*Medical Journal*
*of*
*Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*

## Original Article

# Comparing the effects of 8-weeks of high intensity interval trainings (HIIT), endurance and resistance training on serum miRNA-210 expression and HIF-1$\alpha$ concentration in young male athletes

**Karim Azali Alamdari[1]*, Mostafa Armanfar[2]**

[1]Department of Sport Sciences, Faculty of Education and Psychology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
[2]Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Science, University of Tabriz, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: k.azali@azaruniv.ac.ir

Received: 5 August 2018 Accepted: 23 September 2018 First Published online: 18 July 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August - September; 42(3):228-236

## Abstract

**Background:** MicroRNAs (miRNAs) are a new class of biomarkers that involved in many biological processes and gene expression. The present study examined the effects of eight weeks of high intensity interval training (HIIT), endurance and resistance training on the expression of miRNA-210 and serum Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1α) level in young male athletes.

**Methods:** In this semi-experimental study, 40 young male athletes randomized into four groups including HIIT, endurance (EN), resistance (RES) trainings for eight weeks and also control groups. The HIIT program was consisted of 6-8 running sprints (30-60 seconds) with a 3.5-4 min recovery. Endurance training was included on 40-30 minutes of running at 75-70% heart rate reserve. Moreover, resistance training was a circuit training program consisting of three sets of 8-6 repetitions including chest press, curls, leg press, hack press and leg extension at 80-75% of one-repetition maximum (1RM). Blood samples were taken 24 hours pre and post intervention. Finally, the results were analyzed using one way analysis of variance and paired samples t test.

**Results:** Serum miRNA-210 expression and HIF-1α concentration were significantly increased following to three types of training ($P<0.05$). However, the amount of the observed increases were significantly higher in HIIT group rather than both EN and RES groups ($P<0.05$) with no significant difference between EN and RES groups ($P>0.05$).

**Conclusion:** All three training protocols increased Serum miRNA-210 expression and HIF-1α concentration with better efficiency of HIIT proposing it as an effective training method in this area.

**Keyword:** High intensity interval training, Endurance training, Resistance training, Hypoxia-inducible factor 1-alpha, miRNA-210, male athletes

**How to cite this article**: Azali Alamdari K, Armanfar M. [Comparing the effect of 8-week high intensity interval trainings (HIIT), endurance and resistance training on miRNA-210 expression and HIF-1$\alpha$ concentration in young male athletes]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August-September; 42(3):228-236. Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## مقاله پژوهشی

# مقایسه تاثیر هشت هفته تمرینات تناوبی شدید (HIIT)، مقاومتی و استقامتی بر بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α سرم مردان جوان ورزشکار

**کریم آزالی علمداری[1*]، مصطفی آرمان‌فر[2]**

[1]گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
[2]گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[*]نویسنده مسوول؛ ایمیل: k.azali@azaruniv.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۴ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۱ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۴/۲۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. مرداد و شهریور ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۲۸-۲۳۶

## چکیده

**زمینه:** microRNA (miRNA) شاخص‌های زیستی جدیدی هستند که در بسیاری از فرآیندهای زیستی و بیان ژن درگیر هستند. هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT)، مقاومتی و استقامتی بر بیان miRNA-210 و غلظت عامل القایی هایپوکسی-۱آلفا (HIF-1α) سرمی مردان ورزشکار جوان بود.

**روش‌کار:** در این مطالعه نیمه‌تجربی، ۴۰ مرد ورزشکار جوان ۲۰-۱۸ ساله انتخاب و پس از همگن‌سازی بر اساس توان هوازی و یک تکرار بیشینه (RM۱) به صورت تصادفی در چهار گروه HIIT، مقاومتی، استقامتی و کنترل جایگزین شدند. سپس، هشت هفته، هر هفته ۴-۳ جلسه تمرین HIIT (۸-۶ تکرار دویدن ۶۰-۳۰ ثانیه‌ای با شدت تمام و ۴-۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار)، تمرین استقامتی (۴۰-۳۰ دقیقه دویدن در محدوده ۷۵-۷۰ درصد ضربان قلب ذخیره) و تمرین مقاومتی (یک برنامه تمرین دایره‌ای شامل سه نوبت ۸-۶ تکراری حرکات پرس سینه، جلو بازو، پرس پا، هاگ و جلو پا در ۸۰-۷۵ درصد RM۱ با هشت تکرار) بود. نمونه‌های خونی، ۲۴ ساعت قبل و بعد از مداخله تمرینی جمع‌آوری شدند. در نهایت با استفاده از تحلیل واریانس تک راهه و آزمون تی همبسته نتایج حاصله تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α بعد از هر سه نوع تمرین افزایش یافت (P<۰/۰۵). با این حال، افزایش miRNA-210 و HIF-1α در گروه HIIT بیشتر از دو گروه دیگر بود (P<۰/۰۵) و تفاوت معنی‌داری بین گروه تمرین استقامتی و مقاومتی مشاهده نشد(P> ۰/۰۵).

**نتیجه‌گیری:** هر سه نوع تمرین سبب افزایش بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α می‌شوند و بیشتر بودن اثرگذاری تمرین HIIT آن را به عنوان یک استراتژی تمرینی کارآمد در این زمینه پیشنهاد می‌کند.

**کلید واژه‌ها:** تمرین تناوبی شدید، تمرین استقامتی، تمرین مقاومتی، عامل القایی هایپوکسی یک آلفا، miRNA-210، ورزشکاران مرد

نحوه استناد به این مقاله: آزالی علمداری ک، آرمان‌فر م. مقایسه تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT)، مقاومتی و استقامتی بر بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α سرم مردان ورزشکار جوان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۲۲۸-۲۳۶

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

microRNAها یا به اختصار miRNA مولکول‌های RNA کوتاهی با طول ۱۹ تا ۲۳ نوکلئوتید هستند که از طریق کنترل بیان ژن‌های مختلف به عنوان تنظیم کننده‌های اصلی گستره وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی شامل تکامل اولیه سلولی، تمایز سلولی، تکثیر و آپوپتوز عمل می‌کنند. بنابراین تغییر بیان miRNAها نقش مهمی را در فرآیندهای فیزیولوژیک و سوخت و سازی مختلف از جمله بسیاری از سازگاری‌ها با تمرینات ورزشی و بیماری‌های مختلف از جمله سرطان ایفا می‌کند. از این رو مطالعات بسیاری در جهت بررسی بیولوژی و عملکرد این دسته از RNAها انجام شده است. همین طور تلاش‌های چشم‌گیری به منظور توسعه روش‌های تشخیص و سنجش آنها صورت گرفته است (۲،۱). میزان جفت‌شدن miRNA با هدف خود، عامل اصلی در تشخیص سازوکار کنش متقابل بین mRNA-miRNA است. در صورتی که mRNA هدف، تقریباً به صورت کامل با miRNA جفت شود، شکسته و تجزیه می‌شود در غیر این صورت از ترجمه آن جلوگیری می‌شود (۲). از سوی دیگر، انواع مختلف تمرینات ورزشی با اهداف سلامتی و عملکردی توسط ورزشکاران، افراد سالم و حتی بیماران مبتلا به بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. به علاوه، استفاده از برنامه‌های تمرینی کوتاه مدت که بتواند سازگاری‌های عملکردی مطلوب را در کوتاه‌ترین زمان ممکن نسبت به تمرینات استقامتی و مقاومتی به وجود آورد از اهمیت بسیاری برخوردار است. در این میان، تمرین تناوبی شدید (HIIT) از روش‌های جدید تمرینات ورزشی است که در سال‌های اخیر مورد توجه ورزشکاران، مربیان و پژوهشگران علوم ورزشی قرار گرفته است. تمرینات HIIT معمولاً شامل چندین پروتکل تمرینی با پیوستاری از تناوب‌های استراحتی، شدت‌ها و مدت‌های متفاوت برنامه تمرین باشند(۳) که در طی جلسات تکراری نسبتاً کوتاه و متناوب تمرینی و اغلب با حداکثر تلاش و توان بدنی انجام می‌شود و یا در شدتی نزدیک به شدت اکسیژن مصرفی بیشینه ($VO_{2max}$) انجام می‌شوند (یعنی در حدود بیشتر از ۹۰ درصد $VO_{2max}$) (۴). همچنین بسته به شدت فعالیت ورزشی، یک وهله تلاش و فعالیت ممکن است چند ثانیه تا چند دقیقه طول بکشد که وهله‌های فعالیت با استفاده از چند دقیقه استراحت یا فعالیت با شدت پایین از یکدیگر جدا می‌شوند (۵). با این حال، در مقایسه با حجم گسترده مطالعاتی که سازگاری‌های فیزیولوژیکی به تمرینات استقامتی و مقاومتی را در افراد غیرورزشکار و ورزشکار شرح داده‌اند، مطالعات نسبتاً اندکی، پاسخ‌های عملکردی و فیزیولوژیکی به تمرینات HIIT را بررسی کرده‌اند. برای مثال، در پژوهشی Burgomaster و همکاران، نشان دادند در مقایسه با تمرینات استقامتی، تنها شش جلسه تمرین تناوبی سرعتی (آزمون وینگیت ۳۰ ثانیه‌ای با ۴ دقیقه استراحت بین هر وهله آزمون) به مدت دو هفته، موجب افزایش عملکرد بدنی و ظرفیت استقامتی طی دوچرخه‌سواری در حدود ۸۰ درصد $VO_{2max}$ گردیده است (۶). Gibala و همکاران، با مقایسه تاثیر شش جلسه HIIT (۶-۴×۳۰ ثانیه در ۲۵۰ درصد $VO_{2peak}$؛ ۴۰ دقیقه استراحت بین هر وهله تمرینی) و تمرین استقامتی تداومی(۱۲۰-۹۰ دقیقه دویدن در ۶۵ درصد $VO_{2max}$) در دو گروه از مردان فعال گزارش کردند که با وجود اختلاف در حجم تمرین برای دو گروه، تمرینات تناوبی سرعتی باعث سازگاری‌های سریع‌تری در مقایسه با تمرینات استقامتی تداومی سنتی خواهد شد (۷). بنابراین به نظر می‌رسد که بایستی برای بررسی اثر HIIT بر متغیرهای مختلف و از جمله miRNA-210 و عامل القایی هایپوکسی یک آلفا (HIF-1$\alpha$)، هنوز نیاز به انجام تحقیقات خیلی بیشتری باقی است. از سوی دیگر، تمرینات HIIT احتمالاً می‌توانند در مدت زمان کوتاه‌تری نسبت به تمرینات تداومی هوازی باعث ایجاد سازگاری شوند. علاوه بر تلاش محققان برای استفاده ازوش‌های تمرینی دارای کارایی بالاتر، آنها به دنبال دستیابی به شاخص‌ها و روش‌های نوینی برای ارزیابی مناسب سازگاری با تمرینات ورزشی هستند (۸). چندین مطالعه تاثیر تمرینات ورزشی بر پاسخ و سازگاری miRNAها را بررسی و نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند (۹, ۱۰). همچنین برخی از این miRNA ها ویژه عضله یا سایر بافت‌ها هستند و در سایر بافت‌ها بیان نمی‌شوند و بنابراین بر اساس نوع تمرینات ورزشی (HIIT، استقامتی یا مقاومتی) انجام شده ممکن است این شاخص‌ها به صورت متفاوتی به بروز سازگاری‌های مرتبط با ورزش کمک نمایند (۱۱-۹). به‌علاوه، فعالیت‌های بدنی بر بسیاری از فرآیندهای سلولی- مولکولی تاثیر می‌گذارند، اما تعداد پـژوهش‌های انجام شده در حوزه تاثیر فعالیت ورزشی و تمرینات ورزشی بر انواع miRNAها بسیار اندک است. با این وجود، همین تعداد پژوهش‌های کم نیز نشان می‌دهد که هم فعالیت بدنی بر بیان و غلظت miRNAها اثر می‌گذارد و هم تغییر در miRNAها موجب ایجاد سازگاری‌های ناشی از فعالیت‌بدنی و تمرینات ورزشی می‌شود (۱۱). بنابراین هنوز در این زمینه نیاز به تحقیقات بیشتر باقی است. لازم به ذکر است که miRNA-210 از بین miRNAهای پروآنژیوژنیک که باعث افزایش فرآیند رگ‌زایی می‌شوند، به عنوان یک تنظیم‌گر اصلی عمل می‌کند و یکی از ۳۵ ژن هدف شناخته شده آن گیرنده EphrinA3 می‌باشد.-miRNA 210 از طریق عامل القایی هیپوکسی ( HIF1α, Hypoxia indueible factor -1α) در فرآیند آنژیوژنز شرکت می‌کند و گیرنده تیروزین کیناز EphrinA3 (Kinases Tyrosine Receptor) یکی از اثرگذاران اصلی این فرآیند است. به علاوه، HIF-1α باعث افزایش بیان miRNA-210 در سلول‌های اندوتلیال می‌شود و

miRNA-210 در پاسخ به هیپوکسی با تنظیم کاهشی گیرنده تیروزین کیناز EphrinA3، آنژیوژنز سلول‌های اندوتلیال را تعدیل می‌کند (۱۳، ۱۲). برخی محققان مانند Li و همکاران، افزایش بیان نسبی miRNA-210 پس از یک تمرینات و رقابت ورزشی (۱۲) و برخی مطالعات عدم تغییر miRNA-210 بر اثر فعالیت ورزشی حاد و تمرینات ورزشی طولانی مدت را گزارش کرده‌اند (۱۳). همچنین، فعال‌سازی HIF-1α همراه با اجرای تمرینات ورزشی استقامتی و مقاومتی و به ویژه HIIT اتفاق می‌افتد، زیرا این تمرینات با شدت بالایی اجرا می‌شوند که منجر به کاهش میزان اکسیژن رسانی به عضلات اسکلتی می‌شود و این محدودیت همانند یک بازخورد ناشی از تمرین باعث ایجاد سازگاری‌هایی در عروق خونی می‌شود. همچنین افزایش بیش از اندازه miRNA-210 باعث مهاجرت سلول‌های اندوتلیال طی فرآیند آنژیوژنز می‌شود (۱۰). در مجموع، ارتباط دقیق بین miRNA-210 (به عنوان نشانگر ارزیابی سازگاری با تمرینات ورزشی) با شاخص‌هایی مانند HIF-1α باید به طور دقیق‌تری مورد ارزیابی قرار گیرند (۱۴). همچنین، بیشتر مطالعات موجود به بررسی میزان بیان miRNA-210 در سطح بافتی پرداخته‌اند و تعیین و اثبات نقش دقیق آن بر سازگاری‌های ناشی از هر یک از انواع فعالیت‌های ورزشی در نمونه‌هایی مانند پلاسما و سرم تا حد زیادی می‌تواند به شناسایی مسیرهای بروز سازگاری‌های مرتبط با ورزش در کل بدن کمک نماید (۱۵). همچنین، مقایسه تاثیر تمرینات HIIT، مقاومتی و استقامتی بر میزان بیان miRNA-210 و HIF-1a در ورزشکاران ممکن است آثار مهمی در تعیین بهترین روش دستیابی به سقف تعیین شده توسط عوامل ژنتیکی داشته باشد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی شدید (HIIT)، مقاومتی و استقامتی بر بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α سرمی مردان ورزشکار جوان انجام شد.

## روش‌کار

در یک طرح تحقیق نیمه تجربی، از میان ورزشکاران مرد رشته‌های ورزشی مختلف و افراد فعال پس از هماهنگی با هیئت‌های ورزشی شهرستان خرم آباد هماهنگی با مربیان مربوطه دارای حداقل ۵ سال سابقه تمرین منظم، پس از شرح کامل موضوع، اهداف و روش تحقیق و پرسش و پاسخ‌های متعدد، با در نظر گرفتن معیارهای ورود به مطالعه از قبیل سن (سن، ۲۰–۱۸ سال) و شاخص‌های پیکرسنجی شامل شاخص توده بدنی و درصد چربی (در محدوده ۱۸–۱۲ درصد) و سابقه تمرینی (حداقل ۳ سال تمرین منظم) انتخاب شدند. همچنین، آزمودنی‌های آسیب دیده (به ویژه در ناحیه زان و مچ پا) و دارای سابقه مصرف دارو و مکمل غذایی طی شش ماه گذشته از مطالعه کنار گذاشته شدند. حجم نمونه مناسب بر اساس مطالعات قبلی، در سطح معنی داری (آلفا یا خطای نوع اول) پنج درصد و توان (بتا یا خطای نوع دوم) و با استفاده از نرم‌افزار Medcalc18.2.1 تعیین شد (۲۰). سپس تعداد ۴۰ ورزشکار جوان (سن، ۰/۶±۱۹/۶ سال؛ وزن، ۱۴/۱±۶۹/۷ کیلوگرم) سالم با در نظر گرفتن امکان انصراف داوطلبین پس از تکمیل فرم رضایت آگاهانه و پرسشنامه سلامتی به عنوان آزمودنی درنظر گرفته شدند. سپس، با حضور در محل آزمایشگاه فیزیولوژی ورزشی شاخص‌های قد، وزن و درصد چربی آزمودنی‌ها توسط محقق و متخصص مربوطه اندازه‌گیری شد. پیش از شروع تمرینات توصیه‌هایی در مورد متعادل بودن وعده‌های غذایی و خواب شبانه کافی (۹–۸ ساعت) به آزمودنی‌ها و والدین‌شان داده شد. یک هفته قبل از آغاز اجرای تحقیق، تمام آزمودنی‌ها در یک جلسه آشنایی با تمرینات جسمانی و پروتکل تحقیق حضور یافتند و ضمن انجام اندازه‌گیری آنتروپومتری به روش استاندارد (با استفاده از دستگاه Inbody ساخت کشور کره جنوبی)، همچنین اکسیژن مصرفی بیشینه (با استفاده از آزمون پیشرونده بروس) و یک تکرار بیشینه برای حرکات پرس سینه، جلو بازو، پرس پا، هاگ و جلو پا تعیین شد. همچنین، حداکثر ضربان قلب در لحظه واماندگی حین آزمون تعیین اکسیژن مصرفی بیشینه به عنوان ملاک محاسبه شدت فعالیت در حین دوره تمرین استفاده شد. در ادامه آزمودنی‌ها به صورت تصادفی ساده و بر اساس $VO_{2max}$ در چهار گروه همسان ۱۰ نفره تمرین HIIT، استقامتی، مقاومتی و کنترل جایگزین شدند. سپس آزمودنی‌ها در یک برنامه هشت هفته‌ای (هر هفته شامل ۴–۳ جلسه تمرین) تمرین HIIT، استقامتی یا مقاومتی شرکت کردند. هر جلسه برنامه تمرین تناوبی شدید شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن (شامل حرکات کششی، درجا زدن و حرکات جنبشی)، ، ۸–۶ تکرار دویدن ۶۰–۳۰ ثانیه‌ای با شدت تمام و ۴–۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار) و بخش بازگشت به حالت اولیه بود. در اولین هفته برنامه تمرینی تناوبی شدید، آزمودنی‌ها شش مرتبه و هر مرتبه به مدت ۳۰ ثانیه با تمام توان دویدند. پس از چهار هفته به تدریج مدت زمان دویدن به ۴۵ ثانیه و در نهایت در دو هفته نهایی تمرینات به شش الی هشت تکرار ۶۰ ثانیه‌ای تبدیل گردید. طی هر جلسه تمرینی ابتدا ۴–۳ تکرار دویدن با تمام توان با ۳/۵ دقیقه استراحت بین هر تکرار اجرا شد و سپس آزمودنی‌ها ۵ دقیقه استراحت داشته و ۴–۳ تکرار دویدن بعدی را اجرا نمودند (۱۶). همچنین هشت هفته تمرین ورزشی استقامتی (۴–۳ جلسه در هفته) بود. در جلسات تمرین استقامتی پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن، هر یک از ورزشکاران به مدت ۳۰–۴۰ دقیقه در محدوده ۷۵–۷۰ درصد ضربان قلب ذخیره دویدند. علاوه بر این، هشت هفته تمرین ورزشی مقاومتی (۴–۳ جلسه در هفته) بود. در جلسات تمرین مقاومتی برنامه تمرین دایره‌ای شامل سه نوبت حرکات پرس سینه، جلو بازو، پرس پا،

هاگ و جلو پا در ۸۰–۷۵ درصد یک تکرار بیشینه با هشت تکرار انجام شد. رژیم غذایی روزانه آزمودنی‌ها طی دوره تحقیق (با استفاده از پرسشنامه یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته) کنترل شد. همه آزمودنی‌های در حین تمرینات بدنی هیچ محدودیتی در رابطه با دسترسی و نوشیدن آب نداشتند. همچنین، گروه کنترل در طی دوره مطالعه فعالیت ورزشی خاصی را انجام نداده و به زندگی روزمره و عادی خود ادامه دادند. خون‌گیری ۲۴ساعت قبل از اولین و آخرین جلسه تمرینی (ساعت ۹–۸ صبح) انجام شد. نمونه‌گیری‌ها به مقدار ۴–۳ میلی‌لیتر خون از ورید پیش آرنجی (بدون افزودن ماده ضد انعقاد جهت جداسازی سرم) انجام شد. تمام نمونه‌های خونی بعد از لخته شدن در دمای محیط، برای جداسازی سرم در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند. نمونه‌های سرمی تا زمان اندازه‌گیری غلظت miRNA در دمای ۸۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج RNA از نمونه‌های خونی، به ۶۰ میلی لیتر از نمونه داخل میکروتیوب، یک میلی‌لیتر ترایزول اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد سپس ۰/۲ میلی‌لیتر بـه آن کلروفـرم اضافه شد و حدود ۲ تـا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، سپس میکروتیوب‌ها بـه مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بـا ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAasefree انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول اضافه شد و بعد از هم زدن در دمای ۲۰– باقی ماندند. روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند. بـا سمپلر مایع رویی با دقت خارج شد و یک میلی‌لیتر اتانول خالص بـه آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقیمانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۶/۱ تا ۸/۱ بـود. کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰– خارج می‌شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها طبق زمانبندی‌های گروه کالیبره شده بودند. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon (ساخت کشور آمریکا) استفاده و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. برای ارزیابی بیان ژن از تکنیک PCR Time Real و دستگاه شرکتApplied Biosystem استفاده شـد. mix master Green SYB استفاده شده در این مرحله متعلق بـه شرکت Exiqon بود. طبق دستورالعمل کیت برای یک نمونه ۱۰ لاندای ترکیبی از mix master پرایمر و cDNA در نظر گرفته شد و میزان بیان miRNA-210 نسبت به گروه کنترل و مرحله قبل از تمرین اسـتفاده از روش $^{-2}\Delta\Delta CT$ ارزیابی شد. سطح سرمی HIF-1α به روش ایمونواسی آنزیمی و با استفاده از کیت الایزا (ساخت شرکت Cusabio چین) مخصوص نمونه‌های انسانی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. حساسیت این کیت ۱۵/۶ پیکوگرم در میلی‌لیتر و ضریب تغییرات درون سنجشی این کیت ۶/۸ درصد می باشد. پس از کسب اطمینان از توزیع طبیعی تمام داده های تحقیق با آزمون k-s و مقایسه بین گروهی داده‌ها (تحلیل واریانس یک راهه) و همچنین بررسی همسانی واریانس بین‌گروهی داده‌ها (آزمون اون) در پیش آزمون، بررسی اثرگذاری متغیر مستقل از طریق مقایسه درون‌گروهی داده‌ها در طول زمان به وسیله آزمون t همبسته بررسی شد. همچنین ترتیبی داده شد تا در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار درون‌گروهی در هر دو گروه، مقدار تغییرات متغیرها در طول مداخله، با استفاده از تحلیل واریانس یک راهه به طور بین‌گروهی مقایسه شوند. همچنین، از آزمون تعقیبی بونفرونی برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر استفاده شد. تمام تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ در سطح معنی‌داری آماری برابر با $P\leq ۰/۰۵$ انجام شدند.

## یافته‌ها

در ابتدا، مشخصات جمعیت‌شناختی و پیکرشناختی آزمودنی‌ها پیش از شروع طرح تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است. هر سه نوع تمرین HIIT، استقامتی و مقاومتی باعث افزایش معنی‌دار(جدول ۲) بیان نسبی miRNA-210 و غلظت HIF-1α شدند ($P<۰/۰۵$). همچنین، مقایسه مقدار تغییرات متغیرها در طول مداخله نشان داد که افزایش بیان نسبی miRNA-210 و غلظت HIF-1α سرم پس از تمرینات HIIT به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه تمرین استقامتی و مقاومتی بوده است ($P<۰/۰۵$) و تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرین استقامتی و مقاومتی مشاهده نشد (جدول ۳).

**جدول ۱:** مشخصات جمعیت‌شناختی و پیکرشناختی آزمودنی‌ها

| متغیر | میانگین | انحراف استاندارد |
|---|---|---|
| سن (سال) | ۱۹/۶ | ۲/۶۲ |
| وزن (کیلوگرم) | ۶۹/۷ | ۹/۱۳ |
| قد (سانتی‌متر) | ۱۷۳ | ۴/۹۲ |
| درصد چربی (٪) | ۱۵/۹ | ۳/۳۱ |

**جدول ۲:** مقایسه درون گروهی شاخص‌های اندازه‌گیری شده در طول مداخله (نتایج آزمون T همبسته)

| متغیر | گروه | پیش آزمون | پس آزمون | اختلاف متوسط | sig |
|---|---|---|---|---|---|
| HIF-1α (پیکوگرم/میلی‌لیتر) | تمرین تناوبی شدید | ۲/۹۲±۰/۴۱ | ۵/۷۲±۰/۶۶ | −۲/۸±۰/۷۰ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | استقامتی | ۲/۸۸±۰/۷۱ | ۴/۴۱±۰/۶۹ | −۱/۵۳±۰/۷۴ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | مقاومتی | ۲/۹۳±۰/۶۷ | ۴/۳۷±۰/۷۱ | −۱/۴۴±۰/۹۵ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | کنترل | ۲/۸۰±۰/۴۸ | ۲/۶۶±۰/۱۹ | ۰/۱۳±۰/۴۲ | ۰/۳۳ |
| miRNA-210 (بیان نسبی) | تمرین تناوبی شدید | ۰/۲۸±۰/۴ | ۳/۳۲±۰/۳۲ | −۳/۰۴±۰/۲۹ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | استقامتی | ۰/۱۴±۰/۰۳ | ۱/۳۹±۰/۳۱ | −۱/۲۴±۰/۱۳ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | مقاومتی | ۰/۸±۰/۱۵ | ۱/۴۷±۰/۴ | −۱/۳۹±۰/۴۳ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | کنترل | ۰/۳۶±۰/۳۶ | ۰/۳۸±۰/۳۷ | −۰/۲۰±۰/۰۶ | ۰/۳۴ |

❋: تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵). داده‌ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند

جدول ۳: نتایج تحلیل واریانس تک راهه و مقایسه بین‌گروهی مقدار تغییرات شاخص‌های اندازه‌گیری شده

| متغیر | نتایج آزمون همسانی واریانس(لون) | | نتایج تحلیل واریانس | | | | نتایج آزمون تعقیبی توکی یا جیمز هاول | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | آماره لون | sig | F | sig | اندازه اثر | توان آزمون | مقایسه‌های بین گروهی | اختلاف متوسط | sig |
| HIF-1α (پیکوگرم/میلی‌لیتر) | ۲/۸۱ | ۰/۰۵۳ | ۲۷/۳۳ | ۰/۰۰۱ ❋ | ۰/۶۹ | ۰/۹۹۹ | HIIT با استقامتی | ۱/۲۷±۰/۳۲ | ۰/۰۰۲ ❋ |
| | | | | | | | HIIT با مقاومتی | ۱/۳۵±۰/۳۲ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | HIIT با کنترل | ۲/۹۴±۰/۳۲ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | استقامتی با مقاومتی | ۰/۰۸±۰/۳۲ | ۰/۹۹ |
| | | | | | | | استقامتی با کنترل | ۱/۶۷±۰/۳۲ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | مقاومتی با کنترل | ۱/۵۸±۰/۳۲ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| miRNA-210 (بیان نسبی) | ۱۲/۲۲ | ۰/۰۰۱ ❋ | ۲۰۷/۹۶ | ۰/۰۰۱ ❋ | ۰/۹۴ | ۰/۹۹۹ | HIIT با استقامتی | ۱/۷۹±۰/۱۰ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | HIIT با مقاومتی | ۱/۶۴±۰/۱۶ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | HIIT با کنترل | ۳/۰۱±۰/۰۹ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | استقامتی با مقاومتی | −۰/۱۴±۰/۱۴ | ۰/۷۳ |
| | | | | | | | استقامتی با کنترل | ۱/۲۲±۰/۰۴ | ۰/۰۰۱ ❋ |
| | | | | | | | مقاومتی با کنترل | ۱/۳۷±۰/۱۳ | ۰/۰۰۱ ❋ |

❋: تفاوت معنی‌دار(P<۰/۰۵). داده ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

## بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیان miRNA-210 و غلظت HIF-1α سرمی بعد از هر سه تمرین HIIT، استقامتی و مقاومتی افزایش یافته است که مقدار این افزایش‌ها در تمرین HIIT بیشتر از دو گروه استقامتی و مقاومتی بود. ولی بین مقدار اثرگذاری دو گروه تمرین استقامتی و مقاومتی تفاوتی وجود نداشت. در راستای نتایج مطالعه حاضر، برخی مطالعات افزایش بیان سطوح پایه miRNA-210 و سایر انواع miRNA درگیر در آنژیوژنز و یا سازگاری با هیپوکسی (۱۰, ۱۷) و همچنین افزایش غلظت و یا بیان HIF-1α را پس از انواع مختلف تمرینات ورزشی گزارش کرده‌اند (۱۸, ۱۹). علاوه بر این، این نکته باید خاطر نشان شود که فعال‌سازی miRNA-210 (به عنوان یک miRNA مرتبط با فرآیندهای هیپوکسیک) پس از قرار گرفتن در معرض یک محیط هیپوکسی روی می‌دهد و متعاقب آن افزایش بیان miRNA-210 در سلول‌های اندوتلیالی موجب افزایش توانایی این سلول‌های برای تشکیل عروق خونی می‌شود (۱۷). از سوئی با وجود اینکه برخی محققان مانند Li و همکاران، افزایش بیان نسبی miRNA-210 را پس از یک جلسه تمرین و یا رقابت در بازیکنان بسکتبال مشاهده کرده‌اند، ولی سه ماه تمرین بسکتبال باعث تغییر بیان miRNA-210 نشده بود (۱۲). بنابراین آن محققان نتیجه گیری کردند که افزایش بیان miRNA-210 ممکن است تنها یک پاسخ موقت و گذرا بوده و پس از حدود یک ساعت به مقدار پیش از فعالیت ورزشی برگردد (۱۲). با این حال، برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که miRNAها ممکن است نه تنها توسط فعالیت ورزشی حاد بلکه توسط تمرینات ورزشی طولانی مدت نیز تحت تاثیر قرار نگیرند و تفاوتی نیز بین تمرینات مختلف وجود نداشته باشد (۱۳، ۲۲). همچنین در کل، تاثیر دقیق انواع مختلف فعالیت ورزشی و تاثیر حجم و شدت فعالیت ورزشی بر پاسخ و سازگاری miRNA ها به طور دقیق مشخص نشده است. با این حال، در یک مطالعه گزارش شده است که تمرینات سرعتی شدید موجب بیشترین افزایش در غلظت miRNA-210 سرمی می‌شود (۲۰). همچنین، در برخی مطالعات نشان داده شده است که دوره زمانی تغییرات miRNAها با تغییرات سایر عوامل هورمونی مرتبط با رشد به ویژه در طی فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی، شباهت زیادی دارد (۲۱). سازوکارهای مختلفی برای افزایش miRNA های ناشی از فعالیت ورزشی گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به بروز آسیب عضلانی و شروع فرآیندهای رونویسی اشاره نمود (۲۲). Cui و همکاران گزارش کردند که در طی فعالیت ورزشی غلظت miRNAها ممکن است بر اساس تعادل

بین برداشت/رهایش سلولی یا بر اثر تعادل کاتابولیسم و آنابولیسم بین بافت‌های مختلف بدن تعیین شود (۲۳). به علاوه، بروز هیپوکسی کوتاه مدت و موضعی یکی دیگر از فرضیاتی است که به عنوان دلایل افزایش غلظت miRNAها در طی فعالیت ورزشی گزارش شده است که در هر وهله فعالیت در سطح بافت عضلانی روی می‌دهد و موجب رهایش انواع مختلف miRNA از بافت عضلانی به درون گردش خون می‌شود (۲۴). همچنین، در برخی مطالعات بیان شده است که miRNA-210 با تاثیر بر چندین عامل رونویسی می‌تواند باعث بروز پاسخ سلولی مانند مهار آپوپتوز، تغییر مسیر تولید انرژی از هوازی به سمت گلیکولیز (نظیر آنچه در تمرینات HIIT مشاهده می‌شود) و القا آنژیوژنز شود (۲۵). همچنین، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که انواع مختلف تمرینات ورزشی باعث افزایش غلظت و بیان HIF-1α می‌شوند (۱۸, ۱۹). علاوه بر این، در برخی مطالعات نیز گزارش شده است که افزایش غلظت و بیان HIF-1α پس از تمرینات مقاومتی و استقامتی ممکن است در مقایسه با تمرینات HIIT کمتر باشد (۲۶). این نکته باید خاطر نشان شود که یک کیناز حسگر وضعیت انرژی سلول یعنی پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK) احتمالاً نقش مهمی در بروز آثار مرتبط با miRNAها و فعال‌سازی HIF-1α و عملکردهای پایین دستی آن دارد و یکی از میانجی‌های اصلی بین این دو شاخص است (۲۶). آنزیم AMPK همچنین از طریق فعال‌سازی HIF-1α باعث افزایش غلظت و تثبیت mRNA مربوط به VEGF(که در هیپوکسی ناشی از تمرینات ورزشی القا می‌شود) ضروری است، اما مهار AMPK موجب تقویت پاسخ mRNA مربوط به VEGF نسبت به فعالیت ورزشی حاد می‌شود. علاوه بر این، فعال‌سازی AMPK پس از تمرینات HIIT بیشتر از تمرینات مقاومتی و استقامتی است که این مسئله نیز توضیح دهنده بیشتر بودن افزایش miRNA-210 و HIF-1α پس از این نوع تمرینات است (۲۷). از سوی دیگر، این مطلب یکی از دلایلی است که چرا تمرینات HIIT، با سرعت بیشتری موجب افزایش چگالی مویرگی و ظرفیت اکسایشی عضله اسکلتی در پاسخ به ترشح عوامل رشدی موضعی و در گردش می‌شوند (۲۸). همچنین، فشارهای مکانیکی همانند بار کل تحمیل شده به عضله و جریان خون عضله اسکلتی و در نتیجه استرس فرسایشی ( shear stress) ناشی از آن در طی فعالیت ورزشی باعث افزایش miRNA-210 و نیز HIF-1α می‌گردد (۲). علاوه بر مباحث فوق، در راستای نتایج مطالعه حاضر برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که بیان و سطوح در گردش miRNA-210 افراد کم تحرک و غیرفعال به طور قابل توجهی کمتر از مقادیر آن در افراد تمرین کرده و دارای آمادگی بالاتر است. بنابراین، به نظر می‌رسد miRNA-210 می‌تواند نشانگر زیستی مناسبی برای ارزیابی میزان بروز سازگاری تمرینی و افزایش آمادگی بدنی در سطح سلولی باشد (۲۹). ولی هنوز منبع سلولی دقیق اندازه‌گیری و رهایش miRNA-210 به روشنی مشخص نشده است و نیازمند انجام مطالعات بیشتری در سطح مدل‌های انسانی و حیوانی است. با این حال، miRNA-210 از بافت‌های مختلفی به ویژه سلول‌های اندوتلیال بافت‌های عروقی به میزان بالایی به درون گردش خون آزاد می‌شود (۹). به علاوه، افزایش بیش از حد بیان و غلظت miRNA-210 باعث مهار بیان چندین پروتئین کلیدی درگیر در مسیرهای مرتبط با رشد و نمو سلولی (مانند MAPK، β–TGF، mTOR، ErbB و Wnt) می‌شود. به علاوه، اطلاعات محدودی درباره نقش‌های فیزیولوژیک miRNAهای در گردش خون وجود دارد و در نتیجه تا زمان به دست آمدن اطلاعات بیشتر در این زمینه (۳۰)، از این رو نتایج مطالعه حاضر باید با احتیاط تفسیر شوند. به هرحال، این تحقیق دارای محدودیتهای روش شناسی مانند تعداد کم آزمودنی‌ها، عدم کنترل تغذیه، عدم مطالعه جمعیت های دارای نیاز ویژه به پیامدهای حاصل از miRNA-210 و HIF-1α مانند بیماران سرطانی، افراد سالمند فشار خونی، بیماران قلبی عروقی و یا دارای تجربه جراحی‌های بزرگ، انتخاب آزمودنی‌ها از بین رشته‌های مختلف ورزشی(فوتبال، تکواندو، کوهنوردی، جودو)، عدم اندازه‌گیری پروتئین‌های فرادست حاصل از بیان miRNA-210 در سطح بافتی و به ویژه عضلات و بسیاری دیگر از پروتئینهای کمک‌کننده به شناسایی جزئیات بیشتر پیامدهای حاصل از تغییر این پروتئینها در اثر تمرین ورزشی و ....، بود که تفسیر دقیق نتایج آن را نیازمند تایید در بررسی‌های آینده می‌کند. مطالعات آینده باید ضمن برطرف کردن محدودیتهای مذکور، همچنین باید نقش سایر miRNA ها، به صورت جداگانه و یا در ترکیب با یکدیگر، استفاده از فناوری‌های جایگزین برای دستکاری گونه‌های مختلف miRNA در داخل بدن در کنار سایر دستکاری های معمول مانند داروها، هورمون‌ها و محرکهای محیطی مانند مواجهه با هیپوکسی و همچنین استفاده از مدل‌های in vivo و in vitro برای شناسایی miRNA های مختلف درگیر در سازگاری با تمرینات ورزشی و بهبود عملکرد ورزشی را مورد ارزیابی قرار دهند. همچنین، برخی از مطالعات اولیه همبستگی خطی مثبتی را بین تغییرات ناشی از ورزش در سطوح miRNA ها و تغییرات ناشی از تمرین در VO2max و سایر عوامل جسمانی مرتبط با آمادگی جسمانی را نشان داده‌اند که این مسئله نشان می‌دهد بین سطوح خونی انواع miRNA با تمرین‌پذیری قلبی–عروقی ارتباط وجود دارد و می‌توانند به عنوان نشانگرهای بالقوه ارزیابی سازگاری با تمرین استفاده شوند (۱۰).

## نتیجه‌گیری

در نهایت، باید خاطر نشان شود که هر سه نوع تمرین ورزشی قادر به افزایش بیان miRNA-210 در سرم و همچنین غلظت

سرمی HIF-1α هستند و اینکه اثر گذاری تمرین HIIT در این زمینه بیشتر از دو نوع تمرین استقامتی و مقاومتی می‌باشد. با این حال، به دلیل محدودیتهای موجود و کمبود شواهد مشابه برای تعیین میزان دقیق رابطه و تاثیر انواع مختلف تمرینات ورزشی بر این شاخص‌ها به انجام تحقیقات بیشتری نیاز است.

## قدردانی

مطالعه حاضر حاصل طرح پژوهشی در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان (۲۳۵۹۲/د/۲۱۸) می‌باشد. از تمام افرادی که در این تحقیق همکاری کرده‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه شامل ملاحظات اخلاقی نمی‌باشد.

## منافع متقابل

مؤلفین اظهار می‌دارند که منافع متقابلی از انتشار این مقاله ندارند.

## مشارکت مؤلفان

۱. ک آ ع به عنوان مجری طرح در انتخاب موضوع، پروتکل، تحلیل نتایج و تدوین مقاله و ۲. م آ به عنوان همکار طرح در انتخاب موضوع، طراحی پروتکل، اجرا، تحلیل نتایج و تدوین مقاله نقش داشتند.

# References


1. Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; **116**(2): 281-297.
2. Prior B M, Yang H, Terjung R L. What makes vessels grow with exercise training? *J App Physiol* 2004; **97**(3): 1119-1128. doi: 10.1152/japplphysiol.00035.2004.
3. Maillard F, Pereira B, Boisseau N. Author's Reply to Andreato: Comment on:"Effect of High-Intensity Interval Training on Total, Abdominal and Visceral Fat Mass: A Meta-Analysis". *Sports Med* 2018: **12**: 1-4.
4. Laursen P B, Jenkins D G. The scientific basis for high-intensity interval training. *Sports Med* 2002; **32**(1): 53-73. doi: 10.1007/s40279-017-0807-y.
5. Gibala M J, McGee S L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exer sport sci rev* 2008; **36**(2): 58-63. doi: 10.1097/JES.0b013e318168ec1f.
6. Burgomaster K A, Hughes S C, Heigenhauser G J, Bradwell S N, Gibala M J. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J app physiol* 2005; **98**(6): 1985-1990. doi: 10.1152/japplphysiol.01095.2004.
7. Gibala M J, Little J P, Van Essen M, Wilkin G P, Burgomaster K A, Safdar A, et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J physiol* 2006; **575**(3): 901-911.
8. Hough P. High-intensity interval training. *Advanced Personal Training: Science to Practice* 2016; **12**: 149.
9. Baggish A L, Hale A, Weiner R B, Lewis G D, Systrom D, Wang F, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J physiol* 2011; **589**(16): 3983-3994. doi: 10.1113/jphysiol.2011.213363.
10. Bye A, Røsjø H, Aspenes S T, Condorelli G, Omland T, Wisløff U. Circulating microRNAs and aerobic fitness–the HUNT-Study. *PloS one* 2013; **8**(2): e57496. doi: 10.1371/journal.pone.0057496.
11. Tonevitsky A G, Maltseva D V, Abbasi A, Samatov T R, Sakharov D A, Shkurnikov MU, et al. Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. *BMC physiol* 2013; **13**(1): 9. doi: 10.1186/1472-6793-13-9.
12. Li Y, Yao M, Zhou Q, Cheng Y, Che L, Xu J, et al. Dynamic Regulation of Circulating microRNAs During Acute Exercise and Long-Term Exercise Training in Basketball Athletes. *Front physiol* 2018; **9**: 282. doi: 10.3389/fphys.2018.00282.
13. Aoi W, Ichikawa H, Mune K, Tanimura Y, Mizushima K, Naito Y, et al. Muscle-enriched microRNA miR-486 decreases in circulation in response to exercise in young men. *Front Physiol* 2013; **4**: 80. doi: 10.3389/fphys.2013.00080.
14. Leuenberger N, Robinson N, Saugy M. Circulating miRNAs: a new generation of anti-doping biomarkers. *Anal Bioanal. Chem* 2013; **405**(30): 9617-9623. doi: 10.1007/s00216-013-7340-0.
15. Banzet S, Chennaoui M, Girard O, Racinais S, Drogou C, Chalabi H, et al. Changes in circulating microRNAs levels with exercise modality. *J App Physiol* 2013; **115**(9): 1237-1244. doi: 10.1152/japplphysiol.00075.2013.
16. Siahkouhian M, Khodadadi D, Shahmoradi K. Effects of high-intensity interval training on aerobic and anaerobic indices: Comparison of physically active and inactive men. *Sci & Sports* 2013; **28**(5): e119-e125. doi: 10.1016/j.scispo.2012.11.006.
17. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Dariushnejad H, Abhari A, Chodari L, Mohaddes G. Cardioprotective Effect of Crocin Combined with Voluntary Exercise in Rat: Role of Mir-126 and Mir-210 in Heart

Angiogenesis. *Arq Bras Cardiol* 2017; **109**(1): 54-62. doi: 10.5935/abc.20170087.
18. Vogt M, Hoppeler H. Is hypoxia training good for muscles and exercise performance? *Progress in cardiovascular diseases* 2010; **52**(6): 525-533. doi: 10.1016/j.pcad.2010.02.013.
19. Mason S D, Howlett R A, Kim M J, Olfert I M, Hogan M C, McNulty W, et al. Loss of skeletal muscle HIF-1α results in altered exercise endurance. *PLoS biol* 2004; **2**(10): e288.
20. Wahl P, Wehmeier U F, Jansen F J, Kilian Y, Bloch W, Werner N, et al. Acute Effects of Different Exercise Protocols on the Circulating Vascular microRNAs-16,-21, and-126 in Trained Subjects. *Front Physiol* 2016; **7**. doi: 10.3389/fphys.2016. 00643.
21. Wahl P, Mathes S, Köhler K, Achtzehn S, Bloch W, Mester J. Acute metabolic, hormonal, and psychological responses to different endurance training protocols. *Horm Metab Res* 2013; **45**(11): 827-833. doi: 10.1055/s-0033-1347242.
22. Uhlemann M, Möbius-Winkler S, Fikenzer S, Adam J, Redlich M, Möhlenkamp S, et al. Circulating microRNA-126 increases after different forms of endurance exercise in healthy adults. *European Journal of Preventive Cardiology* 2014; **21**(4): 484-491. doi: 10.1177/2047487312467902.
23. Cui S F, Wang C, Yin X, Tian D, Lu QJ, Zhang C Y, et al. Similar responses of circulating microRNAs to acute high-intensity interval exercise and vigorous-intensity continuous exercise. *Front Physiol* 2016; **7**: 102.
24. Chan Y C, Banerjee J, Choi S Y, Sen C K. MiR-210: the master hypoxamir. *Microcirculation* 2012; **19**(3): 215-223. doi: 10.1111/j.1549-8719.2011.00154.x.
25. Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, Melchionna R, Romani S, Pompilio G, et al. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem* 2008; **283**(23): 15878-15883. doi: 10.1074/jbc.M800731200.
26. Kon M, Ohiwa N, Honda A, Matsubayashi T, Ikeda T, Akimoto T, et al. Effects of systemic hypoxia on human muscular adaptations to resistance exercise training. *Physiological Reports* 2014; **2**(6). doi: 10.14814/phy2.12033.
27. Gliemann L, Gunnarsson T P, Hellsten Y, Bangsbo J. 10-20-30 training increases performance and lowers blood pressure and VEGF in runners. *Scand J Med & Sci Sports* 2015; **25**(5): e479-e489. doi: 10.1111/sms.12356.
28. Jensen L, Bangsbo J, Hellsten Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J physiol* 2004; **557**(2): 571-582. doi: 10.1113/ jphysiol.2003.057711.
29. Weber M, Baker M B, Moore J P, Searles C D. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. *Biochem Biophysl Res Commun* 2010; **393**(4): 643-648. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.045.
30. Baggish A L, Park J, Min P-K, Isaacs S, Parker B A, Thompson P D, et al. Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise. *J App Physiol* 2014; **116**(5): 522-531. doi: 10.1152/japplphysiol.01141. 2013.