰۱
		کنترل	۳/۳۴	۰/۴۸	۰/۰۰۱
	مقاومتی متوسط	مقاومتی شدید	-۳/۱۷	۰/۴۷	۰/۰۰۱
		کنترل	۰/۱۷۶۵	۰/۴۷	۰/۹۲۶
	کنترل	مقاومتی شدید	-۳/۳۴	۰/۴۸	۰/۰۰۱
		مقاومتی متوسط	-۰/۱۷۶۵	۰/۴۷	۰/۹۲۶

منظم روی انتقال معکوس کلسترول زنان غیر فعال پرداختند. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرین ورزشی، باعث افزایش بیان ABCA1 وAPO-A می‌شود (۲۳). همان‌طور که تحقیقات ذکر شده نشان می‌دهند، اثر تمرین ورزشی بر روی بیان ژن ABCA1 و بعضی از عوامل مهم درگیر در فرایند انتقال معکوس کلسترول به خوبی نشان داده شده است، هر چند که بعضی از پژوهش‌ها هم نتایج متناقضی را بیان کرده‌اند. برای نمونه، تقی‌پور اسرمی و همکاران (۲۰۱۶)، به بررسی تأثیر ۱۲ هفته تمرین استقامتی شدید با مصرف گرده گل زنبورعسل بر انتقال معکوس کلسترول در موش‌های صحرایی نر پرداختند. آن‌ها نتیجه گرفتند که تمرین شدید استقامتی باعث کاهش بیان ژن ABCA1 می‌شود.

درحالی‌که مصرف گرده گل زنبور عسل باعث افزایش بیان ژن ABCA1 در عضله دوقلو موش‌های صحرایی نر می‌شود (۵).

از طرفی، نتایج این تحقیق نشان داد که بیان mRNA ژن ABCA1 در هر دو گروه مقاومتی شدید و متوسط پس از هشت هفته تمرین افزایش داشت؛ اما این افزایش تنها در گروه مقاومتی شدید معنی‌دار بود (P/۰۵≥۰). بین تاثیر تمرین مقاومتی شدید و متوسط بر بیان miR-33a و miR-144 معنی‌دار بود. با این حال، در مورد بیان mRNA ژن ABCA1 تفاوت معنی داری در دو گروه مقاومتی شدید و متوسط مشاهده شد.

رینر و همکاران (۲۰۱۰)، نشان داده‌اند که miR-33 در موش ها و انسان بیان ABCA1 و انتقال کلسترول به Apo-A را مهار می کند. همچنین، در موش‌ها انتقال کلسترول به HDL نوپا را مهار می‌کند. بر عکس، مهار miR-33 بیان ABCA۱ و HDL پلاسما را افزایش داد (۲۴). مارکوآرت[۱۷] و همکاران (۲۰۱۰)، نشان داده‌اند که جریان کلسترول به ApoA-1، بیان mRNA ی ABCA1 و HDL پلاسما، همراه با بیان بیش از حد کبدی miR-33 کاهش می‌یابد. در حالی که بعد از خاموشی کبدی miR-33 افزایش پیدا می‌کنند (۲۹). دی آگوار و همکاران (۲۰۱۳)، نیز نشان داده‌اند که افزایش miR-144 باعث کاهش سطوح کبدی ABCA1 و HDL می‌شود. آن‌ها همچنین نشان داده‌اند که miR-144 باعث کاهش جریان کلسترول و کاهش سنتز HDLهای نوپا می‌شود. در مقابل خاموش کردن miR-144 باعث افزایش ABCA1 و HDL شد (۱۳).

مطالعه اخیر توسط روتلان و همکاران (۲۰۱۳) هم نشان داد که در دراز مدت (۱۲ هفته) استفاده از anti miR-33 باعث افزایش غلظت HDL و افزایش انتقال معکوس کلسترول در حیوانات با رژیم غذایی چرب می‌شود. علاوه بر این، اندازه پلاک آترواسکلروتیک، به طور قابل توجهی کاهش یافته و همچنین رسوب ماکروفاژها کم شده بود (۳۰). رامیراز[۱۸] و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان داده‌اند که miR-144 باعث تنظیم هر دوی جریان کلسترول ماکروفاژها و همچنین پیدایش HDL می‌شود (۳۱). بنابراین، از کاهش miR-33a و miR-144 می‌توانند به عنوان یک عامل درمانی بالقوه برای درمان چربی خون و آترواسکلروز استفاده کرد. کاروناکاران[۱۹] و همکاران (۲۰۱۵) هم در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که مهار سنتز ATP میتوکندریایی توسط miR-33 ظرفیت جریان کلسترول ماکروفاژها را کاهش می‌دهد و آنتی miR-33 برای عملکرد میتوکندریایی و بالا بردن ABCA1 ـ که واسطه جریان کلسترول است ـ لازم است. آنها نتیجه گرفتند که درمان آنتی miR-33 باعث افزایش تنفس میتوکندریایی و تولید ATP و همچنین افزایش بیان ABCA1 جهت ترویج جریان کلسترول ماکروفاژها و کاهش تصلب شرایین می‌شود (۳۲).

در مورد بررسی اجزای دیگر درگیر در فرایند انتقال معکوس کلسترول از جمله MicroRNAهای مرتبط با ABCA1 که نقش مهمی در این فرایند دارد، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که miR-33a و miR-144 نقش مهمی در مهار ABCA1، آپولیپوپروتئین‌های A-I و جریان کلسترول به HDLهای نوپای تولید شده در کبد و روده دارند و از طرفی مهار این MicroRNAs با افزایش خروج کلسترول از سلول و در نهایت افزایش میزان و ترکیب HDL پلاسما همراه بوده است (۲، ۱۲، ۱۳). سازوکارهای ورزشی درگیر در این فرایند هنوز مشخص نیست، اما می‌توان به نقش گیرنده‌های کبدی Liver X Receptor (RXR) وSREBP[۲۰] در این فرایند اشاره کرد. زیرا از یکسو، ABCA۱ تحت تاثیر miR-33a و miR-144 است و از سوی دیگر، این MicroRNAs به وسیله این گیرنده‌های کبدی تنظیم می‌شوند (۹).

بـا توجـه بـه اینکـه نتایـج ایـن پژوهـش نشـان داد کـه تمریـن مقاومتـی بـا شـدت متوسـط و شـدید در موش‌هـای صحرایـی سـالمند می‌توانـد باعـث کاهـش 33-miR و 144-miR و افزایـش ABCA1 شـود و همچنیـن همسـویی ایـن نتایـج بـا تحقیقاتـی کـه بـه درمـان آنتـی 33-miR و 144-miR پرداختنـد، بـه نظـر می‌رسـد می‌تـوان در افـراد سـالمند از اثـرات مثبـت تمرینـات مقاومتـی بـه جـای درمـان دارویـی در مهـار ایـن MicroRNAs کـه باعـث افزایـش بیـان ABCA1 جهـت ترویـج جریـان کلسـترول ماکروفاژهـا و کاهـش تصلـب شـرایین می‌شـود، اسـتفاده کـرد. هـر چنـد بـا توجـه بـه محدودیت‌هـای ایـن مطالعـه و اینکـه در ایـن تحقیـق مقـدار پروتئیـن ABCA1 انـدازه گیـری نشـد و از آنجـا کـه بیـان ژن همـواره بـه سـنتز پروتئیـن هـدف نمی‌انجامـد، نیـاز بـه تحقیقـات بیشـتر و بـا رویکـرد انـدازه گیـری مقـدار پروتئیـن ABCA1 وجـود دارد.

تشکر و قدردانی

ایـن مقالـه مسـتخرج از رسـاله دکتـری، بـا حمایـت مالـی تحصیـلات تکمیلـی دانشـگاه شـهرکرد می‌باشـد. همچنیـن از زحمـات اسـاتید محتـرم راهنمـا و مشـاور تقدیـر و قـدر دانـی فـراوان می‌شـود.

پی نوشت ها

[1] Low Density Lipoprotein

[2] Reverse cholesterol transport

[3] ATP-Binding cassette transporter protein

[4] Pre b-HDL particles

[5] Lecithin-cholesterol acyl transferase

[6] Cholesteryl ester transfer protein

[7] Phospholipid transfer protein

[8] The scavenger receptor class B type 1

[9] De Aguiar

[10] Steven

[11] Nybo

[12] Donovan

[13] Vatani

[14] Maximum voluntary carrying capacity

[15] Steam-Loop

[16] Thermocycler

[17] Marquart

[18] Ramirez

[19] Karunakaran

[20] Sterol regulatory element binding protein (SREBP).

منابع

1. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop T, Khalil A. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. Experimental Gerontology. 2004;39(1):59-66.

2. Rotllan N, Price N, Pati P, Goedeke L, Fernandez-Hernando C. microRNAs in lipoprotein metabolism and cardiometabolic disorders. Atherosclerosis. 2016;246:352-60.

3. Ono K, Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Kimura T. Micrornas and high-density lipoprotein cholesterol metabolism. International heart journal. 2015;56(4):365-71.

4. Ono K, Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Yokode M, et al. MicroRNA-33a/b in lipid metabolism - novel "thrifty" models. Circ J. 2015;79(2):278-84.

5. Taghipoor Asramy A, Ghanbari-Niaki A, Naghizadeh Qomi M, Bashi M, Mehdi M. The effect of running with bee pollen on muscle

ABCA1 and APOA-1 mRNA expression in rats: brief report. Tehran University Medical Journal TUMS Publications. 2016;74(7):530-4.
6. Abente EJ, Subramanian M, Ramachandran V, Najafi-Shoushtari SH. MicroRNAs in obesity-associated disorders. Arch Biochem Biophys. 2016;589:108-19.
7. de Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Kim T, Civelek M, Baldán Á, Esau C, et al. MicroRNA-144 Regulates Hepatic ATP Binding Cassette Transporter A1 and Plasma High-Density Lipoprotein After Activation of the Nuclear Receptor Farnesoid X ReceptorNovelty and Significance. Circulation research. 2013;112(12):1602-12.
8. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? Nature Reviews Genetics. 2008;9(2):102-14.
9. Novák J, Bienertová-Vašků J, Kára T, Novák M. MicroRNAs involved in the lipid metabolism and their possible implications for atherosclerosis development and treatment. Mediators of inflammation. 2014;2014.
10. Rottiers V, Näär AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. Nature reviews Molecular cell biology. 2012;13(4):239-50.
11. Horie T, Baba O, Kuwabara Y, Chujo Y, Watanabe S, Kinoshita M, et al. MicroRNA-33 deficiency reduces the progression of atherosclerotic plaque in ApoE−/− mice. Journal of the American Heart Association. 2012;1(6):e003376.
12. Rayner KJ, Sheedy FJ, Esau CC, Hussain FN, Temel RE, Parathath S, et al. Antagonism of miR-33 in mice promotes reverse cholesterol transport and regression of atherosclerosis. J Clin Invest. 2011;121(7):2921-31.
13. de Aguiar Vallim T, Tarling E, Kim T, Civelek M, Baldan A, Esau C, et al. MicroRNA-144 regulates hepatic ABCA1 and plasma HDL following activation of the nuclear receptor FXR. Circulation research. 2013:CIRCRESAHA. 112.300648.
14. Ramírez CM, Rotllan N, Vlassov AV, Dávalos A, Li M, Goedeke L, et al. Control of Cholesterol Metabolism and Plasma High-Density Lipoprotein Levels by microRNA-144Novelty and Significance. Circulation research. 2013;112(12):1592-601.
15. Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. Sports Medicine. 2014;44(2):211-21.
16. Nybo L, Sundstrup E, Jakobsen MD, Mohr M, Hornstrup T, Simonsen L, et al. High-intensity training versus traditional exercise interventions for promoting health. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2010;42(10):1951-8.
17. O'Donovan G, Owen A, Bird SR, Kearney EM, Nevill AM, Jones DW, et al. Changes in cardiorespiratory fitness and coronary heart disease risk factors following 24 wk of moderate-or high-intensity exercise of equal energy cost. Journal of applied physiology. 2005;98(5):1619-25.
18. Vatani DS, Ahmadi S, Dehrashid KA, Gharibi F. MINERVA MEDICA COPYRIGHT®. The Jour-

nal of sports medicine and physical fitness. 2011;51:695-700.
19. Fett C FW, Marchini J. Circuit weight training vs jogging in metabolic risk factors of overweight/obese women. . Arq Bras Cardiol 2009;93(5):519–25.
20. Rashid Lamir A, Dorody S, Ebrahimi Atri A. The effect of a session of resistance and aerobic exercise on the expression of ABCA1 gene in trained girls. Journal of sport and Biological Sciences. 2012;4(12):5-22.
21. Haji Hasani A, Ravasi A, kordy MR, Rashid lLamir A. The Effect of Moderate Resistance Training on Lymphocyte Cells ABCA1 Gene Expression, HDL and LDL in male with Coronary Artery Disease. Journal of sport and Biological Sciences. 2018:[in press].
22. Ghanbari-Niaki A. Treadmill exercise training enhances ATP-binding cassette protein-A1 (ABCA1) expression in male rats' heart and gastrocnemius muscles. Int J Endocrinol Metab. 2010;8(4):206-10.
23. Tofighi A, Rahmani F, Qarakhanlou BJ, Babaei S. The effect of regular aerobic exercise on reverse cholesterol transport A1 and apo lipoprotein aI gene expression in inactive women. Iranian Red Crescent Medical Journal. 2015;17(4).
24. Rayner KJ, Suarez Y, Davalos A, Parathath S, Fitzgerald ML, Tamehiro N, et al. MiR-33 contributes to the regulation of cholesterol homeostasis. Science. 2010;328(5985):1570-3.
25. de Cassia Marqueti R, Almeida JA, Nakagaki WR, Guzzoni V, Boghi F, Renner A, et al. Resistance training minimizes the biomechanical effects of aging in three different rat tendons. J Biomech. 2017;53:29-35.
26. Krug AL, Macedo AG, Zago AS, Rush JW, Santos CF, Amaral SL. High-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy. Muscle Nerve. 2016;53(5):779-88.
27. Macedo AG, Krug AL, Herrera NA, Zago AS, Rush JW, Amaral SL. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. J Steroid Biochem Mol Biol. 2014;143:357-64.
28. Kim SH, Kim GJ, Umemura T, Lee SG, Cho KJ. Aberrant expression of plasma microRNA-33a in an atherosclerosis-risk group. Mol Biol Rep. 2017;44(1):79-88.
29. Marquart TJ, Allen RM, Ory DS, Baldán Á. miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(27):12228-32.
30. Rotllan N, Ramirez CM, Aryal B, Esau CC, Fernandez-Hernando C. Therapeutic silencing of microRNA-33 inhibits the progression of atherosclerosis in Ldlr-/- mice--brief report. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013;33(8):1973-7.
31. Ramirez CM, Rotllan N, Vlassov AV, Davalos A, Li M, Goedeke L, et al. Control of cholesterol metabolism and plasma high-density lipoprotein levels by microRNA-144. Circ Res. 2013;112(12):1592-601.
32. Karunakaran D, Thrush AB, Nguyen MA, Richards L, Geoffrion M, Singaravelu R, et al.

Macrophage Mitochondrial Energy Status Regulates Cholesterol Efflux and Is Enhanced by Anti-miR33 in Atherosclerosis. Circ Res. 2015;117(3):266-78.

Shahid Beheshti University

Sport and Exercise Physiology

Autumn and winter 2019/ No.2/ Vol. 12/ Pages:119-135

The effect of eight weeks of moderate aerobic training on hypertension, serum levels of nitric oxide and apelin in middle-aged women with pre-hypertension

Mehdi Taheri Gandomany[1], Mohammad Faramarzi*[1], Ebrahim Banitalebi[1], Roohullah Hemmati[2]

[1]Department of Exercise Physiology, Shahrekord University, Shahrekord. Iran.

[2]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received: 2018/03/17 Revised: 2018/09/11 Accepted: 2018/09/23

Abstract

Purpose: Aging is associated with systemic dysfunctions in lipid metabolism and chronic inflammatory state which contribute to atherosclerotic. The purpose of this study was to investigate the effect of moderate and high intensity resistance training on micro-RNAs Associated with reverse cholesterol transport in Wistar elderly rats.

Methods: Thirty male Wistar rats (23 months old) were randomly, based on the weight of rats at the start of the study, divided into two experiment and one control group including moderate intensity resistance training (n = 10), high intensity resistance training (n = 10) and the control group (n = 10). Resistance training included 8 weeks of climbing a ladder with high intensity (80% MVCC) and moderate intensity (60% of MVCC) and 5 days a week. After completing training, expression of mir-33 and miR-144 and ABCA1 were measured RT-PCR technique. The statistical analysis was performed using ANOVA test with significance level of ($P \leq 0.05$).

Results: There was significance decrease in expression of miR-33a and miR-144 and increase in expression of ABCA1 in both high and moderate resistance groups ($P \leq 0.05$). Also, there was significant difference between the mRNA expression of ABCA1 levels in high and moderate resistance training ($P>0.05$). However, there was no significant difference expression of miR-33a and miR-144 level between groups.

Conclusion: It seems that moderate and high intensity resistance training can cause decrease the expression of miR-33a and miR-144 result to increase in mRNA expression of ABCA1.

Keywords: Resistance Training, miR-33a, miR-144, ABCA1, Atherosclerosis.

*Corresponding Author: Mohammad Faramarzi, Tel: 09133040196, E-mail: md.faramarzi@gmail.com