

Original Paper

A survey of moderate interval training on expression of mir-126, mir-1185 AKT and VCAM in cardiac tissue of rats with allergic asthma

Masoumeh Nobahar, Ph.D Candidate in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Education and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. [ORCID 0000-0002-4290-5604](#)

***Marefat Siahkoughian (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Professor of Sport Physiology, Department of Sport Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. [E-mail: m_siahkoughian@uma.ac.ir](mailto:m_siahkoughian@uma.ac.ir) [ORCID 0000-0002-2166-897X](#)

Shadmehr Mirdar (Ph.D), Professor of Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. Athletic Performance and Health Research Center, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. [ORCID 0000-0003-3075-1529](#)

Abstract

Background and Objective: People with asthma are at increased risk for cardiovascular disease and increased risk of death. Asthma is associated with the structure and function of vessel changes. In this regard, MicroRNAs, AKT and VCAM play an important role in endothelial function. So, the aim of this study was to investigate the effect of 12 weeks of interval training on expression of mir-126, mir-1185 AKT and VCAM in cardiac tissue rats with allergic asthma.

Methods: This experimental study was performed on 15 Wistar rats. Animals were randomly allocated into three groups (n=5) including healthy control, asthma control and asthmatic interval training. Ovalbumin solution was injected subcutaneously 3 times per week to asthma groups, and suffering from asthma was confirmed by increasing the amount of IgE. The asthma group participated in 8-week exercise training. The rats were anesthetized at the end of 8 weeks and then their heart tissue was isolated by surgical instrument and immediately placed in nitrogen fluid. Expression of mir-126, mir-1185, AKT and VCAM in rats cardiac tissue were evaluated.

Results: AKT and VCAM expression was significantly increased in asthma control group compared to healthy control group ($P<0.05$). mir-126, AKT and VCAM expression were significantly increased in asthmatic interval training group in compared to asthma control group ($P<0.05$) while Mir-1185 was significantly reduced in asthmatic interval training group in compared to asthma control group ($P<0.05$).

Conclusion: Interval training by increasing mir-126, by reducing the expression of mir-1185, AKT, and VCAM reduces the risk of atherosclerosis in rats affected with asthma.

Keywords: Asthma, Interval Training, mir-126, mir-1185, AKT, VCAM

Received 9 May 2020

Revised 25 Aug 2020

Accepted 26 Sep 2020

Cite this article as: Nobahar M, Siahkoughian M, Mirdar Sh. [A survey of moderate interval training on expression of mir-126, mir-1185 AKT and VCAM in cardiac tissue of rats with allergic asthma]. J Gorgan Univ Med.Sci. 2021 Spring; 23(1): 55-63. [Article in Persian]

پایش یک دوره تمرین تناوبی شدت متوسط بر بیان ژن‌های *mir-1185*، *mir-126*، *AKT* و *VCAM* در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به آسم آلرژیک

ORCID 0000-0002-4290-5604

معصومه نوبهار، دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

ORCID 0000-0002-2166-897X

* دکتر معرفت سیاهکوهیان، استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

دکتر شادمهر میردار، استاد فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران. قطب علمی پایش سلامت ورزشی و پویش قهرمانی، دانشگاه مازندران، بابل، ایران.

ORCID 0000-0003-3075-1529

چکیده

زمینه و هدف: افراد مبتلا به آسم در معرض ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و خطر افزایش مرگ و میر هستند. آسم با ساختار و عملکرد تغییرات رگ در ارتباط است. در همین راستا میکرو RNAها، *AKT* و *VCAM* نقش مهمی در عملکرد اندوتلیال دارند. این مطالعه به منظور پایش یک دوره تمرین تناوبی شدت متوسط بر بیان ژن‌های *mir-1185*، *mir-126*، *AKT* و *VCAM* در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به آسم آلرژیک انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار پنج هفته‌ای به صورت تصادفی در ۳ گروه ۵ تایی شامل گروه‌های کنترل، آسم و آسم توام با تمرین تناوبی تقسیم شدند. محلول اووالبویمین ۳ بار در هفته به صورت زیرصفاقی به گروه‌های آسم تزریق و از طریق مقدار *IgE* مبتلا به آسم شدن تایید گردید. گروه آسم توام با تمرین تناوبی در ۸ هفته تمرین شرکت کردند. ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین ابتدا حیوانات بیهوش و سپس با استفاده از وسایل جراحی، بافت قلب آنها جداسازی و بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس بیان *mir-1185*، *mir-126*، *AKT* و *VCAM* بررسی گردید.

یافته‌ها: بیان ژن‌های *AKT* و *VCAM* در گروه آسم در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). میزان *mir-126* و *AKT* و *VCAM* در گروه آسم توام با تمرین تناوبی در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌دار و میزان *mir-1185* کاهش آماری معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: تمرین تناوبی از طریق افزایش *mir-126* و کاهش بیان ژن‌های *mir-1185*، *AKT* و *VCAM* خطر آترواسکلروز را در موش‌های صحرایی مبتلا به آسم کاهش می‌دهد.

کلید واژه‌ها: آسم، تمرین تناوبی، *mir-1185*، *mir-126*، *AKT*، *VCAM*

* نویسنده مسؤول: دکتر معرفت سیاهکوهیان، پست الکترونیکی m_siahkohian@uma.ac.ir

نشانی: اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، تلفن: ۰۴۵-۲۱۵۰۵۲۹۷-۰۴۵، شماره ۳۳۵۲۰۴۵۷

وصول مقاله: ۱۳۹۹/۲/۲۰، اصلاح نهایی: ۱۳۹۹/۶/۴، پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۷/۵

مقدمه

مبتلا به آسم شدید ۴۳/۱ درصد، در بیماران مبتلا به آسم متوسط ۲۵ درصد و در گروه کنترل ۱۴/۳ درصد بود (۲). مکانیسم‌های پاتولوژی مبتنی بر تغییرات شریانی آترواسکلروز مرتبط با آسم هنوز مشخص نیست؛ اما برخی مطالعات به پدیده‌هایی مانند التهاب و استرس اکسیداتیو به عنوان مکانیسم‌های بالقوه منجر به تسریع آترواسکلروز که در آسم اتفاق می‌افتد؛ اشاره کرده‌اند (۲). *AKT* در مسیر سیگنالی PI3K/Akt/mTOR نقش مهمی در بیماری آسم داشته و به عنوان یکی اهداف درمانی آن شناخته می‌شود (۶). آزمایشات مولکولی نشان می‌دهند مهارکننده‌های *AKT* از پاتوژن AHR و التهاب ناشی از آلرژن جلوگیری می‌کند (۶). سلول‌های ساختاری از جمله سلول‌های عضلات صاف و اپیتلیال، سلول‌های مؤثر در آزادسازی واسطه‌های التهابی در آسم هستند و مسیر

آسم بیماری التهابی مزمن مجرای هوایی با تغییر در ساختار و عملکرد است و منجر به تحریک‌پذیری غیراختصاصی برونش و انسداد مجرای هوایی می‌شود (۱). این بیماری ممکن است بر روی بافت‌های دیگری علاوه بر بافت ریه اثرگذار باشد (۲). به نحوی که افراد مبتلا به آسم در معرض ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و خطر افزایش مرگ نسبت به افراد غیر آسمی هستند. به علاوه آسم با ساختار و عملکرد تغییرات عروق در ارتباط است (۳). بر اساس مطالعات میزان مرگ و میر بیماران مبتلا به آسم، تا حدود بسیاری به علت بیماری قلبی عروقی است (۴). شواهد نشان می‌دهد در بیماری آسم خطر افزایش آترواسکلروز افزایش می‌یابد (۵). *Tuleta* و همکاران گزارش کردند وزن پلاک آترواسکلروزی در بیماران

در مورد اثرات ورزش در بافت قلب نمونه‌های مبتلا به آسم بر متغیرهای ذکر شده مطالعه‌ای یافت نکردیم؛ اما نتایج تحقیق Silva و همکاران نشان داد که تمرین هوازی موجب کاهش معنی‌دار VCAM در بافت ریه موش‌های مبتلا به آسم می‌شود (۲۳). Agostini و همکاران در سال ۲۰۱۸ کاهش فعالیت مسیر PI3K/Akt را در سلول‌های سرطانی در اثر ورزش نشان دادند (۲۴). در مطالعه‌ای DA Silva Jr و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی باعث افزایش بیان mir-126 در موش‌های صحرائی سالم می‌شود (۲۵). در مورد mir-1185 و تغییرات آن متعاقب ورزش نتایج روشنی ارائه نشده است. تمرینات طولانی مدت از نظر زمان اجرا علی‌رغم تاثیر مثبت خود، به دلیل خستگی‌های ناشی از آن در زمان‌های طولانی اجرا، باعث عدم رغبت برخی از افراد برای شرکت در آن می‌شود. از این رو تمرینات تناوبی با توجه به زمان کم اجزای آن گزینه مناسبی به حساب می‌آید. در هر صورت افراد مبتلا به آسم با خطر بیماری‌های قلبی عروقی روبرو هستند و در این میان نقش برخی مسیرهای سیگنالی همچون AKT، ملکول‌های چسبان عروق و میکرو RNAها بسیار حائز اهمیت است. لیکن تغییرات این عوامل در بافت قلب افراد مبتلا به آسم به روشنی مشخص نبوده و نتایج مشخصی در مورد اثر تمرینات ورزشی به خصوص تمرینات تناوبی بر آن گزارش نشده است. لذا این مطالعه به منظور پایش یک دوره تمرین تناوبی شدت متوسط بر بیان ژن‌های mir-126، mir-1185، AKT و VCAM در بافت قلب موش‌های صحرائی مبتلا به آسم آلرژیک انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۱۵ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار پنج هفته‌ای با وزن ۲۰۰-۱۵۰ گرم خریداری شده از انستیتو پاستور آمل در آزمایشگاه تربیت بدنی دانشگاه مازندران طی سال ۱۳۹۷ انجام شد. مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (IR.ARUMS.REC.1398.516) قرار گرفت.

پروتکل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. مراحل پژوهش براساس راهنمای شورای پژوهش ملی برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت و تلاش بر این بود که هرگونه استرس غیرضروری به حیوانات حذف گردد. موش‌ها پس از انتقال به محیط آزمایشگاه، به مدت یک هفته با شرایط جدید سازگار شدند. حیوانات در محیط استاندارد در اتاقی با چرخه ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی، دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۵ تا ۵۵ درصد مطلوب و دسترسی آزادانه به آب و غذا به صورت پنج تایی در قفس‌ها شفاف پلی‌کربنات) نگهداری شدند. آشناسازی با نحوه فعالیت حیوانات بر روی نوارگردان در ۴ جلسه به صورت راه رفتن و دویدن با سرعت ۱۰ تا ۲۰ متر بر دقیقه و شیب

سیگنالی AKT نقش مهمی در پاسخ سلول‌های عضلات صاف و سلول‌های اپیتلیال دارد (۸ و ۷). علاوه بر این مسیر سیگنالی AKT در ایجاد آترواسکلروز نیز موثر است. مهار مسیر سیگنال Akt /mTOR می‌تواند ماکروفازها را کاهش داده و با ترویج اتوفازای ماکروفاز، پلاک‌های آترواسکلروتیک آسیب‌پذیر را تثبیت کند (۹). این مسیر در فعال شدن ملکول‌های چسبان عروقی نیز موثر است (۱۰). برخی مطالعات نشان داده که ذرات موجود در هوا از طریق AKT/NF-κB باعث افزایش VCAM می‌شود (۱۰). یکی از حساس‌ترین نشانگرهای تشکیل پلاک آترواسکلروزی در دیواره اندوتلیال عروق، ملکول‌های چسبان سلولی و عروقی VCAM است. افزایش بیان و فعالیت CAMها نشان‌دهنده التهاب، اختلال عملکرد اندوتلیال و آترواسکلروز است (۱۱). ملکول‌های چسبان از جمله VCAM سبب ورود مونوسیت‌ها به آندوتلیال عروق شده و نفوذپذیری و فعال‌سازی پلاک‌ها افزایش می‌یابد. با مهاجرت سلول‌های عضلانی صاف جدار عروق، روند رسوب یافت فیروزی در آن ناحیه توسعه یافته و صفحات زرد پلاک آترمی گسترش می‌یابد (۱۲). در بیماری آسم مقدار VCAM افزایش پیدا می‌کند و به عنوان عاملی برای افزایش التهاب عمل می‌کند (۱۳).

نقش میکرو RNAها در پاسخ دستگاه قلبی عروقی به آسیب، التهاب و استرس قابل توجه است (۱۴). میکرو RNA نقش مهمی در تنظیم بیان ژن با مهار ترجمه پروتئین یا افزایش تجزیه mRNA دارند. یکی از میکرو RNAهای ویژه mir-126 است که اثرات آنتی آترواسکلروزی بر اختلافات عروقی دارد (۱۵). mir-126 تا حد بسیاری در سلول‌های اندوتلیال بافت قلب بیان می‌شود و نقش مهمی را در کنترل آتروژنز و یکپارچگی عروقی ایفا می‌کند (۱۶). در بیماری آسم میزان بیان mir-126 تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۷). تحقیقات نشان داده افزایش mir-126 در افراد مبتلا به آسم نشان‌دهنده عدم تعادل در سیستم ایمنی است (۱۸). از سوی دیگر نقش mir-1185 نیز در توسعه بیماری‌های قلبی عروقی قابل توجه است. mir-1185 موجب تسریع در روند سختی شریان شده و بر تون عروقی موثر است. Deng و همکاران گزارش کردند که mir-1185 از طریق UVRAG و KRIT1 باعث افزایش آپوپتوز سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۱۹). Deng و همکاران در تحقیق دیگری نشان دادند که mir-1185 از طریق افزایش ملکول‌های چسبان عروقی همانند VCAM-1 و E-selectin باعث افزایش سفتی عروق خونی می‌شود (۲۰). با این حال mir-126 از فعالیت Vcam-1 جلوگیری نموده و التهاب عروقی را تنظیم می‌کند (۲۱). در مورد اثرات بیماری آسم بر mir-118 نتایج روشنی گزارش نشده است.

افزایش فعالیت فیزیکی باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی شده و روند پیشرفت آترواسکلروز را می‌کاهد (۲۲). هرچند

کردن در نظر گرفته شد.

تشریح و بافت برداری: ۷۲ ساعت پس از آخرین جلسه هفته تمرین تناوبی، موش‌ها با تزریق ۳ واحد محلول کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵-۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش و بافت قلب آنها خارج و بلافاصله در مایع نیتروژن قرار داده شد. سپس تا انجام مطالعات مولکولی در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

روش آزمایشگاهی: از تکنیک RT-qPCR برای تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیزول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل (کیژن، آلمان) استخراج شد. برای اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض DNase I (Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNA های استخراج شده با دستگاه اسپکترومتری (DPI-1, Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تهیه cDNA، تک رشته‌ای از پرایمر (MWG-Biotech, Germany) Oligo dt و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل (Fermentas, USA) PCR master mix انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از SYBER Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems) و SYBER Green در دستگاه Applied Biosystems, Sequences Detection Systems, Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گردید. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting برای بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شد و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی برای بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت. نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Threshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری AKT از کیت sc-5298 AKT: (Santa Cruz Biotechnology, آمریکا) و برای VCAM از کیت Vcam: sc-53548 (Santa Cruz Biotechnology, آمریکا) استفاده گردید.

روش آماری: داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS-23 ثبت شدند. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف - اسمیرونف تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

بین گروه‌ها از نظر مقدار IgE ($P < 0/001$)، بیان AKT

صفر اجرا شد. برای تحریک به دویدن و جلوگیری از اثر احتمالی شوک الکتریکی بر یافته‌های پژوهش در مرحله آشناسازی حیوانات با فعالیت روی نوارگردان به روش شرطی‌سازی با صدا آموزش داده شد تا از نزدیک شدن و استراحت در بخش انتهایی دستگاه خودداری کنند. براساس مقالات گذشته (۲۶)، موش‌های صحرایی پس از مراحل آشناسازی با محیط و نوارگردان، به صورت تصادفی در ۳ گروه ۵ تایی شامل گروه‌های کنترل، آسم و آسم توام با تمرین تناوبی تقسیم شدند.

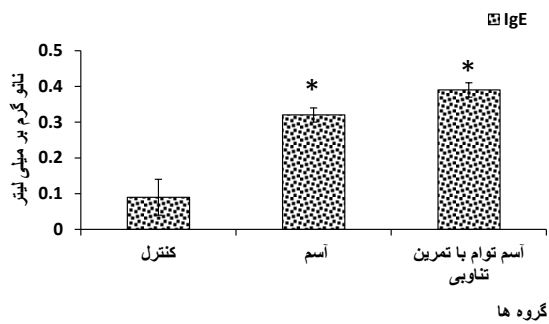
القای آسم: برای القای آسم تجربی به موش‌های صحرایی، دو هفته محلول اووالبوومین (Ovalbumin: OVA) به صورت درون‌صفافی تزریق شد. این عمل سه بار در هفته انجام گردید. برای تهیه محلول به ازای هر یک گرم اووالبوومین ۱۰۰ میلی گرم آلومینیوم و یک میلی‌لیتر سرم تزریقی برای هر موش صحرایی استفاده شد (۲۷). محلول با استفاده از شیکر و اولتوراسونیک ترکیب و در ظرف شیشه‌ای در یخچال نگهداری شد. برای اطمینان از آسمی شدن حیوانات مقدار IgE بررسی بودن نمونه‌ها تایید شد.

گروه‌های آسم در طول ۸ هفته پروتکل تمرینی پس از تمرین به مقدار یک میلی‌لیتر به صورت درون‌صفافی محلول اووالبوومین را دریافت نمودند. برای از بین بردن استرس ناشی از تزریق، به گروه کنترل نیز مقدار یک میلی‌لیتر سرم نرمال سالین به صورت درون‌صفافی تزریق شد. در طول پروتکل تمرینی گروه‌های آسمی علاوه بر تزریق یک بار در هفته، ۳ بار در هفته در داخل محفظه‌ای شیشه‌ای در معرض افشانه اووالبوومین ۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. برای تهیه محلول افشانه از نسبت یک میلی‌گرم اووالبوومین و یک میلی‌لیتر سرم نمکی استفاده شد.

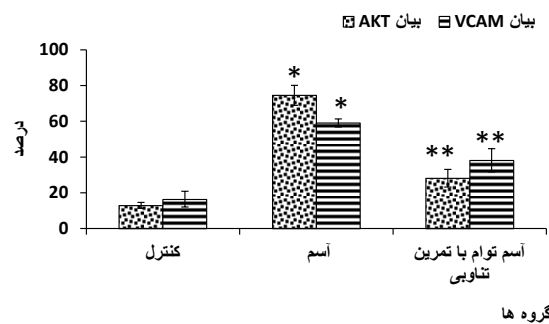
پروتکل تمرین تناوبی: برنامه تمرینی اینتروال شدت متوسط در طول ۸ هفته اجرا شد. پروتکل تمرینی ۳ بار در هفته و به صورت ۱۰ تکرار یک دقیقه‌ای و استراحت فعال ۲ دقیقه‌ای انجام شد. به صورتی که سرعت استراحت نصف سرعت دویدن بود و کل زمان تمرین روزانه برای هر موش ۳۰ دقیقه طول می‌کشید (۲۸ و ۲۹). در اولین جلسه پروتکل تمرینی آزمون ظرفیت بیشینه (MCT) انجام شد. به نحوی که آزمون با سرعت ۵ متر بر دقیقه شروع و هر ۳ دقیقه ۵ متر بر دقیقه به شدت فعالیت اضافه شد. MCT براساس وامانده شدن و توقف موش بر روی تسمه نوارگردان و برگشت به فضای بیرون از تسمه بدون شوک الکتریکی برای بیش از ۳ ثانیه تعیین شد. پس از تعیین MCT (در ابتدای پروتکل و پایان هفته چهارم)، پروتکل تمرین تناوبی به صورت دوره‌های ۴ هفته‌ای به صورت سینوسی اجرا شد. از نتایج تست‌ها برای محاسبه شدت تمرین برای هر موش در دوره‌های چهار هفته اول و دوم استفاده شد. به غیر از زمان فعالیت اصلی، ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه برای سرد

کنترل با گروه آسم ($P < 0/0862$) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲، نمودار ۳).

در مورد بیان mir-1185 بین گروه آسم توام با تمرین تناوبی با گروه کنترل کاهش آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/012$). بین گروه آسم توام با تمرین تناوبی با گروه آسم ($P < 0/0221$) و گروه کنترل با گروه آسم ($P < 0/0391$) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲، نمودار ۴).



نمودار ۱: مقدار IgE در گروه‌های مختلف
* $P < 0/05$ مقایسه با گروه کنترل



نمودار ۲: بیان AKT و VCAM در گروه‌های مختلف
* $P < 0/05$ مقایسه با گروه کنترل، ** $P < 0/05$ مقایسه با گروه آسم

($P < 0/001$)، بیان VCAM ($P < 0/001$)، بیان mir-126 ($P < 0/038$) و بیان mir-1185 ($P < 0/016$) تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول یک).

جدول ۱: نتایج آزمون آنالیز واریانس

متغیرها	F	p-value
AKT	۱۳۷/۲	۰/۰۰۱
VCAM	۶۵/۷۸	۰/۰۰۱
mir-126	۳/۵۶	۰/۰۳۸
mir-1185	۴/۶۳	۰/۰۱۶
IgE	۱۹۸/۸۳۲	۰/۰۰۱

p-value با استفاده از آزمون آنالیز واریانس

بین دو گروه آسم و کنترل ($P < 0/001$) و گروه آسم توام با تمرین تناوبی در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0/001$) از نظر مقدار IgE افزایش آماری معنی‌داری وجود داشت. بین گروه آسم با گروه آسم توام با تمرین تناوبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0/258$) (جدول ۲، نمودار یک).

بین دو گروه کنترل و آسم ($P < 0/001$)، گروه کنترل در مقایسه با گروه آسم توام با تمرین تناوبی ($P < 0/001$) و بین گروه آسم با گروه آسم توام با تمرین تناوبی ($P < 0/001$) از نظر بیان AKT کاهش آماری معنی‌داری یافت ش. (جدول ۲، نمودار ۲).

بین دو گروه کنترل و آسم ($P < 0/001$)، گروه کنترل در مقایسه با گروه آسم توام با تمرین تناوبی ($P < 0/001$) و بین گروه آسم در مقایسه با گروه آسم توام با تمرین تناوبی ($P < 0/001$) از نظر بیان VCAM، کاهش آماری معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲، نمودار ۲).

از نظر بیان mir-126 بین گروه آسم توام با تمرین تناوبی با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/036$)؛ اما بین گروه آسم توام با تمرین تناوبی با گروه آسم ($P < 0/140$) و گروه

جدول ۲: نتایج آزمون تعقیبی توکی برای متغیرهای تحقیق در گروه‌های مختلف

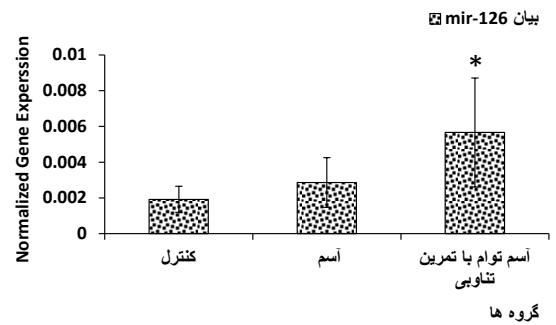
متغیرها	گروه‌ها	تفاوت میانگین	p-value
AKT	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۰۰۱
	آسم	کنترل	۰/۰۰۱
VCAM	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۰۰۱
	آسم	کنترل	۰/۰۰۱
mir-126	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۱۴۰
	آسم	کنترل	۰/۰۳۶
mir-1185	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۸۶۲
	آسم	کنترل	۰/۰۰۰۹
IgE	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۰۱۲
	آسم	کنترل	۰/۰۰۰۵
	آسم	کنترل	۰/۳۹۱
	آسم توام با تمرین تناوبی	آسم	۰/۲۵۸
	آسم	کنترل	۰/۰۰۱
	آسم	کنترل	۰/۰۰۱

p-value با استفاده از آزمون تعقیبی توکی

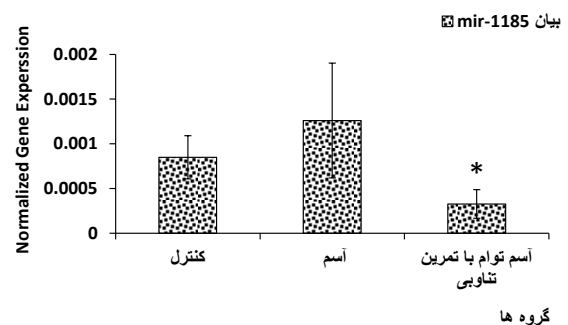
Agostini و همکاران در سال ۲۰۱۸ کاهش فعالیت مسیر PI3K/Akt را در سلول‌های سرطانی در اثر ورزش نشان دادند (۲۴). در مورد افزایش بیان AKT در بیماری آسم می‌توان به مواردی همچون افزایش فشار اکسایشی اشاره کرد. مطالعات نشان داده‌اند آسم با گسترش رادیکال‌های آزاد و تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی همراه است (۳۴ و ۳۵). از آنجایی که فشار اکسایشی از عوامل افزایش دهنده فعالیت AKT محسوب می‌شود (۱۰)؛ می‌توان انتظار داشت که آسم از این طریق باعث افزایش بیان آن شود. با توجه به این که ورزش نیز از عوامل کاهشنده فشار اکسایشی محسوب می‌شود (۳۶)؛ این احتمال وجود دارد که ورزش تناوبی از طریق کاهش فشار اکسایشی به کاهش بیان AKT منجر شود. از طرفی دیگر در مورد اثر AKT در آترواسکلروز نقش آن در افزایش فعالیت مولکول‌های چسبان عروقی همچون VCAM مهم است (۱۰).

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و کاهش VCAM به عنوان شاخص تشکیل پلاک آترواسکلروزی می‌توان گفت که احتمالاً افزایش جریان خون بافت قلب و اثرات مهارکننده مسیر تولید این پروتئین و فشار برشی موجب کاهش بیان آن می‌شود. Hamzaoui و همکاران در سال ۲۰۰۱ (۱۳) و Wang و همکاران در سال ۲۰۰۹ (۳۷) افزایش VCAM را در مجاری تنفسی افراد مبتلا به آسم گزارش کردند. Pastva و همکاران در سال ۲۰۱۰ کاهش VCAM را در اثر تمرینات ورزشی در موش‌های صحرایی مبتلا به آسم گزارش کردند (۳۸). مطالعات مختلف عواملی همچون کاهش جذب نوتروفیل و ائوزینوفیل‌ها و کاهش فعالیت NF-κB را در کاهش VCAM در اثر ورزش موثر دانسته‌اند (۳۹). با این حال کاهش AKT نیز در این مورد موثر است. به نظر می‌رسد ورزش تناوبی از طریق کاهش بیان AKT به کاهش بیان VCAM منجر می‌شود. با این حال نقش میکرو RNA نیز در تنظیم بیان VCAM و همچنین آترواسکلروز موثر است. Deng و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند mir-1185 از طریق افزایش ملکول‌های چسبان عروقی همانند VCAM-1 و E-selectin باعث افزایش سفتی عروق خونی می‌شود (۲۰). با این حال mir-126 از فعالیت VCAM جلوگیری می‌کند و التهاب عروقی را تنظیم می‌کند (۲۱).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد آسم موجب افزایش غیرمعنی‌دار mir-126 می‌گردد و تمرین تناوبی نیز در موش‌های صحرایی مبتلا به آسم بیان mir-126 را تقویت می‌کند و باعث افزایش ۹۶ درصدی آن شد. در همین راستا Wu و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که بیان mir-126 در دیواره راه هوایی افراد مبتلا به آسم افزایش پیدا می‌کند (۱۷). Collison و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (۳۹). در مورد بیان mir-126 در بافت قلب نمونه‌های مبتلا به آسم نتوانستیم به نتایج مستدلی دست یابیم؛ اما



نمودار ۳: بیان mir-126 در گروه‌های مختلف * $P < 0.05$ مقایسه با گروه کنترل



نمودار ۴: بیان mir-1185 در گروه‌های مختلف * $P < 0.05$ مقایسه با گروه آسم

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه، مداخله تمرین اثر مهارکنندگی بر التهاب ناشی از آسم آلرژیک در مدل موش داشت. براین اساس تجویز تمرین موجب کاهش ۶۲ درصد بیان AKT و ۳۶ درصد VCAM در بافت قلب موش‌های صحرایی مبتلا به آسم در مقایسه با گروه آسمی شد. احتمال دارد کاهش میزان AKT در این تحقیق نشان‌دهنده کاهش التهاب ناشی از آلرژن باشد. Yoo و همکاران مسیر PI3K/Akt را به عنوان یکی از اهداف درمانی در بیماری آسم نشان داده و گزارش کردند که آسم فعالیت این مسیر سیگنالی را افزایش می‌دهد (۶). تحقیقات نشان داده‌اند که مهارکننده‌های PI3K/Akt از پاتوژنز AHR و التهاب ناشی از آلرژن جلوگیری می‌کنند (۳۰). مهار PI3K/Akt از بیان پروتئین ۱۰-ناشی از IFN-γ جلوگیری می‌کند که در هنگام تشدید آسم ناشی از ویروس آزاد می‌شود (۳۱). همچنین مسیر PI3K/Akt سیگنالینگ اکسید نیتریک اکساید و سیگنالینگ اکسید نیتریک را در اپیتلیوم مجاری هوایی تعدیل نموده و باعث توسعه التهاب راه‌های هوایی می‌شود (۳۲). علاوه بر این Sun و همکاران نشان دادند که افزایش فعالیت مسیر سیگنالی PI3K/Akt خطر ایجاد آترواسکلروز را افزایش می‌دهد (۳۳). Zhai و همکاران گزارش کردند که مهار مسیر سیگنال Akt می‌تواند ماکروفاژها را کاهش داده و با ترویج اتوفاژی ماکروفاژ، پلاک‌های آترواسکلروتیک آسیب‌پذیر را تثبیت کند (۹).

وزن و تنظیم بیان GSK3B است (۴۶). Pallarès-Albanell و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز mir-1185 را از عوامل افزایش فشار اکسایشی گزارش کردند (۴۷). در مورد مکانیسم اثر آسم و یا اثر ورزش در کاهش مقادیر mir-1185 با توجه تعداد محدود پژوهش‌های موجود نمی‌توان دلیل روشنی ارائه کرد؛ اما این امکان وجود دارد که تنش برشی ناشی از ورزش در این زمینه موثر باشد. از سوی دیگر با توجه به این که فشار اکسایشی از عوامل افزایش دهنده بیان AKT محسوب می‌شود؛ این امکان وجود دارد که mir-1185 از طریق افزایش فشار اکسایشی بیان AKT را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که آسم از طریق افزایش بیان ژن‌های mir-1185 و AKT، بیان VCAM و خطر آترواسکلروز را افزایش می‌دهد. لیکن ورزش تناوبی از طریق کاهش بیان AKT، mir-1185 و افزایش بیان mir-126 بیان VCAM و خطر آترواسکلروز را کاهش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه خانم معصومه نوبهار برای اخذ درجه دکتری در رشته فیزیولوژی ورزشی از دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی دانشگاه محقق اردبیلی بود. نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارض منافی ندارند. بدین وسیله از سرکار خانم دکتر لیلی تاپاک که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند؛ سپاسگزاری می‌نماییم.

References

- Ober C, Yao TC. The genetics of asthma and allergic disease: a 21st century perspective. *Immunol Rev.* 2011 Jul; 242(1): 10-30. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01029.x
- Tuleta I, Skowasch D, Aurich F, Eckstein N, Schueler R, Pizarro C, et al. Asthma is associated with atherosclerotic artery changes. *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186820. DOI: 10.1371/journal.pone.0186820
- Wang L, Gao S, Yu M, Sheng Z, Tan W. Association of asthma with coronary heart disease: A meta analysis of 11 trials. *PLoS One.* 2017; 12(6): e0179335. DOI: 10.1371/journal.pone.0179335
- Yun HD, Knoebel E, Fenta Y, Gabriel SE, Leibson CL, Loftus Jr EV, et al. Asthma and Proinflammatory Conditions: A Population-Based Retrospective Matched Cohort Study. *Mayo Clin Proc.* 2012 Oct; 87(10): 953-60. DOI: 10.1016/j.mayocp.2012.05.020
- Knoflach M, Kiechl S, Mayr A, Willeit J, Poewe W, Wick G. Allergic rhinitis, asthma, and atherosclerosis in the Bruneck and ARMY studies. *Arch Intern Med.* 2005 Nov; 165(21): 2521-26. DOI: 10.1001/archinte.165.21.2521
- Yoo EJ, Ojaku CA, Sunder K, Panettieri Jr RA. Phosphoinositide 3-Kinase in Asthma: Novel Roles and Therapeutic Approaches. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2017 Jun; 56(6): 700-707. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0308TR
- Black JL, Panettieri RA, Banerjee A, Berger P. Airway smooth muscle in asthma: just a target for bronchodilation? *Clin Chest*

مطالعه DA Silva Jr و همکاران نشان داد تمرین هوازی باعث افزایش بیان mir-126 در موش‌های صحرایی سالم می‌شود و این امر می‌تواند با آتزیوتزن قلبی ناشی از فعالیت ورزشی به وسیله تنظیم مستقیم مسیر VEGF و تنظیم غیرمستقیم اهداف آن مانند MAPK, PI3K/Akt/eNOS مرتبط باشد (۲۵). Hadi و همکاران نیز نشان دادند که تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار بیان mir-126 در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۴۰). بر اساس مطالعات Ets-1 و Ets-2 در تنظیم بیان mir-126 موثر است. لذا افزایش Ets-1 و Ets-2 باعث افزایش بیان mir-126 در سلول‌های اندوتلیال می‌گردد (۴۱). از سوی دیگر مطالعه Yildiz و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داد که در بیماران مبتلا به آسم پاسخ انقباضی عروق به استرس برشی کاهش پیدا می‌کند (۴۲). تنش برشی از عوامل افزایش دهنده mir-126 و Ets1 محسوب می‌شود (۴۳ و ۴۴). از آنجایی که ورزش می‌تواند باعث ایجاد تنش برشی بالایی شود (۴۵)؛ می‌توان چنین فرض کرد که از طریق افزایش تنش برشی به افزایش mir-126 در بافت منجر می‌شود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که بیان mir-1185 در موش‌های صحرایی مبتلا به آسم تغییر معنی‌داری نداشته است. با این حال تمرین تناوبی به کاهش معنی‌دار ۷۴ درصدی آن (حتی به مقادیر کمتر از موش‌های صحرایی سالم تمرین نکرده) منجر شد. با توجه به محدودیت‌های موجود در مورد پیشینه تحقیقاتی mir-1185 نمی‌توان تحقیقات همسو و یا ناهمسو ارائه کرد؛ اما Garcia-Lacarte و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که mir-1185 از نشانگرهای واکنش در برابر کاهش

- Med. 2012 Sep; 33(3):5 43-58. DOI: 10.1016/j.ccm.2012.05.002
- Lambrecht BN, Hammad H. The airway epithelium in asthma. *Nat Med.* 2012 May; 18(5): 684-92. DOI: 10.1038/nm.2737
- Zhai C, Cheng J, Mujahid H, Wang H, Kong J, Yin Y, et al. Selective inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway regulates autophagy of macrophage and vulnerability of atherosclerotic plaque. *PLoS One.* 2014 Mar; 9(3): e90563. DOI: 10.1371/journal.pone.0090563
- Rui W, Guan L, Zhang F, Zhang W, Ding W. PM2.5-induced oxidative stress increases adhesion molecules expression in human endothelial cells through the ERK/AKT/NF- κ B-dependent pathway. *J Appl Toxicol.* 2016 Jan; 36(1): 48-59. DOI: 10.1002/jat.3143
- Boulet L-P, FitzGerald JM, Reddel HK. The revised 2014 GINA strategy report: opportunities for change. *Curr Opin Pulm Med.* 2015 Jan; 21(1): 1-7. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000125
- Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation.* 2003 Aug; 108(5): 530-35. DOI: 10.1161/01.CIR.0000080893.55729.28
- Hamzaoui A, Ammar J, El Mekki F, Borgi O, Ghrairi H, Ben Brahim M, et al. Elevation of serum soluble E-selectin and VCAM-1 in severe asthma. *Mediators Inflamm.* 2001 Dec;

- 10(6): 339-42. DOI: 10.1080/09629350120102361
14. Latronico MVG, Condorelli G. MicroRNAs and cardiac pathology. *Nat Rev Cardiol.* 2009 Jun; 6(6): 419-29. DOI: 10.1038/nrcardio.2009.56
 15. Qu M, Pan J, Shi X, Zhang Z, Tang Y, Yang G. MicroRNA-126 is a prospective target for vascular disease. *Neuroimmunol Neuroinflammation.* 2018; 5:10. DOI: 10.20517/2347-8659.2018.01
 16. Wang S, Aurora AB, Johnson BA, Qi X, McAnally J, Hill JA, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell.* 2008 Aug; 15(2): 261-71. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.07.002
 17. Wu XB, Wang MY, Zhu HY, Tang SQ, You YD, Xie YQ. Overexpression of microRNA-21 and microRNA-126 in the patients of bronchial asthma. *Int J Clin Exp Med.* 2014 May; 7(5): 1307-12.
 18. Tian M, Ji Y, Wang T, Zhang W, Zhou Y, Cui Y. Changes in circulating microRNA-126 levels are associated with immune imbalance in children with acute asthma. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2018 Jan-Dec; 32: 2058738418779243. DOI: 10.1177/2058738418779243
 19. Deng H, Chu X, Song Z, Deng X, Xu H, Ye Y. MicroRNA-1185 Induces Endothelial Cell Apoptosis by Targeting UVRAG and KRIT1. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 41: 2171-82. DOI: 10.1159/000475571
 20. Deng H, Song Z, Xu H, Deng X, Zhang Q, Chen H, et al. MicroRNA-1185 Promotes Arterial Stiffness through Modulating VCAM-1 and E-Selectin Expression. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 41(6): 2183-93. DOI: 10.1159/000475576
 21. Nanoudis S, Pikilidou M, Yavropoulou M, Zebekakis P. The Role of MicroRNAs in Arterial Stiffness and Arterial Calcification. An Update and Review of the Literature. *Front Genet.* 2017; 8: 209. DOI: 10.3389/fgene.2017.00209
 22. Kadoglou NPE, Iliadis F, Liapis CD. Exercise and carotid atherosclerosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008 Mar; 35(3): 264-72. DOI: 10.1016/j.ejvs.2007.08.022
 23. Silva RA, Almeida FM, Olivo CR, Saraiva Romanholo BM, Martins MA, Carvalho CRF. Exercise reverses OVA-induced inhibition of glucocorticoid receptor and increases anti-inflammatory cytokines in asthma. *Scand J Med Sci Sports.* 2016 Jan; 26(1): 82-92. DOI: 10.1111/sms.12411
 24. Agostini D, Natalucci V, Baldelli G, De Santi M, Zeppa SD, Vallorani L, et al. New Insights into the Role of Exercise in Inhibiting mTOR Signaling in Triple-Negative Breast Cancer. *Oxid Med Cell Longev.* 2018 Sep; 2018: 5896786. DOI: 10.1155/2018/5896786
 25. DA Silva Jr ND, Fernandes V, Soci UPR, Monteiro AWA, Phillips MI, DE Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. *Med Sci Sports Exerc.* 2012 Aug; 44(8): 1453-62. DOI: 10.1249/MSS.0b013e31824e8a36
 26. Mirdar Sh, Naiestany F, Hamidian Gh, Hedayati M. [Increment of Alveolar Macrophages and Pulmonary Surfactant of Young Male Rats after Six Weeks Interval Training]. *Sport Physiology.* 2018; 9(36): 59-72. DOI: 10.22089/SPJ.2018.2114.1281 [Article in Persian]
 27. Kodesh E, Zaldivar F, Schwindt C, Tran P, Yu A, Camilon M, et al. A rat model of exercise-induced asthma: a nonspecific response to a specific immunogen. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Apr; 300(4): R917-24. DOI: 10.1152/ajpregu.00270.2010
 28. Harijani Mirdar S, Arzani A, Arabzadeh E, Neyestani F, Baghbani M, Ahmadi S. [The Effect of a Period of Interval Training and Step Taper on Performance Indexes in Male Rats during Puberty]. *Journal of Sport Biosciences.* 2016; 7(4): 619-34. DOI: 10.22059/jsb.2015.57287 [Article in Persian]
 29. Mirdar Sh, Naiestany F, Hamidian Gh, Hedayati M. [Increment of Alveolar Macrophages and Pulmonary Surfactant of Young Male Rats after Six Weeks Interval Training]. *Sport Physiology.* 2018; 9(36): 59-72. DOI: 10.22089/spj.2018.2114.1281 [Article in Persian]
 30. Nashed BF, Zhang T, Al Alwan M, Srinivasan G, Halayko AJ, Okkenhaug K, et al. Role of the phosphoinositide 3-kinase p110delta in generation of type 2 cytokine responses and allergic airway inflammation. *Eur J Immunol.* 2007 Feb; 37(2): 416-24. DOI: 10.1002/eji.200636401
 31. Cakebread JA, Haichti HM, Xu Y, Holgate ST, Roberts G, Davies DE. Rhinovirus-16 induced release of IP-10 and IL-8 is augmented by Th2 cytokines in a pediatric bronchial epithelial cell model. *PLoS One.* 2014 Apr; 9(4): e94010. DOI: 10.1371/journal.pone.0094010
 32. Xia X, Hu X, Xu H, Wu L, Dai Y, Yang L, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor suppresses inducible nitric oxide synthase expression in bronchiole epithelial cells in asthmatic rats. *Mol Cell Biochem.* 2012 Jan; 359(1-2): 293-99. DOI: 10.1007/s11010-011-1023-y
 33. Sun G, Li Y, Ji Z. Up-regulation of MIAT aggravates the atherosclerotic damage in atherosclerosis mice through the activation of PI3K/Akt signaling pathway. *Drug Deliv.* 2019 Dec; 26(1): 641-49. DOI: 10.1080/10717544.2019.1628116
 34. Sahiner UM, Birben E, Erzurum S, Sackesen C, Kalayci O. Oxidative stress in asthma. *World Allergy Organ J.* 2011 Oct; 4(10): 151-58. DOI: 10.1097/WOX.0b013e318232389e
 35. Qu J, Li Y, Zhong W, Gao P, Hu C. Recent developments in the role of reactive oxygen species in allergic asthma. *J Thorac Dis.* 2017 Jan; 9(1): E32-E43. DOI: 10.21037/jtd.2017.01.05
 36. Baghaie B, Botelho Teixeira AM, Tartibian B. Moderate aerobic exercise increases SOD-2 gene expression and decreases leptin and malondialdehyde in middle-aged men. *Science & Sports.* 2016; 31(3): e55-e63. DOI: 10.1016/j.scispo.2015.12.003
 37. Wang Y, Zhou M, Lou W. [Expression and significance of VCAM-1 in subjects with allergic inflammation of respiratory tract]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2009 Jun; 23(11): 506-7, 512. [Article in Chinese]
 38. Pastva A, Estell K, Schoeb TR, Atkinson TP, Schwiebert LM. Aerobic exercise attenuates airway inflammatory responses in a mouse model of atopic asthma. *J Immunol.* 2004 Apr; 172(7): 4520-26. DOI: 10.4049/jimmunol.172.7.4520
 39. Collison A, Herbert C, Siegle JS, Mattes J, Foster PS, Kumar RK. Altered expression of microRNA in the airway wall in chronic asthma: miR-126 as a potential therapeutic target. *BMC Pulm Med.* 2011 May; 11: 29. DOI: 10.1186/1471-2466-11-29
 40. Hadi H, Gaeini A, Mo'tamedi P, Rajabi H. [The effect of aerobic training on cardiac expression of mir-126 in diabetic rats]. *Razi J Med Sci.* 2016; 23(148): 44-55. [Article in Persian]
 41. Harris TA, Yamakuchi M, Kondo M, Oettgen P, Lowenstein CJ. Ets-1 and Ets-2 regulate the expression of microRNA-126 in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Oct; 30(10): 1990-97. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.211706
 42. Yildiz P, Oflaz H, Cine N, Genchallac H, Erginel Ünaltuna N, Yildiz A, et al. Endothelial dysfunction in patients with asthma: the role of polymorphisms of ACE and endothelial NOS genes. *J Asthma.* 2004 Apr; 41(2): 159-66. DOI: 10.1081/jas-120026073
 43. Hergenreider E, Heydt S, Tréguer K, Boettger T, Horrevoets AJG, Zeiher AM, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nat Cell Biol.* 2012 Feb; 14(3): 249-56. DOI: 10.1038/ncb2441

44. Milkiewicz M, Uchida C, Gee E, Fudalewski T, Haas TL. Shear stress-induced Ets-1 modulates protease inhibitor expression in microvascular endothelial cells. *J Cell Physiol.* 2008 Nov; 217(2): 502-10. DOI: 10.1002/jcp.21526
45. Tinken TM, Thijssen DHJ, Hopkins N, Dawson EA, Cable NT, Green DJ. Shear stress mediates endothelial adaptations to exercise training in humans. *Hypertension.* 2010 Feb; 55(2): 312-18. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.146282
46. Garcia-Lacarte M, Mansego ML, Zulet MA, Martinez JA, Milagro FI. miR-1185-1 and miR-548q Are Biomarkers of Response to Weight Loss and Regulate the Expression of GSK3B. *Cells.* 2019 Nov; 8(12): 1548. DOI: 10.3390/cells8121548
47. Pallarès-Albanell J, Zomeño-Abellán MT, Escaramís G, Pantano L, Soriano A, Segura MF, et al. A High-Throughput Screening Identifies MicroRNA Inhibitors That Influence Neuronal Maintenance and/or Response to Oxidative Stress. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019 Sep; 17: 374-87. DOI: 10.1016/j.omtn.2019.06.007