



Ministry of Science, Research and Technology
Sport Sciences Research Institute

Sport Physiology

Journal homepage: <https://spj.ssric.ac.ir>



Original Article

The Effect of Eight Weeks Combined Training on Blood miR-146a, miR-21, and TLR-2 Expression in Women with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis

Akbar Azamian Jazi *¹, Mohammad Shahverdi Shahraki²,
Mohammad Rabiei³

1. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
2. M.Sc. Student in Exercise Physiology, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
3. Assistant Professor, Department of Sport Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 1-Jul-2024 | Accepted: 9-Jun-2025 | Online Published: 9-Jun-2025

*Corresponding Author: Akbar Azamian Jazi, E-mail: azamian-a@sku.ac.ir

How to Cite: Azamian Jazi, A; Shahverdi Shahraki, M; Rabiei M. (2025). The Effect of Eight Weeks Combined Training on Blood miR-146a, miR-21, and TLR-2 Expression in Women with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Sport Physiology*, 17(67):17-46. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2025.16955.2320

Extended Abstract

Background and Purpose

Inflammation is present in all stages of multiple sclerosis (MS) due to the activation of the innate and acquired immune systems. Considering the anti-inflammatory role of miR-146a, miR-21, and TLR-2, these variables seem to play an important role in MS. MiR-146a may be effective in remyelination. Overexpression of miR-21 is a characteristic feature of patients with MS. The expression of TLR-2 in oligodendrocytes is increased in MS, which results in the suppression of the remyelination. In summary, miR-146a, miR-21, and TLR-2 are involved in anti-inflammatory processes, remyelination, and regulation of autoimmune responses that may be affected by exercise training. Therefore, this study aimed to investigate the effect of eight weeks of combined training on the expression of miR-146a, miR-21, and TLR-2 in women with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS), which is the most common phenotype of MS.

Materials and Methods

Twenty-three women (20-40 years) with RRMS were randomly divided into an exercise group (N=12) and a control group (N=12). One person from the control group withdrew for personal reasons, and thus 23 patients remained for the final analysis. The sample size was calculated based on the results of a related study and using G*Power software (version 3.1.9.2). The main inclusion criteria were: 1) confirmation of RRMS, 2) EDSS 1 to 4, 3) no corticosteroid treatment in the last



Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

three months, 4) ability to participate in exercise, 5) no participation in exercise training in the last six months, and 6) age range of 20 to 40 years. The main exclusion criteria were: 1) exacerbation of MS and 2) the necessity of corticosteroid treatment during the study period. All participants gave their informed consent before entering the study. They were informed about the benefits and risks of the research before signing the consent form. This study was conducted according to the Helsinki Declaration. Exercise group subjects participated in a supervised combined training for eight weeks, including three sessions of aerobic exercise and one session of resistance exercise, but the control group did no exercise during the study period. The aerobic part of the training protocol included walking or slow running, which was performed with an intensity of 40% (1st week) to 70% (8th week) of the maximum heart rate (HR_{max}). The resistance part of the training protocol included knee flexion and extension, which was done with an intensity of 50% (1st week) to 70% (8th week) of a one-repetition maximum using the exercise machine. The blood expression of miR-146a, miR-21, and TLR-2 were measured before and after eight weeks of combined training using the RT-PCR technique. The data were analyzed with a two-way analysis of variance with repeated measures [group (control group and exercise group) × time (before and after eight weeks)] and Bonferroni's post hoc test at a significance level of less than 0.05.

Results

The subject's general characteristics, miR-146a, miR-21, TLR-2, and EDSS in the exercise group and control were compared in the baseline (pre-test stage) using the independent t-test, and there was no significant difference between the exercise and control groups ($p > 0.05$). Body weight in the exercise group (from 62.21 ± 9.15 to 61.28 ± 9.07 kg) decreased significantly ($P = 0.005$), and in the control group (from 66.07 ± 8.69 to 67.09 ± 9.25 kg) increased significantly ($P = 0.001$) and the difference between groups was significant ($P = 0.001$). After eight weeks of combined training, there was no significant difference in BMI between the exercise and control groups ($P = 0.215$). EDSS in the exercise group decreased ($p = 0.023$) significantly (from 2.25 ± 1.22 to 1.83 ± 1.09), but there was no significant change in the control group ($p = 0.414$), also a significant difference was observed between the exercise and control groups ($p = 0.015$). After eight weeks of combined training, the relative expression level of miR-146a in the control group ($p = 0.001$) and exercise group ($p = 0.001$) had a significant decrease compared to the baseline value (from 10.01 ± 0.86 to 2.60 ± 0.54 in the control group and from 9.22 ± 1.45 to 6.97 ± 0.85 in the exercise group), but the reduce in the exercise group (24.40%) was significantly ($p = 0.001$) less than the control group (74.26%). The relative expression level of miR-21 in the control group ($p = 0.001$) and exercise group ($p = 0.001$) had a significant increase compared to the baseline value after eight weeks of combined training (from 4.46 ± 0.76 to 10.22 ± 1.07 in the control group and from 4.93 ± 0.58 to 6.21 ± 0.98 in the exercise group), but the increasing in the exercise group (25.96%) significantly ($p = 0.001$) was lower than the control group (129.15%). After eight weeks of combined training, the relative expression level of TLR-2 in the control group ($p = 0.001$) and exercise group ($p = 0.001$) increased significantly compared to the baseline value (from 3.75 ± 0.56 to 9.82 ± 1.36 in the control group and from 3.32 ± 0.73 to 5.09 ± 1.61 in the exercise group) and the increase in the exercise group (53.31%), significantly ($p = 0.001$) was lower than the control group (161.87%).

Conclusion

In summary, it seems that the lower decrease in the relative expression of miR-146a and less increase in the relative expression of miR-21 and TLR-2 after eight weeks of combined training may play an effective role in the improvement of RRMS by promoting anti-inflammatory

processes, remyelination, and regulation of autoimmune responses. Also, combined training can improve subjects' physical abilities, improve the MS disease, and reduce the possibility of its recurrence, and can be used as a complementary treatment strategy to reduce inflammation in RRMS patients with mild to moderate disability.

Key Words: Multiple Sclerosis, Combined Training, miR-146a, miR-21, TLR-2

Article Message

Combined training can have an effective and positive role in controlling inflammation, remyelination, and regulating autoimmune responses in relapsing-remitting multiple sclerosis due to the favorable effect on the expression of miR-146a, miR-21, and TLR-2.

Ethical Considerations

The present research, with code [IR.SSRC.REC.1398.071](https://www.ssri.ac.ir/SSRC/REC/1398/071), has been approved by the Ethics Committee of Sport Sciences Research Institute of Iran.

Authors' Contributions

Conceptualization: A.AJ

Data Collection: M.SS and A.AJ

Data Analysis: A.AJ and M.R

Manuscript Writing: A.AJ

Review and Editing: A.AJ

Literature Review: A.AJ, M.SS and M.R

Project Manager: A.AJ

Conflict of Interest

In the current research, there is no conflict of interest with any particular person or organization.

Acknowledgments

The authors would like to thank all the participants in this study.



تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی بر بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 خون در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عودکننده - فروکش کننده

اکبر اعظمیان جزی^{۱*}، محمد شاه وردی شهرکی^۲، محمد ربیعی^۳

۱. دانشیار، گروه علوم ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استادیار، گروه علوم ورزشی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱ | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹ | تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۴/۰۳/۱۹

*نویسنده مسئول: اکبر اعظمیان جزی، ایمیل: azamian-a@sku.ac.ir

نحوه ارجاع دهی: اعظمیان جزی، اکبر؛ شاه وردی شهرکی، محمد و ربیعی، محمد. (۱۴۰۴). تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی بر بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 خون در زنان مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عودکننده - فروکش کننده. فیزیولوژی ورزشی، ۱۷(۶۷): ۴۶-۱۷.

چکیده

هدف: miR-21، miR-146a و TLR-2 در فرایندهای ضد التهابی، میلین سازی مجدد و تنظیم پاسخ های خودایمنی نقش دارند که ممکن است تحت تأثیر تمرینات ورزشی قرار گیرند. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی تأثیر هشت هفته تمرین ترکیبی بر بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 در زنان مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس عودکننده - فروکش کننده (RRMS) انجام شد. مواد و روش ها: بیست و سه زن (سن: ۳۳/۱±۵/۳ سال، وزن: ۶۴/۱±۸/۹ کیلوگرم و BMI: ۲۳/۹±۳/۴ کیلوگرم بر متر مربع) مبتلا به RRMS به طور تصادفی در دو گروه تمرین و کنترل قرار گرفتند. آزمودنی های گروه تمرین به مدت هشت هفته در تمرین ترکیبی تحت نظارت، شامل سه جلسه تمرین هوازی و یک جلسه تمرین مقاومتی شرکت کردند. بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 در خون قبل و بعد از هشت هفته تمرین ترکیبی با استفاده از تکنیک RT-PCR اندازه گیری شد. داده ها با آزمون آنوا دو طرفه با اندازه گیری های مکرر و در سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ آنالیز شد. یافته ها: تحلیل داده ها نشان داد که بیان نسبی miR-146a در زنان مبتلا به RRMS پس از هشت هفته تمرین ترکیبی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر کاهش یافت (P=۰/۰۰۱) و بر عکس، بیان نسبی miR-21 و TLR-2 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر افزایش یافت (P=۰/۰۰۱). نتیجه گیری: تمرین ترکیبی ممکن است با تأثیر مطلوب بر miR-21، miR-146a و TLR-2 نقش موثری در پیش برد فرایندهای ضد التهابی، میلین سازی مجدد و تنظیم پاسخ های خودایمنی در بیماری RRMS داشته باشد و در نتیجه، این بیماری را بهبود بخشد و احتمال عود آن را کاهش دهد. بنابراین، استفاده از تمرین ترکیبی این تحقیق برای زنان مبتلا به RRMS توصیه می شود.

واژگان کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، تمرین ترکیبی، miR-21، miR-146a، TLR-2



مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS)^۱ یکی از نگرانی‌های بهداشت جهانی است که حدود ۲/۶ میلیون نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و عامل افت عملکرد و ناتوانی پایدار بزرگسالان جوان به شمار می‌آید (۱، ۲). MS یک اختلال عصبی و التهابی مزمن دمی‌لینه‌کننده است و از دست دادن آکسون در دوره‌های مکرر دمی‌لیناسیون التهابی یکی از عوامل کلیدی در پیشرفت این بیماری می‌باشد. التهاب عصبی در تمام مراحل بیماری به دلیل فعال شدن سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی وجود دارد (۱، ۳). با توجه به نقش ضد التهابی miR-146a، miR-21 و TLR-2 (۷-۴)، به نظر می‌رسد این متغیرها نقش مهمی در بیماری MS داشته باشند.

miRNAs نقش زیادی در فرآیندهای فیزیولوژیکی، پاتوفیزیولوژیکی و نیز در تنظیم میلیناسیون سیستم عصبی مرکزی دارند (۸). آنها مولکول‌های RNA تک رشته‌ای کوتاهی هستند (۱۸ تا ۲۳ نوکلئوتید) که می‌توانند بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم کنند. اخیراً گزارش شده است که miRNA های تنظیم نشده‌ای در بیوسایالات مختلف بیماران MS وجود دارد (۹). اختلال در بیان miRNAs می‌تواند نقش مهمی در ایجاد، پیشرفت و ضایعه فعال MS داشته باشند (۱۰-۱۳) می‌توانند در شروع، پیشرفت و ضایعه فعال MS نقش داشته باشند (۱۴) و اختلال در بیان آنها می‌تواند نقش مهمی در ایجاد بیماری MS داشته باشد (۱۰-۱۳). miR-146a و miR-21 از واسطه‌های کلیدی در مسیرهای التهابی هستند که بیماری‌های خودایمنی متعددی را تنظیم می‌کنند (۱۵) و ممکن است احتمال ایجاد یا تشدید بیماری MS را بالا ببرند (۱۲، ۱۵). علاوه بر این، این دو miR به طور بالقوه می‌توانند در تنظیم گیرنده‌های شبه‌تول (TLRs)^۲ و سیگنالینگ گیرنده‌های سایتوکین‌ها دخالت داشته باشند (۱۶).

MiR-146a در ایجاد و توسعه بیماری‌های عصبی تأثیر می‌گذارد (۱۷) و بدون شک عملکرد آن در انواع مختلف بیماری‌های عصبی مختل می‌شود (۱۸-۲۰). این miR یکی از فراوان‌ترین miRNA های بیان شده در سیستم عصبی مرکزی (CNS) است که نقشی حیاتی در پاتوفیزیولوژی MS دارد (۲۱، ۲۲) و بیان آن در مایع مغزی نخاعی در بیماران MS در مقایسه با گروه کنترل به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۳). علاوه بر این، در تنظیم التهاب و سیستم ایمنی ذاتی نیز نقش دارد (۲۴-۲۶) و کاهش بیان آن با افزایش التهاب همراه است (۱۱، ۱۳، ۲۷). همچنین، احتمال دارد نقش مؤثری در فرآیند میلین‌سازی مجدد داشته باشد (۲۸). در مطالعه‌ای روی ۴۶ بیمار مبتلا به MS مشخص شد که سطح پلاسمایی miR-146a همبستگی مثبتی با نمره مقیاس وضعیت ناتوانی گسترده (EDSS)^۳ دارد (۶). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر، سطوح پلاسمایی miR-146a-5p (دخیل در پاسخ التهابی) بین افراد سالم و بیماران مبتلا به MS نوع عود کننده-فروکش کننده (RRMS)^۴ تحت درمان با دی‌متیل فومارات^۵ مقایسه شد و به

1 Multiple sclerosis (MS)

2 Toll-like receptors (TLRS)

3 Expanded Disability Status Scale

4 Relapsing-remitting-MS

5 Dimethyl fumarate

این نتیجه رسیدند که این miR می تواند ابزاری کاندید برای پیش‌بینی دوره بالینی MS و ارزیابی اثربخشی درمان‌های اصلاح‌کننده بیماری در RRMS باشد (۲۹).

افزایش سطح miR-21 معمولاً نشان دهنده یک پاسخ التهابی است (۳۰) و به همین دلیل در پاتوژنز چندین اختلال خودایمنی و التهابی مزمن دخالت دارد (۱۵). بیان بیش از حد miR-21 یک ویژگی مشخصه بیماران مبتلا به MS است و این miR به دنبال تحریک سلول‌های T در تنظیم ژن و افزایش بیان عوامل پیش التهابی، از جمله، IFN γ و TNF- α نقش دارد (۳۱). بنابراین، miR-21 می‌تواند یک هدف درمان بالینی برای جزء التهابی MS باشد (۳۱). بر اساس شواهدی قوی، بیان miR-21 در بیماران MS در مقایسه با افراد سالم به صورت افزایشی تنظیم می‌شود (۶، ۳۲). این افزایش بیان در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs) بیماران مبتلا به MS (به ویژه در مرحله عود حاد) و در سلول‌های T نفوذ کننده به CNS مشاهده شده است (۳۲، ۳۳).

TLRs خانواده‌ای از گیرنده‌های سیستم ایمنی ذاتی هستند که غشاء سلولی را در بر می‌گیرند و یا به صورت درون سلولی بر روی آندوزوم‌ها در سلول‌های غیر ایمنی و ایمنی (به ویژه ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک) بیان می‌شوند (۳۴). همچنین، TLRs طیف گسترده‌ای از پاسخ‌ها را از فاگوسیتوز تا تولید انواع سیتوکین‌ها آغاز می‌کنند که به نوبه خود پاسخ‌های ایمنی التهابی و تطبیقی را شکل داده و تقویت می‌کنند (۲۴). TLR-2 یکی از شناخته شده‌ترین TLRs است که می‌تواند با TLR-1، TLR-4، TLR-6 و TLR-10 هترودایمر تشکیل دهد و در نتیجه، این قابلیت را بدست آورد تا طیف وسیعی از پاتوژن‌ها را شناسایی کند (۳۵). به طور معمول، بیان این TLRs در نوتروفیل‌های خون محیطی و نواحی دمیلینه شده CNS در بیماران MS نوع RRMS افزایش می‌یابد (۳۶) و ممکن است به آسیب بافتی و مرگ عصبی بیانجامد (۳۷). این TLR و سیگنالینگ آن نقشی اساسی در پاتوژنز MS ایفا می‌کند (۳۵، ۳۷، ۳۸) و بیان آن در الیگودندروسیت‌ها در بیماری MS به صورت افزایشی تنظیم می‌شود که حاصل آن، سرکوب شدن فرآیند میلیناسیون مجدد می‌باشد (۳۹). با توجه به نقش TLR-2 در پاتوژنز MS، مهار یا کاهش بیان آن به عنوان یک پتانسیل درمانی امیدوارکننده در MS پیشنهاد شده است (۴۰).

گزارش شده است که تمرین ترکیبی (هوازی و مقاومتی) تأثیر مثبتی بر قدرت عضلانی، استقامت، برخی عوامل التهابی و بافت چربی در بیماران MS دارد (۴۱-۴۵). از این‌رو، استفاده از این نوع مداخله در بررسی تأثیر تمرینات ورزشی بر این بیماران معقول به نظر می‌رسد.

بررسی اینکه فعالیت ورزشی چگونه می‌تواند تغییرات ژن در سطح میکرو RNA را تنظیم کند، ممکن است در کنترل شدت بیماری MS و یا درمان آن اهمیت ویژه‌ای داشته باشد (۴۶، ۴۷). اگرچه در مورد آثار فعالیت ورزشی بر بیان miRNAs و مسیرهای التهابی و به خصوص در ارتباط با بیماری‌ها اطلاعات کافی در دسترس نیست، اما نقش مثبت فعالیت ورزشی منظم بر برخی عوامل التهابی و بهبود وضعیت جسمانی بیماران مبتلا به MS دارای درجه ناتوانی خفیف تا متوسط در چندین مطالعه تأیید شده است (۱، ۴۱، ۴۲، ۴۸-۵۰).

1 Peripheral blood mononuclear cells (pbmcs)

در مجموع، با توجه به نقش تنظیمی miR-21، miR-146a و TLR-2 در پاسخ‌های ایمنی در MS و تأثیر احتمالی تمرینات ورزشی بر بیان آنها، بررسی تغییرات آنها پس از هشت هفته تمرین ترکیبی در بیماران مبتلا به RRMS که شایع‌ترین فنوتیپ MS است (۵۱)، می‌تواند ارزشمند باشد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر تمرین ترکیبی بر بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 در زنان مبتلا به RRMS تعیین شد.

روش پژوهش

۹۰ بیمار زن مبتلا به RRMS علاقه خود را برای شرکت در این مطالعه ابراز کردند. ۴۸ داوطلب معیارهای ورود را نداشتند و ۱۸ نفر به دلایل شخصی از مطالعه انصراف دادند. آزمودنی‌ها از نظر EDSS و سن بلوک‌بندی و سپس، به‌طور تصادفی در گروه تمرین ترکیبی (N=12) و گروه کنترل (N=12) تقسیم شدند. یک نفر از گروه کنترل به دلایل شخصی از ادامه همکاری منصرف شد و بنابراین، ۲۳ بیمار برای تجزیه و تحلیل نهایی باقی ماندند. حجم نمونه بر اساس نتایج مطالعه‌ای مرتبط (۴۲) و با استفاده از نرم افزار G*Power (نسخه ۳.۱.۹.۲) با احتساب خطای آلفای ۵٪، خطای بتای ۹۰٪ و اندازه اثر ۴۰٪، ۲۰ نفر محاسبه شد. با این حال، حجم نمونه ۲۴ نفر در نظر گرفته شد تا در صورت ریزش آزمودنی‌ها مشکلی پیش نیاید.

معیارهای اصلی ورود به مطالعه عبارت بودند از: (۱) تایید ابتلا به RRMS، (۲) EDSS یک تا چهار، (۳) عدم درمان با کورتیکواستروئید در سه ماه گذشته، (۴) توانایی شرکت در تمرین بر اساس نتایج پرسشنامه آمادگی برای انجام فعالیت بدنی (PAR-Q)، (۵) عدم شرکت در تمرینات ورزشی در شش ماه گذشته و (۶) محدوده سنی ۲۰ تا ۴۰ سال. معیارهای اصلی خروج از مطالعه عبارت بودند از: (۱) تشدید بیماری MS، (۲) لزوم درمان با کورتیکواستروئید در طول دوره مطالعه و (۳) غیبت بیش از دو جلسه متوالی یا سه جلسه غیر متوالی از تمرین.

پروتکل فعالیت ورزشی

گروه تمرین، صبح‌ها به مدت هشت هفته و هر هفته در چهار جلسه تمرین ترکیبی تحت نظارت (سه جلسه هوازی و یک جلسه مقاومتی) شرکت کردند (۴۵، ۵۰) (جدول ۱)، اما گروه کنترل هیچ تمرینی در طول این مطالعه انجام ندادند. بخش هوازی پروتکل تمرین شامل راه رفتن و یا آرام دویدن روی تردمیل و رکاب زدن روی دوچرخه ثابت بود که با شدت ۴۰ (هفته اول) تا ۷۰ (هفته هشتم) درصد حداکثر ضربان قلب (HRmax) انجام شد و بخش مقاومتی شامل خم شدن و اکستنشن زانو بود که با شدت ۵۰ (هفته اول) تا ۷۰ (هفته هشتم) درصد حداکثر یک تکرار با استفاده از دستگاه ورزشی انجام گردید.

اندازه‌گیری‌های آنتروپومتریک، آنالیز خون و ارزیابی EDSS

آزمودنی‌ها یک ارزیابی تن‌سنجی استاندارد قد، وزن و BMI را تکمیل کردند. نمونه‌های خون از ورید آنتکوبیتال در ابتدا و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین با روش‌های استاندارد گرفته شد و در تیوپ‌های حاوی EDTA جهت استخراج گلوبول‌های سفید ریخته شد. سپس، نمونه‌ها به صورت جداگانه با استفاده از مایع ازت در دمای ۸۰- درجه

سانتی گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. تعیین نمره EDSS توسط متخصص مجرب و با سابقه مغز و اعصاب، قبل و بعد از برنامه ورزشی هشت هفته‌ای انجام شد.

جدول ۱- پروتکل تمرین ترکیبی | Table 1- Combined training protocol

تمرین مقاومتی Resistance Training			تمرین هوازی Aerobic Training			هفته Week
فلکشن زانو [‡] Knee Flexion [‡]	استراحت Rest (min)	اکستنشن زانو [‡] Knee Extension [‡]	راه رفتن روی تردمیل [†] Walking on Treadmill [†]	استراحت Rest (min)	رکاب‌زنی [†] Cycling [†]	
3×10, 50%	5	3×10, 50%	10 min at 40%	10	10 min at 40%	1
3×10, 55%	5	3×10, 55%	10 min at 50%	10	10 min at 50%	2
3×10, 60%	5	3×10, 60%	15 min at 50%	10	15 min at 50%	3
3×10, 60%	5	3×10, 60%	15 min at 55%	10	15 min at 55%	4
3×10, 65%	5	3×10, 65%	15 min at 55%	10	15 min at 55%	5
3×10, 65%	5	3×10, 65%	20 min at 55%	10	20 min at 55%	6
3×10, 70%	5	3×10, 70%	20 min at 60%	10	20 min at 60%	7
3×10, 70%	5	3×10, 70%	20 min at 70%	10	20 min at 70%	8

[†]Intensity as a percentage of HR_{max};

[†] شدت به صورت درصدی از HR_{max};

[‡]Intensity as a percentage of 1RM.

[‡] شدت به صورت درصدی از 1RM.

سنجش بیان mRNA و MicroRNA

بیان mRNAs و miRs با استفاده از تکنیک RT-PCR اندازه‌گیری شد. استخراج RNA کل با استفاده از کیت‌های ایرایزول (زیست فن آوران رنا، اصفهان، ایران) و طبق دستورالعمل انجام شد. به طور خلاصه، ۱ میلی لیتر بافر استخراج RNA به ۷۰۰ میکرولیتر از نمونه خون اضافه شد. سپس، مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و سپس، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه گردید و بعد به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه به شدت تکان داده شد. بعد از آن، مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و بعد، دو دقیقه سانتریفیوژ در ۱۰۰۰ دور در دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد انجام شد که منجر به تشکیل دو لایه مجزا گردید. لایه شفاف بالایی که حاوی RNA بود با دقت جدا شده و به یک لوله عاری از نوکلئاز منتقل گردید. در ادامه، ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۱۰۰٪ سرد-یخ به آن اضافه شد و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه انکوبه شد. در نهایت، محلول به مدت ۸ دقیقه با دور ۱۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس، مایع رویی دور ریخته شد و ۵۰ میکرولیتر آب RNase free به ستون اضافه شد و بعد، سانتریفیوژ ۱ دقیقه ای در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه انجام گردید. محلول به دست آمده حاوی RNA استخراج شده بود. غلظت و خلوص RNA با اندازه‌گیری جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر بر روی یک نانو اسپکتروفتومتر (Biotech, Epoc, USA) ارزیابی شد. نسبت جذب برای تمام نمونه‌های RNA بین ۱/۶ و ۱/۹ بود که بلافاصله تا زمان استفاده بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

cdNA با استفاده از کیت RB MMLV Reverse Transcriptase (زیست فن آوران رنا، اصفهان، ایران) و مطابق با دستورالعمل سازنده کیت سنتز شد. این کار شامل مخلوط کردن نیم میکروگرم RNA و پرایمر دو میکرومولار Oligo

(dT) در یک لوله Eppendorf ۰/۲۵ میلی لیتری بدون نوکلئاز بود. سپس، از آب تصفیه شده با DEPC برای رساندن حجم به ۱۰ میکرولیتر استفاده شد. بعد، محلول به آرامی مخلوط شده و در دمای ۶۵+ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ترموسایکلر با فناوری Biorad (ایالات متحده آمریکا) حرارت داده شد. بعد، لوله های Eppendorf به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه به سرعت روی یخ قرار گرفتند و به دنبال آن، چهار میکرولیتر بافر RT (5X) و ۱ میکرولیتر آنزیم ترانس کریپتاز معکوس به هر لوله اضافه شد و به آرامی مخلوط گردید. بعد از آن، نمونه ها به مدت کوتاهی چرخانده شدند و در نهایت، در دمای ۵۰+ سانتی گراد به مدت ۵۰ دقیقه و بعد، ۱۵ دقیقه در دمای ۷۲+ درجه سانتی گراد انکوبه شدند تا واکنش سنتز cDNA متوقف شود. سپس، cDNA های به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان استفاده بعدی نگهداری شدند.

پرایمرهایی که miR-146a, miR-21 و TLR-2 را هدف قرار می دهند با استفاده از نرم افزار Oligo طراحی شدند. جستجوی BLAST برای هر آغازگر برای بررسی ویژگی توالی در <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> انجام شد. علاوه بر این، cDNA های کد کننده GAPDH و miR-U6 به ترتیب به عنوان کنترل داخلی برای عادی سازی بیان mRNA ها و miRs در RT-PCR استفاده شدند (جدول ۲).

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده برای miR-146a, miR-21, TLR-2 و ژن های کنترل

Table 2- Primers used for miR-146a, miR-21, TLR-2 and control genes

Name	Forward	Reverse	Data Base
TLR-2	GGGTCATCATCAGCCTCTCC	AGGTCACCTGTTGCTAATGTAGGTG	NCBI
GAPDH	TGAAGGTCGGAGTCAACGGATTGGT	CATGTGGGCCATGAGGTCCACCAC	NCBI
miR-146a	CCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAG	-	miRBase
miR-21	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	-	miRBase
miR-U6	GCGCGTCGTGAAGCGTTC	GTGCAGGGTCCGAGGT	miRBase

GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; **NCBI:** National Center for Biotechnology Information.

همه آزمایش ها در سه نسخه بیولوژیکی و تکراری فنی انجام شد. برای هر نمونه، ۱۲/۵ میکرولیتر SYBR s3p RB (زیست فن آوران رنا، اصفهان، ایران) به ۱۰ pmol از هر پرایمر forward و reverse اضافه شد (جدول ۲) و سپس، با اضافه کردن ddH₂O حجم نهایی تا ۲۵ میکرولیتر افزایش یافت. در نهایت، برای رسیدن به حجم مورد نظر از آب بدون نوکلئاز استفاده شد. برای هر نمونه، ۲۵ میکرولیتر از مخلوط فوق در سه تکرار به میکروتیوب های ۰/۱ میلی لیتری RT-PCR (Applied Biosystems, USA) منتقل شد که سپس، قبل از بارگیری در دستگاه Corbett Rotor-Gene 6000 RT-PCR، ایالات متحده آمریکا) سانتریفیوژ شدند. شرایط RT-PCR به شرح زیر بود: ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه (شروع داغ)، ۴۵ سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه (دناتوراسیون)، ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۱۵ ثانیه (آنیلینگ / اکستنشن) و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه.

پس از اتمام فرایند و به دست آمدن چرخه‌های آستانه (Ct)، سنجش بیان متغیرها محاسبه شد. ΔCt هر نمونه با استفاده از کنترل داخلی (miR-U6, GAPDH) به ترتیب برای ژن‌ها و miRNA محاسبه شد (با تفریق Ct ها از کنترل داخلی). سپس، $\Delta\Delta Ct$ مربوطه برای هر نمونه با کم کردن ΔCt آن نمونه از میانگین ΔCt گروه کنترل محاسبه گردید.

برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و برای تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس دو طرفه با اندازه گیری‌های مکرر [گروه (گروه کنترل و گروه تمرین) $\times$ زمان (قبل و بعد از هشت هفته)] استفاده شد. مقایسه داده‌های حالت پایه با آزمون t مستقل انجام گردید و داده‌ها در سطح معناداری کم‌تر از ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۵ و ترسیم نمودارها با نرم افزار گرافید پریم ۱۰ انجام شد.

در این پژوهش موازین اخلاقی ازجمله رضایت آگاهانه، رازداری، رعایت حریم خصوصی بیماران، حفظ و حراست آزمودنی‌ها در برابر فشارها، آسیب‌ها و خطرات بدنی و روانی و آگاهی از نتیجه پژوهش رعایت شد. همه شرکت‌کنندگان قبل از ورود به مطالعه رضایت آگاهانه خود را اعلام کردند. آنها قبل از امضاء رضایت نامه از مزایا و خطرات تحقیق مطلع شدند. این مطالعه بر طبق اساس‌نامه هلسینکی انجام شد و با کد IR.SSRC.REC.1398.071 به تایید کمیته اخلاق پژوهش پژوهشگاه علوم ورزشی رسیده است و نیز با کد IRCT20191006045004N1 در مرکز کار آزمایی‌های بالینی ایران ثبت شده است.

نتایج

داده‌های miR-146a, miR-21, TLR-2, EDSS و ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها در حالت پایه (مرحله پیش آزمون) با استفاده از آزمون t مستقل مقایسه شد (جدول ۳) که هیچ تفاوت معناداری بین دو گروه تمرین و کنترل مشاهده نگردید ($p > 0/05$).

پس از هشت هفته تمرین ترکیبی، وزن بدن در گروه تمرین (از $62/21 \pm 9/15$ به $61/28 \pm 9/07$ کیلوگرم) به طور معناداری کاهش ($P = 0/005$) و در گروه کنترل (از $66/07 \pm 8/69$ به $67/09 \pm 9/25$ کیلوگرم) به طور معناداری افزایش یافت ($P = 0/001$) و نیز تفاوت بین‌گروهی معنادار بود ($P = 0/001$). تفاوت معناداری در BMI بین گروه‌ها مشاهده نشد ($P = 0/215$). EDSS در گروه تمرین به طور معناداری ($p = 0/023$) کاهش یافت (از $2/25 \pm 1/22$ به $1/83 \pm 1/09$)، اما در گروه کنترل تغییر معناداری نداشت ($p = 0/414$) و نیز تفاوت بین گروه‌ها معنادار بود ($p = 0/015$).

پس از هشت هفته تمرین ترکیبی، سطح بیان نسبی miR-146a در گروه کنترل ($p = 0/001$) و گروه تمرین ($p = 0/001$) نسبت به مقدار پایه کاهش معناداری داشت (از $10/01 \pm 0/86$ به $2/60 \pm 0/54$ در گروه کنترل و از $9/1 \pm 22/45$ به $6/97 \pm 0/85$ در گروه تمرین)، اما میزان کاهش در گروه تمرین ($24/40\%$) به طور معناداری ($p = 0/001$) کمتر از گروه کنترل ($74/26\%$) بود (شکل ۱).

بیان نسبی miR-21 در گروه کنترل ($p = 0/001$) و گروه تمرین ($p = 0/001$) نسبت به مقدار پایه پس از هشت هفته تمرین ترکیبی افزایش معناداری داشت (از $4/46 \pm 0/76$ به $10/22 \pm 1/07$ در گروه کنترل و از $4/93 \pm 0/58$ به

اما افزایش در گروه تمرین (۲۵/۹۶٪) به طور معناداری ($p=0/001$) کمتر از گروه کنترل (۱۲۹/۱۵٪) بود (شکل ۱).

جدول ۳- مقایسه ویژگی‌های آزمودنی‌ها در مرحله پیش آزمون

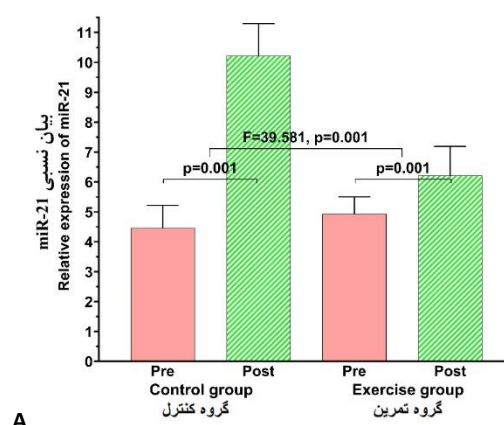
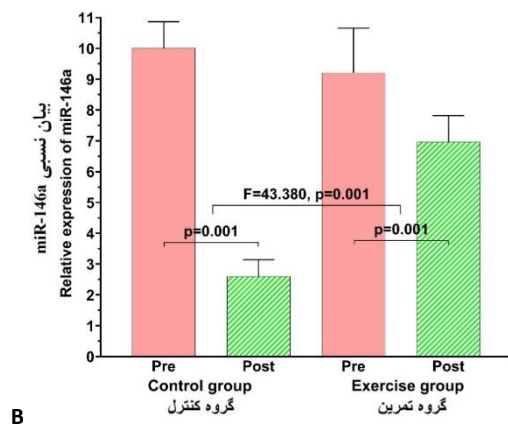
Table 3- Comparison of subjects characteristics in the pre-test stage

ویژگی Character	گروه تمرین Training group	گروه کنترل Control group	t	p
سن (سال) Age (years)	33.0±5.9	33.2±4.7	0.081	0.937
قد (سانتی متر) Height (cm)	163.0±3.3	164.1±5.0	0.919	0.543
وزن (کیلوگرم) Weight (kg)	62.2±9.2	66.1±8.7	1.035	0.0312
نمایه توده بدنی BMI (kg/m ²)	23.4±3.3	24.6±3.6	0.831	0.416
miR-146a	9.22±1.45	10.01±0.86	1.583	0.128
miR-21	4.93±0.58	4.46±0.76	-1.673	0.131
TLR-2	3.32±0.73	3.75±0.56	1.570	0.845
نمره مقیاس وضعیت ناتوانی گسترده EDSS score	2.25±1.22	2.00±0.95	-0.546	0.591

Data are presented as mean ± SD; BMI: body mass index.

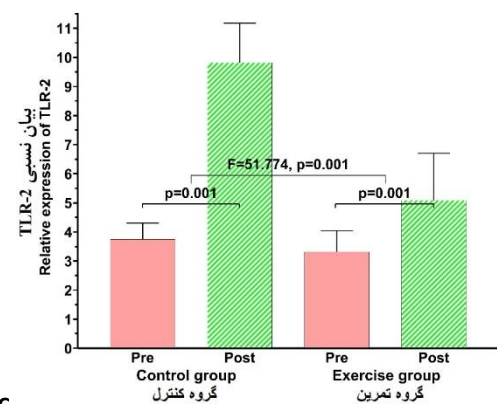
EDSS: expanded disability status scale.

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد ارائه شده است.



B

A



C

شکل ۱- تغییرات بیان نسبی ژن‌ها در بیماران مبتلا به RRMS پس از هشت هفته تمرین ترکیبی

Figure 1- Relative expression changes of genes in patients with RRMS after eight weeks of combined training

پس از هشت هفته تمرین ترکیبی، سطح بیان نسبی TLR-2 در گروه کنترل ($p=0/001$) و گروه تمرین ($p=0/001$) نسبت به مقدار پایه افزایش معناداری یافت (از $3/75 \pm 0/56$ به $9/82 \pm 1/36$ در گروه کنترل و از $3/32 \pm 0/73$ به $5/1 \pm 0/96$ در گروه تمرین)، اما افزایش در گروه تمرین ($53/31\%$) به طور معناداری ($p=0/001$) کمتر از گروه کنترل ($161/87\%$) بود (شکل ۱).

بحث و نتیجه گیری

مولتیپل اسکلروزیس به عنوان یک بیماری التهابی، ممکن است پس از چند ماه تمرین ورزشی از طریق تنظیم برخی از مسیرهای التهابی و miRNAs تحت تاثیر قرار گیرد (۱، ۴۱، ۴۸، ۵۰). در مطالعه حاضر، بیان نسبی miR-146a در زنان مبتلا به RRMS پس از هشت هفته تمرین ترکیبی در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر کاهش یافت و به عبارت دیگر، این miR بر اثر مداخله ورزشی کمتر کاهش یافت و بر عکس، بیان نسبی miR-21 و TLR-2 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل به طور معناداری کمتر افزایش یافت؛ یعنی مداخله ورزشی مانع افزایش بیان نسبی این دو متغیر شده است.

کاهش کمتر بیان نسبی miR-146a بعد از هشت هفته تمرین ترکیبی، با یافته مطالعه باگیش^۱ و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر افزایش معنادار سطح پلاسمایی miR-146a پس از ۹۰ روز تمرین قایقرانی همسو می باشد (۴) و در مقابل، با نتیجه مطالعه ویتورون^۲ و همکاران (۲۰۲۱) مبنی بر کاهش معنادار سطح miR-146a پس از ۱۵ هفته تمرین ترکیبی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی با کسر تزریقی کمتر از ۴۰٪ (۵۲)، مغایرت دارد که شاید بتوان این مغایرت را به پائین بودن کسر تزریقی آزمودنی‌های آنها نسبت داد که بدیهی است در انجام موثر تمرینات تاثیر داشته است. همانگونه که ذکر شد، در مطالعه حاضر، سطح بیان miR-146a بر اثر تمرین ترکیبی در سطحی بالاتر از گروه کنترل حفظ شد. این بالاتر بودن، در مدل کوپریزون (سمی برای القاء MS) باعث تمایز و میلین‌سازی مجدد شده است (۵۳). همچنین، استفاده از miR-146a برون زاد توانسته است فعال‌سازی ضد التهابی میکروگلیا را افزایش دهد، اثری که با افزایش تمایز سلول‌های پیش‌ساز اولیگودندروسیت و میلین‌سازی مجدد مرتبط است (۵۴). بنابراین، miR-146a ممکن است با مهار التهاب عصبی و پیش‌برد بازسازی مجدد غلاف میلین، نقشی محافظتی در MS ایفا کند (۱۷).

miR-146a بیان ژن‌های التهابی را با مسدود کردن مسیر TLR4/IRAK1/TRAF6/NF-κB یا پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (MAPK) کاهش می‌دهد (۵۵). علاوه بر این، گزارش شده است که تنظیم افزایشی miR-146a از طریق مهار مسیرهای سیگنالینگ TLRs می‌تواند فعال شدن فنوتیپ‌های پیش‌التهابی سلول‌های میکروگلیال را مختل کند و ممکن است منجر به مهار التهاب عصبی بیش از حد در مدل‌های جوندگان شود (۱۳). بنابراین، کمتر کاهش یافتن بیان آن در مطالعه حاضر می‌تواند یک فرایند ضد التهابی محسوب شود.

1 Baggish

2 Witvrouwen

در این مطالعه، بیان نسبی miR-21 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل پس از هشت هفته تمرین ترکیبی به طور معناداری کمتر افزایش یافت که این نتیجه، صرف نظر از نوع آزمودنی‌ها، با چهار مطالعه هم‌خوانی دارد. در مطالعه نیلسون^۱ و همکاران (۲۰۱۴)، بیان miR-21 پس از ۱۲ هفته تمرین استقامتی در مردان جوان سالم (۵۶)؛ در مطالعه رفیعی و همکاران (۲۰۲۱)، در موش‌های ماده مبتلا به سرطان پستان پس از هشت هفته تمرین دویدن هوازی (۴۹)؛ در مطالعه دلفان و همکاران (۲۰۱۷)، در موش‌های مبتلا به سرطان پستان پس از ۱۰ هفته تمرین استقامتی تداومی و تناوبی شدید (۵۷) و در مطالعه سلطانی و همکاران (۲۰۱۹)، در موش‌های مبتلا به سرطان پستان پس از هشت هفته تمرین دویدن هوازی (۵۸) به طور معناداری کاهش یافت که نشان می‌دهد صرف نظر از نوع و مدت تمرین، سلامتی آزمودنی‌ها و جنسیت آنها، مداخله ورزشی تأثیری کاهشی بر miR-21 دارد. شواهد موجود نشان می‌دهد که تنظیم مثبت بیان miR-21 یک عامل مضر در پاتوژنز MS است و سلول‌های التهابی Th17 را تقویت می‌کند که به وخامت بیش‌تر بیماری می‌انجامد (۵، ۵۹، ۶۰). به عبارت دیگر، تنظیم مثبت miR-21 در بیماران MS یک یافته منفی یا نامطلوب در نظر گرفته می‌شود (۵، ۵۹، ۶۰) و بنابراین، به نظر می‌رسد کمتر کاهش یافتن بیان آن پس از تمرین ترکیبی در گروه تمرین مطالعه حاضر گامی در راستای بهبود بیماری RRMS باشد.

یافته دیگر مطالعه حاضر این است که بیان نسبی TLR-2 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل پس از هشت هفته تمرین ترکیبی به طور معناداری کمتر افزایش یافت. اگرچه به مطالعات کاملاً مرتبطی در این مورد دست نیافتیم، اما در مطالعه نجفی و همکاران (۲۰۲۲)، بر اثر تمرینات مقاومتی متناوب که با شدت‌های مختلف به مدت ۱۲ هفته انجام شد، سطوح TLR-2 در مردان چاق با دامنه سنی ۲۰ تا ۴۰ سال نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری داشت (۶۱) که با یافته ما همسو است و از طرف دیگر، استوارت^۲ و همکاران (۲۰۰۵)، عدم تغییر بیان TLR-2 پس از ۱۲ هفته تمرین ورزشی استقامتی و مقاومتی در جوانان و سالمندان غیر فعال را گزارش کردند (۶۲) که این نتیجه با یافته مطالعه ما مغایرت دارد و ممکن است تفاوت در نوع آزمودنی علت اصلی این مغایرت باشد.

فعالیت ورزشی با هدف قرار دادن سیگنالینگ TLRs به طور مستقیم بر سیستم ایمنی ذاتی افراد سالم و بیمار تأثیر می‌گذارد (۱) و نیز پاسخ‌های خودایمنی در MS را کاهش می‌دهد که ممکن است شامل تعدیل بیان و فعالیت TLR-2 نیز باشد (۶۳). در مورد نقش TLR-2 در التهاب می‌توان به این نکته اشاره کرد که پس از تحریک لیگاند، هتروداIMERهای TLR-2 یک مسیر سیگنالینگ درون سلولی وابسته به MyD88 را آغاز می‌کنند که در همه TLRها به جز TLR-3 مشترک است (۷). این مسیر باعث انتقال هسته‌ای فاکتور هسته‌ای B (NF-B)^۳ برای تعدیل رونویسی ژن و در نتیجه، تولید سیتوکین‌های التهابی می‌شود. این آبشار همچنین با القای پروتئین فعال ۱ (AP-1)^۴، پروتئین

1 Nielsen

2 Stewart

3 Nuclear translocation of nuclear factor-B (NF-B)

4 Activation protein 1 (AP-1)

کینازهای اختصاصی سرین/ترونین (MAPKS)^۱ را تحریک می‌کند که می‌تواند بر رونویسی ژن‌های التهابی و پایداری mRNA آن رونوشت‌ها تأثیر بگذارد (۷).

در مورد مکانیسم‌های موثر در تغییرات بوجود آمده در miR-21، miR-146a و TLR-2، لازم به ذکر است با توجه به نقش التهاب در بیماری MS (۱، ۳)، ضد التهابی بودن miR-21، miR-146a و TLR-2 (۷-۴)، تأثیر مثبت فعالیت‌های ورزشی منظم بر عوامل التهابی در MS (۱، ۴۱، ۴۲، ۵۰)، تأثیر مسیر سیگنالینگ NF-κB بر التهاب و توسعه بیماری‌های التهابی (۶۴) و نیز اینکه فعالیت ورزشی می‌تواند بر سیگنالینگ NF-κB تأثیر داشته باشد (۶۵)، به نظر می‌رسد مسیر سیگنالینگ NF-κB، مسیر اصلی درگیر در تغییرات متغیرهای مذکور در تحقیق حاضر باشد. سرکوب این مسیر بر اثر فعالیت ورزشی متوسط تا حدی از طریق فعال‌سازی محور SIRT1-AMPK-PGC1α انجام می‌شود که می‌تواند التهاب را کاهش دهد (۶۵).

کاهش معنادار نمرات EDSS در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل، نتیجه فرعی این مطالعه است که با نتیجه مطالعه گلزاری و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد (۴۲). بهبود نمرات EDSS در گروه تمرین ممکن است به دلیل کاهش وزن و بهبود قدرت (به ویژه پایین تنه) شرکت‌کنندگان بدست آمده باشد و طبیعی است که مداخلات ورزشی تأثیر به سزایی بر پارامترهای مورد استفاده در محاسبه EDSS شامل ضعف عضلانی، توانایی حرکت دادن بازوها و پاها، تعادل و هماهنگی داشته باشد.

در تنظیم پاسخ‌های ایمنی ذاتی بین miR-146a، miR-21 و TLR-2 ارتباط وجود دارد. این ارتباط به این صورت است که تحریک TLR-2 باعث افزایش بیان miR-146a می‌شود و فعال‌سازی TLR-2 توسط لیگاند‌هایی مانند پپتیدوگلیکان^۲ و Pam3CSK4 منجر به افزایش بیان miR-146a می‌گردد (۶۶، ۶۷). همچنین، miR-146a سیگنال‌دهی TLR-2 را به طور منفی تنظیم می‌کند. بیان بیش از حد miR-146a تولید واسطه‌های التهابی مانند IL-8، CCL20 و TNF-α را در پاسخ به تحریک TLR-2 سرکوب می‌کند (۶۷، ۶۸). علاوه بر این، نشان داده شده است که miR-21 سیگنال‌دهی TLR-2 را از طریق مسیر فسفواینوزیتید ۳-کیناز/Akt/هدف راپامایسین پستانداران^۳ تنظیم می‌کند (۶۹). بنابراین، به طور خلاصه، فعال‌سازی TLR-2 باعث افزایش بیان miR-146a می‌شود که به نوبه خود به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی بازخوردی برای سیگنال‌دهی TLR-2 عمل می‌کند و مولکول‌های آداپتور کلیدی را هدف قرار می‌دهد. miR-21 نیز در تنظیم پاسخ‌های TLR-2 نقش دارد و به تعامل پیچیده بین این عوامل در تنظیم ایمنی ذاتی کمک می‌کند.

محدودیت اصلی این مطالعه این است که Th17 که تولید کننده سایتوکاین‌های پیش التهابی است و سطوح آن در بیماری MS بالاست (۱، ۴۲) را ما اندازه‌گیری نکردیم. Th17 زیرمجموعه‌ای از سلول‌های کمکی CD4+ T هستند که نقشی کلیدی در پاتوژنز MS و سایر بیماری‌های خود ایمنی دارند. لذا، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی همراه با

1 Serine/threonine-specific protein kinases (MAPKS)

2 Ligands like peptidoglycan

3 Phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin

Th17 یک یا چند نشانگر التهابی مانند IL-17A، IL-17F، IL-21 و IL-22 که Th17 در تولید آنها درگیر است نیز اندازه‌گیری شود. نکته دیگر اینکه، اگرچه حجم نمونه این مطالعه بر اساس نتایج یک مطالعه قبلی و با نرم افزار محاسبه شده است و شاید یک محدودیت محسوب نشود، اما حجم نمونه نسبتاً بزرگ‌تر و مدت زمان طولانی‌تر مداخله ورزشی در مطالعات آتی می‌تواند نتایج مطمئن‌تر و قطعی‌تری داشته باشد.

به طور خلاصه، به نظر می‌رسد کمتر کاهش یافتن بیان نسبی miR-146a و کمتر افزایش یافتن بیان نسبی miR-21 و TLR-2 پس از هشت هفته تمرین ترکیبی ممکن است باعث پیش‌برد فرایندهای ضد التهابی، میلین‌سازی مجدد و تنظیم مطلوب پاسخ‌های خودایمنی شده و نقش موثری در بهبود بیماری RRMS داشته باشد. همچنین، تمرین ترکیبی می‌تواند توانایی فیزیکی آزمودنی‌ها را بهبود بخشیده و نیز به عنوان یک استراتژی درمانی مکمل برای کاهش التهاب در بیماران RRMS با ناتوانی خفیف تا متوسط مورد استفاده قرار گیرد.

پیام مقاله

تمرین ترکیبی به واسطه تأثیر مطلوب بر بیان miR-21، miR-146a و TLR-2 می‌تواند نقش موثر و مثبتی در کنترل التهاب، میلین‌سازی مجدد و تنظیم پاسخ‌های خودایمنی در بیماران MS نوع عود کننده- فروکش کننده داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

پژوهش حاضر با کد [IR.SSRC.REC.1398.071](https://doi.org/10.2196/IR.SSRC.REC.1398.071) توسط کمیته اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تأیید شده است.

مشارکت نویسندگان

ایده‌پردازی: اکبر اعظمیان جزی

جمع‌آوری داده‌ها: محمد شاه وردی شهرکی و اکبر اعظمیان جزی

تحلیل داده‌ها: اکبر اعظمیان جزی و محمد ربیعی

نگارش مقاله: اکبر اعظمیان جزی

بازبینی و ویرایش: اکبر اعظمیان جزی

مرور ادبیات: اکبر اعظمیان جزی، محمد شاه وردی شهرکی و محمد ربیعی

مدیر پروژه: اکبر اعظمیان جزی

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

از بیماران محترمی که در این مطالعه شرکت داشتند بسیار سپاسگزاریم.

منابع

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. *Front Physiol.* 2016;7:194. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00194>
2. Zameer U, Tariq A, Asif F, Kamran A. Empowering Minds and Bodies: The Impact of Exercise on Multiple Sclerosis and Cognitive Health. *Ann Neurosci.* 2024;31(2):121-3. <https://doi.org/10.1177/09727531241227674>
3. Petropoulos IN, John K, Al-Shibani F, Ponirakis G, Khan A, Gad H, et al. Corneal immune cells as a biomarker of inflammation in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Ther Adv Neurol Disord.* 2023;16:17562864231204974. <https://doi.org/10.1177/17562864231204974>
4. Baggish AL, Hale A, Weiner RB, Lewis GD, Systrom D, Wang F, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J Physiol.* 2011;589(Pt 16):3983-94. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.213363>
5. Ma X, Zhou J, Zhong Y, Jiang L, Mu P, Li Y, et al. Expression, regulation and function of microRNAs in multiple sclerosis. *Int J Med Sci.* 2014;11(8):810-8. <https://doi.org/10.7150/ijms.8647>
6. Muñoz-San Martín M, Reverter G, Robles-Cedeño R, Buxò M, Ortega FJ, Gómez I, et al. Analysis of miRNA signatures in CSF identifies upregulation of miR-21 and miR-146a/b in patients with multiple sclerosis and active lesions. *J Neuroinflammation.* 2019;16(1):220. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1590-5>
7. Oliveira-Nascimento L, Massari P, Wetzler LM. The Role of TLR2 in Infection and Immunity. *Front Immunol.* 2012;3:79. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00079>
8. Perdaens O, Bottemanne P, van Pesch V. MicroRNAs dysregulated in multiple sclerosis affect the differentiation of CG-4 cells, an oligodendrocyte progenitor cell line. *Front Cell Neurosci.* 2024;18:1336439. <https://doi.org/10.3389/fncel.2024.1336439>
9. Geiger L, Orsi G, Cseh T, Gombos K, Illés Z, Czéh B. Circulating microRNAs correlate with structural and functional MRI parameters in patients with multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci.* 2023;16:1173212. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1173212>
10. Alevizos I, Illei GG. MicroRNAs in Sjogren's syndrome as a prototypic autoimmune disease. *Autoimmunity reviews.* 2010;9(9):618-21. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2010.05.009>
11. Duffy CP, McCoy CE. The role of MicroRNAs in repair processes in multiple sclerosis. *Cells.* 2020;9(7):1711. <https://doi.org/10.3390/cells9071711>
12. Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Augstein F, Bittner R, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain.* 2009;132(Pt 12):3342-52. <https://doi.org/10.1093/brain/awp300>
13. Saba R, Gushue S, Huzarewich RL, Manguiat K, Medina S, Robertson C, et al. MicroRNA 146a (miR-146a) is over-expressed during prion disease and modulates the innate immune response and the microglial activation state. *PLoS One.* 2012;7(2):e30832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030832>
14. Moraghebi M, Negahi AA, Bazireh H, Abbasi H, Ahmadi M, Sarikhani Z, et al. The Analysis of SNPs' Function in miR-21 and miR146a/b in Multiple Sclerosis and Active Lesions: An In Silico Study. *Bioinform Biol Insights.* 2022;16:11779322221116322. <https://doi.org/10.1177/11779322221116322>
15. Garo LP, Murugaiyan G. Contribution of MicroRNAs to autoimmune diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(10):2041-51. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2167-4>
16. Quinn SR, O'Neill LA. A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *International immunology.* 2011;23(7):421-5. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxr034>

17. Fan W, Liang C, Ou M, Zou T, Sun F, Zhou H, et al. MicroRNA-146a Is a Wide-Reaching Neuroinflammatory Regulator and Potential Treatment Target in Neurological Diseases. *Front Mol Neurosci*. 2020;13:90. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00090>
18. Wang J, Yu JT, Tan L, Tian Y, Ma J, Tan CC, et al. Genome-wide circulating microRNA expression profiling indicates biomarkers for epilepsy. *Sci Rep*. 2015;5:9522. <https://doi.org/10.1038/srep09522>
19. Müller M, Kuiperij HB, Versleijen AA, Chiasserini D, Farotti L, Baschieri F, et al. Validation of microRNAs in Cerebrospinal Fluid as Biomarkers for Different Forms of Dementia in a Multicenter Study. *J Alzheimers Dis*. 2016;52(4):1321-33. <https://doi.org/10.3233/jad-160038>
20. Ma SQ, Xu XX, He ZZ, Li XH, Luo JM. Dynamic changes in peripheral blood-targeted miRNA expression profiles in patients with severe traumatic brain injury at high altitude. *Mil Med Res*. 2019;6(1):12. <https://doi.org/10.1186/s40779-019-0203-z>
21. Ahmed Ali M, Gamil Shaker O, Mohamed Eid H, Elsayed Mahmoud E, Mahmoud Ezzat E, Nady Gaber S. Relationship between miR-155 and miR-146a polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis in an Egyptian cohort. *Biomed Rep*. 2020;12(5):276-84. <https://doi.org/10.3892/br.2020.1286>
22. Zamani A, Dehghan Manshadi M, Akouchekian M, Salahshouri Far I. The Association of miRNA-146a Gene Variation and Multiple Sclerosis in The Iranian Population. *Med J Islam Repub Iran*. 2024;38:1. <https://doi.org/10.47176/mjiri.38.1>
23. Quintana E, Ortega FJ, Robles-Cedeño R, Villar ML, Buxó M, Mercader JM, et al. miRNAs in cerebrospinal fluid identify patients with MS and specifically those with lipid-specific oligoclonal IgM bands. *Mult Scler*. 2017;23(13):1716-26. <https://doi.org/10.1177/1352458516684213>
24. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(33):12481-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605298103>
25. Sonkoly E, Ståhle M, Pivarcsi A. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. *Semin Cancer Biol*. 2008;18(2):131-40. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2008.01.005>
26. Li YY, Cui JG, Dua P, Pogue AI, Bhattacharjee S, Lukiw WJ. Differential expression of miRNA-146a-regulated inflammatory genes in human primary neural, astroglial and microglial cells. *Neurosci Lett*. 2011;499(2):109-13. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.05.044>
27. García-Jacobo RE, Uresti-Rivera EE, Portales-Pérez DP, González-Amaro R, Lara-Ramírez EE, Enciso-Moreno JA, et al. Circulating miR-146a, miR-34a and miR-375 in type 2 diabetes patients, pre-diabetic and normal-glycaemic individuals in relation to β -cell function, insulin resistance and metabolic parameters. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2019;46(12):1092-100. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13147>
28. Martin NA, Molnar V, Szilagyi GT, Elkjaer ML, Nawrocki A, Okarmus J, et al. Experimental Demyelination and Axonal Loss Are Reduced in MicroRNA-146a Deficient Mice. *Front Immunol*. 2018;9:490. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00490>
29. Giuliani A, Lattanzi S, Ramini D, Graciotti L, Danni MC, Procopio AD, et al. Potential prognostic value of circulating inflamma-miR-146a-5p and miR-125a-5p in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2021;54:103126. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.103126>
30. Loboda A, Sobczak M, Jozkowicz A, Dulak J. TGF- β 1/Smads and miR-21 in Renal Fibrosis and Inflammation. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:8319283. <https://doi.org/10.1155/2016/8319283>
31. Manian M, Sohrabi E, Eskandari N, Assarehzadegan MA, Ferns GA, Nourbakhsh M, et al. An Integrated Bioinformatics Analysis of the Potential Regulatory Effects of miR-21 on T-cell Related Target Genes in Multiple Sclerosis. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2021;13(3):149-65. <https://doi.org/10.18502/ajmb.v13i3.6364>

32. Ntranos A, Ntranos V, Bonnefil V, Liu J, Kim-Schulze S, He Y, et al. Fumarates target the metabolic-epigenetic interplay of brain-homing T cells in multiple sclerosis. *Brain*. 2019;142(3):647-61. <https://doi.org/10.1093/brain/awy344>
33. Fenoglio C, Cantoni C, De Riz M, Ridolfi E, Cortini F, Serpente M, et al. Expression and genetic analysis of miRNAs involved in CD4+ cell activation in patients with multiple sclerosis. *Neurosci Lett*. 2011;504(1):9-12. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.08.021>
34. Hernández-Pedro NY, Espinosa-Ramirez G, de la Cruz VP, Pineda B, Sotelo J. Initial immunopathogenesis of multiple sclerosis: innate immune response. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:413465. <https://doi.org/10.1155/2013/413465>
35. Colleselli K, Stierschneider A, Wiesner C. An Update on Toll-like Receptor 2, Its Function and Dimerization in Pro- and Anti-Inflammatory Processes. *Int J Mol Sci*. 2023;24(15). <https://doi.org/10.3390/ijms241512464>
36. Bsibsi M, Nomden A, van Noort JM, Baron W. Toll-like receptors 2 and 3 agonists differentially affect oligodendrocyte survival, differentiation, and myelin membrane formation. *J Neurosci Res*. 2012;90(2):388-98. <https://doi.org/10.1002/jnr.22767>
37. Hayward JH, Lee SJ. A Decade of Research on TLR2 Discovering Its Pivotal Role in Glial Activation and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Exp Neurobiol*. 2014;23(2):138-47. <https://doi.org/10.5607/en.2014.23.2.138>
38. Nyirenda MH, Morandi E, Vinkemeier U, Constantin-Teodosiu D, Drinkwater S, Mee M, et al. TLR2 stimulation regulates the balance between regulatory T cell and Th17 function: a novel mechanism of reduced regulatory T cell function in multiple sclerosis. *J Immunol*. 2015;194(12):5761-74. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400472>
39. Sloane JA, Batt C, Ma Y, Harris ZM, Trapp B, Vartanian T. Hyaluronan blocks oligodendrocyte progenitor maturation and remyelination through TLR2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(25):11555-60. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006496107>
40. Jafarzadeh A, Nemati M, Khorramdelazad H, Mirshafiey A. The Toll-like Receptor 2 (TLR2)-related Immunopathological Responses in the Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2019;18(3):230-50. <https://doi.org/10.18502/ijaai.v18i3.1117>
41. 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 Inflamm*. 2016;2016:6789276. <https://doi.org/10.1155/2016/6789276>
42. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN- γ and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. *Int Immunopharmacol*. 2010;10(11):1415-9. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.08.008>
43. Guillamó E, Cobo-Calvo Á, Oviedo GR, Travier N, Álamo J, Niño-Mendez OA, et al. Feasibility and Effects of Structured Physical Exercise Interventions in Adults with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: A Pilot Study. *J Sports Sci Med*. 2018;17(3):426-36. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30116116/>.
44. Motl RW, Sandroff BM, Benedict RH. Cognitive dysfunction and multiple sclerosis: developing a rationale for considering the efficacy of exercise training. *Mult Scler*. 2011;17(9):1034-40. <https://doi.org/10.1177/1352458511409612>
45. 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. *Iran J Neurol*. 2016;15(3):111-20. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27648171/>.

46. Hoekstra M, van der Lans CA, Halvorsen B, Gullestad L, Kuiper J, Aukrust P, et al. The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;394(3):792-7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.03.075>
47. Radom-Aizik S, Zaldivar FP, Jr., Haddad F, Cooper DM. Impact of brief exercise on circulating monocyte gene and microRNA expression: implications for atherosclerotic vascular disease. *Brain, behavior, and immunity*. 2014;39:121-9. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.01.003>
48. Da Silva FC, Rode MP, Vietta GG, Iop RDR, Creczynski-Pasa TB, Martin AS, et al. Expression levels of specific microRNAs are increased after exercise and are associated with cognitive improvement in Parkinson's disease. *Mol Med Rep*. 2021;24(2). <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12257>
49. Rafiei MM, Soltani R, Kordi MR, Nouri R, Gaeini AA. Gene expression of angiogenesis and apoptotic factors in female BALB/c mice with breast cancer after eight weeks of aerobic training. *Iran J Basic Med Sci*. 2021;24(9):1196-202. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2021.55582.12427>
50. Yousefi Saqqezi S, Azamian Jazi A, Hemmati R, Jivad N. Combined Training Improves the Expression Profile of Inflammation-associated Antimicrobial Peptides, MicroRNAs, and TLR-4 in Patients with Multiple Sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2021;20(4):441-52. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34418898/>.
51. Katz Sand I. Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2015;28(3):193-205. <https://doi.org/10.1097/wco.0000000000000206>
52. Witvrouwen I, Gevaert AB, Possemiers N, Ectors B, Stoop T, Goovaerts I, et al. Plasma-Derived microRNAs Are Influenced by Acute and Chronic Exercise in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction. *Front Physiol*. 2021;12:736494. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.736494>
53. Zhang J, Zhang ZG, Lu M, Wang X, Shang X, Elias SB, et al. MiR-146a promotes remyelination in a cuprizone model of demyelinating injury. *Neuroscience*. 2017;348:252-63. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.02.029>
54. Zhang J, Zhang ZG, Lu M, Zhang Y, Shang X, Chopp M. MiR-146a promotes oligodendrocyte progenitor cell differentiation and enhances remyelination in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neurobiol Dis*. 2019;125:154-62. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.01.019>
55. Aslani M, Mortazavi-Jahromi SS, Mirshafiey A. Efficient roles of miR-146a in cellular and molecular mechanisms of neuroinflammatory disorders: An effectual review in neuroimmunology. *Immunology Letters*. 2021;238:1-20. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2021.07.004>
56. Nielsen S, Åkerström T, Rinnov A, Yfanti C, Scheele C, Pedersen BK, et al. The miRNA plasma signature in response to acute aerobic exercise and endurance training. *PLoS One*. 2014;9(2):e87308. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087308>
57. Delphan M, Agha Alinejad H, Delfan M, Dehghan S. Intratumoral Effects of Continuous Endurance Training and High Intensity Interval Training on Genes Expression of miR-21 and bcl-2 in Breast Cancer Bearing Female mice. *Iranian Journal of Breast Diseases*. 2017;10(2):49-57. Available at: <https://ijbd.ir/article-1-629-fa.html>. [In Persian].
58. Soltani R, Kordi MR, Gaeini AA, Nuri R. The effects of 8 weeks aerobic training on HIF-1 α , miR-21 and VEGF gene expression in female Balb/c with breast cancer. *scientific magazine yafte*. 2019;21(1):63-74. Available at: <https://yafte.lums.ac.ir/article-1-2760-en.html>. [In Persian].
59. Bai X, Bian Z. MicroRNA-21 Is a Versatile Regulator and Potential Treatment Target in Central Nervous System Disorders. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:842288. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.842288>
60. Wang L, Liang Y. MicroRNAs as T Lymphocyte Regulators in Multiple Sclerosis. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:865529. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.865529>
61. Najafi N, Seifi-Skishahr F, Afroundeh R. The Effect of twelve weeks Interval Resistance Training with different intensity on TLR2,4 Dectin-1 in obese men. *Metabolism and Exercise*. 2022;12(1):205-20. <https://doi.org/10.22124/jme.2023.23629.237>. [In Persian].

62. Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, McFarlin BK, et al. Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. *Brain, behavior, and immunity*. 2005;19(5):389-97. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2005.04.003>
63. Zong B, Yu F, Zhang X, Zhao W, Li S, Li L. Mechanisms underlying the beneficial effects of physical exercise on multiple sclerosis: focus on immune cells. *Front Immunol*. 2023;14:1260663. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1260663>
64. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*. 2015;21(7):677-87. <https://doi.org/10.1038/nm.3893>
65. Liu HW, Chang SJ. Moderate Exercise Suppresses NF- κ B Signaling and Activates the SIRT1-AMPK-PGC1 α Axis to Attenuate Muscle Loss in Diabetic db/db Mice. *Front Physiol*. 2018;9:636. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00636>
66. Nahid MA, Satoh M, Chan EK. Mechanistic role of microRNA-146a in endotoxin-induced differential cross-regulation of TLR signaling. *J Immunol*. 2011;186(3):1723-34. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1002311>
67. Saba R, Sorensen DL, Booth SA. MicroRNA-146a: A Dominant, Negative Regulator of the Innate Immune Response. *Front Immunol*. 2014;5:578. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00578>
68. Meisgen F, Xu Landén N, Wang A, Réthi B, Bouez C, Zuccolo M, et al. MiR-146a negatively regulates TLR2-induced inflammatory responses in keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2014;134(7):1931-40. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.89>
69. Bayraktar R, Bertilaccio MTS, Calin GA. The interaction between two worlds: MicroRNAs and toll-like receptors. *Front Immunol*. 2019;10:1053. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01053>