

## Original Article

# The effect of 8 weeks high- intensity interval training and combined training on miR-16 expression in peripheral mononuclear blood cells of overweight/obese middle-aged women

Zhaleh Pashaei<sup>1</sup>, Afshar Jafari<sup>2,3\*</sup>, Mohammadreza Alivand<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. Student, Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Department of Biological Sciences in Sport, Faculty of Sport Sciences and Health, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\*Corresponding author; E-mail: afshar.jafari@gmail.com and af\_jafari@sbu.ac.ir

Received: 25 Apr 2019 Accepted: 16 Jun 2019 First Published online: 24 Feb 2021  
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2021;42(6):745-755

## Abstract

**Background:** MicroRNAs are short non-coding RNA molecules that regulate different biological processes through regulating the expression of different genes and the miR-16 is one of the miRNAs that play an important role in obesity-related disorders. Therefore, the present study was conducted to determine the effect of high- intensity interval training (HIIT) alone and combined with resistance training (CHRT) on miR-16 expression in PBMCs of overweight/ obese middle-aged women.

**Methods:** Twenty-four overweight/obese, inactive, health middle-aged women participated in two homogeneous groups HIIT (5 bouts of running at 80%–85% of VO<sub>2</sub>max with active breaks at 60% of VO<sub>2</sub>max, 5 days/week, n=12) and CHRT protocols (3 day/week HIIT with 2 day/week resistance training protocol with 75-80% of 1-RM, n=12) for eight- week. MiR-16 expressions in PBMCs of overweight/obese middle-aged women were measured by real time- PCR before and 48h after the training protocols.

**Results:** Expression of miR-16 increased significantly in the both training protocols (HIIT: 2.32 fold, p=0.001 and CHRT: 4.96, p=0.006). However, there was no significant difference found between training protocols.

**Conclusion:** The eight weeks of HIIT and CHRT training are lead to equally changes in the expression of miR-16, as an anti-inflammatory epigenetic factor, in PBMCs of overweight/obese women.

**Keywords:** Mir-16, High-Intensity Interval Training, Combined Training, Overweight/Obesity

**How to cite this article:** Pashaei Zh, Jafari A, Alivand MR. [The effect of 8 weeks High- intensity interval training and combined training on miR-16 expression in peripheral mononuclear blood cells of overweight/obese middle-aged women]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(6):745-755. Persian.

## مقاله پژوهشی

# تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و ترکیبی بر بیان miR-16 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان میان‌سال دارای اضافه‌وزن و چاق

ژاله پاشایی<sup>۱</sup>، افشار جعفری<sup>۲،۳</sup>، محمدرضا علیوند<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۳</sup> گروه علوم زیستی در ورزش، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران  
<sup>۴</sup> گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز، تبریز، ایران  
\* نویسنده مسئول؛ ایمیل: afshar.jafari@gmail.com و af\_jafari@sbu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۲/۵ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۶ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۱۲/۶  
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۷۵۵-۷۴۵:(۶)۴۲:۱۳۹۹

## چکیده

**زمینه:** microRNA ها مولکول‌های RNA غیرکدکننده کوتاهی هستند که از طریق تنظیم بیان ژن‌های مختلف، فرآیندهای زیستی متفاوتی را کنترل می‌کنند، که miR-16 یکی از miRNA های است که در بروز اختلالات مرتبط با چاقی نقش مهمی ایفا می‌کند؛ بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف تعیین تاثیر دو نوع تمرین تناوبی با شدت بالا (HIIT) به‌تنهایی و همراه با تمرین مقاومتی (CHRT) بر بیان miR-16 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان میان‌سال مبتلا به اضافه‌وزن/چاقی انجام شد.

**روش کار:** ۲۴ زن میان‌سال اضافه‌وزن/چاق، غیرفعال و سالم به‌مدت ۸ هفته در دو گروه همگن (۱۲ نفری) تمرین HIIT (وهله‌های دویدن به‌صورت پنج تکرار چهار دقیقه‌ای با ۸۰ تا ۸۵٪ Vo<sub>2</sub>max و دو دقیقه استراحت فعال با ۶۰٪ Vo<sub>2</sub>max بین تکرارها، پنج روز/هفته) و CHRT (سه روز HIIT و دو روز تمرین مقاومتی با ۸۰-۷۵٪ RM-۱) شرکت کردند. بیان miR-16 در PBMCs طی ۴۸ ساعت قبل و بعد از دوره تمرین، به‌روش Real-time PCR ارزیابی شد، سپس برای ارزیابی تفاوت‌های درون‌گروهی و بین‌گروهی داده‌ها به‌ترتیب از آزمون‌های تی زوجی و مستقل استفاده شد.  
**یافته‌ها:** بیان miR-16 در هر دو نوع پروتکل تمرینی HIIT و CHRT به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (HIIT: ۲/۳۲ برابر، p=۰/۰۰۱ و CHRT: ۴/۹۶ برابر، p=۰/۰۰۶)؛ با این وجود، تفاوت معنی‌داری در میزان بیان miR-16 میان دو نوع پروتکل تمرینی مشاهده نشد.  
**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل بیان‌گر این است که هشت هفته تمرین HIIT و CHRT به‌طور تقریباً مشابهی باعث بیان miR-16 به‌عنوان یک عامل اپی‌ژنتیکی ضدالتهاپی در زنان چاق می‌شود.

**کلید واژه‌ها:** miR-16، تمرین تناوبی با شدت بالا، تمرین ترکیبی، اضافه‌وزن/چاقی

نحوه استناد به این مقاله: پاشایی ژ، جعفری ا، علیوند م. ر. تاثیر هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا و ترکیبی بر بیان miR-16 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان میان‌سال دارای اضافه‌وزن و چاق. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۷۵۵-۷۴۵:(۶)۴۲:۱۳۹۹

حق تالیف برای مولف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده 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

غیرکدکننده کوتاهی (۱۸-۲۳ نوکلئوتیدی) هستند که غالباً بیان ژن را از طریق تخریب mRNA یا ممانعت از ترجمه در مرحله پس‌ترجمه‌ای، به‌طور منفی تنظیم می‌کنند. بیان miRNA ها به‌طور ویژه‌ای در واکنش به شرایط پاتولوژیکی یا فیزیولوژیکی مختلف مانند چاقی، التهاب، سرطان، بیماری قلبی عروقی و فعالیت ورزشی تغییر می‌یابند (۵). MiR-16 از miRNA های مرتبط با چاقی مانند اختلالات متابولیکی و بیماری قلبی عروقی است. ژو و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که بیان miR-16 در موش‌های مبتلا به آترواسکلروزیس و سلول‌های فوم کاهش می‌یابد (۶). نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که miR-16 ممکن است با اتصال به ژن‌های مختلف مورد هدف در شرایط مختلف نقش متفاوتی داشته باشد (۷). MiR-16 یکی از miRNA های درگیر در کنترل آنژیوژنز و یکپارچگی عروق است و به‌طور منفی با آنژیوژنز عروقی، آپوپتوز و وضعیت التهابی مرتبط با چاقی در ارتباط است. به‌طوری‌که پیشنهاد شده miR-16 از طریق کنترل بیان VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) و BCL-2 (B-cell Leukemia/lymphoma 2) الفاکتنده فرآیندهای آنتی‌آنژیوژنیک و آپوپتوز است (۹،۸)؛ همچنین در سال‌های اخیر، مدارکی نقش مولکولی miRNA ها را در دستگاه ایمنی و التهابی تبیین کرده‌اند. در این رابطه محققان گزارش کرده‌اند که miR-16 می‌تواند از طریق تعدیل مسیرهای پیام‌رسانی پیش‌التهابی (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , PDCD4) نقش تنظیمی منفی بر شروع و پیشرفت بیماری آترواسکلروزیس یا تصلب شرایین همراه با اختلالات متابولیکی مرتبط با چاقی داشته باشد (۶). از طرفی، انجام انواع فعالیت‌های بدنی منظم به‌عنوان ابزار درمانی غیردارویی می‌تواند از طریق تأثیر بر الگوی بیان miRNA ها در سلول‌های مختلف نقش مهمی در پیشگیری و درمان چاقی و اختلالات مرتبط با آن ایفا کند. محققان طی مطالعات محدودی تأثیر فعالیت بدنی بر تغییرات miR-16 را از نظر آنژیوژنز و آپوپتوز بررسی کرده‌اند، و نتایج حاصل بیان می‌کند که تمرین بدنی می‌تواند از طریق تغییر بیان miR-16 بر سطوح VEGF و BCL-2 تأثیر گذاشته و با کنترل عوامل آپوپتیک و آنژیوژنیک از ناهنجاری‌های عروقی جلوگیری کند (۸،۷) با این وجود نتایج متناقضی نیز گزارش شده است (۱۰،۱۱). نتایج تحقیقات محدود انجام شده در رابطه با تأثیر تمرینات ورزشی بر سطوح miRNA ها، بیان می‌کند که تغییرات miRNA ها به‌دنبال انجام انواع فعالیت‌های هوازی و مقاومتی به‌دلیل تفاوت در سازوکارهای درگیر متفاوت است، اما مکانیسم‌های درگیر در این فرآیند هنوز مبهم هستند (۱۲،۱۳). با این وجود، وال و همکاران و هوراک و همکاران تغییرات یکسانی را در الگوی بیان miR-16 در هوراک و همکاران به انواع تمرینات با شدت‌ها و حجم مختلف در افراد تمرین کرده گزارش کرده‌اند (۱۱،۱۴). اما تاکنون تأثیر تمرینات

امروزه در سراسر دنیا اضافه وزن/ چاقی یا تجمع توده چربی اضافی به‌عنوان یکی از مشکلات جدی سلامت مطرح شده است و تعداد زیادی از افراد در تمام سنین را مبتلا کرده است. به‌طوری‌که میزان چاقی در سه دهه گذشته ۳ برابر شده و بیشتر از یک میلیارد نفر در سراسر دنیا به اضافه وزن یا چاقی مبتلا هستند. در سال ۲۰۱۳ انجمن پزشکی آمریکا برای تأکید بر اهمیت سلامت عمومی، چاقی را به‌عنوان یک بیماری سوخت و سازی معرفی کرده است. در واقع، چاقی بیماری چندعاملی است که از تعامل عوامل ژنتیک و محیطی حاصل می‌شود و زمینه را برای بروز انواع بیماری‌ها فراهم می‌کند (۱). همچنین یافته‌های برخی از مطالعات حاکی از این است که اغلب اوقات چاقی با وضعیت التهابی عمومی مزمن و افزایش نشانگرهای التهابی همراه است که احتمالاً با افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی توسط بافت‌ها یا سلول‌های مختلف مانند ماکروفاژهای بافت چربی، سلول‌های اندوتلیال عروقی و سلول‌های تکه‌سته‌ای خون محیطی (Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)) در بروز بیماری قلبی - عروقی نقش مهمی ایفا می‌کند (۲). PBMC های گردش خون، در معرض محیط سیستمیک و تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله عوامل متابولیک مانند دیس‌لیپیدی و مولکول‌های التهابی تولید شده توسط سایر اندام‌ها و بافت‌ها قرار می‌گیرند، بنابراین ممکن است تحت این شرایط برنامه‌ریزی شده و به‌طور مستقیم در التهاب مزمن مرتبط با چاقی دخالت داشته باشند. PBMC ها از لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها (پیش‌ساز ماکروفاژها هستند) تشکیل شده‌اند و ماکروفاژها در پاسخ‌های التهابی، با نفوذ در بافت چربی و دیواره عروق نقش کلیدی در پیشرفت آترواسکلروز ایفا می‌کنند (۳). مطالعات نشان داده‌اند اصلاح سبک زندگی بر اساس فعالیت ورزشی یکی از پایه‌های اصلی درمان چاقی است. فعالیت بدنی منظم، تندرستی و سبک زندگی عمومی را به روش‌های مطلوبی مانند ممانعت و کاهش خطر بروز بیماری‌های متابولیکی و بیماری‌های مرتبط با سن، قلبی عروقی، ایمنی و سرطان تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌این‌صورت که برنامه‌های تمرینی ویژه‌ای مسیرهای پیام‌رسانی خاصی را تغییر داده و جنبه‌های مختلف مرتبط با فعالیت ورزشی مانند آنژیوژنز، التهاب، سازگاری‌های متابولیکی و غیره را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴،۱). سازوکارهای مولکولی این تغییرات فیزیولوژیکی که میان گروه‌های مختلف افراد متفاوت است، هنوز آشکار نشده است. بنابراین، سازگاری‌های ناشی از فعالیت بدنی ممکن است توسط عوامل اپی‌ژنتیک مانند microRNA های غیرکدکننده (miRNA) قابل توضیح باشد (۵).

Micro Ribonucleic Acid (miRNA) ها، یکی از سازوکارهای اصلی اپی‌ژنتیک در تنظیم بیان ژن بوده و مولکول‌های RNA

(IR.TBZMED.REC.1396.485)، انجام شد. جامعه آماری تحقیق حاضر از میان زنان فرهنگی سازمان آموزش و پرورش ناحیه چهار تبریز، میان سال (با دامنه سنی ۳۵ تا ۵۰ سال)، غیرفعال، سالم (عدم ابتلا به بیماری‌های عضلانی اسکلتی و متابولیکی)، ولی مبتلا به اضافه‌وزن/چاقی ( $BMI > 25$ ) بودند، سابقه مصرف دخانیات و الکل در هیچ‌یک از آزمودنی‌ها وجود نداشت. آزمودنی‌های تحقیق به مدت ۶ هفته قبل از شروع و حین اجرای پروتکل تحقیق، عادت به مصرف مکمل (مانند: ویتامین‌ها، پروتئین و غیره) و داروهای OTC (Over-the-Counter) نداشتند. قبل از شروع دوره تمرینی روش اجرای تمامی مراحل تحقیق، بروز خطرات احتمالی و فواید ناشی از برنامه تمرینی به‌طور کامل به آزمودنی‌ها توضیح داده شد، سپس ۲۸ نفر از افراد دارای شرایط فرم رضایت آگاهانه جهت شرکت در تحقیق حاضر را امضا کرده و به‌صورت تصادفی در دو گروه همگن ۱۴ نفری HIIT و CHRT تقسیم شدند (جدول ۱). اما چهار نفر از داوطلبان قبل از شروع دوره اصلی تمرین، به دلیل فقدان آمادگی بدنی کافی (مشکلات مفصلی و عدم همکاری به‌طور منظم جهت شرکت در تمرین) از تحقیق خارج شدند. بنابراین، ۲۴ نفر از داوطلبین توانستند در همه مراحل تحقیق شرکت داشته باشند و جهت تعیین حجم نمونه، نرم افزار تحت شبکه Statstodo استفاده شد. هردو گروه تمرینی نیز با استفاده از شاخص‌های BMI، درصد چربی بدنی و توان هوازی همگن‌سازی شدند و طی یک هفته قبل از شروع تمرینات، میزان قدرت گروه‌های عضلانی با استفاده از آزمون‌های RM-1 (۱) - Repetition Maximum Test) و توان هوازی بیشینه ( $VO_2max$ ) نوارگردان Bruce (Horizon ساخت آمریکا) برآورد شد. درصد چربی بدنی و توده چربی با استفاده از ضخامت‌سنج چین پوستی (کالیپر چربی‌سنج دوفنره Slinguide) و روش سه‌نقطه‌ای (سه سر بازو، فوق خاصره، ران) جکسون و پولاک اندازه‌گیری شد (۱۹). جریان شرکت آزمودنی‌ها در تحقیق حاضر و فرآیند اجرا در نمودار ۱ آورده شده است. برنامه‌های تمرینی شامل دو دوره آماده‌سازی و دوره اصلی تمرین بود؛ دوره آماده‌سازی طی دو هفته طول کشید و دوره اصلی تمرین نیز شامل هشت هفته بود که به‌دنبال دوره آماده‌سازی طی هفته سوم تا دهم اجرا شد. میزان هزینه کالریک برنامه تمرینی دوره آماده‌سازی در شروع دوره برای هر دو گروه نیز ۲ کیلوکالری/کیلوگرم/روز بود و تا هفته دوم حدود ۰/۵ کیلوکالری/کیلوگرم/روز در هر جلسه به هزینه کالری تمرینی افزوده شد و طی دوره اصلی تمرین نیز در میزان ۶ کیلوکالری/کیلوگرم/روز ثابت باقی‌ماند. به دلیل تاثیرگذاری عادات غذایی بر تغییرات بیان miRNAها، در کل دوره انجام پروسه تحقیق از آزمودنی‌ها تقاضا شد که عادات غذایی خود را تغییر ندهند بنابراین پس از تکمیل فرم یادآمد ۲۴ ساعته رژیم غذایی به‌صورت هفتگی توسط آزمودنی‌ها، میانگین کالری دریافتی از

بدنی بر تغییرات بیان miR-16 از جنبه عملکرد ایمنی و التهاب و اهمیت تاثیر آن بر عملکرد قلبی‌عروقی به‌ویژه در PBMCs، که تاثیر زیادی بر سلامت قلبی‌عروقی دارد، بررسی نشده است. نتایج مطالعات اخیر، بر اثربخشی HIIT (High- Intensity Interval Training)، به‌عنوان وهله‌های فعالیت ورزشی با شدت بسیار زیاد به‌همراه استراحت فعال با شدت پایین، بر جنبه‌های مختلف زیستی اشاره دارد. این شیوه تمرینی از نظر زمانی، یک روش بسیار کارآمد بوده و مزایای متابولیکی زیادی را دارد. در بین تحقیقات انجام شده در زمینه تاثیرات تمرین HIIT، برخی نتایج اشاره دارند که انجام این نوع تمرین به‌تنهایی با عدم تغییر (۱۵) یا افزایش سایتوکاین‌های التهابی همراه است (۱۶). همچنین با توجه به مدارک موجود، تمرینات مقاومتی با افزایش توده عضلانی اثرات مثبتی بر مصرف انرژی بالا و کاهش میزان التهاب مزمن درجه پایین به‌ویژه در وضعیت‌های مرتبط با چاقی و بیماری‌های متابولیکی دارد و موجب کاهش واکنش مربوط به گیرنده‌های التهابی و سایتوکاین‌های التهابی می‌شود (۱۷). با توجه به یافته‌های یادشده و طبق جدیدترین دستورالعمل‌های ورزشی، انجام تمرین HIIT در ترکیب با تمرین مقاومتی تداخلات مولکولی ناشی از انجام تمرین هوازی در ترکیب با تمرین مقاومتی را کاهش می‌دهد (۱۸). همچنین، پیشنهاد شده است که انجام تمرین ترکیبی، سلامتی متابولیکی و قلبی‌عروقی بیشتری ایجاد کرده و افراد سبک زندگی بهتری خواهند داشت (۱۳). با این وجود، هنوز تحقیقی در زمینه تاثیر تمرین HIIT و ترکیبی بر میزان بیان miR-16 در افراد چاق به‌ویژه در PBMCها، انجام نشده است. تنها فرناندس و همکاران (۲۰۱۸) واکنش بیان miR-16 را نسبت به تمرین هوازی در بافت قلبی موش‌های چاق بررسی کردند که تمرین هوازی باعث افزایش معنی‌دار miR-16 شد (۱۴). از آنجایی که مطالعات اخیر پیشنهاد می‌کنند که miRNAها در تعاملات بین سلولی درگیر می‌شوند، بنابراین تغییرات در بیان miRNAها ممکن است بازتابی از جزئیات تغییرات واکنش نسبت به فعالیت ورزشی باشد (۵) و با توجه به اهمیت PBMCها در اختلالات قلبی متابولیکی افراد چاق و مبهم بودن تاثیر انواع تمرین بدنی بر چگونگی تغییرات miR-16 در PBMCهای افراد چاق، تحقیق حاضر برای تعیین تاثیر دو نوع برنامه تمرینی HIIT به‌تنهایی و همراه با تمرینات مقاومتی (Combined HIIT and Resistance Training (CHRT)) بر بیان miR-16 در PBMCها در زنان میان‌سال مبتلا به اضافه‌وزن/چاقی انجام شد.

## روش کار

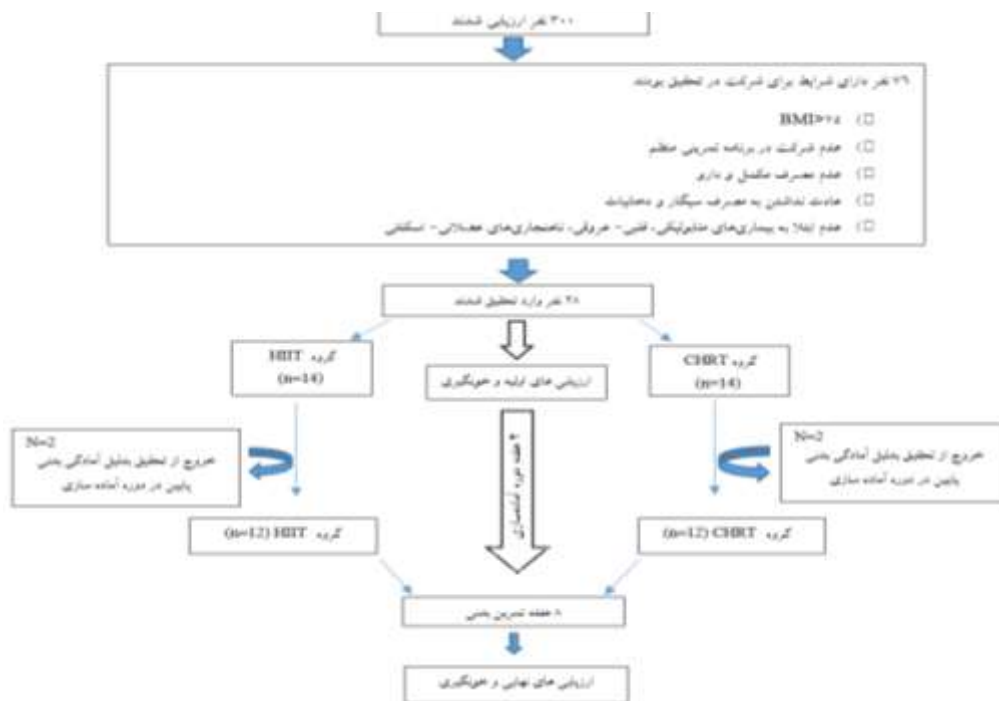
تحقیق حاضر، در قالب طرح‌های نیمه‌تجربی دوجروهبی پیش‌آزمون-پس‌آزمون و پس از تایید از نظر اخلاق در پژوهش از کمیته اخلاق تحقیقاتی منطقه‌ای دانشگاه علوم پزشکی تبریز

برنامه تمرینی تحقیق حاضر بر اساس جدیدترین دستورالعمل‌های تجویز شده به صورت محقق ساخته برای حفظ سلامتی انتخاب شد (۲۰).

### شیوه جمع‌آوری نمونه‌های خونی و ارزیابی عوامل بیوشیمیایی

آزمودنی‌ها طی ۴۸ ساعت قبل و بعد از آخرین جلسه دوره تمرینی (قبل و پس از هشت هفته تمرین) حدود ساعت ۷:۳۰ تا ۸ صبح، به صورت ناشتا، جهت خون‌گیری از ورید آنتی‌کوبیتال در آزمایشگاه حضور یافتند. شاخص‌های لیپیدی شامل کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL به روش کالری‌متری، کیت شرکت پارس آزمون و با دستگاه Hitachi 912 (کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) ارزیابی شد. میزان گلوکز ناشتا با استفاده از روش آنزیماتیک توسط دستگاه اتوآنالایزر و کیت پارس آزمون و میزان انسولین سرمی نیز با استفاده از روش الایزا و کیت پارس آزمون اندازه‌گیری شد، شاخص مقاومت به انسولین با استفاده از فرمول HOMA-IR براساس حاصل ضرب غلظت قند ناشتا (mmol/l) در غلظت انسولین ناشتا (μ/ml) تقسیم بر عدد ثابت ۲۲/۵، محاسبه شد.

طریق رژیم غذایی هر دو گروه تمرین توسط نرم‌افزار محاسبه کالری تقریباً ۲۰۰۰ کیلوکالری/کیلوگرم/روز برآورد شد و از آزمودنی‌ها تقاضا شد تا انتهای پروسه تحقیق از تغییر رژیم غذایی و کالری دریافتی خود پرهیز کنند. طی دوره اصلی تمرین، جلسات HIIT به صورت پنج جلسه/هفته اجرا شد و جلسات تمرینی شامل ۱۰ دقیقه گرم کردن (دویدن با شدت ۶۰٪ VO<sub>2</sub>max و حرکات کششی پویا)، وهله‌های دویدن به صورت پنج تکرار چهار دقیقه‌ای با ۸۵-۸۰٪ VO<sub>2</sub>max و دو دقیقه استراحت فعال با ۶۰٪ VO<sub>2</sub>max بین تکرارها و به مدت تقریباً ۴۷ دقیقه بود. جلسات CHRT نیز شامل سه جلسه/هفته تمرین HIIT (مطابق برنامه توضیح داده شده) و دو جلسه/هفته تمرین مقاومتی دایره‌ای (هشت حرکت پرس پا، پرس سینه، جلوپا سیم‌کش، بالاسینه، زیربغل پارویی سیم‌کش، پشت پا سیم‌کش، زیربغل دست باز سیم‌کش و ساق پا) بود. برنامه تمرین مقاومتی در هفته اول شامل: سه نوبت ۱۰ تا ۱۲ تایی با ۶۵-۷۰٪ RM-۱ در هفته دوم تا هشتم نیز شامل سه نوبت ۸ تا ۱۰ تایی با ۷۵-۸۰٪ RM-۱ و به مدت تقریباً ۸۰ دقیقه بود. مدت استراحت میان نوبت‌ها و ایستگاه‌ها، به ترتیب ۹۰ ثانیه و ۱۲۰ ثانیه بود. قبل از شروع حرکت هر ایستگاه، یک نوبت گرم کردن (۱۰ تایی با شدت ۵۰٪ RM-۱ و ۶۰ ثانیه استراحت) انجام شد. شدت تمرین طی جلسات HIIT با استفاده از دستگاه ضربان‌سنج پولار (Polar Pacer, Lake Success, NY, USA) کنترل می‌شد.



نمودار ۱: فرآیند شرکت آزمودنی‌ها و اجرای تحقیق

## جداسازی PBMCها

از روش شیب غلظتی فایکول، برای جداسازی PBMCها استفاده شد. سپس یک میلی‌لیتر تریزول (Ribox- RNA extraction reagent، ساخت کره، ۱۳۸-۸۵۹) به نمونه‌های حاوی PBMC افزوده شد و در نهایت تا زمان استخراج RNA، در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

## استخراج RNA

مراحل استخراج RNA، طبق دستورالعمل شرکت سازنده تریزول انجام شد. ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به میکروتیوب‌های حاوی PBMC اضافه شد و پس از انجام ورتکس به مدت ده ثانیه و سانتریفیوژ با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، فاز آبی حاوی RNA به میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری انتقال داده شد. پس از افزودن ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپرانول، میکروتیوب‌ها به مدت یک شب (Overnight) در دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور دوباره سانتریفیوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفید رنگ به میکروتیوب‌ها مشاهده شد. بعد از سانتریفیوژ و جداسازی رسوب، یک میلی‌لیتر اتانول اضافه و ورتکس و سانتریفیوژ انجام شد. سپس رسوب مورد نظر در ۳۰ میکرولیتر آب تیمار شده با DEPC حل شد. پس از استخراج RNA، کمیته و کیفیت آن توسط دستگاه نانودراپ (NanoDrop مدل ONE<sup>C</sup>)، ساخت شرکت ترمو آمریکا) بررسی گردید و تا زمان سنتز cDNA در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

## ارزیابی بیان microRNA ها به روش Real-time PCR

برای ارزیابی بیان miR-16 از تکنیک Real-Time PCR و دستگاه mic PCR (شرکت سازنده bms، استرالیا) استفاده شد. برای انجام Real-Time PCR برای هر نمونه cDNA، یک Reaction در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر مطابق دستورالعمل مقابل تهیه شد. ۵ میکرولیتر Syber Green without ROX (Real Q Plus 2xmaster, AMPLIQON, catalog no: A323499, ۰/۳، Denmark)، ۰/۳ میکرولیتر پرایمر مستقیم (فوروارد) و ۰/۳ میکرولیتر پرایمر معکوس (ریورس)، ۳/۴ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر استریل و ۱ میکرولیتر نمونه cDNA تهیه شد. یک نمونه کنترل منفی با عنوان NTC (No Template Control) برای تعیین آلودگی (به جای cDNA، ۱ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد) آماده شد. همچنین برای هر نمونه cDNA نیز یک نمونه کنترل مثبت جهت آزمون حضور cDNA تهیه شد. جهت آنالیز میزان بیان ژن مورد نظر از ژن مرجع miR- U6 استفاده شد. واکنش‌ها به صورت سه تکرار (Triplicate) در دستگاه mic PCR طبق برنامه دو مرحله‌ای زیر اجرا شد. ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (واسرشته شدن اولیه) و ۴۰ چرخه سه مرحله‌ای، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (واسرشته شدن ثانویه)، ۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (اتصال پرایمرها) و ۲۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (گسترش) CT های (Cycle Threshold) مربوط به واکنش‌ها توسط نرم‌افزار دستگاه Real-time PCR استخراج و ثبت شد و سپس میانگین CT ها به نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ منتقل و جهت کمی‌سازی میزان بیان ژن نسبت به ژن مرجع (Fold change)، از فرمول  $2^{-\Delta\Delta ct}$  استفاده شد (۲۱).

## روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های نهایی حاصل از فرمول  $2^{-\Delta\Delta ct}$ ، با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ (SPSS/IBM, Chicago, IL, USA, ۲۳)، در سطح معنی‌داری برابر و کمتر از پنج درصد به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ( $M \pm SD$ ) تجزیه و تحلیل شد. ابتدا با آزمون شاپیروویلیک وضعیت طبیعی داده‌ها تعیین و سپس تفاوت‌های درون‌گروهی و بین‌گروهی داده‌ها با آزمون‌های تی زوجی و مستقل بررسی شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

## یافته‌ها

داده‌های حاصل از تجزیه و تحلیل آماری عوامل آنروپومتریکی و عوامل بیوشیمیایی به تفکیک گروه به ترتیب در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

## سنتز cDNA

برای هر نمونه، سنتز cDNA طی مراحل زیر انجام شد. ۱ میکرولیتر DNTP، ۲ میکرولیتر بافر، ۱ میکرولیتر پرایمر Stemloop (STL) از miRNA مورد نظر، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم ترانس کریپتاز معکوس (Thermo Fisher Scientific) و حجم مورد نظر از RNA را ریخته و سپس مخلوط مورد نظر با آب دو بار تقطیر استریل، به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس جهت سنتز طبق شیوه سه مرحله‌ای مقابل در دستگاه ترموسایکلر (Analytikjena) ساخت کشور آلمان) قرار داده شد. ۳۰ دقیقه در ۱۶ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه در ۴۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد. سپس نمونه‌های cDNA ساخته شده تا زمان انجام Real-time PCR در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تمامی مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل ۷۵٪ و نور UV) انجام شد.

جدول ۱: تغییرات عوامل آنترپومتریک زنان میان‌سال مبتلا به اضافه وزن/چاقی طی برنامه ۸ هفته‌ای HIIT و CHRT

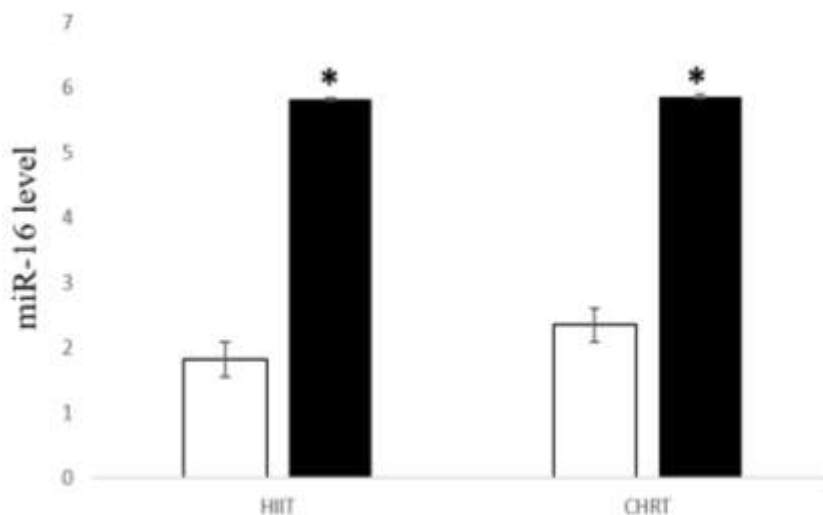
P بین گروهی	گروه CHRT		گروه HIIT		متغیرها	
	P درون گروهی	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	P درون گروهی		پس‌آزمون
-----	-----	-----	۴۲/۳±۴/۷	-----	سن	
-----	-----	-----	±۵/۲ ۱۵۷/۳	-----	قد (سانتی‌متر)	
۰/۰۵P>	۰/۰۲P=*	۷۲/۱±۸/۱	۷۴/۱±۷/۹	۰/۰۵P>	۷۲/۰±۸/۱	وزن (کیلوگرم)
۰/۰۰۱P<	۰/۰۰۱P<*	۰/۹±۰/۰۶	۰/۹±۰/۰۵	۰/۰۵P>	۰/۹±۰/۰۷	WHR
۰/۰۵P>	۰/۰۲P=*	۲۹/۵±۲/۵	۳۰±۲/۵	۰/۰۵P>	۲۹/۴±۳/۶	BMI (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۰۵P>	۰/۰۰۱P<*	۴۴/۳±۸/۵	۳۳/۸±۷/۹	۰/۰۰۱P<*	۴۲/۵±۶/۲	VO <sub>2</sub> max (میلی‌لیتر / کیلوگرم / دقیقه)
۰/۰۰۱P<	۰/۰۰۱P<*	۴۰/۲±۵/۹	۲۹/۵±۵/۶	۰/۰۰۱P=*	۲۹/۹±۲/۸	میانگین RM <sup>۱</sup> (کیلوگرم)
۰/۰۵P>	۰/۰۰۱P<*	۳۶/۹±۳/۴	۴۳/۷±۲/۵	۰/۰۰۱P<*	۳۵/۵±۳/۵	درصد چربی بدنی

\* نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) درون گروهی،  $\neq$  نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ( $P > 0.05$ ) بین گروهی است. برنامه HIIT شامل تمرینات شدید تناوبی و برنامه CHRT ترکیبی از تمرینات شدید تناوبی همراه با تمرینات مقاومتی است.

جدول ۲: تغییرات عوامل بیوشیمیایی زنان میان‌سال مبتلا به اضافه وزن/چاقی طی برنامه ۸ هفته‌ای HIIT و CHRT

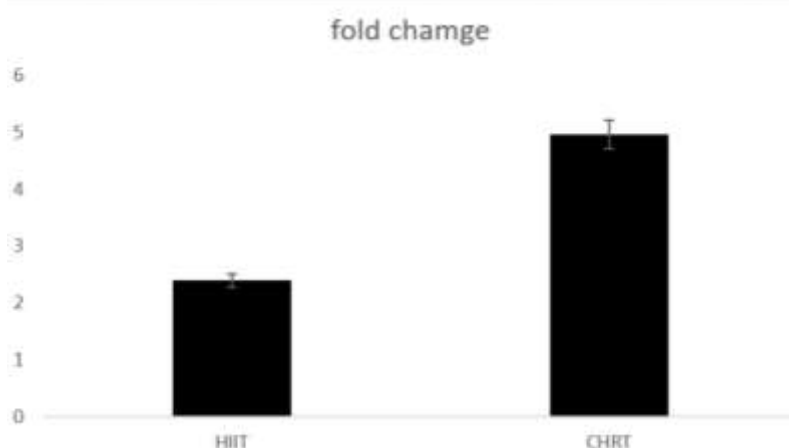
P بین گروهی	گروه CHRT		گروه HIIT		متغیرها		
	P درون گروهی	پس‌آزمون	پیش‌آزمون	P درون گروهی		پس‌آزمون	
$\neq P = 0.04$	$*P < 0.001$	۱۷۱/۲±۳۰/۹	۲۰۰/۹±۹/۹	$*P = 0.05$	۱۸۲/۰±۲۷/۴	۱۹۹/۰±۱۰/۴	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
$\neq P < 0.001$	$*P < 0.001$	۱۴۷/۲±۱۰/۶	۱۶۸/۹±۱۱/۷	$*P < 0.001$	۱۶۰/۴±۱۳/۷	۱۶۸/۴±۱۳/۰	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
$\neq P = 0.009$	$*P = 0.001$	۴۰/۶±۵/۸	۳۳/۸±۴/۰	$*P = 0.01$	۳۴/۳±۵/۳	۳۲/۲±۵/۱	HDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
$\neq P = 0.04$	$*P = 0.007$	۱۰۱/۰±۳۳/۷	۱۳۲/۹±۹/۶	$*P < 0.001$	۱۲۸/۴±۹/۳	۱۳۷/۶±۱۰/۴	LDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
$P > 0.05$	$*P = 0.01$	۹۵/۸±۴/۶	۹۸/۸±۵	$*P = 0.01$	۹۴/۶±۳/۸	۹۷/۸±۳/۸	گلوکز
$P > 0.05$	$*P = 0.02$	۳/۰±۱/۶	۴/۰±۱/۹	$*P = 0.001$	۴/۱±۱/۶	۵/۰±۱/۷	انسولین
$P > 0.05$	$*P = 0.02$	۱/۰±۰/۳	۱/۴±۰/۳	$*P < 0.001$	۱/۰±۰/۳	۱/۳±۰/۳	شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR

\* نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) درون گروهی،  $\neq$  نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ( $P > 0.05$ ) بین گروهی است. برنامه HIIT شامل تمرینات شدید تناوبی و برنامه CHRT ترکیبی از تمرینات شدید تناوبی همراه با تمرینات مقاومتی است.



نمودار ۲: تاثیر هشت هفته تمرین HIIT و ترکیبی CHRT بر بیان miR-16 در PBMCs زنان میان‌سال مبتلا به اضافه وزن/چاقی.

\* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) درون گروهی. برنامه HIIT شامل تمرینات شدید تناوبی و برنامه CHRT ترکیبی از تمرینات شدید تناوبی همراه با تمرینات مقاومتی است.



نمودار ۳. تفاوت دامنه اختلافات بین گروهی. تاثیر هشت هفته تمرین HIIT و ترکیبی CHRT بر بیان miR-16 در PBMCs زنان میانسال مبتلا به اضافه وزن/چاقی.

تمرین بدنی قادر به معکوس سازی کاهش عروق ریز در بافت قلبی موش های چاق است. این عروق سازی مرتبط با کاهش بیان miR-16 بود که برای افزایش بیان پروتئین VEGF نیاز است و می تواند از طریق تغییرات عملکردی، جریان خون را بهبود دهد و پیشنهادکننده یک سازوکار برای درمان اساسی بیماران عروقی است (۷). هوراک و همکاران (۲۰۱۸) نیز تاثیر کاهشی پروتکل های تمرینی بر بیان miR-16 را غیراختصاصی عنوان کردند (۱۴). دجین و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که miR-16 با mRNA VEGF در ناحیه غیرقابل ترجمه-۳ (۳' Untranslated Regions) به طور مستقیم تعامل می کند و تنظیم VEGF توسط miR-16 در سطح ترجمه ای اتفاق می افتد (۲۴). تمرین بدنی با تغییر miR-16، عامل های آنژیوژنیک و آپوپتیک مانند BCL-2 یا VEGF را به ترتیب تعدیل می کند (۲۵) و در کاهش فرآیندهای نکثیر، کوچ (Migration)، آنژیوژنز و تشکیل توده در سلول های اندوتلیال نقش مهمی دارد (۸). تصور می شود miRNA های آنژیوژنیک در پاسخ به هایپوکسی و گرادیان سرعتی از سلول های اندوتلیال به گردش خون می ریزند. مطالعات مروری انجام شده اخیر توسط ژو و همکاران (۲۰۱۵) و آلتانا و همکاران (۲۰۱۵) نشان می دهد که سلول های آسیب دیده و آپوپتوز شده توسط فعالیت ورزشی احتمالاً منبع چنین miRNA هایی باشند (۲۲،۵). از آنجایی که miR-16 به دلیل القا آپوپتوز به عنوان یک سرکوبگر تومور شناخته شده است، نشان داده شده که آپوپتوز لنفوسیت ها همزمان با دوره زمانی آزادسازی چنین miRNA هایی اتفاق می افتد (۲۶) با این وجود تحریک های مختلف و واکنش های مولکولی مرتبط میان انواع فعالیت های ورزشی مبهم است. همچنین آنژیوژنیک و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کرده اند که miR-16 تحت تاثیر هیچ کدام از فعالیت های حاد و مزمن قرار نمی گیرد (۱۰). وال و همکاران (۲۰۱۶) نیز در پی سه برنامه ورزشی تمرین با حجم بالا، تمرین با شدت بالا و تمرین تناوبی سرعتی تاثیر افزایشی را در

تمرین HIIT و CHRT موجب افزایش معنی دار در سطوح miR-16 به ترتیب به میزان ۲/۳۹ برابر ( $p=0/006$ ) و ۴/۹۶ برابر ( $p=0/001$ ) شد (نمودار ۲). هرچند، پس از هشت هفته تمرین تفاوت معنی داری در میزان miR-16 میان گروه های HIIT و CHRT مشاهده نشد ( $p>0/05$ ) (نمودار ۳). برنامه HIIT شامل تمرینات شدید تناوبی و برنامه CHRT ترکیبی از تمرینات شدید تناوبی همراه تمرینات مقاومتی است.

## بحث

مطالعات مروری نقش miRNA های گردش خون را در سازگاری ها نسبت به فعالیت بدنی مطرح کرده و نتیجه گرفته اند که miRNA های ویژه ای در پاسخ به برنامه های مختلف ورزشی تغییر می یابند (۲۲،۲۳). یافته های پژوهش حاضر نیز نشان داد هشت هفته تمرین منجر به افزایش معنی دار بیان miR-16 در PBMC های هر دو گروه تمرینی شد. PBMC ها سنسورهای زیستی هستند که چگونگی بیان ژن در آن ها توسط مولکول های تولیدی از تمامی ارگان ها تحت تاثیر فاکتورهای محیطی از قبیل فعالیت ورزشی قرار می گیرند. با این وجود، تاکنون مطالعه ای برای بررسی تاثیر فعالیت ورزشی بر بیان miR-16 در PBMC ها انجام نشده است (۳). نتیجه حاصل از تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده توسط فرناندس و همکاران (۲۰۱۸) و هوراک و همکاران (۲۰۱۸)، که نقش عوامل آنژیوژنیک و آپوپتیک miR-16 را در پاسخ به تمرین بدنی بررسی کردند، ناهمسو است (۱۴،۷). فرناندس و همکاران (۲۰۱۸) به دنبال ۱۰ هفته تمرین هوازی شنا در بافت قلبی موش های چاق و هوراک و همکاران (۲۰۱۸) به دنبال هشت هفته تمرین قدرتی انفجاری، تمرین قدرتی هایپرتروفیک و تمرین تناوبی با شدت بالا در پلاسمای ورزشکاران کاهش بیان miR-16 را گزارش کرده اند (۱۴،۷)؛ در مطالعه فرناندس و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده شد که



کاهش پیام‌رسانی TNF- $\alpha$  و SOCS3 (Suppressor of Cytokine Signaling 3) و افزایش میزان IGFBP-3 (Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 3) منجر به حفاظت سلول‌های اندوتلیال از آپوپتوز ناشی از هایپیرگلیسمی می‌شود (۶) که تمرین بدنی از طریق افزایش بیان miR-16 می‌تواند تأثیر مطلوب درمانی نیز در این زمینه ایفا کند. در مطالعه حاضر، پاسخ فزاینده بیان miR-16 نسبت به هر دو نوع پروتکل تمرینی HIIT و CHRT نیز نشان داده شد. بنابراین مطالعه حاضر، برخلاف برخی مطالعات پیشین (۱۵، ۱۶) بیانگر تأثیر ضدالتهابی تمرین HIIT است؛ تأثیر افزایشی هر دو نوع پروتکل تمرینی نیز می‌تواند دلایل متفاوتی داشته باشد به طوری که از یک سو به دلیل تأثیر ضدالتهابی تمرین بدنی به ویژه تمرین CHRT در PBMCها و تحریک بیان آن در سلول‌های ایمنی باشد به طوری که این تأثیر از طریق جلوگیری از مسیر التهابی و کاهش رهاسازی سیتوکاین‌های پیش‌التهابی، می‌تواند با وضعیت التهابی مرتبط با چاقی مقابله کند و افزایش بیان miR-16 در PBMCها و نفوذ ماکروفاژها در بافت چربی و پلاک‌های آترواسکلروتیک می‌تواند مانع از بروز بیماری‌های قلبی-عروقی و متابولیکی گردد (۳). همچنین با توجه به مبانی تحقیقات، miRNAها می‌توانند از سلول‌های مختلف (مانند سلول‌های عضلانی) به خون و دیگر مایعات بدن وارد شده و از طریق ورود به برخی از عناصر مانند PBMCها، وزیکول‌ها، آگزوزوم‌ها و در اتصال با لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (High Density Lipoprotein) (HDL) (Lipoprotein) گردش کنند و مقادیر آن‌ها درون عناصر مذکور افزایش یابد. این ویژگی miRNAها را نسبت به آنزیم‌های تجزیه کننده (RNases) درون‌زا مقاوم می‌سازد و این موجب شده است تا این مولکول‌ها به عنوان نشانگرهای احتمالی وضعیت سلامتی و بیماری مطالعه شوند (۳۰). با این وجود تفاوت معنی‌داری میان پاسخ فزاینده برنامه‌های تمرینی وجود نداشت که با گزارشات وال و همکاران (۲۰۱۶) و هوراک و همکاران (۲۰۱۸) در رابطه با عدم تفاوت تأثیر انواع فعالیت بدنی بر بیان miR-16 همسو است (۱۱، ۱۴). در کل، اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد که واقعیت تفاوت بیان miRNAها را میان برنامه‌های مختلف ورزشی و مکانیسم بیان miRNAها در پاسخ به تمرین بدنی نشان دهند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به اثر مطلوب تمرینات HIIT و CHRT بر تنظیم اپی‌ژنتیکی فرآیندهای درگیر در التهاب و کارکردهای قلبی-عروقی و با در نظر گرفتن این که miR-16 ژن‌هایی را که چندین مسیر بازسازی ژن را تعدیل می‌کند، هدف قرار می‌دهد و بر مسیرهای فیزیولوژیکی متفاوتی تأثیر می‌گذارد، پیشنهاد می‌شود جهت آشکارسازی دقیق سازوکارهای مولکولی درگیر، در تحقیقات آینده اثر برنامه‌های مختلف تمرینی به صورت اختصاصی‌تر بر الگوی

ورزشکاران تمرین کرده گزارش کردند که همسو با نتیجه تحقیق ما است، این محققان پیشنهاد کردند که نقش سرکوب‌گر miR-16 می‌تواند توسط افزایش miR-126 که منجر به افزایش تولید VEGF می‌شود، کنار گذاشته شود (۱۱). همچنین، گزارش برخی از مطالعات حاکی از آن است که miR-16 در عملکردهای ایمنی و پیش‌التهابی نیز نقش دارند (۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹)؛ تاکنون بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر اثرات ایمنی miR-16 انجام نشده است و الگوی تغییر miR-16 و سازوکارهای درگیر در تغییر میزان بیان miR-16 در PBMCها، متعاقب انواع برنامه‌های تمرینی مهم است. با این وجود مبانی نظری بیانگر این است که miR-16 توسط اتصال به عامل‌های غنی از AREs (AU) در مناطق 3'UTR منجر به تخریب mRNAهای کدکننده عامل‌های پیش‌التهابی مانند TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ )، IL-6 (Interleukin-6) و IL-8 (Interleukin-8) می‌شود، همچنین miR-16 تنظیم کننده منفی PDCD4 (programmed cell death 4) می‌باشد (۶). تنظیم PDCD4 توسط miR-16 ممکن است فعالیت ماکروفاژهای التهابی را از طریق MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) و NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B) و سایتوکاین‌های التهابی (بیان IL-10 (Interleukin-10)) سرکوب کند، PDCD4 به عنوان یک تنظیم کننده آپوپتوز از طریق AP-1 (Activator Protein-1) است و نشان‌دهنده نقش اساسی PDCD4 در پیشگیری از بیماری قلبی-عروقی است. مسیر MAPK نقش اساسی در بیماری‌های التهابی مانند آترواسکلروزیس دارد. گزارش شده است که پیام‌رسانی MAPK از طریق فعال‌سازی P38 و JNK (c-Jun NH2-Terminal Kinase) در تنظیم سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی (TNF- $\alpha$  و IL-10) نقش اساسی دارد (۲۷). MiR-16 فسفوریلاسیون P38 و ERK (Extracellular Signal-Regulated Kinase) را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و نشان می‌دهد که مسیر P38/ERK ممکن است در میانجی‌گری miR-16 در واکنش التهابی در آترواسکلروزیس نقش داشته باشد. همچنین miR-16 فسفوریلاسیون JNK را سرکوب می‌کند. فسفوریلاسیون JNK منجر به فعال‌سازی NF- $\kappa$ B می‌شود که التهاب عروقی را در شروع و توسعه آترواسکلروزیس میانجی‌گری می‌کند (۲۸). عامل miR-16 از بیان پروتئین mRNA NF- $\kappa$ B جلوگیری می‌کند، مسیر NF- $\kappa$ B نیز منجر به افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از قبیل IL-6 و TNF- $\alpha$  در سلول‌های اندوتلیال می‌شود (۲۹). همچنین سطوح بیان miR-16 با توجه به تغییرات میزان گلوکز تغییر می‌یابد، به طوری که شرایط هایپیرگلیسمی منجر به کاهش میزان بیان miR-16 شده و باعث افزایش معنی‌دار لکوسیتوز، سلول‌های التهابی و ایجاد التهاب می‌شود. تحت شرایط هایپیرگلیسمی miR-16 مولکول‌های پایین‌دست مسیر پیام‌رسانی انسولین را هدف قرار می‌دهند و برای جلوگیری از مقاومت انسولین، miR-16 از طریق

بیان miR-16 و ژن‌های مورد هدف درگیر در مسیرهای التهابی در PBMCها و سایر مسیرها بررسی شود. از محدودیت‌های تحقیق حاضر می‌توان به عدم کنترل دقیق رژیم غذایی و تعداد کم آزمودنی‌ها اشاره کرد، لذا پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده این عوامل به‌طور دقیق کنترل شود.

### منافع متقابل

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافع را اعلام نمی‌کنند.

### ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر در کمیته پزشکی منطقه‌ای اخلاق دانشگاه تبریز استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع IR.TBZMED.REC.1396.485 تایید شده است.

### مشارکت مولفان

در طراحی موضوع مقاله ژب، الف. ج و همکاران، در اجرای مقاله و تحلیل نتایج مطالعه ژب و همکاران، ژب، در تالیف مقاله الف. ج مشارکت داشته‌اند، نسخه نهایی مقاله را ژب و همکاران خوانده و تایید کرده‌اند.

### سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری تمامی آزمودنی‌ها در زمینه اجرای مراحل عملی تحقیق، مسئولین آزمایشگاه ژنتیک و بیوشیمی علوم پزشکی دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می‌کنند. مقاله حاضر، براساس رساله دکتری ثبت شده در دانشگاه تبریز، تهیه شده است.

### منابع مالی

بخش اندکی از بودجه تحقیقاتی توسط منابع مالی دانشگاه تبریز و مابقی به‌صورت شخصی تامین شده است.

### References

1. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i-xii, 1-253. PMID: 11234459.
2. Rada I, Deldicque L, Francaux M, Zbinden-Foncea H. Toll like receptor expression induced by exercise in obesity and metabolic syndrome: A systematic review. *Exerc Immunol Rev*. 2018;24:60-71. PMID: 29461969.
3. Bories G, Caiazzo R, Derudas B, Copin C, Raverdy V, Pigeyre M, Pattou F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. Impaired alternative macrophage differentiation of peripheral blood mononuclear cells from obese subjects. *Diab Vasc Dis Res*. 2012 Jul;9(3):189-95. doi: 10.1177/1479164111430242. Epub 2011 Dec 22. PMID: 22192929; PMCID: PMC3655375.
4. Wadden TA, Webb VL, Moran CH, Bailer BA. Lifestyle modification for obesity: new developments in diet, physical activity, and behavior therapy. *Circulation*. 2012 Mar 6;125(9):1157-70. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.039453. PMID: 22392863; PMCID: PMC3313649.
5. Xu T, Liu Q, Yao J, Dai Y, Wang H, Xiao J. Circulating microRNAs in response to exercise. *Scand J Med Sci Sports*. 2015 Apr;25(2):e149-54. doi: 10.1111/sms.12421. Epub 2015 Feb 3. PMID: 25648616.
6. Liang X, Xu Z, Yuan M, Zhang Y, Zhao B, Wang J, Zhang A, Li G. MicroRNA-16 suppresses the activation of inflammatory macrophages in atherosclerosis by targeting PDCD4. *Int J Mol Med*. 2016 Apr;37(4):967-75. doi: 10.3892/ijmm.2016.2497. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26936421; PMCID: PMC4790696.
7. Fernandes T, Casaes L, Soci Ú, Silveira A, Gomes J, Barretti D, et al. Exercise Training Restores the Cardiac Microrna-16 Levels Preventing Microvascular Rarefaction in Obese Zucker Rats. *Obes Facts*. 2018;11(1):15-24. doi: 10.1159/000454835.
8. Fernandes T, Magalhães FC, Roque FR, Phillips MI, Oliveira EM. Exercise training prevents the microvascular rarefaction in hypertension balancing angiogenic and apoptotic factors: role of microRNAs-16, -21, and -126. *Hypertension*. 2012 Feb;59(2):513-20. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.185801. Epub 2012 Jan 3. PMID: 22215713.
9. Suárez Y, Sessa WC. MicroRNAs as novel regulators of angiogenesis. *Circ Res*. 2009 Feb 27;104(4):442-54. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.191270. Erratum in: *Circ Res*. 2009 Apr 10;104(7):e55. PMID: 19246688; PMCID: PMC2760389.
10. Aoi W, Ichikawa H, Mune K, Tanimura Y, Mizushima K, Naito Y, Yoshikawa T. Muscle-enriched microRNA miR-486 decreases in circulation in response to exercise in young men. *Front Physiol*. 2013 Apr 11;4:80. doi: 10.3389/fphys.2013.00080. PMID: 23596423; PMCID: PMC3622901.
11. Wahl P, Wehmeier UF, Jansen FJ, Kilian Y, Bloch W, Werner N, Mester J, Hilberg T. Acute Effects of Different Exercise Protocols on the Circulating Vascular microRNAs -16, -21, and -126 in Trained Subjects. *Front Physiol*. 2016 Dec 26;7:643. doi: 10.3389/fphys.2016.00643. PMID: 28082910; PMCID: PMC5183575.
12. Wardle SL, Bailey ME, Kilikevicius A, Malkova D, Wilson RH, Venckunas T, Moran CN. Plasma microRNA levels differ between endurance and strength athletes. *PLoS One*. 2015 Apr 16;10(4):e0122107. doi:

- 10.1371/journal.pone.0122107. PMID: 25881132; PMCID: PMC4400105.
13. Pugh JK, Faulkner SH, Jackson AP, King JA, Nimmo MA. Acute molecular responses to concurrent resistance and high-intensity interval exercise in untrained skeletal muscle. *Physiol Rep*. 2015 Apr;3(4):e12364. doi: 10.14814/phy2.12364. PMID: 25902785; PMCID: PMC4425969.
  14. Horak M, Zlamal F, Iliev R, Kucera J, Cacek J, Svobodova L, et al. Exercise-induced circulating microRNA changes in athletes in various training scenarios. *PLoS One*. 2018 Jan 16;13(1):e0191060. doi: 10.1371/journal.pone.0191060. PMID: 29338015; PMCID: PMC5770042.
  15. Leggate M, Carter WG, Evans MJ, Vennard RA, Sribala-Sundaram S, Nimmo MA. Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males. *J Appl Physiol* (1985). 2012 Apr;112(8):1353-60. doi: 10.1152/jappphysiol.01080.2011. Epub 2012 Jan 19. PMID: 22267387; PMCID: PMC3331586.
  16. Gerosa-Neto J, Antunes BM, Campos EZ, Rodrigues J, Ferrari GD, Rosa Neto JC, et al. Impact of long-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training on subclinical inflammation in overweight/obese adults. *J Exerc Rehabil*. 2016 Dec 31;12(6):575-80. doi: 10.12965/jer.1632770.385. PMID: 28119880; PMCID: PMC5227320.
  17. Calle MC, Fernandez ML. Effects of resistance training on the inflammatory response. *Nutr Res Pract*. 2010 Aug;4(4):259-69. doi: 10.4162/nr.p.2010.4.4.259. Epub 2010 Aug 31. PMID: 20827340; PMCID: PMC2933442.
  18. Methenitis S. A Brief Review on Concurrent Training: From Laboratory to the Field. *Sports (Basel)*. 2018 Oct 24;6(4):127. doi: 10.3390/sports6040127. PMID: 30355976; PMCID: PMC6315763.
  19. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr*. 1978 Nov;40(3):497-504. doi: 10.1079/bjn19780152. PMID: 718832.
  20. Reibe D, Ehrman JK, Liguori G, Magal M, American College of Sports Medicine. *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*, 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2017.
  21. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.
  22. Altana V, Geretto M, Pulliero A. MicroRNAs and Physical Activity. *Microna*. 2015;4(2):74-85. doi: 10.2174/2211536604666150813152450. PMID: 26268469.
  23. Sapp RM, Shill DD, Roth SM, Hagberg JM. Circulating microRNAs in acute and chronic exercise: more than mere biomarkers. *J Appl Physiol* (1985). 2017 Mar 1;122(3):702-17. doi: 10.1152/jappphysiol.00982.2016. Epub 2016 Dec 29. PMID: 28035018.
  24. Dejean E, Renalier MH, Foisseau M, Agirre X, Joseph N, de Paiva GR, et al. Hypoxia-microRNA-16 downregulation induces VEGF expression in anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive anaplastic large-cell lymphomas. *Leukemia*. 2011 Dec;25(12):1882-90. doi: 10.1038/leu.2011.168. Epub 2011 Jul 22. PMID: 21778999.
  25. Melo RM, Martinho E Jr, Michelini LC. Training-induced, pressure-lowering effect in SHR: wide effects on circulatory profile of exercised and nonexercised muscles. *Hypertension*. 2003 Oct;42(4):851-7. doi: 10.1161/01.HYP.0000086201.27420.33. Epub 2003 Aug 11. PMID: 12913057.
  26. Mooren FC, Lechtermann A, Völker K. Exercise-induced apoptosis of lymphocytes depends on training status. *Med Sci Sports Exerc*. 2004 Sep;36(9):1476-83. doi: 10.1249/01.mss.0000139897.34521.e9. PMID: 15354026.
  27. Chi H, Barry SP, Roth RJ, Wu JJ, Jones EA, Bennett AM, Flavell RA. Dynamic regulation of pro- and anti-inflammatory cytokines by MAPK phosphatase 1 (MKP-1) in innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Feb 14;103(7):2274-9. doi: 10.1073/pnas.0510965103. Epub 2006 Feb 6. PMID: 16461893; PMCID: PMC1413743.
  28. Tabas I, García-Cardena G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol*. 2015 Apr 13;209(1):13-22. doi: 10.1083/jcb.201412052. PMID: 25869663; PMCID: PMC4395483.
  29. Kempe S, Kestler H, Lasar A, Wirth T. NF-kappaB controls the global pro-inflammatory response in endothelial cells: evidence for the regulation of a pro-atherogenic program. *Nucleic Acids Res*. 2005 Sep 21;33(16):5308-19. doi: 10.1093/nar/gki836. PMID: 16177180; PMCID: PMC1226313.
  30. Morais Junior GS, Souza VC, Machado-Silva W, Henriques AD, Melo Alves A, Barbosa Morais D, et al. Acute strength training promotes responses in whole blood circulating levels of miR-146a among older adults with type 2 diabetes mellitus. *Clin Interv Aging*. 2017 Sep 15;12:1443-50. doi: 10.2147/CIA.S141716. PMID: 28979106; PMCID: PMC5608226.