www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 66, No.5, P: 1235-1248
Nov-Jan 2023

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۶، شماره ۵
آذر-دی ۱۴۰۲، صفحه ۱۲۴۸-۱۲۳۵

مقاله اصلی

یک دوره تمرینات تناوبی شدید سبب افزایش بیان ژن mir146a، در هیپوکامپ و کاهش سطح قند خون، انسولین و مقاومت به انسولین در رت‌های سالمند می‌شود

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۵- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۳۰

بهمن شمشادی[۱]
رویا عسکری[۲*]
رسول رضایی[۳]
امیر حسین حقیقی[۴]

[۱] *دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران*
[۲] *دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران*
[۳] *استادیار فیزیولوژی ورزشی، بخش علوم ورزشی، دانشکده ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران*
[۴] *استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران*

Email: r.askari@hsu.ac.ir

خلاصه

مقدمه: سالمندی فرایندی جهانی، ذاتی، پیش‌رونده و آسیب رسان است که با التهاب سیستمیک در ارتباط است. mir146a، تنظیم کننده منفی التهاب است که نشان داده شده است که سطوح آن با افزایش سن کاهش می یابد. هدف از مطالعه حاضربررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان mir146a، قند خون، انسولین و مقاومت به انسولین، درهیپوکامپ رت‌های نر سالمند است.

روش‌کار: در این مطالعه، ۲۰ سر موش صحرایی نر۲۱-۱۸ ماهه‌ی نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰± ۲۸۰ گرم انتخاب شدند. سپس به روش تصادفی به ۲ گروه ، ۱:: تمرین(HIIT)، (۱۰سر رت) ۲: کنترل (۱۰سر رت)، تقسیم شدند. گروه تمرین۵ روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی تناوبی شدید به‌مدت ۸ هفته به تمرین ورزشی پرداختند. میزان بیان mir146a، قند خون، انسولین و مقاومت به انسولین اندازه گیری شد. در تحلیل داده ها از آزمون آماری tمستقل استفاده شد و داده ها با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه۸ در سطح معناداری p<۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: نتایج نشان داد هشت هفته تمرین تناوبی شدید باعث افزایش بیان mir146a درگروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد(p<001). میزان قند خون ، انسولین و مقاومت به انسولین در گروه تمرین ، کاهش معنی داری نسبت به کنترل داشت(p<001).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد هشت هفته تمرین HIIT با افزایش بیان mir146a می‌تواند از آتروفی هیپوکامپ جلوگیری کند. احتمالا تمرینات HIIT می‌تواند سازوکار غیر درمانی مناسبی برای افراد سالمند جهت جلوگیری یا کاهش عوارض شناختی باشد.

کلمات کلیدی: تمرین تناوبی شدید، سالمندی ، التهاب ، mir146a

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

سالمندی فرایندی جهانی، ذاتی، پیش‌رونده و آسیب رسان است(۱) که با انباشت تدریجی آسیب‌های مختلف و کاهش کارایی عملکردی و هموستاز سلول‌ها و بافت‌ها، در گذر زمان همراه است(۲،۱). این فرایند، حس پرسش‌گری و هیجان بشر را برانگیخته است. سالمندی با یک وضعیت التهاب سیستمیک خفیف مزمن در ارتباط است که با افزایش سطوح سرمی برخی از نشانگرهای التهابی مانند اینتر لوکین شش(IL-6) و پروتئین واکنشی C (CRP) و فاکتور نکروز تومور (TNFα) مشخص می‌شود(۳). مکانیسم های احتمالی متعددی در التهاب سالمندی دخالت دارند. همانند دیگر سیستم‌های فیزیولوژیکی کاهش قابل توجه در عملکرد ایمنی با افزایش سن، التهاب را توسعه می‌دهد، با این حال، التهاب مزمن درجه پایین در سالمندی پیامد مشخص بیماری مزمن مرتبط با سن هم می‌باشد(۴). با افزایش سن، شیوع شرایطی که باعث افزایش التهاب می‌شوند، مانند چاقی، عدم فعالیت بدنی، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت، بیماری مزمن کلیوی، استئوآرتریت و آلزایمر بیشتر می‌شود و مارکرهای التهابی به طور موثری توسعه بعدی دیابت را پیش بینی می کنند. افزایش سطوح بیومارکرهای التهابی ارتباط مثبتی با مقاومت به انسولین و خطر دیابت دارد(۵). افزایش استرس اکسیدایتو همراه با سالمندی هم می‌تواند در توسعه التهاب مزمن و بیماری دخالت داشته باشد. به خوبی نشان داده شده است که سالمندی با افزایش سطوح بافتی و در گردش گونه‌های واکنشی اکسیژن(ROS) و همین طور کاهش ظرفیت ضد اکسایشی همراه است(۶).

جدا از شاخص های التهابی، microRNA ها، موضوع پژوهشی مهمی هستند که ابزار حساس تری برای غربال گری فرایند های فیزیولوژکی به حساب می‌آیند. شواهد حاکی از آن است که microRNA ها، به احتمال زیاد در التهاب دوران سالمندی نقش دارند(۷). مطالعات نشان داده اند که عملکرد تنظیمی اکثریت microRNA ها' همراه با افزایش سن دچار اختلال می گردد و فراوانی برخی ازآنها نسبت به افراد جوان کاهش می‌یابد(۸).

میکرو RNA ها زیر گروه بزرگی از RNA های غیر کد کننده ۲۵-۱۸ نوکلئوتیدی هستند که از نظر تکاملی در ژنوم یوکاریوتی حفاظت شده می‌باشند. این مولکول‌ها بیان ژن را پس از رونویسی از طریق مهار ترجمه mRNA یا القا تجزیه آن کنترل می-کنند و این کار را بیشتر از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی('UTR3) انتهای mRNA ها انجام می‌دهند(۹).

miR-146a از جمله میکرو RNA هایی است که نقش مهمی در بروز بیماری‌های التهابی و سرطان‌های گوناگون ایفا می-کند. miR-146a نخستین‌بار به‌عنوان یک تنظیم‌گر سیستم - ایمنی در پاسخ به عفونت‌های میکروبی شناسایی گردید. بررسی‌های بیشتر نشان داد که miR146a/b در مسیر وابسته به[1]NF-Kb قرار داشته و توسط[2]TLR القا می‌گردد. این میکروRNA با هدف قرار دادن دو پروتئین ضروری در مسیر انتقال پیام پیش‌التهابی به نام‌های [3]TRAF6 و [4]IRAK مسیر NF-KB را مهار می‌نماید(۱۰،۱۱).

نشان داده شده است که سایتوکاین های پیش التهابی، فسفریلاسیون کینازهای مختلفی را القا می‌کنند. NFκB رونویسی از سایتوکاین های التهابی را جهت گیری کرده و به فرایند مقاومت انسولین در رژیم پرچرب و چاقی کمک می کند(۱۲). در بدن پستانداران ، سالمندی و افزایش التهاب سیستمیک، موجب سرکوب بیان mir146a می‌گردد و کاهش بیان آن با افزایش سایتوکاین های پیش التهابی در افراد سالمند مرتبط می باشد(۱۳).

شواهد تحقیقی متعددی وجود دارد که تمرینات ورزشی بیو مارکرهای التهابی را کاهش می‌دهد. مطالعات همبستگی بر

1- nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
2- Toll-like receptors

1- TNF receptor–associated factor6
2- interleukin-1 receptor (IL-1R) associated kinase

روی افراد سالمند (میانگین سن بیشتر از 66 سال)، ارتباط بین سطح فعالیت بدنی و مارکرهای سیستماتیک التهاب را ارزیابی نموده اند. نتایج به صورت با ثباتی رابطه معکوس وابسته به دوز، بین فعالیت بدنی و بیومارکرهای التهابی را حتی در شرایط فعالیت بدنی متوسط نشان داده اند(۱۴). فعالیت ورزشی هم چنین ، تنظیم و بیان microRNA ها، را در سلول های مختلف و متعاقبا در گردش خون را تحت تاثیر قرار می دهد(۱۶- ۱۵). مطالعات اخیر نشان داده اند که تمرینات تناوبی شدید که شامل جلسات تکراری نسبتاً کوتاه و متناوب با شدت بالا همراه با دوره های فعالیت با شدت کم یا استراحت است(۱۷)، نسبت به تمرینات مداوم از یکنواختی کمتری برخوردار است و این عامل باعث شده است که تمایل شرکت کنندگان برای انجام این نوع تمرینات افزایش یابد(۱۸).

نتایج حاصل از مطالعات، تناقضاتی را نشان می‌دهند. برخی از پژوهش ها که تاثیر تمرینات هوازی بر بیان سطوح mir146a ، در آزمودنی های سالمند مورد بررسی قرار داده اند، برنامه تمرینی تغییری در سطوح mir146a در گردش خون ایجاد نکرده است(۲۰-۱۹). مطالعه‌ای افزایش بیان این miRNA را در شرایط دیابتیک در پانکراس گزارش کرده است. در مطالعه مذکور ورزش به عنوان مداخله در این طرح مد نظر قرار گرفته است و فعالیت ورزشی هوازی تداومی در شرایط دیابتیک میزان بیان miR-146a را نسبت به گروه دیابتی کاهش داده است(۲۱). در یک مطالعه مقطعی در طی ده سال ، سطوح سرمی mir146a ، در میان آزمودنی های سالمندی که زمان دویدن و فعالیت بیشتری داشتند نسبت به سالمندان تمرین نکرده، بیشتر بوده است(۲۲). بنابراین به نظر می‌رسدپژوهش‌های بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.. پژوهش حاضر بر اساس جست‌وجوی محقق تا این تاریخ، اولین پژوهشی است که بر روی رت‌های سالمند و بر روی شاخص بیان mir-146a در بافت هیپوکامپ انجام شده است. با توجه به اهمیت اختلالات تخریب عصب در اعمال طبیعی مغز و همچنین اختلالات گزارش شده در عملکرد هیپوکامپ سالمندان، در پژوهش حاضر سعی بر آن است که ارتباط اثر ضد التهابی و ضد اکسایشی فعالیت ورزشی به صورت تمرینات تناوبی شدید بر تغییر بیان mir-146a، قند خون، میزان انسولین و مقاومت به انسولین در رت‌های سالمند بررسی شود.

روش کار

پژوهش حاضر از نوع تجربی و بنیادی ـ توسعه‌ای است. تعداد بیست سر رت صحرایی نر نژاد ویستار ۲۱- ۱۸ ماهه با وزن تقریبی۲۰±۲۸۰ ، به عنوان نمونه پژوهش از مرکز نگهداری حیوانات موسسه انستیتو پاستور کرج خریداری شد. در ابتدا و قبل از اجرای برنامۀ تمرینی دو هفته آشنا سازی با محیط نگه‌داری و پروتکل تمرین در نظر گرفته شد، سپس بعد از دو هفته آشنا سازی رت‌ها به گروه‌های تمرین تناوبی شدید ، گروه کنترل تقسیم شدند. بعد از آشنا سازی با محیط نگه‌داری و نحوۀ انجام تمرین‌ها، حیوانات به مدت هشت هفته و هر هفته پنج جلسه تمرینات تناوبی شدید انجام دادند(مطابق با جدول شمارۀ ۱) و در روزهای تمرین، گروه کنترل هیچ تمرینی را انجام ندادند. رت‌ها در حیوان‌خانه دانشگاه شیراز با شرایط استاندارد، دمای۲±۲۲ درجه ی سانتی‌گراد، رطوبت۴۰-۵۰ درصد و چرخه- ی روشنایی، تاریکی ۱۲-۱۲ نگهداری شدند. ترکیب غذای حیوانات به صورت آزادانه و استاندارد مخصوص حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شد.

آزمون جهت تعیین حداکثر سرعت بیشینه

جهت تعیین حداکثر سرعت بیشینه از آزمون فزایندۀ - استاندارد بیدفورد[1] و همکاران(۱۹۷۹) استفاده شد(۲۳)، که به‌وسیلۀ ریندلو[2] و همکاران(۲۰۰۷) جهت رت‌های نژاد ویستار استانداردسازی گردیده شده است(۲۴). آزمون - فزآینده به این‌صورت است که موش‌های صحرایی بر روی

1- Bedford

2- Leandro

تردمیل با سرعت، ۵ متر بر دقیقه شروع به دویدن می‌کنند. هر۳ دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر بر دقیقه افزایش می‌یابد. آزمون تا لحظهٔ رسیدن موش‌های صحرایی به واماندگی ادامه می‌یابد. سرعت نهایی موش‌های صحرایی به‌عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی جهت محاسبهٔ شدت‌های تمرینی موش‌های صحرایی استفاده شد.

پروتکل تمرین تناوبی شدید

در این پژوهش پیش بینی شده بود که از پروتکل تمرینی رضایی و همکاران (۲۵) استفاده شود، اما در روند اجرای پژوهش به دلیل عدم توانایی موش‌های سالمند این پروتکل تمرینی تعدیل شد. پروتکل تمرین تناوبی شدید شامل سه قسمت، گرم کردن، تمرین شامل تکرارهای اینتروال و سرد کردن بود. در ابتدا رت‌ها با شدت سی تا چهل درصدحداکتر سرعت بیشینه(نه متر بر دقیقه)، به مدت پنج دقیقه بر روی نوارگردان گرم کردن را انجام می‌دادند. پس از آن حیوانات تمرین تناوبی را اجرا کرده و سپس با شدت سی تا چهل درصدحداکتر سرعت بیشینه(نه متر بر دقیقه)، سرد کردن را انجام دادند. تمرین تناوبی شامل ترکیبی از تکرارهای اینتروال با شدت بالا و شدت پایین بود.که اطلاعات دقیق آن در جدول شماره یک آمده است

جدول ۱. پروتکل تمرین تناوبی شدید در این مطالعه

هفته	نوع تمرین	تعداد تناوب	زمان هر تناوب (دقیقه)	سرعت هر تناوب(متر بر دقیقه)
اول	اینتروال با شدت بالا	۲	۲	۲۴
	اینتروال با شدت پایین	۱	۲	۱۲
دوم	اینتروال با شدت بالا	۴	۲	۲۴
	اینتروال با شدت پایین	۳	۲	۱۲
سوم	اینتروال با شدت بالا	۶	۲	۲۵
	اینتروال با شدت پایین	۵	۲	۱۲
چهارم	اینتروال با شدت بالا	۸	۲	۲۷
	اینتروال با شدت پایین	۷	۲	۹
پنجم	اینتروال با شدت بالا	۸	۲	۲۷
	اینتروال با شدت پایین	۷	۲	۹
ششم	اینتروال با شدت بالا	۸	۲	۲۷
	اینتروال با شدت پایین	۷	۲	۹
هفتم	اینتروال با شدت بالا	۸	۲	۲۷
	اینتروال با شدت پایین	۷	۲	۹
هشتم	اینتروال با شدت بالا	۸	۲	۲۷
	اینتروال با شدت پایین	۷	۲	۹

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه حکیم سبزواری با کد IR.HSU.REC.1399.020تصویب شد. اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی از جمله در دسترس بودن آزادانه آب غذای استاندارد(پلت) و شرایط نگهداری مناسب مانند تنظیم دمای۲۲ درجه سانتی گراد با رطوبت ۴۰ تا ۵۰ درصد و در نظر گرفتن چرخه ۱۲ ساعت خواب و

بیداری، رعایت شد. همچنین همه آزمایشات بر اساس خط مشی های قرارداد هلسینکی اجرا شد.

اندازه گیری قند خون و انسولین و مقاومت به انسولین

۲۴ ساعت پس از پایان ۸ هفته تمرین ، رت‌ها بیهوش شدند و قفسه سینه شکافته شد، با سرنگ و به میزان کافی مستقیماً از بطن چپ قلب آنها خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون به منظور تهیه سرم با دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آنها جدا شد. سپس سرم حاصل تا زمان آزمایش‌های بیوشیمیایی در یخچال و در دمای (۸۰-)سانتی‌گراد نگهداری شد. سطح سرمی گلوکز به روش آنزیماتیک (کیت پارس آزمون، تهران، ایران) توسط دستگاه اتوآنالایزر (تکنیکون RA - ۱۰۰۰ نیویورک، آمریکا) اندازه گیری شد. غلظت سرمی انسولین نیز با روش الایزا و با استفاده از کیت انسولین مخصوص موش(zelbio ساخت کشور آلمان) اندازه گیری شد. شاخص مقاومت انسولینی با استفاده از معادله زیر محاسبه شد(۲۶).

HOMA-IR=(گلوکز ناشتا(mmol/L) × انسولین ناشتا(µU/mL)/22.5

هیپوکامپ

استخراج بافت هیپوکامپ در پایان ۸ هفته برنامهٔ تمرینی، ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرین، رت‌ها توسط تزریق درون صفاقی ترکیب کتامین (75mg/kg) و زایلازین (5mg/kg) بی‌هوش شدند. جهت بررسی میزان بیانmir146a ، پس از جدا کردن سر توسط گیوتین و تحت شرایط استریل بافت هیپوکمپ جداشده، بلافاصله به فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند.

جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از Real-time PCR تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن β2m (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمام پرایمرها به صورت اتصال اگزون- اگزون طراحی شد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵ ٪ استفاده شد. تکثیر cDNA و مشاهده باند مورد انتظار توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی می باشد.

استخراج RNA و سنتز cDNA

ابتدا با استفاده از کیت ستونی استخراج RNA (FavorPrep™ Tissue Total RNA Mini Kit) ساخت کشور هنگ کنگ طبق دستورالعمل زیر، کل محتویات RNA سلول (total RNA) استخراج شد. برای این منظور بافت های حاصل با نیتروژن مایع منجمد و پس از ان با روش های مکانیکی بافت خرد و هموژنایز شد. اولین مرحله برای استخراج RNA از سلول های حیوانی، از بین بردن دیواره ی سلول ها با کمک یک بافر لیز کننده به نام RB Buffer می باشد. 350µl از RB Buffer به نمونه (رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ) اضافه شد (از قبل به ازای هر ۱ میلی لیتر ۱۰ میکرولیتر β– mercaptoethanol به بافر اضافه شده است) و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد Filter Column درون Collection Tube قرار گرفت و مخلوط نمونه به Filter Column انتقال داده شد و با دور 14000 rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانترفیوژ محلول روشن از Collection Tube به یک تیوپ میکروسانترفیوژ جدید انتقال یافت. سپس هم حجم آن یعنی 350µl اتانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید. سپس به خوبی ورتکس شد. RB Mini Column درون Collection Tubeقرار گرفت و نمونه ای که اتانول به ان اضافه شده بود به RB Mini Column انتقال یافت و با سرعت 14000 rpmبه مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در مرحله بعد500µl از Wash Buffer1به RB Mini Column اضافه گردید و با سرعت 14000 rpm به مدت ۱ دقیقه سانترفیوژ گردید و محلول درون Collection Tube دور ریخته شد. در ادامه RB Mini Columnبا 750µl از Wash Buffer2 با سرعت

rpm 14000 به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول درون Collection Tubeدور ریخته شد. این مرحله دوبار تکرار شد. سپس به مدت ۳ دقیقه با سرعت 14000 rpm سانتریفیوژ انجام شد. سپس RB Mini Column درون Elution Tube قرار داده شد و 50µl از RNase-free ddH2O به RB Mini Column اضافه شد و ۱ دقیقه به آن زمان داده شد و سپس به مدت ۲ دقیقه با سرعت 14000 rpm سانتریفیوژگردید. محلول درون Elution Tube ، RNA های استخراج شده بود که در ۷۰- نگهداری شدند.

سنتز cDNA، طبق دستورالعمل موجود در کیت فرمنتاز (K1621)تهیه گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده ازآنزیمRevertAid™M-MuLVReversetranscriptase صورت‌گرفت. هنگام تهیهCdna ، ازنمونه تخلیص شده پس از قرائت جذب، حجمی شامل ۱۰ ۰۰ نانوگرم RNAبرداشته، سپس 0.5µL Random Hexamers ، 0.5µL پرایمر oligodT (الیگودئوکسی ریبو نوکلئوتید که به عنوان یک پرایمر برای شروع سنتز cDNA استفاده می شود) به آن افزوده و سپس تا حجم ۱۲ میکرولیتر آب DEPC اضافه گردید و به دمای ۶۵ درجه به مدت ۵ دقیقه منتقل گردید. سپس به مدت ۲ دقیقه بر روی یخ قرار گرفت تا ساختار های ثانویه RNA از هم باز شوند.

در مرحله بعدr 4µL5XR eaction Buffe و2µLdNTP و 1µLRevertAid RT و1µL RiboLock RNase Inhibitor به ترکیب قبل که برای ۵ دقیقه در دمای ۶۵ قرار گرفته بود اضافه گردید. سپس ترکیب ابتدا به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ قرار گرفت. بعد از آن به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ قرار گرفت. در آخر به منظور از کار افتادن آنزیمRT ، تیوب های واکنش را به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار دادیم. سپس cDNA آماده شده جهت انجام RT- PCR مورد استفاده قرار گرفت یا جهت نگهداری به فریز C^{o} 20- منتقل گردید.

جدول ۲ . توالی پرایمرها رفت و برگشت ژن mir146a جهت واکنش Real-time PCR

miR-146a	Forward: CTGCCGCTGAGAACTGAATT
	Reverse: CAGAAGCAGGGTCCGAGGTA
U6	Forward: CTCGCTTCGGCAGCACA
	Reverse: AACGCTTCACGAATTTGCGT

جهت بررسی بیان ژن‌ها با استفاده ازدستگاه Real-time PCR ساخت کشور آلمان ، تمام پرایمرها توسط نرم افزار Allele IDv7.8 طراحی شد و از ژن β2m (بتا ۲ میکروگلوبولین) به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. تمام پرایمرها به صورت اتصال اگزون- اگزون طراحی شد. جهت اطمینان از عدم تکثیر DNA ژنومی از ۲۵ نانوگرم cDNA و ۲۵ نانوگرم RNA در تیوب‌های جداگانه از واکنش PCR و به کارگیری از ژل آگاروز ۱/۵ ٪ استفاده شد. تکثیر cDNA و مشاهده باند مورد انتظار توسط پرایمر اختصاصی و عدم تکثیر RNA پس از واکنش PCR نمایانگر عدم تکثیر DNA ژنومی می باشد. سپس برای هر یک از پرایمرها کارایی PCR اندازه‌گیری و منحنی استاندارد برای آن ها رسم گردید. جهت بررسی بیان ژن‌ها برای گروه های سلولی از مخلوط PCR، RealQ 2x Master mix Green Dye (ساخت AMPLQON آلمان) طبق دستورالعمل کیت استفاده شد. پس از اتمام فعالیت دستگاه و مشاهده نمودارها مبنی بر افزایش تعداد قطعه مورد نظر و میزان نشرفلورسانس با محاسبه $\Delta\Delta C_t$ میزان تغییر در بیان ژن مورد نظر نسبت به *B2m* و گروه کنترل است را می‌سنجیم. و سپس با استفاد از فرمول $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان آن محاسبه گردید.

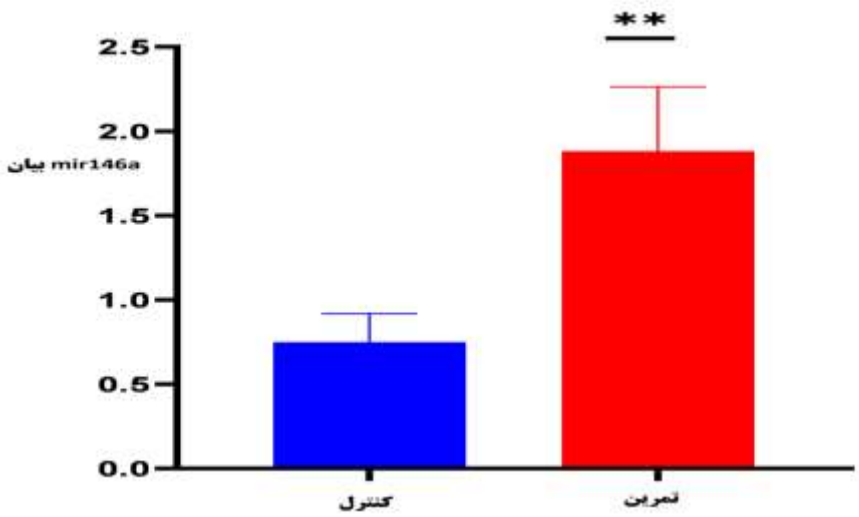
تجزیه و تحلیل آماری

پس از استخراج نتایج ، از آزمون شاپیرو - ویلک جهت بررسی نرمال بودن داده ها استفاده شد. زمانی که واریانس‌ها

همگن بودند، برای بررسی تفاوت میانگین دو گروه از آزمون آماریt مستقل استفاده شد. همچنین تمام عملیات آماری با استفاده از نرم افزارGraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد و سطح معنی داری P< ۰۵/ در نظر گرفته شد.

نتایج

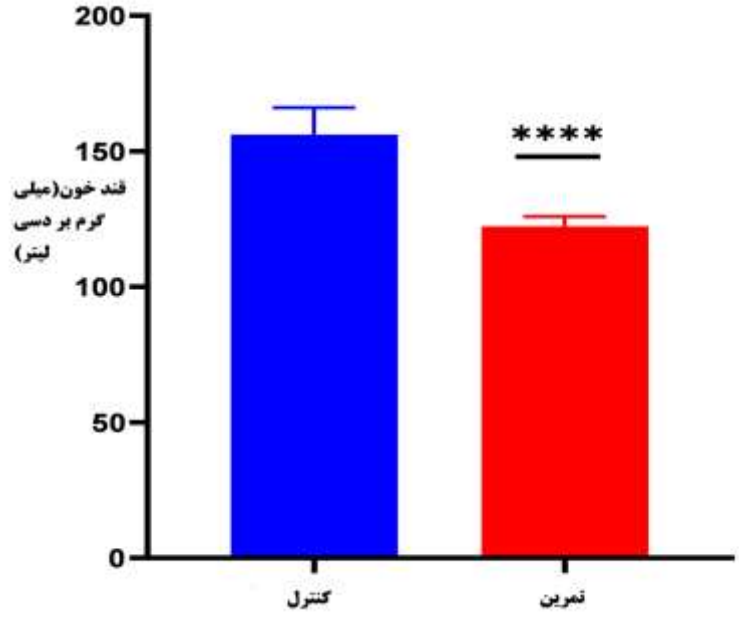
آزمون t مستقل نشان داد که میزان بیان mir146a، تفاوت معنی داری دربین گروه های کنترل و تمرین دارد (p</0016۰). میزان بیان mir146a ، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری وجود دارد(p</0016).



شکل ۱ ، سطح بیان mir146a در هیپوکامپ رت‌های سالمند، گروه تمرین** ، افزایش معنی داری با گروه کنترل

آزمون t مستقل نشان داد که میزان قند خون، تفاوت معنی داری دربین گروه های کنترل و تمرین دارد (p</0001۰).

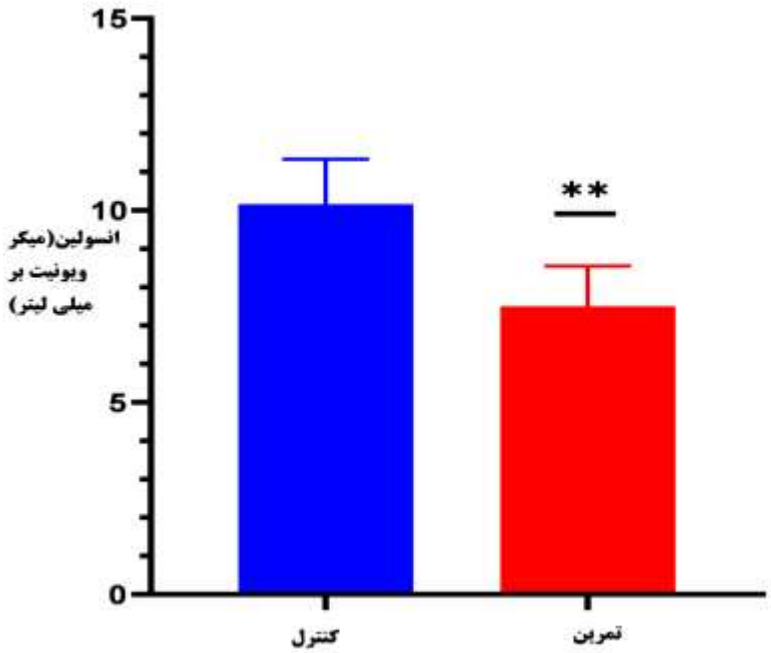
میزان قند خون ، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری دارد (p</0001).



شکل۲، میزان قند خون در رت‌های سالمند، گروه تمرین ****، کاهش معنی داری با گروه کنترل

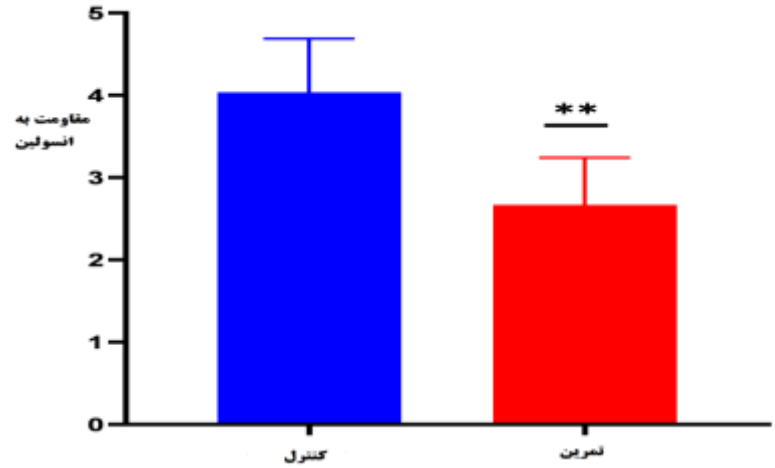
آزمون t مستقل نشان داد که میزان انسولین، تفاوت معنی داری دربین گروه های کنترل و تمرین دارد(۰p</0020).

میزان انسولین ، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری دارد (p</0020).



شکل۳، میزان انسولین در رت‌های سالمند، تمرین **، کاهش معنی داری با گروه کنترل

آزمون t مستقل نشان داد که میزان مقاومت به انسولین، تفاوت معنی داری دربین گروه های کنترل و تمرین دارد (۰p</0078). میزان مقاومت به انسولین ، در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری دارد (p</0078).



شکل۴. میزان مقاومت به انسولین در رت‌های سالمند، تمرین **، کاهش معنی داری با گروه کنترل

بحث

مطالعه حاضر به بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید بر بیان mir146a در هیپوکامپ و سطوح قند خون، انسولین و مقاومت به انسولین، رت های سالمند پرداخت. بر اساس نتایج بدست آمده ، هشت هفته تمرین تناوبی شدید میزان بیان mir146a در هیپوکامپ رت های سالمند را افزایش داد. در تحقیقات، امپورتا[1] و همکاران(۲۰۱۸)، (۲۷)، کانگاس[2] و همکاران(۲۰۱۷)، (۲۲)، اوقباعی و همکاران(۲۰۱۷)، (۲۸)، ساری صراف و همکاران(۲۰۲۱)، (۲۹)، افزایش بیان mir146a را به دنبال تمرین ورزشی گزارش کرده اند که نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات ذکر شده در یک راستا قرار دارد. درحالی که در تحقیق علیپور و همکاران(۲۰۲۰)، (۲۱)، سوودا[3] و همکاران(۲۰۱۳)، (۳۰)، دی گونزالو[4] و همکاران(۲۰۱۵)، (۱۹)، زانگ[5] و همکاران(۲۰۱۷)، (۲۰)، کاهش یا عدم تغییر معنی دار بیان ژن miR-146a را به دنبال تمرین ورزشی گزارش کرده اند که با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو است. در تحقیق علیپور و همکاران، نوع تمرین، نوع آزمودنی، شرایط نمونه‌های تحقیق و همچنین نوع بافت با تحقیق حاضر متفاوت است که می‌تواند دلایل ناهمسویی با تحقیق حاضر باشد.در تحقیق سودا و همکاران، تاثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن بررسی شده و مکانیسم متفاوت تأثیر تمرین مقاومتی با تمرین تناوبی شدید و همراه بودن آن با کوفتگی و آسیب‌های جزئی که خود بر افزایش التهاب تأثیرگذاراست، را می‌توان دلیل احتمالی این ناهسویی دانست. در تحقیق دی گونزالو و همکاران و زانگ و همکاران ، نوع تمرین، نوع آزمودنی، شرایط نمونه‌های تحقیق با تحقیق حاضر متفاوت است که می‌تواند را دلیل احتمالی این ناهسویی دانست.

نتایج مطالعات به وضوح نشان می دهد که رابطه قوی بین استرس اکسیداتیو و التهاب وجود دارد. پاسخ هایی که توسط گیرنده‌های Toll-like (TLRs) بوجود می آیند، عمدتاً توسط فعال شدن NF-KB ، که یک تنظیم کننده اصلی التهاب است، تحریک می شوند، و نیز این تنظیم کننده بیان صدها ژن درگیر در پاسخ های ایمنی ذاتی را کنترل می کند. همچنین NF-KB یک فاکتور هسته ای حساس ردوکس بوده که در کنترل بسیاری از فرآیندهای بافتی و سلولی طبیعی درگیر است. بنابراین NF-KB دارای موقعیت استراتژیک در سطح بین استرس اکسیداتیو و التهاب است(۳۱).

NF-KB به شکل پنهانی در سیتوپلاسم و متصل به پروتئین های مهار کنند IKB[6] وجود دارد. هنگامی که محرک ناشی از NF-KB ، کمپلکس IKB کیناز را، (که IKB را فسفوریله می کند)، فعال کند، این امر منجر به یوبیکیوتینه (IKB اضافه کردن یوبیکیوتین به یک پروتئین سوبسترا یوبیکیوتینیشن نامیده می شود. یوبیکیوتینیشن بسیاری از پروتئین ها را تحت تاثیر قرار می دهد و می توانند آنها را برای تخریب از طریق پروتئازوم علامت گذاری کنند، محل سلولی آنها را تغییر دهد و فعالیت آنها را تحت تاثیر قرار دهد) و متعاقب آن تخریب مسیر فعالیت NF-KB شود. تخریب IKB رشته های DNA و توالی هسته ای را در معرضNF-KB قرار می دهد و اجازه انتقال آن به هسته و تنظیم ژن های هدف را به آن می دهد(۳۲). بنابراین،-NF KBفعال شده وارد هسته شده و باعث رونویسی شمار زیادی از ژن‌ها، که واسطه‌ی فرآیندهای سلولی گوناگونی مانند ایمنی، التهاب، تکثیر، مرگ سلولی و پیری سلولی هستند، می‌شود(۳۳).

[1] Improta
[2] Kangas
[3] Sawada
[4] de Gonzalo
[5] Zhang
[6] IkappaB kinase

نشان داده شده است که اغلب ژن‌های هدف miRNA ها و ژن های تغییر یافته در اثر تمرین در مسیر پروتئولیزی وابسته به یوبیکوئیتین در گیر می شوند. اگر چه اجزای عملکردی این مسیر در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفته است، اما گزارش ها حاکی از آن است که مسیر یوبیکوئیتین، جانوس کیناز، نقش کلیدی نظارتی در عملکرد التهاب دارند و از طریق تمرین تحت تاثیر قرار می‌گیرند. برای مثال بر پایه روش‌های متعدد و پیچیده آشکار شده است که ژن‌های حاضر در این مسیرها موجب تغییر تنظیم NF KB می‌شوند که در کنترل عملکرد ایمنی و التهاب نقش دارند(۳۴).

Mir146a به عنوان یک miRNA ضدالتهابی معرفی می‌شود که توسط سایتوکاین‌هایی مانند IL-1ß ، TNF-αو مسیر NF-κBفعال شده و می‌تواند با سرکوب اجزای مسیر-NF KB (IRAK1 وTRAF6) و در نتیجه، سرکوب بیان ژ نهای IL-8[1] ، TNF-α[2] ، IL-6 [4]، بر کاهش التهاب اثر بگذارد(۳۵). اگر چه در مطالعه ی حاضر این شاخص ها بررسی نشد ولی افزایش بیان این ژن می تواند ناشی از کاهش فعالیت مسیرهای بالادستی و کاهش ترشح احتمالی سایتوکاین‌های التهابی تلقی شود.

هشت هفته تمرین تناوبی شدید، موجب کاهش قند خون و مقاومت به انسولین و میزان انسولین در رت های سالمند گردید. در تحقیقات ، سوگارد[3] و همکاران(۲۰۱۸)، (۳۶)، هوانگ[4] و همکاران(۲۰۱۶)، (۳۷)، لیتل[5] و همکاران(۲۰۱۱)، (۳۸)، کاهش قند خون و مقاومت انسولین را به دنبال تمرین ورزشی گزارش کرده اند که نتایج تحقیق جاضر با نتایج تحقیقات ذکر شده در یک راستا قرار دارد. در حالی که در تحقیق عباسی دولایی و همکاران (۲۰۱۶)، (۳۹)، و سان هوانگ[6] و همکاران(۲۰۱۱)، (۴۰)، افزایش قند خون و مقاومت به انسولین را به دنبال تمرین ورزشی گزارش کرده اند که با نتایج تحقیق حاضر ناهمسو است. دراین تحقیقات ، نوع تمرین، نوع آزمودنی، شرایط نمونه‌های تحقیق با تحقیق حاضر متفاوت است که می‌تواند دلایل ناهمسویی با تحقیق حاضر باشد. تمرین تناوبی شدید منجر به سازگارهای متابولیکی از جمله جذب اکسیژن، افزایش محتوای میتوکندری در عضلات اسکلتی، افزایش پروتئین های حامل اسید چرب در عضله و آنزیم های میتوکندری و بتا اکسیداسیون در مقایسه با تمرینات استقامتی منظم می‌شود. علاوه بر این یک افزایش ظرفیت اکسیداسیون عضله اسکلتی، تغییر در متابولیسم کربوهیدرات، افزایش محتوای گلیکوژن استراحتی، GLUT4 و آنزیم‌های گلیکولیزی از دیگر سازگاری‌های تمرینات تناوبی شدید است. انقباضات عضلانی یک اثر شبه انسولینی دارند. این انقباضات باعث افزایش تعداد GLUT4، و افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به گلوکز و در نتیجه کاهش قند می گردد(۴۱).

مقاومت به انسولین به عنوان یک پاسخ ناکافی در بافت‌های حساس به انسولین(کبد، عضلات اسکلتی و بافت چربی)به سطوح در گردش انسولین تعریف می‌شود. همچنین کاهش تعداد پروتئین گیرنده انسولین منجر به مقاومت به انسولین می‌گردد. محققان مکانیزم احتمالی مقاومت به انسولین را مشکلات عملکردی در گیرنده انسولین و در مهارکننده ها که می‌تواند پس از پیوند با گیرنده انسولین در عملکرد آن تداخل به وجود آورد تعریف نموده اند(۴۲). نشان داده شده است که سایتوکاین های پیش التهابی، فسفریلاسیون کینازهای مختلفی را القا می‌کنند. NFκB رونویسی از سایتوکاین های التهابی را جهت گیری کرده و به فرایند مقاومت انسولین در رژیم پرچرب و چاقی کمک می

1- Sogaard
2- Hwang
3- Little
4 - Sunghwan
5- inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta

کند(۱۲). IKKB کینازی است که با این فاکتور رونویسی در ارتباط می باشد و نشان داده شده است که علاوه بر افزایش فعالیت NFκB ، به واسطه فسفریلاسیون سوبستراهای گیرنده انسولین (IRS-1) با پیام رسانی انسولین تداخل می کند(۴۳ ، ۱۲). بیان بیش از IKKB[1]، فعالیت NF-κB را افزایش و پیام رسانی انسولین را کاهش می دهد، در حالی که کمبود IKKB ، حساسیت به انسولین را افزایش خواهد داد(۴۱). فعالیت بدنی به موجب افزایش عملکرد و سیگنالینگ انسولین، افزایش انتقال دهنده های گلوکز از درون به غشای سلول، افزایش سرعت برداشت گلوکز، افزایش چگالی مویرگی، افزایش بیان ژن یا فعالیت پروتئین-های مختلف درگیر در پیام رسانی انسولین، افزایش فعالیت گلیکوژن سنتتاز و در نهایت افزایش ذخیره سازی گلیکوژن، موجب تاثیر بر هموستاز گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین می گردد(۴۴).

نتیجه گیری: در مجموع، نتایج تحقیق حاضر نشان دهنده کاهش قند خون و مقاومت به انسولین و افزایش بیان mir146a، متعاقب تمرین تناوبی شدید در هیپوکامپ موش‌های صحرایی سالمند می‌باشد. بنابراین احتمالاً تغییرات ایجاد شده در قند خون و مقاومت به انسولین و بیان mir146a، در هیپوکامپ موش‌های سالمند ممکن است در ارتباط با کاهش عوامل استرس اکسایشی و عوامل پیش التهابی ناشی از این تمرینات باشد. احتمالا تمرینات ورزشی تناوبی شدید می‌تواند از طریق تعدیل عوامل پیش التهابی و التهابی و در نتیجه افزایش بیان mir146a از تحلیل سیستم عصبی ناشی از سالمندی جلوگیری کند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این پژوهش مراتب سپاس و قدردانی خود را از همکاری معاونت‌های آموزشی و پژوهشی دانشکده ی علوم تربیتی و روانشناسی (بخش علوم ورزشی) دانشگاه شیراز و دانشگاه حکیم سبزواری ، ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

References

1. Vina J, Borras C, Miquel J. Theories of ageing. IUBMB life. 2017; 59(4):249.
2. Wheeler HE, Kim SK. Genetics and genomics of human ageing. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2011; 366(1561):43-50.
3. 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
4. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP and Leeuwenburgh C (2009). Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. Ageing Res Rev, 2009؛ 8: 18-30
5. Woods JA, Wilund KR, Martin SA, Kistler BM. Exercise, Inflammation and Aging. Aging and Disease. 2012؛ Vol 3, No 1, 130-140
6. Kregel KC and Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms,functional effects, and pathological considerations. American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology, 2007؛ 292: R18-36
7. Olivieri F, Rippo MR, Procopio AD, Fazioli F. Circulating inflamma-miRs in aging and agerelated diseases. Front Genet 2013;4:121.
8. 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.
9. Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. & Sonenberg, N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight?. Nat Rev Genet 2008؛9, 102–114

10. Suzuki Y. Kim HW. Ashraf M. Haider HK. Diazoxide potentiates mesenchymal stem cell survival via NF-κBdependent miR-146a expression by targeting Fas American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiolog.2010؛. 299(4): H1077-82
11. Omrane I. Kourda N. Stambouli N. Privat M. Medimegh I. Arfaoui A. MicroRNAs 146a and 147b biomarkers for colorectal tumor's localization. BioMed Research International. 2014: 584852
12. Shoelson S, Lee J, Yuan M. Inflammation and the IKKβ/IκB/NF- κB axis in obesity- and diet- induced insulin resistance. International Journal of obesity. 2003؛ 27:S49- S52.
13. Jiang M, Xiang Y, Wang D, Gao J, Liu D, Liu Y, et al. Dysregulated expression of miR146a contributes to age related dysfunction of macrophages. Aging Cell 2012;11(1): 29-40.
14. David B. Reuben; Leslie Judd-Hamilton; Tamara B. Harris; Teresa E. Seeman The Associations Between Physical Activity and Inflammatory Markers in High-Functioning Older Persons: MacArthur Studies of Successful Aging.2003؛ 51(8), 1125–1130.
15. 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.
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 J physiol 2011; 589(16): 3983-94.
17. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. Diabetologia. 2017;60(1):7-23
18. Groussard C, Maillard F, Vazeille E, Barnich N, Sirvent P, Otero YF,. Tissue-Specific Oxidative Stress Modulation by Exercise: A Comparison between MICT and HIIT in an Obese Rat Model. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019:1965364.
19. 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.
20. 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
21. Alipour MR, Yousefzade N, Bavil FM, Naderi R, Ghiasi R. Swimming Impacts on Pancreatic Inflammatory Cytokines, miR-146a and NF-κB Expression Levels in Type-2 Diabetic Rats. Curr Diabetes Rev. 2020;16(8):889-894.
22. Kangas R, Törmäkangas T, Heinonen A, Alen M, Suominen H, Kovanen V, Laakkonen EK, Korhonen MT. Declining Physical Performance Associates with Serum FasL, miR-21, and miR-146a in Aging Sprinters. Biomed Res Int. 2017;2017:8468469.
23. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol. 1979 Dec;47(6):1278-83
24. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM,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
25. Rezaei, R, Nurshahi, M, Bigdali, M, Khodaqoli, F, Haqparast, A. The effect of eight weeks of continuous and intense intermittent aerobic training on VEGF-A and VEGFR-2 levels in the brain tissue of male Wistar rats. J Sport Physical Acti Physio, 2014; 8(2): 1213-1221, [Farsi(
26. Cacho J,. Sevillano J," et al", Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats, American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism Publishe, 2008; 295 (5): 1269-1276
27. Improta Caria AC, Nonaka CKV, Pereira CS, Soares MBP, Macambira SG, Souza BSF. Exercise Training-Induced Changes in MicroRNAs: Beneficial Regulatory Effects in Hypertension, Type 2 Diabetes, and Obesity. Int J Mol Sci. 2018 :15;19(11):3608.
28. Oghbaei, H., Ahmadi Asl, N., & Sheikhzadeh, F. Can regular moderate exercise lead to changes in miRNA-146a and its adapter proteins in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats? Endocrine Regulations, 2017: 51(3), 145-52.
29. Sari-Sarraf, V, Amirsasan, R, & Iraqi, S. F. Comparison of changes in miR-146a gene expression and serum levels of TNF-α, IL-6 and CRP following interval or continuous aerobic training with calorie restriction in obese women. Jour Pract Studies of Bioscie Sport,2021: 9(20), 30-43.

30. 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: Jul 29;8(7):e70823.
31. Muriach M, Flores-Bellver M, Romero FJ, Barcia JM. Diabetes and the brain: oxidative stress, inflammation, and autophagy. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014:102158
32. Meffert, M. K., Chang, J. M., Wiltgen, B. J., Fanselow, M. S., & Baltimore, D. NF-[kappa(B functions in synaptic signaling and behavior. Nature neuroscience,2003؛6(10), 1072
33. Vaughan, S., & Jat, P. S. Deciphering the role of nuclear factor-κB in cellular senescence. Aging (Albany NY),2011؛3(10), 913
34. 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.
35. Olivieri F., Rippo M. R., Prattichizzo F.,et al. Toll like receptor signaling "inflammaging". microRNA as new players. Immunity & Ageing. 2013 Mar 19;10(1):11.
36. Sogaard D., Lund M.T., Scheuer C.M.,et al. High-intensity interval training improves insulin sensitivity in older individuals. Acta Physiol. 2018 Apr; 222, e13009.
37. Hwang C.L., Yoo J.K., Kim H.K., et al. Novel all-extremity high-intensity interval training improves aerobic fitness, cardiac function and insulin resistance in healthy older adults. Exp. Gerontol.2016: 82, 112–119.
38. Little J.P., Gillen J.B., Percival M.E., et al.,. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. J. Appl. Physiol.2011: 111, 1554–1560.
39. Abbasi Deloui, Asia; Ishaghi, Reza; Ahmadi, Mozhgan, Kohnpour, Mohammad Ali. The effect of a period of resistance training on serum levels of glucagon-like peptide-1, dipeptidyl peptidase-4 and insulin resistance in obese men. Exercise Physiology, and physical activity J .2016: 10:21-30. [Farsi(
40. Sunghwan S, In-Kyong J, Kim M, Yeon S, Sue S, Jae HK. Effects of Resistance Training and Aerobic Exercise on Insulin Sensitivity in Overweight Korean Adolescents: A Controlled Randomized Trial, Diabetes Metab J. 2011; 35(4): 418–426.
41. Larsen S, Danielsen JH, Søndergård SD,et al. The effect of high-intensit training on mitochondrial fat oxidation in skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. Scand J Med Sci Sports. 2015; 25: 59-69.
42. Huh JY, Siopi A, Mougios V, Park KH, Mantzoros CS. Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2015; 100:E453-7.
43. Kim J, Yeh DC, Ver M, Li Y, Carranza A, Conrads TP, et al. (2008). Phosphorylation of Ser24 in the pleckstrin homology domain of insulin receptor substrate-1 by mouse pelle- like kinase/interleukin- 1 receptorassociated kinase. Journal of Biological Chemistry. 280 (24):23173- 83
44. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care. 2011; 34:4-10

Original Article

A period of intense intermittent exercise increases the expression of the mir146a gene in the hippocampus and decreases the levels of blood sugar, insulin and insulin resistance in elderly rats

Received: 07/10//2022 - Accepted: 21/11/2022

Bahman Shamshadi[1]
Roya Askari [2*]
Rasul Rezaei[3]
Amir Hossein Haghighi [4]

[1] *Sports Physiology Doctoral Student, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran*

[2] *Associate Professor of Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran*

[3] *Assistant Professor of Sports Physiology, Department of Sports Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran*

[4] *Sports Physiology Professor, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran*

* Corresponding author: Roya Askari, Associate Professor of Sports Physiology, Department of Sports Physiology, Faculty of Sports Sciences, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

Email: r.askari@hsu.ac.ir Phone: **Tel:**051 44012763

Abstract

Introduction

Aging is a universal, inherent, progressive and damaging process that is related to systemic inflammation. mir146a is a negative regulator of inflammation whose levels have been shown to decrease with age. The aim of the present study is to investigate the effect of eight weeks of intense intermittent exercise on the expression of mir146a, blood sugar, insulin and insulin resistance in the hippocampus of aged male rats.

Material and Method

In this study, 20 Wistar male rats aged 18-21 months with an average weight of 280±20 grams were selected. Then they were randomly divided into 2 groups, 1: HIIT training (10 rats) 2: control (10 rats). The training group trained 5 days a week according to the intense interval training program for 8 weeks. did sports. The expression levels of mir146a, blood sugar, insulin and insulin resistance were measured. In data analysis, independent t-test was used and the data were analyzed using GraphPad Prism version 8 software at a significance level of P <0.05

Results

The results showed that eight weeks of intense intermittent training increased the expression of miR146a in the training group compared to the control group (p<001). The level of blood sugar, insulin and insulin resistance in the exercise group had a significant decrease compared to the control (p<001).

Conclusion

It seems that eight weeks of HIIT training can prevent hippocampal atrophy by increasing the expression of mir146a. Probably, HIIT exercises can be a suitable non-therapeutic mechanism for elderly people to prevent or reduce cognitive complications.

Key words

intense interval training, aging, inflammation, mir146a

Acknowledgement: There is no conflict of interest