مقاله پژوهشی

تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی (هوازی + مقاومتی) بر میزان بیان miR -301a و برخی از شاخص‌های عملکرد حرکتی در زنان مبتلابه مولتیپل اسکلروز (MS)

سامان یوسفی سقزی[۱]، اکبر اعظمیان جزی[۱*]، روح‌الله همتی[۲]، ناهید جیواد[۳]

۱- گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- گروه نورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: شواهد متعددی مبنی بر نقش مؤثر فعالیت ورزشی روی بیماران مولتیپل اسکلروزیس (ام اس) وجود دارد. بیان نابجای برخی از میکرو RNAها مانند افزایش miR-301a در بیماری ام اس، با تأثیر بر مسیرهای التهابی منجر به ایجاد التهاب در این بیماران می‌شود. هدف این مطالعه اثر هشت هفته تمرین ترکیبی (هوازی+مقاومتی) بر میزان بیان miR -301a و برخی از شاخص‌های عملکرد حرکتی زنان مبتلابه مولتیپل اسکلروز است.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، ۲۲ زن مبتلابه ام اس به‌طور تصادفی در دو گروه تجربی و کنترل تقسیم شدند. گروه تجربی ۸ هفته (۴ روز در هفته) تمرین ترکیبی انجام دادند. قبل و بعد از مداخله تمرین، بیان miR -301a با روش Real time PCR اندازه‌گیری شد. نمرات قبل و بعد از مداخله‌ی آزمون‌های TUG، 6MWT، 10MWT و نمره ناتوانی EDSS، با استفاده از تی- مستقل ثبت و تحلیل شد.

نتایج: نتایج این پژوهش نشان داد، بیان miR -301a قبل و بعد از مداخله در بین دو گروه معنادار بود (P=۰/۰۰۱). تفاوت تست‌های TUG، (P=۰/۰۰۱)، 6MWT، (P=۰/۰۰۲) و نمره ناتوانی EDSS (P=۰/۰۱۵)، قبل و بعد از مداخله در بین دو گروه معنادار بود. تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در آزمون 10MWT وجود نداشت (P=۰/۶۷۸).

نتیجه‌گیری: انجام تمرین ترکیبی، برای زنان مبتلابه ام اس سودمند بوده و سبب بهبود عملکرد حرکتی و کاهش بیان miR-301a می‌شود؛ بنابراین، انجام آن، نقش مهمی در کاهش التهاب و جلوگیری از پیشرفت بیماری ام اس ایفا می‌کند.

کلمات کلیدی: مولتیپل اسکلروز، تمرین ترکیبی، miR -301a، عملکرد حرکتی، نمره ناتوانی EDSS

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (ام اس) یکی از بیماری‌های خود ایمن است که سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند و با فرایند دمیلینه شدن (تخریب غلاف میلین سلول‌های عصبی) آغاز می‌گردد. این بیماری اغلب در جوانان و افراد ۲۰ تا ۴۵ سال مشاهده می‌شود (۱، ۲). میزان شیوع ام اس در ایران حدود ۱۵ تا ۳۰ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت است و بیشترین شیوع از اصفهان با میزان ۴۳/۸ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است (۳). بیماری ام اس دارای چهار الگوی مشخص است که عبارت‌اند از: عودکننده – بهبود یابنده، پیش‌رونده اولیه، پیش‌رونده ثانویه و پیش‌رونده – عودکننده (۴). تقریباً ۶۵ تا ۸۹ درصد از موارد ام اس را انواع عودکننده – بهبود یابنده تشکیل می‌دهند (۱، ۴). بیماری ام اس منجر به علائم حسی شایعی مانند خستگی، اختلالات تعادل، اسپاسم، ضعف حرکتی و اختلال در عملکرد عضلانی می‌شود. علیرغم به‌کارگیری روش‌های درمانی متعدد برای این بیماری، ازجمله تجویز داروهایی نظیر اینترفرون، هنوز درمان قطعی برای آن وجود ندارد (۵). مطالعات اخیر فعالیت بدنی را یکی از اجزای مهم و مکمل در برنامه‌ی درمانی افراد

*نویسنده مسئول: **اکبر اعظمیان جزی**، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
Email: azamianakbar@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0003-3672-4927

مبتلابه ام اس با درجه ناتوانی خفیف تا متوسط ذکر کرده‌اند (۶، ۷). هرچند مکانیسم اثر فعالیت ورزشی در این بیماران هنوز ناشناخته باقی مانده است (۸، ۹). برخی از مطالعات اثر مثبت تمرینات مقاومتی (۱۰، ۱۱)، برخی اثر تمرینات استقامتی و هوازی (۱۲، ۱۳) و مطالعات محدودی نیز آثار تمرینات ترکیبی در بیماران مبتلابه ام اس را بررسی کرده‌اند (۱۴-۱۷). همچنین اخیراً آثار فعالیت ورزشی منظم بر روی عملکرد ایمنی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۸). فعالیت ورزشی پاسخ‌های ایمنی را از طریق تولید سایتوکاین‌هایی که در تنظیم شکل‌گیری پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش دارند، تنظیم می‌کند (۱۹-۲۱). این در حالی است که در بیماری‌های خود ایمن این تعادل به هم می‌خورد به‌عنوان‌مثال: بیان بیش‌ازحد IL-17[1] (یک سایتوکاین پیش التهابی[2]) در بیوپسی مغزی (در خون و مایع مغزی نخاعی) بیماران ام اس، مشهود است (۲۲). گلزاری و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه خود نشان دادند که فعالیت ورزشی ترکیبی علاوه بر بهبود عملکرد حرکتی منجر به کاهش عوامل التهابی نیز مانند IL-17 می‌شود (۱۵).

از طرفی دیگر، میکرو RNAها ازنظر تکاملی حفاظت‌شده بوده و نحوه و بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم می‌نمایند. میکرو RNAها، مولکول‌های RNAی کوچک غیر کد کننده‌ی با طول حدود ۲۵-۱۸ نوکلئوتید است (۲۳، ۲۴). اخیراً مطالعه‌ی میکرو RNAها به‌سرعت رو به افزایش است، زیرا آن‌ها در بسیاری از بیماری‌ها درگیر هستند (۲۴). برخی مطالعات نشان می‌دهد که بیشتر میکرو RNAها در ایجاد التهاب و عملکرد ایمنی و اختلالات عصبی درگیرند (۲۴، ۲۵). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که تغییر در نحوه‌ی بیان و عملکرد میکرو RNAها می‌تواند در انسان، با آغاز و پیش‌آگهی بسیاری از بیماری‌های خود ایمن در ارتباط باشد (۲۳، ۲۴، ۲۶). مطالعات متعددی افزایش بیان برخی از میکرو RNAها در سلول‌های T را در موش‌های EAE[3] نشان دادند (۲۳، ۲۴). به‌عنوان‌مثال افزایش بیان miR–301a در سلول‌های T، موش‌های EAE نشان داده شده است. این افزایش موجب افزایش سطوح Th-17 شده که می‌تواند در پاتوژنز EAE دخیل باشد (۲۷). برخی از مطالعات با استفاده از آنتاگونیست‌های اختصاصی میکرو RNAها نشان دادند که miR-301a با هدف‌گیری PIAS3 که (یک مهارکننده‌ی بالقوه‌ی مسیر STAT 3 است) سبب رشد و افزایش سطوح Th-17 می‌شود (۲۸). یک ویژگی جالب از فعالیت میکرو RNAها این است که اغلب آن‌ها میانجی‌هایی هستند که تحت شرایط هموستاتیک، عملکرد آن‌ها در پاسخ به آسیب و یا استرس بیش‌ازحد تقویت می‌شود (۲۹). این یافته‌ها باعث توجه بیشتر به فعالیت‌های ورزشی بر روی میکرو RNAها شده است (۳۰). به‌علاوه به نظر می‌رسد میکرو RNAها نقش مهمی در فعالیت ورزشی حاد (۲۹، ۳۱)، مزمن (طولانی‌مدت) (۳۲)، استقامتی، مقاومتی در ورزشکاران و افراد سالم بازی می‌کنند (۳۳). بااین‌حال، تحقیق درباره‌ی تغییرات پویا در میکرو RNAها در پاسخ به اختلالات فیزیولوژیک مانند فعالیت جسمانی بخصوص در بیماران بسیار محدود است (۳۴).

علیرغم اینکه پژوهش‌های متعددی درباره فعالیت ورزشی مختلف هوازی و مقاومتی در افراد مبتلابه ام اس انجام شده است، اما پژوهش در خصوص تمرینات ترکیبی در این بیماران محدود است. در این پژوهش تلاش شده است با توجه به اهمیت بیان میکرو RNAها برای اولین بار تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان miR-301a و برخی از شاخص‌های عملکرد حرکتی در بیماری ام اس، موردبررسی قرار گیرد. درواقع هدف از انجام این مطالعه بررسی آثار هشت هفته تمرین ورزشی ترکیبی (هوازی، مقاومتی) بر بیان miR-301a و برخی از شاخص‌های عملکردی در زنان مبتلابه ام اس است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نوع کاربردی و نیمه تجربی است که به‌صورت پیش‌آزمون – پس‌آزمون دوگروهی انجام شد. جامعه آماری این تحقیق، ۸۰ نفر از بیماران زن مبتلابه ام اس، شهرستان شهرکرد بودند. آزمودنی‌های این تحقیق توسط پزشکان مغز و اعصاب شهرستان شهرکرد شناسایی‌شده و به مرکز پزشکی کاشانی شهرکرد معرفی شدند. پس از توضیح مطالعه به آن‌ها، ۵۶ نفر داوطلب شرکت در مطالعه شدند. درنهایت، با توجه به شرایط ورود/خروج به مطالعه ۳۰ نفر انتخاب شده و به‌صورت تصادفی به گروه تجربی (۱۵ نفر) و گروه کنترل (۱۵ نفر) تقسیم شدند. در طی اجرای تحقیق چهار نفر از هر دو گروه تجربی و کنترل به دلایل مختلف مانند غیبت بیش‌ازحد، دلایل شخصی و عود

[1] Interleukin-17
[2] Pre-Cytokine
[3] Experimental autoimmune encephalomyelitis

بیماری از تحقیق خارج شدند که درنهایت ۱۱ نفر در گروه تجربی و ۱۱ نفر در گروه کنترل باقی ماندند. ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

معیارهای ورود به مطالعه شامل: آزمودنی‌های مؤنث، بیماران مبتلابه ام اس از نوع عودکننده – بهبود یابنده، دارای نمره ناتوانی جسمانی توسعه‌یافته EDSS[4]، بین ۴ تا ۱، دامنه سنی ۲۰ تا ۴۰ سال، سیکل قاعدگی منظم، فاقد سابقه بیماری‌های سیستمیک شامل: اختلالات عصبی، صرع، بیماری‌های قلبی، دیابت، کم‌خونی و افسردگی شدید، همه بیماران این تحقیق داروهای ریبیف و سینوکس (از خانواده‌ی IFN-β-1a) مصرف می‌کردند. همچنین بیمارانی گزینش شدند که طی ۳ ماه قبل از شروع تحقیق از داروهای کورتیکواستروئیدی استفاده نکرده بودند و درنهایت بیمارانی که طی ۳ ماه قبل از شروع تحقیق در هیچ فعالیت ورزشی منظمی شرکت نداشتند انتخاب شدند. معیار خروج از مطالعه شامل: غیبت بیش از دو جلسه در برنامه تمرینات، عود بیماری، آسیب جسمانی حین تمرین، بروز حادثه، ابتلا به سایر بیماری‌های مخل، عدم تمایل به ادامه شرکت در تحقیق و بروز عوامل مداخله‌گری که بر شرکت مؤثر آزمودنی‌ها در جلسات تمرین تأثیرگذار بود.

مقیاس استفاده‌شده‌ی EDSS نمره‌ای بین صفر تا ده برای بیماران (بسته به میزان آسیب وارده به سیستم اعصاب مرکزی) است. هرچه آسیب بیشتر باشد، نمره‌ی کسب‌شده بیشتر خواهد بود. روایی آزمون ناتوانی جسمانی توسعه‌یافته توسط کروتزکه، در ایران نیز هنجار شده است. نمره ۴-۱ نشان‌دهنده‌ی ناتوانی جسمی و درعین‌حال استقلال فرد در انجام حرکت و فعالیت روزانه است (۳۵).

پس از ورود آزمودنی با توجه به معیارهای ورود/خروج، همه‌ی شرکت‌کنندگان فرم رضایت‌نامه‌ی آگاهانه را تکمیل کردند. سپس وضعیت آمادگی بدنی آزمودنی‌ها برای فعالیت بدنی با استفاده از پرسشنامه‌ی PAR-Q و نیز معاینه موردبررسی قرار گرفت. بعدازآن اندازه‌گیری قد، وزن، نسبت دور کمر به لگن (WHR)، شاخص‌های ظرفیت عملکردی، BMI با استفاده از روش‌های مربوطه ارزیابی گردید. برای اندازه‌گیری قد، از آزمودنی‌ها خواسته شد که بدون کفش، پشت به دیوار بایستند به‌گونه‌ای که پشت پا، عضلات باسن، استخوان‌های کتف و استخوان‌های پس‌سری با دیوار تماس داشته باشد. دست‌ها در کنار بدن آویزان بوده و نگاه فرد به سمت روبرو باشد. در این حالت دستگیره متحرک قدسنج پائین آورده شد تا روی سر را لمس کند. آزمونگر به‌صورت عمودی به قد افراد نگاه و آن را ثبت کرد. وزن بدن با استفاده از ترازوی استاندارد و با حداقل لباس و بدون کفش اندازه‌گیری شد. BMI از تقسیم وزن (کیلوگرم) به مجذور قد (مترمربع) محاسبه گردید. اندازه دور کمر در ناحیه ناف و دور باسن در برجسته‌ترین قسمت با متر نواری با دقت ۰/۵ سانتی‌متر تعیین شد و سپس با اطلاعات به‌دست‌آمده، WHR محاسبه گردید (۳۶، ۳۷).

همچنین برای سنجش ظرفیت‌های عملکردی سرعت راه رفتن، استقامت راه رفتن، چابکی به ترتیب از آزمون ۱۰ متر راه رفتن، آزمون ۶ دقیقه پیاده‌روی و زمان برخاستن و رفتن استفاده شد. برای بررسی سرعت راه رفتن آزمودنی‌ها در مسافت ده متر، قبل و بعد از اعمال پروتکل اصلی تمرین به‌عنوان شاخص عملکردی افراد استفاده شد. قبل از شروع این آزمون، نحوه‌ی اجرا برای هرکدام از بیماران به‌طور کامل توضیح داده شد. از آزمودنی‌ها خواسته شد که مسافت ده متری را پیموده و درنهایت سرعت راه رفتن (متر بر ثانیه) آن‌ها ثبت گردید (۳۸). آزمون سنجش استقامت (متر بر دقیقه) از ساده‌ترین و معتبرترین و درعین‌حال کم‌خطرترین آزمون‌های تشخیص ظرفیت بدنی و تخمین آمادگی هوازی بیماران محسوب می‌شود (۱۴). برای بررسی سنجش استقامت از آزمون ۶ دقیقه راه رفتن استفاده شد و مسافت پیموده شده در ۶ دقیقه به‌عنوان شاخص عملکردی افراد ثبت گردید (متر بر دقیقه). در این آزمون ضربان قلب ۳۰ ثانیه به ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری و ثبت شد (۳۸). برای سنجش چابکی از آزمون «زمان برخاستن و رفتن» استفاده شد (۱۴). در این آزمون از فرد خواسته شد که روی صندلی (با ارتفاع پایه‌های ۴۷ سانتی‌متر و ارتفاع آن همراه با دسته‌های کناری ۶۵ سانتی‌متر) نشسته و بعد از چند ثانیه از روی صندلی بلند شوند و بعد از یک‌بار باز و بسته کردن چشم خود یک مسافت سه متری روبه‌جلو راه بروند و دور یک مانع که قرار داده‌شده دور بزنند و برگشته دوباره سر جای خود بنشینند. در این آزمون صندلی باید ثابت و دسته‌دار باشد. درنهایت سرعت راه رفتن اندازه‌گیری و ثبت گردید (۳۹). هرکدام از آزمون‌ها سه مرتبه با فواصل استراحتی مناسب اجرا گردید و بهترین رکورد برای آن‌ها ثبت گردید (۱۶). این مطالعه بر طبق اساس‌نامه هلسینکی اجرا و با

[4] Expanded Disability Status Scale

رعایت شرایط مذکور با کد IR.SSRI.REC.1397.364 به تائید کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی رسیده است.

برنامه تمرین ورزشی

برنامه‌ی تمرینی برای ۳۲ جلسه (شامل ۳ جلسه فعالیت هوازی + یک جلسه فعالیت مقاومتی در هفته) در طول ۸ هفته طراحی شده بود (۱۴). جلسات هفتگی تمرین هوازی در روزهای شنبه، یکشنبه و دوشنبه اجرا و روز چهارشنبه نیز تمرین مقاومتی انجام شد. هر جلسه با ۵ دقیقه گرم کردن شروع و سپس ۱۰ دقیقه تمرینات کششی ساده انجام شد. حداکثر ضربان قلب (MHR) افراد از مقیاس بورگ در دامنه ۶ (بدون تلاش) تا ۲۰ (حداکثر تلاش) استفاده شد. امروزه تقریباً در اکثر مراکز توان‌بخشی برای تعیین شدت هر نوع تمرینی از آن استفاده می‌شود که برای محاسبه و تعیین شدت تمرین بکار گرفته شد (۳۶، ۳۷). هفته اول، فعالیت هوازی با حدود ۴۰٪ از MHR، به مدت ۱۰ دقیقه برای هر دستگاه آغاز شد، سپس تا هفته هشتم به‌تدریج تا ۷۰٪ از MHR و مدت ۲۰ دقیقه برای هر دستگاه افزایش یافت (۱۴). تمرینات قدرتی نیز با ۵۰٪ از ۱ تکرار بیشینه، با ۱۰ تکرار از ۳ ست شروع شد و تا ۷۰٪ از ۱ تکرار بیشینه با ۱۰ تکرار از ۳ ست، در هفته هشتم برای هرکدام از فعالیت‌های خم کننده و بازکننده در هر یک از زانوها افزایش یافت. بین دو فعالیت هوازی (دوچرخه کارسنج و تردمیل) و جلسات مقاومتی افراد به ترتیب، ۱۰ و ۵ دقیقه استراحت غیرفعال داشتند. در ضمن اگر ضربان قلب بیماران بالاتر از حد مجاز بود، بلافاصله فعالیت متوقف‌شده تا زمانی که ضربان قلب به میزان لازم کاهش پیدا کند. تمامی جلسات تمرینی در صبح و در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵ تا ۶۵٪ انجام شد (۶). بیماران برنامه تمرینی را تحت نظر مربیان و پزشکان متخصص انجام دادند. قبل و بعد از برنامه تمرینی EDSS، توسط یک متخصص مغز و اعصاب مورد ارزیابی قرار گرفت.

خون‌گیری

از بیماران ۴۸ ساعت قبل از شروع تمرین و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین با از ورید بازو مقدار ۲ میلی‌لیتر خون در تیوب‌های حاوی ETDA جهت استخراج گلبول سفید جمع‌آوری شد. نمونه‌ها به‌صورت جداگانه با استفاده از مایع ازت فریز شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام مراحل مولکولی آزمایش نگه‌داری شدند.

سنجش بیان mRNA

مراحل استخراج RNA به‌وسیله کیت Iraizol ساخت شرکت زیست فن‌آوران اصفهان، ایران طبق پروتکل به ترتیب اجرا شد. صحت RNAهای استخراج‌شده نمونه‌ها، غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که نسبت جذبی برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ و ۱/۹ بود. سپس برای ساخت cDNA از کیت RB MMLV Reverse transcriptase ساخت شرکت زیست فن‌آوران اصفهان، ایران طبق دستور عمل شرکت سازنده ساخته شد. پروتکل دمایی به کمک دستگاه ترموسایکلر Bio- Gener technology (ساخت کشور آمریکا) اجرا شد. ترتیب مراحل سنتز به شرح زیر است. میزان ۰/۵ میکروگرم از RNA (5 µL) مورداستفاده را همراه با ۱ میلی‌لیتر از بافر 5XRT باهم مخلوط کرده و در مرحله بعدی مخلوط به‌دست‌آمده را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموسایکلر قرار داده و پس از خارج کردن به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار گرفت. در ادامه برای چند ثانیه با دور ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ انجام داده و مجدد تیوپ‌ها را بر روی یخ قرار داده و در این مرحله به آن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفوم اضافه کرده و مجدداً مخلوط حاصل را به مدت ۲ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد (برای Oligo dT یا پرایمر اختصاصی) یا ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (برای پرایمر تصادفی) در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت. در این مرحله برای چند ثانیه مجدداً با دور ۳۰۰۰ دور سانتیفیوژ داشته و سپس ۱ میکرولیتر آنزیم M-MLV RT اضافه کرده و مجدداً به مدت ۵۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه قرار داده و در مرحله‌ی آخر برای ۱۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموسایکلر گذاشته‌شده و سپس cDNA سنتز شد.

طراحی آغازگرها

پرایمر ژن miR-301a با نرم‌افزار الیگو طراحی شد. جهت حصول از صحت پرایمرهای طراحی‌شده و اختصاصی از آنالیز Blast N در سایت NCBI استفاده شد. در ضمن از ژن miR-U6 به‌عنوان ژن کنترل داخلی در واکنش Real time PCR استفاده گردید (جدول ۱).

برای واکنش Real-time PCR از دستگاه Rotor Gene 6000 Real-Time PCR machine شرکت Corbett (ساخت کشور آمریکا) و کیت YT2551 SYBR Green PCR Master Mix،

جدول ۱. توالی پرایمر miR-301a و miR-U6

نام	آغازگر جلویی	آغازگر برگشتی	پایگاه* NCBI
miR-301a	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGC	-	miR Base
miR-U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	GTGCAGGGTCCGAGGT	miR Base

* مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی

جدول ۲. شاخص‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها پس از اعمال متغیرهای پژوهش، بر اساس میانگین و انحراف معیار

متغیر	تعداد	گروه	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	تغییرات بین – گروهی	
			میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
وزن (KG)	۱۱	گروه تجربی	۶۲/۲۰ ± ۹/۱۴	۶۱/۲۷ ± ۹/۰۶	۵/۵۰	۰/۰۰۰
	۱۱	گروه کنترل	۶۶/۰۶ ± ۸/۶۸	۶۷/۰۹ ± ۹/۲۴		
شاخص توده بدن (BMI)	۱۱	گروه تجربی	۲۳/۴۰ ± ۳/۳۳	۲۳/۰۵ ± ۳/۳۲	۱/۲۷	۰/۲۱۵
	۱۱	گروه کنترل	۲۴/۶۰ ± ۳/۶۰	۲۴/۹۸ ± ۳/۹۷		
نسبت دور کمر به لگن (WHR)	۱۱	گروه تجربی	۰/۷۸۷ ± ۰/۰۴	۰/۷۸۸ ± ۰/۰۴	۲/۰۴	۰/۵۴
	۱۱	گروه کنترل	۰/۷۹۷ ± ۰/۰۴	۰/۸۰۸ ± ۰/۰۵		

ساخت شرکت زیست فن‌آوران اصفهان، ایران طبق دستور عمل شرکت سازنده ساخته و استفاده شد. برای ژن‌ها، ۳ تکرار زیستی و ۲ تکرار تکنیکی (۲ تکرار برای هر cDNA) در نظر گرفته شد. همچنین میکروتیوب‌های مخصوص واکنش Real-time PCR نیز از شرکت APPLIED BIOSYSTEM (ساخت کشور آمریکا) تهیه شدند. برنامه Real-time PCR بر روی دستگاه کوربت (Corbett) برای میکرو RNAها شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۵ سیکل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه بود.

روش‌های آماری

اطلاعات جمع‌آوری‌شده در دو سطح آمار توصیفی و استنباطی ارائه شده است برای تعیین چگونگی توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک، برای مقایسه داده‌های پیش‌آزمون و تعیین تفاوت میانگین‌ها در بین دو گروه از تی مستقل و جهت تعیین تفاوت‌های درون‌گروهی از تی همبسته استفاده شد. به‌منظور بررسی بیان miR–301a، نتایج حاصل از دستگاه RT-PCR به‌وسیله نرم‌افزار LinRegPCR آنالیز شد. سپس چرخه آستانه (Ct) نمونه‌ی RNA به دست آمد. پس‌ازآن برای نمونه‌ی RNA، ΔΔCt و در انتها $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد. تجزیه‌وتحلیل کلیه‌ی داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) موردبررسی قرار گرفت. برای داده‌هایی که ناپارامتریک بودند از آزمون من ویتنی و ویلکاکسون استفاده شد. داده‌ها در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ موردبررسی قرار گرفت.

نتایج

از آزمون شاپیروویلک دال بر طبیعی بودن توزیع داده‌ها استفاده شد. داده‌های مربوط به ویژگی‌های عمومی،

آنتروپومتریک آزمودنی‌ها در مرحله قبل و بعد از مداخله همراه با محاسبه تفاوت‌های آماری درون‌گروهی و بین دو گروه کنترل و تجربی در جدول ۲ ارائه شده است. داده‌های مربوط به تغییرات مطالعه پس از ۸ هفته تمرین ترکیبی نسبت به گروه کنترل در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است.

آزمون تی مستقل استفاده شد. برای داده‌های ناپارامتریک از آزمون ویلکاکسون برای مقایسه درون‌گروهی و آزمون یوی من ویتنی برای مقایسه بین گروهی استفاده شد. سطح معنی‌داری آزمون‌ها نیز در سطح P <۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۳، در مورد مقایسه میزان

جدول ۳. تغییرات میانگین درون‌گروهی و بین گروهی در متغیرهای TUG، 6MWT، 10MWT پیش‌آزمون و پس‌آزمون در دو گروه

متغیر	گروه	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	تغییرات درون – گروهی		تغییرات بین – گروهی (D)	
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری	مقدار t	سطح معنی‌داری
TUG	گروه تجربی	۹/۷۸ ± ۱/۱۵	۶/۹۵ ± ۱۵/۱۵	۲/۱۵	۰/۰۰۱	۱/۷۴	۰/۰۰۱ *
	گروه کنترل	۹/۱۲ ± ۱/۷۷	۹/۶۴ ± ۱/۶۵	۱/۴۷	۰/۷۲۵		
6MWT	گروه تجربی	۴۶۲/۱۱ ± ۶۳/۷۴	۶۵۵/۱ ± ۳۳/۱۱	۳/۱۱	۰/۰۰۱	- ۰/۷۴	۰/۰۰۲ *
	گروه کنترل	۴۹۵/۴ ± ۵۸/۴۶	۴۵۸/۵ ± ۶۳/۶	۱/۸۹	۰/۷۷۶		
10MWT	گروه تجربی	۷/۸۸±۰/۹۸	۶/۵۵ ± ۰/۴۴	۲/۱۲	۰/۷۵۲	۴/۱۲	۰/۶۷۸
	گروه کنترل	۷/۹۳± ۰/۸۷	۷/۹۸ ±۰/۹۱	۳/۱۵	۰/۰۹		
miR–301a	گروه تجربی	۳/۷۵± ۱/۰۴	۶/۰۲± ۱/۳۴	-۵/۹۶	۰/۰۰۱	۶/۲۹	۰/۰۰۱ *
	گروه کنترل	۳/۲۴± ۱/۰۲	۱۱/۶۳± ۲/۸۶	-۹/۱۰	۰/۰۰۰		

* سطح معنی‌داری ($P < 0.05$).

جدول ۴. تغییرات میانگین درون‌گروهی و بین گروهی در نمره ناتوانی

متغیر	گروه	پیش‌آزمون	پس‌آزمون	تغییرات درون – گروهی**		تغییرات بین – گروهی***	
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	مقدار Z	سطح معنی‌داری	مقدار Z	سطح معنی‌داری
EDSS	گروه تجربی	۲/۲۵ ± ۱/۲۱	۱/۸۳ ± ۱/۰۹	-۲۷/۲	۰/۰۲۳	-۲/۴۳۲	۰/۰۱۵ *
	گروه کنترل	۲ ± ۰/۹۵	۲/۰۹ ± ۱/۰۲	-۰/۸۱	۰/۴۱۱		

EDSS پیش‌آزمون و پس‌آزمون در دو گروه

* سطح معنی‌داری ($P < 0.05$).

** نتایج آزمون درون‌گروهی در آزمون- ویلکاکسون

*** نتایج آزمون بین گروهی در آزمون- یوی من ویتنی

میانگین و انحراف معیار سن و قد به ترتیب در گروه تجربی (۵/۹۸ ± ۳۳ -۳/۳۳ ± ۱۶۳) و در گروه کنترل ۴/۶۸ ± ۳۳/۱۸ -۵±۱۶۴/۱ بود. برای آزمون فرضیه‌ها از آزمون‌های پارامتریک استفاده شد؛ بنابراین جهت بررسی تفاوت‌های بین گروهی از

تغییرات میانگین‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون در بین دو گروه تجربی و کنترل نشان می‌دهد که میزان 10MWT بعد از انجام تمرینات ترکیبی با توجه به مقدار t به‌دست‌آمده ۴/۱۲ و سطح معنی‌داری (P =۰/۶۷۸)، این میزان تغییر معنی‌دار نیست.

همچنین در مورد مقایسه تغییرات میانگین‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون در بین دو گروه تجربی و کنترل نشان می‌دهد که میزان TUG افراد بعد از انجام تمرینات ترکیبی کاهش معنی‌داری داشته که با توجه به مقدار t به‌دست‌آمده ۱/۷۴ و سطح معنی‌داری (P =۰/۰۰۱)، این میزان تغییر معنی‌دار است. در ضمن مقایسه میزان تغییرات پیش‌آزمون و پس‌آزمون 6MWT بین دو گروه کنترل و تجربی، کاهش معنی‌داری را نشان داد که با توجه به مقدار t به‌دست‌آمده ۰/۷۴ – و سطح معنی‌داری (P=۰/۰۰۲) است. همچنین، مقایسه میزان تغییرات پیش‌آزمون و پس‌آزمون miR–301a بین دو گروه کنترل و تجربی، افزایش داشت، اما این افزایش در گروه تجربی بسیار کمتر از گروه کنترل بود که این تفاوت با توجه به مقدار t به‌دست‌آمده ۶/۲۹، در بین دو گروه معنی‌داری است (P=۰/۰۰۱).

با توجه به اطلاعات موجود در جدول ۴، در مورد مقایسه میزان تغییرات میانگین‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون در بین دو گروه تجربی و کنترل نشان می‌دهد که میزان نمره ناتوانی EDSS، بعد از انجام تمرینات ترکیبی کاهش معنی‌داری داشته که با توجه به مقدار Z به‌دست‌آمده ۲/۴۳۲ - و سطح معنی‌داری (P =۰/۰۱۵)، این میزان تغییر معنی‌دار است.

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ۸ هفته تمرین ترکیبی (۳ جلسه هوازی+ یک جلسه مقاومتی در هفته) موجب بهبود معنادار بیان miR–301a و آزمون‌های عملکردی TUG و 6MWT در بیماران مبتلابه ام اس شد؛ اما تغییرات آزمون 10MWT در مطالعه حاضر معنادار نبود. میزان بیان miR–301a در هر دو گروه افزایش پیدا کرده بود ولی این افزایش در گروه کنترل بسیار بالاتر از گروه تجربی بود که این نشان‌دهنده پیشرفت بیشتر بیماری در گروه کنترل در مقایسه با گروه تجربی است. ازآنجایی‌که این مطالعه برای اولین بار به بررسی فعالیت ورزشی بر میزان بیان miR–301a در افراد مبتلابه ام اس انجام می‌شود، تحقیق خاصی وجود ندارد که بتوان نتایج آن را با نتایج تحقیق حاضر مقایسه کرد، سعی شده است از شاخص‌هایی که بر روی بیان miR–301a مؤثر است، در بحث استفاده شود.

گارو و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای مروری به جمع‌بندی دست یافتند و عنوان کردند که میکرو RNAها تقریباً در تمام فرایندهای زیست‌شناسی فعالیت دارند. ازجمله این فرایندها می‌توان به مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در ثبات سیستم ایمنی ازجمله روند ساخته‌شدن رده‌های سلول‌های ایمنی، تحمل مرکزی و محیطی و تمایز سلول‌های T کمکی اشاره کرد (۲۴). شواهد اخیر از مدل‌های حیوانی (مانند EAE) و مطالعات بالینی نشان می‌دهد که تغییر در نحوه بیان و عملکرد میکرو RNAها در ایجاد بسیاری از بیماری‌های خود ایمن نقش دارند (۴۰). برای مثال: لیو و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه خود نشان دادند که در موش‌ها افزایش بیان miR-17-92، سبب افزایش تکثیر لنفوسیت‌ها، به دلیل افزایش فعالیت سلول‌های B و T می‌شود و می‌تواند دلیل بیماری‌های خود ایمن مانند ام اس شود. از طرف دیگر، لی و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که از دست دادن و کاهش بیان miR-146a سبب ایجاد بیماری خود ایمن به‌صورت خود به خودی می‌گردد (۴۱). همان‌طور که ذکر شد این بیان نابجای میکرو RNAها می‌تواند مستقیماً با بیماری‌های خود ایمن بخصوص بیماری ام اس در ارتباط باشند (۲۴). علاوه بر این، ناکاهاما و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ی خود نشان دادند که در سلول‌های CD4 T با آنتی‌ژن اختصاصی میلین (2D2) که در آن‌ها miR-301a خاموش شده است، توانایی کمتری در القای EAE دارند، درحالی‌که در موش‌های EAE که سلول‌های 2D2 T با افزایش بیان miR-301a روبرو شدند، شکل شدیدتری از EAE را ایجاد می‌کند (۲۸). پس با توجه به این نتایج، کاهش میزان بیان miR–301a در گروه کنترل در تحقیق حاضر، می‌تواند نشان‌دهنده‌ی کاهش شدت بیماری ام اس در افراد این مطالعه باشد.

همان‌گونه که عنوان شد سطوح IL-17 ارتباط مستقیمی بابیان miR–301a دارد. گلزاری و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه خود نشان دادند که ۸ هفته تمرین ترکیبی در بیماران ام اس، منجر به کاهش میزان IL-17 شده که یک اثر ضدالتهابی دارد (۱۵). کاهش IL-17 در مطالعه‌ی گلزاری و برخی از مطالعات توسط فعالیت بدنی منظم نشان داده شده است (۲۰). این بدین معنی است که نتایج آن‌ها نیز به‌طور غیرمستقیم با نتایج پژوهش حاضر همسو است. این می‌تواند ناشی از استفاده‌ی تحقیقات دیگر نیز از شیوه تمرین ترکیبی باشد. همچنین، ناکایاما و همکاران (۲۰۱۳) عنوان کرده‌اند که miR-301a با هدف‌گیری PIAS3 (یک مهارکننده‌ی بالقوه‌ی مسیر[5] STAT 3 است) سبب رشد و

[5] Signal transducer and activator of transcription-3

افزایش سطوح Th-17 می‌شود (۲۸). سانو و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند STAT 3 به‌وسیله سایتوکاین‌های التهابی (IL-6, IL-17) فعال می‌شود (۴۲). رسیمان و همکاران (۲۰۱۴) عنوان کردند که مسیر STAT 3 در بیشتر موارد با پیام‌رسانی مداوم منجر به ایجاد التهاب، بخصوص التهاب مزمن می‌شوند (۴۳). این در حالی است که مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منظم منجر به کاهش التهاب سیستمیک می‌شود (۴۴، ۴۵). کاظمی و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود نشان دادند که ۸ هفته تمرین استقامتی منجر به کاهش بیان STAT 3 در زنان مبتلابه سرطان سینه می‌شود (۴۵) که به‌طور غیرمستقیم می‌تواند بامطالعه‌ی حاضر همسو باشد. در مطالعه حاضر بیان miR-301aدر گروه تجربی بسیار پایین‌تر از گروه کنترل بود. این میزان پایین بدین معنی است که فعالیت ورزشی ترکیبی مطالعه حاضر با کاهش بیان miR-301a باعث شده که فاکتور PIAS3 کمتر توسط miR-301a مهارشده و مسیر التهابی STAT 3 مهار شود. درنهایت این مکانیسم می‌تواند منجر به کاهش التهاب سیستمیک در بیماران مبتلابه ام اس شود.

همچنین، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تمرین ترکیبی بر مسافت راه رفتن در آزمون شش دقیقه راه رفتن در گروه تجربی این مطالعه، مؤثر بوده است. افزایش استقامت راه رفتن توسط تمرین انجام‌شده در این پژوهش می‌تواند دلیل این تفاوت باشد زیرا تمرین غالب در این پژوهش هوازی بود. همچنین کاهش وزن بدن در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل در این مطالعه می‌تواند دلیلی دیگر برای بهبود آزمون شش دقیقه راه رفتن بوده باشد. این نتیجه همسو با نتایج دالگاس و همکاران (۱۰)، کلیف و همکاران (۴۶)، سنگلاجی و همکاران (۲۰۱۶)، (۱۴) و خادم الشریعه و همکاران (۲۰۱۷)، (۱۶) است. در این مطالعات نیز دلیل بهبود مسافت راه رفتن را بهبود ظرفیت هوازی و قدرت عضلات پایین‌تنه عنوان کردند. همچنین به‌مانند مطالعه سنگلاجی، ممکن است استفاده از دستگاه دوچرخه کارسنج و تردمیل در مطالعه حاضر دلیلی دیگر برای بهبود قدرت عضلات پایین‌تنه افراد در کنار تمرین قدرتی عنوان کرد. در مقابل، بروکمن (۲۰۱۰) تغییر معناداری در آزمون ۶ دقیقه راه رفتن را گزارش نکرد (۴۷). بین قدرت عضلات پایین‌تنه با مسافت راه رفتن همبستگی معناداری وجود دارد، یعنی هرچه قدرت عضلات پایین‌تنه بیشتر باشد مسافت راه رفتن بیشتر است (۱۶). از طرف دیگر افزایش قدرت عضلات پایین‌تنه سبب افزایش طول گام نیز می‌شود که این دلیل نیز می‌تواند باعث شود که فرد مسافت بیشتری را طی کند (۴۸). ممکن است دلیل مغایرت نتیجه بروکمن بامطالعه حاضر و مطالعات دیگر بهبود کمتر قدرت عضلانی پایین‌تنه آزمودنی‌های وی باشد. همچنین توانایی کم در حفظ تعادل افراد مبتلابه ام اس بسیار نگران‌کننده است. ازاین‌رو، یک راهبرد مداخله‌گر می‌تواند در بهبود تعادل افراد مبتلابه ام اس مطلوب باشد (۱۶). نتایج آزمون چابکی در پژوهش حاضر با نتایج مطالعات ماتیو و همکاران (۴۹)، هایس و همکاران (۵۰)، سنگلاجی و همکاران (۱۴) و خادم الشریعه (۱۶) همسو است. ولی با نتایج دیبلت و همکاران (۲۰۰۴) مغایرت دارد (۳۹). ارتباط معناداری بین تعادل و قدرت عمومی وجود دارد (۵۱). افزایش قدرت در پی تمرینات می‌تواند یکی از دلایل بهبود تعادل در آزمودنی‌های تحقیق حاضر باشد. همچنین شدت و نوع تمرینات نیز می‌تواند دلیل مغایرت نتایج دیبلت و همکاران بامطالعه‌ی حاضر باشد.

یافته‌های این پژوهش در متغیر سرعت راه رفتن با یافته‌های گوتی یرز (۵۲) و مسعودی نژاد (۵۳) همسو است. با یافته‌های سنگلاجی (۱۴)، کیلرگارد و همکاران (۵۴)، دیبلت (۳۹)، عطار (۵۵) و خادم الشریعه (۱۶) همخوانی نداشت. خادم الشریعه و همکاران بهبود قدرت پایین‌تنه درنتیجه تمرین مقاومتی را علت بهبود سرعت راه رفتن عنوان کردند (۱۶). همچنین تومی و همکاران (۲۰۰۲) نیز علاوه بر قدرت پایین‌تنه، رابطه بین انعطاف‌پذیری و ریتم راه رفتن را علت بهبود سرعت راه رفتن عنوان کردند (۵۶). مسعودی نژاد عدم معنی‌داری ۱۰ متر راه رفتن را تعداد نمونه‌های کم در گروه تجربی عنوان کرد. همچنین علت عدم معنی‌داری آزمون سرعت راه رفتن در این پژوهش ممکن است برنامه‌ی تمرین مقاومتی بکار رفته در این مطالعه باشد؛ زیرا در این مطالعه فقط یک جلسه تمرین مقاومتی در هفته و با شدت متوسط انجام می‌شد درحالی‌که در مطالعه کیلرگارد از تمرینات با شدت بالا استفاده کرده بود. در ضمن تغییرپذیری بالا در هر یک از بیماران و مدت‌زمان محدود برنامه تمرینی ممکن است علت عدم معنی‌داری سرعت راه رفتن باشد. احتمال دارد اگر مدت تمرینات بیشتر از هشت هفته باشد ممکن است تغییرات مثبتی در سرعت راه رفتن به وجود بیاید. اگرچه در پژوهش حاضر زمان ۱۰ متر راه رفتن کاهش معنی‌داری نیافت بااین‌وجود تعداد گام برداری در آزمون ۶ دقیقه و زمان برخاستن و رفتن بهبود یافت؛ بنابراین می‌توان عنوان کرد که اگر مسافت

آزمون ۱۰ متر راه رفتن طولانی‌تر شود، نتایج قابل‌توجهی ممکن است به دست آید. ممکن است نتیجه به‌دست‌آمده در آزمون ۱۰ متر راه رفتن قادر نباشد تغییرات نامحسوسی که در بهبود راه رفتن و گام برداری مؤثر بوده است را شناسایی کند. این احتمال وجود دارد که آزمون راه رفتن با مسافت طولانی‌تر تغییرات مذکور در این بیماران را دقیق‌تر شناسایی کند (۵۳، ۵۷).

همچنین تمرین ترکیبی در پژوهش حاضر منجر به کاهش معنادار درجه ناتوانی EDSS در بیماران شد. این نتیجه با نتایج استیوتلی و همکاران (۵۸)، گلزاری و همکاران (۱۵)، سنگلاجی (۱۴) و خادم الشریعه (۱۶) همسو است ولی با نتایج وایت و همکاران (۲۰۰۴) همخوانی نداشت (۵۹). دلیل این عدم همخوانی می‌تواند ناشی از شیوه تمرینی باشد همچنین دلیل دیگر برای این علت می‌تواند نوع بیماری ام اس باشد. شواهد بالینی نشان می‌دهد که میان چهار نوع بیماری ام اس به‌جز نوع عودکننده – بهبود یابنده، کنترل و بهبود علائم در انواع دیگر بیماری بسیار مشکل است (۵۸).

به‌طورکلی، عوامل احتمالی توجیه‌کننده‌ی نتایج مختلف در مورد تأثیر فعالیت ورزشی در بیماران مبتلابه ام اس می‌توان به رژیم غذایی متفاوت، نوع و شدت فعالیت ورزشی، تعداد جلسات تمرین هفتگی و شیوه اندازه‌گیری شاخص‌های عملکردی و وضعیت روانی افراد شرکت‌کننده در تمرین اشاره کرد.

از نکات مهم این پژوهش این است که برای اولین بار به بررسی تغییرات در سطح سلولی و مولکولی (miR -301a)، در بیماران ام اس پرداخته شده است. لذا ازآنجایی‌که هیچ‌گونه پژوهشی تاکنون اثر فعالیت ورزشی روی miR–301a ذکرشده بر روی بیماران ام اس انجام نشده است، پس سازوکار کاهش بیان miR–301a نیز به‌طور دقیق مشخص نیست و دلایل پیشنهادشده در این پژوهش یک سازوکار احتمالی است و نیاز به تحقیقات بیشتر در ایـن زمینـه و حتی بررسی شاخص‌های دیگری مانند IL-17، Th-17، STAT-3 و سایر میکرو RNAهای درگیر در بیماری MS است؛ بنابراین، با توجه به نتیجه به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد که جهت دستیابی به اطلاعات بیشتر بایستی روش‌های تمرینی مختلف دیگری نیز با شدت‌های مختلف بر روی بیماران مبتلابه ام اس مورداستفاده قرار گیرند و نتایج آن مطالعات با نتایج پژوهش کنونی مقایسه گردد. از محدودیت‌های پژوهش حاضر، دو محدودیت اصلی شامل وضعیت رژیم غذایی و برنامه‌ی خواب‌وبیداری شرکت‌کننده‌ها بود. علاوه بر این وضعیت خلق‌وخوی شرکت‌کننده‌ها، همچنین کنترل عوامل محیطی نیز خارج از کنترل ما بود.

نتیجه‌گیری

این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی ترکیبی منظم و مداوم می‌تواند در درمان و کاهش پیشرفت بیماری ام اس، از طریق بهبود شاخص‌های عملکرد حرکتی و کاهش برخی از عوامل التهابی مؤثر در بیماری ام اس نقش کمکی را ایفا کند. پیشنهاد می‌شود که این نوع تمرینات ورزشی در کنار روش‌های درمانی برای بیماران مبتلابه ام اس مورداستفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر بخشی از رساله دکتری فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شهرکرد با شماره ثبت ۱۲۲/۹۸۹ و با کد IR.SSRI.REC.1397.364 به تائید کمیته اخلاق پژوهشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی است؛ که با حمایت مالی این دانشگاه اجرا شد. همچنین در پایان از بیماران و تمامی عزیزانی که ما را در جمع‌آوری اطلاعات و انجام بهتر این مطالعه یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Barry A, Cronin O, Ryan AM, Sweeney B, Yap SM, O'Toole O, et al. Impact of Exercise on Innate Immunity in Multiple Sclerosis Progression and Symptomatology. Frontiers in physiology. 2016;7:194.

2. Goldenberg MM. Multiple sclerosis review. P & T: a peer-reviewed journal for formulary management. 2012;37(3):175-84.

3. Etemadifar M, Sajjadi S, Nasr Z, Firoozeei TS, Abtahi SH, Akbari M, et al. Epidemiology of multiple sclerosis in Iran: a systematic review. European neurology. 2013;70(5-6):356-63.
4. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. Nat Rev Neurosci. 2002;3(4):291-301.
5. Comabella M, Khoury, S. J. Immunopathogenesis of multiple sclerosis. Clinical immunology (Orlando, Fla). 2012;142(1):2-8.
6. Guillamo E, Cobo-Calvo A, Oviedo GR, Travier N, Alamo J, Nino-Mendez OA, et al. Feasibility and Effects of Structured Physical Exercise Interventions in Adults with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: A Pilot Study. Journal of sports science & medicine. 2018;17(3):426-36.
7. Soltani M HS, Noorian A, Zendedel A, Ashkanifar M. Effect of aerobic exercise training on improving of expanded disability status scale (EDSS) in Multiple Sclerosis Patients. Medical sciences Journal of Islamic azad university of mashhad. 2009; 5 15-20. [In Persian]
8. Deckx N, Wens I, Nuyts AH, Hens N, De Winter BY, Koppen G, et al. 12 Weeks of Combined Endurance and Resistance Training Reduces Innate Markers of Inflammation in a Randomized Controlled Clinical Trial in Patients with Multiple Sclerosis. Mediators of inflammation. 2016;2016:6789276.
9. Wens I, Hansen D, Verboven K, Deckx N, Kosten L, Stevens AL, et al. Impact of 24 Weeks of Resistance and Endurance Exercise on Glucose Tolerance in Persons with Multiple Sclerosis. American journal of physical medicine & rehabilitation. 2015;94(10 Suppl 1):838-47.
10. Dalgas E SJ, Jakobsen T, Petersen HJ, Hansen C, Knudsen K. Mult Scler. Fatigue, mood and quality of life improve in MS patients after progressive resistance training. 2010;16 480-90.
11. Cakt BD NB, Genç H, Saraçoğlu M, Karagöz A, Erdem HR, Ergün U Cycling progressive resistance training for people with multiple sclerosis: a randomized controlled study. American journal of physical medicine & rehabilitation. 2010;89:446-57.
12. Van den berg M DH, Wade DT, Newman M, Burridge J, Izadi H. Treadmill training for individuals with multiple sclerosis:a pilot randomized trial. J Neursung Psychiatry. 2006;77 531-33.
13. Pilutti LA LD, Paulseth JE, Crome M, Jiang S, Rathbone MP, Hicks AL. a pilot study. Effects of 12 weeks of supported treadmill training on functional ability and quality of life in progressive multiple sclerosis. Arch Phys Med Rehabil 2011;92:31-6.
14. Sangelaji B, Kordi M, Banihashemi F, Nabavi SM, Khodadadeh S, Dastoorpoor M. A combined exercise model for improving muscle strength, balance, walking distance, and motor agility in multiple sclerosis patients: A randomized clinical trial. Iranian journal of neurology. 2016;15(3):111-20.
15. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN-gamma and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. International immunopharmacology. 2010;10(11):1415-9.
16. Khademosharie M, Tadibi V, Behpor N, Hamedinia M, R. Effect of 12-week Endurance-resistance Training on Motor and Muscular Function, Degree of Disability, Fatigue, and Quality of Life in Multiple Sclerosis Patients. Iranian Journal of Epidemiology Spring 2018;14 (1):95-104. [In Persian]
17. Romberg A VJ, Ruutiainen, Aunola S. Effect of a 6-month exercise program on patients with Multiple Sclerosis. Neurology 2004;63:2034- 8.
18. Shimizu K, Hanaoka Y, Akama T, Kono I. Ageing and free-living daily physical activity effects on salivary beta-defensin 2 secretion. J Sports Sci. 2017;35(7):617-23.
19. Castellano V, C. McCoy S, J. White L. Cytokine Levels After Eight Weeks of Progressive Resistance Training in Multiple Sclerosis Patients. Medicine & Science in Sports. 2004, 36,5.
20. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. The Journal of physiology. 1999;515 (Pt 1):287-91.
21. White LJ, Castellano V, Mc Coy SC. Cytokine responses to resistance training in people with multiple sclerosis. J Sports Sci. 2006;24(8):911-4.
22. Shabgah AG, Fattahi E, Shahneh FZ. Interleukin-17 in human inflammatory diseases. Postepy Dermatol Alergol. 2014;31(4):256-61.
23. Thamilarasan M, Koczan D, Hecker M, Paap B, Zettl UK. MicroRNAs in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. Autoimmun Rev. 2012;11(3):174-9.
24. Garo LP, Murugaiyan G. Contribution of MicroRNAs to autoimmune diseases. Cellular and molecular life sciences: CMLS. 2016;73(10):2041-51.
25. Polakovicova M, Musil P, Laczo E, Hamar D, Kyselovic J. Circulating MicroRNAs as Potential Biomarkers of Exercise Response. International journal of molecular sciences. 2016;17(10).
26. Murugaiyan G, Beynon V, Mittal A, Joller N, Weiner HL. Silencing microRNA-155 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. J Immunol. 2011;187(5):2213-21.
27. Mycko MP, Cichalewska M, Machlanska A, Cwiklinska H, Mariasiewicz M, Selmaj KW. MicroRNA-301a regulation of a T-helper 17 immune response controls autoimmune demyelination. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(20):E1248-57.
28. Nakahama T, Hanieh H, Nguyen NT, Chinen I, Ripley B, Millrine D, et al. Aryl hydrocarbon receptor-

mediated induction of the microRNA-132/212 cluster promotes interleukin-17-producing T-helper cell differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(29):11964-9.
29. Russell AP, Lamon S, Boon H, Wada S, Guller I, Brown EL, et al. Regulation of miRNAs in human skeletal muscle following acute endurance exercise and short-term endurance training. The Journal of physiology. 2013;591(18):4637-53.
30. Masi LN, Serdan TD, Levada-Pires AC, Hatanaka E, Silveira LD, Cury-Boaventura MF, et al. Regulation of Gene Expression by Exercise-Related Micrornas. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology. 2016;39(6):2381-97.
31. Radom-Aizik S, Zaldivar F, Jr. Oliver S, Galassetti P, Cooper DM. Evidence for microRNA involvement in exercise-associated neutrophil gene expression changes. Journal of applied physiology (Bethesda, Md: 1985). 2010;109(1):252-61.
32. Nielsen S, Scheele C, Yfanti C, Akerstrom 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(Pt 20):4029-37.
33. Sawada S, Kon M, Wada S, Ushida T, Suzuki K, Akimoto T. Profiling of circulating microRNAs after a bout of acute resistance exercise in humans. PloS one. 2013;8(7):e70823.
34. Silva GJJ, Bye A, El Azzouzi H, Wisloff U. MicroRNAs as Important Regulators of Exercise Adaptation. Progress in cardiovascular diseases. 2017;60(1):130-51.
35. Koorania F, Foroughipour M, Khosravi A. Association of disability with urinary and sexual dysfunction in patients with multiple sclerosis. Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2018;20(11):39-46. [In Persian]
36. Medicine ACoS. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins. 2014(9th ed): 69-70, 80.
37. Azamian Jazi A, Emadi S, Hemati S. Effect of six weeks of continuous running on oxidative stress, lipid peroxidation and aerobic power in female survivors of breast cancer. Iranian Journal of Obstetrics, Gynecology and Infertility. 2017;19 (38):24-32. [In Persian]
38. Kieseier BC, Pozzilli C. Assessing walking disability in multiple sclerosis. Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England). 2012;18(7):914-24.
39. DeBolt LS, McCubbin, J. A. The effects of home-based resistance exercise on balance, power, and mobility in adults with multiple sclerosis. Arch Phys Med Rehabil. 2004;85(2):290-7.
40. Liu SQ, Jiang S, Li C, Zhang B, Li QJ. miR-17-92 cluster targets phosphatase and tensin homology and Ikaros Family Zinc Finger 4 to promote TH17-mediated inflammation. The Journal of biological chemistry. 2014;289(18):12446-56.
41. Li Y, Du C, Wang W, Ma G, Cui L, Zhou H, et al. Genetic association of MiR-146a with multiple sclerosis susceptibility in the Chinese population. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology. 2015;35(1):281-91.
42. Sano S, Chan KS, DiGiovanni J. Impact of Stat3 activation upon skin biology: a dichotomy of its role between homeostasis and diseases. Journal of dermatological science. 2008;50(1):1-14.
43. Resemann HK, Watson CJ, Lloyd-Lewis B. The Stat3 paradox: a killer and an oncogene. Molecular and cellular endocrinology. 2014;382(1):603-11.
44. Moylan S, Eyre HA, Maes M, Baune BT, Jacka FN, Berk M. Exercising the worry away: how inflammation, oxidative and nitrogen stress mediates the beneficial effect of physical activity on anxiety disorder symptoms and behaviours. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2013;37(4):573-84.
45. Kazemi A, Agha-Alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Amani-Shalamz S. The effect of endurance training on miR-155 expression, STAT3 gene expression, and interleukin 6 protein in mice with breast cancer. Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2015;22(1):42-52. [In Persian]
46. Kileff JA, A. A pilot study of the effect of aerobic exercise on people with moderate disability multiple sclerosis. Clinical rehabilitation. 2005;19(2):165-9.
47. Broekmans T, Roelants M, Feys P, Alders G, Gijbels D, Hanssen I, Stinissen P, Eijnde B O. Effects of long-term resistance training and simultaneous electro-stimulation on muscle strength and functional mobility in multiple sclerosis. Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England). 2011;17(4):468-77.
48. Heydar S, Naqinezhad F, Rajabi H. The effect of strength training on quality parameters of gait in older women. Iranian Journal of old age. 2008;9: 6-30. [In Persian]
49. Matthew S WE, Rader e, Jeremy B,Erdmann, MA, ATC. exercise benefits for multiple sclerosis participant: Case Study. Int J MS Care. 2007;9:126-30.
50. Hayes HA, Gappmaier E, LaStayo PC. Effects of high-intensity resistance training on strength, mobility, balance, and fatigue in individuals with multiple sclerosis: a randomized controlled trial. Journal of neurologic physical therapy: JNPT. 2011;35(1):2-10.
51. Dalgas U, Stenager, E. Ingemann-Hansen, T. Multiple sclerosis and physical exercise: recommendations for the application of resistance, endurance- and combined training. Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England). 2008;14(1):35-53.

52. Gutierrez GM, Chow JW, Tillman MD, McCoy SC, Castellano V, White LJ. Resistance training improves gait kinematics in persons with multiple sclerosis. Arch Phys Med Rehabil. 2005;86(9):1824-9.
53. Masoudinejad M, Ibrahim K, Shirvani H. The effect of selected training program on muscle strength and motor function of women with Multiple sclerosis. Sport physiology. 2012;16:81-96. [In Persian]
54. Kierkegaard M, Lundberg IE, Olsson T, Johansson S, Ygberg S, Opava C, et al. High-intensity resistance training in multiple sclerosis - An exploratory study of effects on immune markers in blood and cerebrospinal fluid, and on mood, fatigue, health-related quality of life, muscle strength, walking and cognition. Journal of the neurological sciences. 2016;362:251-7.
55. Attar Sayyah E, Hoseini Kakhk A, R, Hamedinia M, R, Abbasi Farmanabadi I. The effect of eight-week combined training (resistance and PNF) on muscular performance and functional and degree of disability in Multiple Sclerosis patients. Sport Physiology. 2016;8(29):103-18. [In Persian]
56. Thoumie P, Mevellec E. Relation between walking speed and muscle strength is affected by somatosensory loss in multiple sclerosis. Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry. 2002;73(3):313-5.
57. Carter P WCM, editor The effect of general exercise training on effortof walking in patients with multiple sclerosis. 14 International word Confereration for physical Therapy; 2003; Barcelona: RR-PL-1517.
58. Stutely S HM, Wheeler P. Maintaining the momentum: devel-oping a self-management group for people with multiple sclerosis. Way Ahead. 2004;8:8–9.
59. White LJ, Dressendorfer RH. Exercise and multiple sclerosis. Sports medicine (Auckland, NZ). 2004;34(15):1077-100.

Original Article

Effects of Combined Exercise (aerobic + resistance) on the Expression of miR-301a and some Indicators of Motor Function in Women with Multiple Sclerosis (MS)

Yousefi Saqqezi S[1], Azamian Jazi A[1*], Hemmati R[2], Jivad N[3]

1. Department of Sports Science, Shahrekord University, ShahreKord, Iran
2. Department of Biology, Faculty of basic science, Shahrekord University, ShahreKord, Iran
3. Department of Neurology, Shahrekord University of Medical Sciences, ShahreKord, Iran

Received: 06 Jan 2019 Accepted: 11 May 2019

Abstract

Background & Objective: Several evidence has indicated the effective role of exercise on Multiple sclerosis (MS) patients. An aberrant expression of some Micro-RNAs such as increasing miR-301a in MS, with an impact on inflammatory pathways leading to the creation of inflammation in these patients. The purpose of this study was to investigate the effect of a combined eight-week (aerobic and resistance) exercise on expression of miR -301a and some indicators of motor function in women with multiple sclerosis.

Materials & Methods: A total of 22 women with MS, who were randomly divided into experimental and control groups, participated in this study. The experimental group performed 8 weeks (4 days per week) of combined training. Expression of miR -301a was measured before and after the training period using Real-Time PCR method. Pre- and post-intervention scores of tests (TUG), (6MWT), (10–MWT) and status scale (EDSS) were independent t-test recorded and analyzed.

Results: The results of this study showed, the expression of miR -301a was significantly different between the two groups (P = 0.001). Tests TUG (P = 0.001), 6MWT (P = 0.002) and degree of disability EDSS (P = 0.015), were significantly different between the two groups. There was no significant difference between the 10MWT test between the two group (P = 0.678).

Conclusion: The combined exercise for women with MS have been beneficial and improve motor function and reduce the expression of miR-301a. So, do it, plays an important role in reducing inflammation and prevent the progression of the disease Ms.

Keywords: MS, combined exercise, miR -301a, Motor function, EDSS

***Corresponding Author: Azamian Jazi Akbar,** Department of Sports Science, Shahrekord University, ShahreKord, Iran
Email: azamianakbar@yahoo.com
https://orcid.org/0000-0003-3672-4927