

تأثیر ۱۲ هفته تمرینات موازی (هوازی و قدرتی) بر مقادیر miR-155 و پروتئین واکنشگر C- در مردان میانسال چاق

امیر شکیب^۱، رامین امیرساسان^۱، وحید ساری صراف^۲، جواد وکیلی^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: برخی میکرو RNAها (miRNA) توسط بافت آدیپوز ترشح شده، در ارتباطات بین سلولی نقش داشته و یک نقطه‌ی هدف ارزشمندی به منظور کنترل چاقی و پیامدهای ناشی از آن محسوب می‌شوند. هدف از مطالعه‌ی حاضر، تعیین تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی CAST بر مقادیر miR-155 و پروتئین واکنشگر C- (C-reactive protein) در مردان میانسال چاق می‌باشد.

روش‌ها: ۳۰ مرد میانسال با میانگین سنی $44/57 \pm 3/54$ سال و وزنی $79 \pm 10/46$ کیلوگرم، به صورت تصادفی و بر اساس درصد چربی، توان هوازی ($\dot{V}O_2\max$) و یک تکرار بیشینه (1-RM) به سه گروه تمرینی: ۱- تمرینات همزمان هوازی و قدرتی در یک روز (CAST1)، ۲- تمرینات همزمان هوازی و قدرتی در روزهای مجزا (CAST2) و ۳- گروه شاهد تقسیم شدند. نمونه‌های خونی ۴۸ ساعت قبل و بعد از ۱۲ هفته تمرینات همزمان، به منظور تحلیل تغییرات شاخص‌های miR-155 و CRP و گلوکز از آزمودنی‌ها گرفته شد. آزمون‌های تحلیل واریانس (ANOVA) یک راهه با اندازه‌گیری‌های تکراری و آزمون تعقیبی Bonferroni به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شدند.

یافته‌ها: پس از ۱۲ هفته تمرین، گروه CAST1 کاهش معنی‌داری را در شاخص‌های miR-155 و CRP و گلوکز نسبت به گروه کنترل تجربه کردند. همچنین در گروه CAST2، شاخص‌های miR-155 و CRP و گلوکز نیز نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافتند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که هر دو شیوه‌ی تمرینی CAST با اثرگذاری بر miR-155 باعث کاهش التهاب ناشی از چاقی شده و مردان میانسال احتمالاً بتوانند از هر دو روش تمرینی در جهت جلوگیری از بیماری‌های سوخت و سازی استفاده کنند.

واژگان کلیدی: تمرین قدرتی؛ چاقی؛ miR-155؛ پروتئین واکنشگر-C؛ گلوکز

ارجاع: شکیب امیر، امیرساسان رامین، ساری صراف وحید، وکیلی جواد. تأثیر ۱۲ هفته تمرینات موازی (هوازی و قدرتی) بر مقادیر miR-155 و پروتئین واکنشگر C- در مردان میانسال چاق. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۹۴): ۹۰۸-۹۰۱

مقدمه

چاقی، یک اپیدمی واقعی و یک مشکل بهداشت عمومی است که توسط انجمن چاقی (The Obesity Society) TOS به عنوان یک بیماری تعریف شده و زیربنای بیماری‌های مزمن، از جمله بیماری‌های سوخت و سازی است (۱، ۲). سازوکارهایی که چاقی را با بیماری‌ها و اختلالات سوخت و سازی مرتبط می‌کنند پیچیده بوده و اکثر مطالعات گذشته بر روی نقش هورمون‌ها (مانند لپتین و آدیپونکتین) و چربی‌های در گردش خون (مانند اسیدهای چرب آزاد)

متمرکز شده‌اند، با این حال طبق مطالعات جدید، میکرو RNAها (miRNA) می‌توانند نقطه‌ی کنترلی دیگری برای چاقی و پیامدهای ناشی از آن باشند (۲).

برخی miRNAها توسط بافت چربی ترشح می‌شوند و به طور بالقوه در ارتباطات بین سلولی نقش دارند (۲). این RNAهای کوچک غیرکدکننده به توالی‌های مکمل در ناحیه ۳' ترجمه نشده RNAهای پیام‌رسان (mRNA) متصل شده و در نتیجه تولید پروتئین را تعدیل می‌کنند که معمولاً ترجمه mRNAهای هدف را تخریب یا

۱- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: رامین امیرساسان: دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email: amirsasan@tabrizu.ac.ir

تمرینات باعث کاهش miR-146a-5p شده و متعاقب آن نیز شاخص‌های سوخت و سازی و التهابی از جمله CRP را بهبود می‌دهد (۸).

همچنین Wang و همکاران نیز گزارش کردند که تمرینات همزمان هوازی و قدرتی با تنظیم مجدد miR-214 و miR-126 در گردش مردان چاق، مقادیر CRP، شاخص‌های سوخت و سازی و عملکرد اندوتلیالی را در این افراد بهبود می‌بخشد (۹).

به طور کلی مطالعات اندکی در زمینه‌ی تمرینات CAST و miRNAهای مرتبط با چاقی و به خصوص miRNAهای مشتق از بافت چربی انجام شده است. از طرفی دیگر در موتورهای جستجوگر فارسی و انگلیسی تا زمان تدوین این مجموعه، مطالعه‌ای که اثر تمرینات CAST در یک روز و در روزهای مجزا روی miR-155 و CRP را بررسی کرده باشد، یافت نشد، لذا با توجه به کمبود مطالعات در این زمینه، هدف مطالعه‌ی حاضر، تعیین تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی CAST بر مقادیر miR-155 و CRP در مردان میانسال چاق بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر یک تحقیق نیمه تجربی بوده که با کد اخلاق IR.TABRIZU.REC.1400.060 (اخذ شده از کمیته‌ی اخلاق زیست پزشکی دانشگاه تبریز) و با کد کارآزمایی بالینی IRCT20220816055719N1 انجام شد. افرادی مجاز به شرکت در این تحقیق بودند که در دامنه‌ی سنی ۵۰-۴۰ سال بوده و شاخص توده‌ی بدنی (BMI (Body mass index)، ۳۰-۳۴/۹ داشته باشند و طی یک سال اخیر به طور سرخود یا به دلیل بیماری از داروهای کاهش وزن و مکمل‌های آنابولیک، فشارخون، ضدالتهابی و ضدآکسایشی استفاده نکرده باشند. همچنین آزمودنی‌ها سیگاری نبوده و محدودیت و آسیب جسمانی نداشتند. پس از فراخوان عمومی در سطح شهر تبریز، ۶۴ نفر به عنوان داوطلب ثبت نام کردند. سپس با حضور در جلسه‌ی هماهنگی، پس از شرح کامل اهداف و روش‌های اندازه‌گیری، فرم رضایت‌نامه، پرسش‌نامه‌ی سلامتی و پرسش‌نامه‌ی ارزیابی سبک زندگی (۱۰) را تکمیل کرده و تحت معاینات پزشکی قرار گرفتند و با در نظر گرفتن معیارهای ورود به طرح، از بین افراد داوطلب، ۳۰ نفر با میانگین سنی 37.54 ± 4.57 سال، قد 1.78 ± 0.09 سانتی‌متر و $BMI = 27.14 \pm 3.18$ kg.m⁻² انتخاب شدند. ویژگی‌های فردی و برخی از شاخص‌های پیکرسنجی مثل سن، قد، وزن بدن، درصد چربی (با استفاده از دستگاه آنالیز ترکیب بدنی ۷۷۰ inbody) و BMI نمونه‌ی مورد مطالعه یک هفته قبل از شروع تحقیق اندازه‌گیری شد و میزان هزینه‌ی انرژی روزانه

سرکوب می‌کند (۳). از جمله miRNAهایی که از بافت آدیپوز ترشح می‌شود؛ miR-155 است. این miRNA توسط سلول‌های چربی (آدیپوسیت‌ها) ترشح شده و یک miRNA پیش‌التهابی بوده و بیان سطوح بالای آن در بافت چربی و کلیه در انسان‌ها و موش‌های چاق مشاهده شده است (۲). در خود بافت چربی، miR-155 با اثرات پاراکرینی خود سرکوب‌کننده‌ی سیگنالینگ سایتوکین ۱ (SOCS1 (Suppressor of cytokine signaling 1) را هدف قرار داده و باعث فعال‌سازی ماکروفاژهای M1 شده و در نهایت با افزایش مقادیر پروتئین واکنشگر -C (C-reactive protein) CRP باعث افزایش التهاب می‌شود (۲، ۴). از سوی دیگر با اثرات اندوکرینی خود در عضله‌ی اسکلتی و کبد، باعث اختلال در سوخت و ساز چربی، گلوکز و انسولین می‌شود به طوری که باعث افزایش مقاومت به انسولین در عضله‌ی اسکلتی شده و برون‌ده گلوکز کبدی را نیز مختل می‌کند (۲، ۳).

راه کارهای مختلفی مثل محدودیت کالری و عمل جراحی به منظور بهبود چاقی و در نتیجه شاخص‌های مرتبط با آن مثل miRNA پیشنهاد شده است (۵)، روش دیگر، شرکت در تمرینات ورزشی است. تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که فعالیت ورزشی از طریق تغییرات اپی ژنتیکی به عنوان تنظیم‌کننده‌ی قوی ژنوم عملکردی عمل می‌کند. ژنوم عملکردی ممکن است تغییرات کوتاه‌مدت و طولانی مدت در سلامت را در رابطه با فعالیت ورزشی و تمرین توضیح دهد (۷). از جمله تمریناتی که در رابطه با miRNAها کمتر مورد بررسی قرار گرفته است؛ تمرینات همزمان هوازی و قدرتی (CAST (Concurrent Aerobic and Strength Training) است (۶، ۷). در دنیای واقعی و برای جمعیت عمومی، مستقل از سن یا جنس، ترکیب هر دو تمرین هوازی و قدرتی در یک برنامه‌ی تمرینی، منجر به سازگاری بهتری در متغیرهای مرتبط با سلامتی از جمله افزایش و بهبود میزان متابولیسم پایه، حساسیت به انسولین، سوخت و ساز بهتر گلوکز و چربی و بهبود ترکیب بدنی می‌شود در حالی که هایپرتروفی، قدرت عضلانی، توده‌ی بدون چربی و ظرفیت‌های استقامتی نیز افزایش می‌یابند. همچنین تمرینات CAST، توانایی بهبود عوامل خطرزا برای بیماری‌های سوخت و سازی را دارند (۶). طبق برخی مطالعات، اگر تمرینات CAST در روزهای مجزا و با مدت زمانی کوتاه در هر جلسه، اما تعداد جلسات هفتگی بیشتر انجام شوند، اثرات تجمع‌ی اکسیژن مصرفی بعد از تمرین (EPOC (Excess post-exercise oxygen consumption) در هر جلسه ممکن است باعث هزینه‌ی انرژی بیشتری شود. در این زمینه Russo و همکاران با بررسی تمرینات CAST (انجام شده در روزهای مجزا) روی مردان و زنان چاق گزارش کردند که این نوع

هفته‌ی دوم، گروه اول ۵ جلسه به ازای دو هفته و گروه دوم، ۱۰ جلسه به ازای هر دو هفته تمرین کردند که گروه اول تمرینات هوازی (جدول ۱) و قدرتی (جدول ۲) را در یک جلسه و گروه دوم هر یک از این تمرینات را در روز جداگانه انجام دادند (۶، ۷). تمرینات قدرتی شامل هشت حرکت برای عضلات: ۱- سینه‌ای بزرگ (پرس سینه با هالتر)، ۲- چهار سر رانی (هاگ پا با دستگاه)، ۳- راست شکمی (دراز و نشست)، ۴- دلتوئید (پرس سرشانه با دستگاه)، ۵- همسترینگ (پشت پا با دستگاه)، ۶- پشتی بزرگ (زیر بغل لت پول)، ۷- دوقلو و نعلی (ساق پا با دستگاه)، ۸- راست‌کننده‌ی ستون فقرات و مربع کمری (فیله کمر) و تمرینات هوازی شامل دویدن روی تردمیل بود (۶، ۷، ۱۰-۱۲). لازم به ذکر است که شدت تمرینات قدرتی بر اساس I-RM و شدت تمرینات هوازی بر اساس ضربان قلب ذخیره (HRR) (Heart rate reserve) یا کاروونن (Karvonen) (برای کنترل ضربان قلب در هر جلسه تمرینی از ضربان سنج پلار استفاده شد) و به صورت زیر محاسبه شدند (۱۰):

$$\text{ضربان قلب استراحتی} + [\% \text{ ضربان قلب کاروونن (بیشینه)}] = \text{تکرار} \times (0.278 - 0.278 / \text{وزنه به کیلوگرم}) = \text{یک تکرار (بیشینه (I-RM))}$$

جدول ۱. برنامه‌ی تمرینات هوازی (دویدن روی تردمیل)

نحوه‌ی اجرا	شدت (HRR)	مدت هر جلسه (دقیقه)	تعداد جلسات	هفته
تداومی	۴۰ درصد	۲۵	۲/هفته	۱-۲
	۵۰ درصد	۲۵	۲/هفته	۳-۴
	۶۰ درصد	۳۰	۲/هفته	۵-۶
	۷۰ درصد	۳۰	دو هفته/۵	۷-۸
	۷۵ درصد	۳۰	دو هفته/۵	۹-۱۲

جدول ۲. برنامه‌ی تمرینات قدرتی

نحوه‌ی اجرا	استراحت بین ست	Tempo	استراحت بین حرکات (ثانیه)	تکرار	شدت: 1-RM	ست	تعداد حرکات	تعداد جلسات	هفته
دایره‌ای	۲ دقیقه	۲/۰/۲/۰	۲۰	۱۶	۴۰ درصد	۲	۸	هر هفته/۲	۱-۲
		۲/۰/۲/۰	۲۰	۱۴	۵۰ درصد	۲	۸	هر هفته/۲	۳-۴
		۲/۰/۲/۰	۲۰	۱۲	۶۰ درصد	۲	۸	هر هفته/۲	۵-۶
	۱۲۰s	۳/۰/۱/۰	۶۰	۱۰	۷۰ درصد	۳	۸	دو هفته/۵	۷-۸
	۹۰s	۳/۰/۱/۰	۶۰	۸	۸۰ درصد	۳	۸	دو هفته/۵	۹-۱۰
	۶۰s	۳/۰/۱/۰	۶۰	۸	۸۰ درصد	۳	۸	دو هفته/۵	۱۱-۱۲

(TEE (Total energy expenditure) آن‌ها به شیوه‌ی چند عاملی و بر اساس فرمول (Non-exercise activity thermogenesis) TEE = RMR (Resting Metabolic Rate) + TEF (Thermic Effect of Food) + EAT (Exercise activity thermogenesis) + NEAT محاسبه شد (۱۰). همچنین یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته در سه روز هفته (اول هفته، وسط هفته و آخر هفته) توسط آزمودنی‌ها تکمیل شده و توسط نرم‌افزار Nutrition4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سپس بر اساس اطلاعات حاصله، رژیم غذایی هر نفر اصلاح شد تا تنها مداخله و ایجاد کسر کالری، صرفاً مربوط به تمرینات ورزشی باشد. همچنین از آزمودنی‌ها تست شاتل ران گرفته شد و نمرات حاصله از آزمون، بر اساس نورم‌های علمی موجود (۱۰) آنالیز شده و بدین صورت آمادگی هوازی آن‌ها تعیین گردید. علاوه بر آن، از آزمودنی‌ها تست یک تکرار بیشینه (One-repetition maximum) 1-RM (محاسبه شده بر اساس فرمول برزسکی "Brzycki") گرفته شد (۱۰). با توجه به اینکه تمرینات CAST به دو دسته‌ی کلی تقسیم می‌شوند (انجام تمرینات CAST در یک روز و یا در روزهای مجزا)، لذا بر این اساس، آزمودنی‌ها صورت تخصیص تصادفی و بر اساس درصد چربی، آمادگی هوازی و 1-RM همگن شده و به سه گروه ۱- تمرینات همزمان هوازی و قدرتی در یک روز (CAST1)، ۲- تمرینات همزمان هوازی و قدرتی در روزهای مجزا (CAST2) و ۳- گروه شاهد تقسیم شدند. ابتدا ۴۸ ساعت قبل از شروع دوره‌ی تمرینات ورزشی، نمونه‌های خونی از آزمودنی‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی اخذ شد تا شاخص‌های خونی CRP، miR-155 و گلوکز، در حالت استراحتی اندازه‌گیری شود. سپس دوره‌ی ۱۲ هفته‌ای تمرین اجرا شد.

برنامه‌ی تمرینی: برنامه‌ی تمرینی ۱۲ هفته‌ای به این صورت بود که گروه اول (CAST1) در شش هفته‌ی اول، دو جلسه در هفته و گروه دوم (CAST2) چهار جلسه در هفته تمرین کردند. در شش

light cycler 96 ساخت شرکت Roche آلمان به همراه توالی پرایمر اختصاصی miR-155 انجام شد.

توالی پرایمرهای اختصاصی در جدول ۳ آورده شده است. در نهایت از سطح رونوشت ژن مرجع miR-U6 برای استانداردسازی سطح بیان ژن هدف استفاده شد. در ادامه، بر اساس داده‌های به دست آمده از واکنش Real-time PCR و شناسایی میزان Ct مربوط به ژن هدف (miR-155) و ژن کنترل داخلی، میزان دلتا Ct (Ct کنترل - Ct هدف = ΔCt) بدست آمده تغییرات بیان (fold change) بر اساس فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد (۱۳).

روش‌های آماری: داده‌های به دست آمده به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد تجزیه و تحلیل شدند. آزمون Shapiro-Wilk نشان داد که داده‌ها به صورت نرمال توزیع شده‌اند ($P > 0/05$). به منظور بررسی اثر متغیر مستقل روی متغیرهای وابسته، آزمون‌های تحلیل واریانس یک راهه با اندازه‌گیری‌های تکراری (به منظور شناسایی اثر زمان، اثر گروه و اثر تعامل)، تحلیل واریانس یک راهه (به منظور همگن بودن گروه‌ها قبل از شروع تحقیق) و آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شدند. تمامی تجزیه تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ (version 25, IBM Corporation, Armonk, NY) و در سطح معنی داری $P < 0/05$ انجام شدند.

یافته‌ها

برخی مشخصات آنروپومتریکی آزمودنی‌ها در جدول ۴ و همچنین شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده قبل و بعد از ۱۲ هفته تمرینات CAST در جدول ۵ ارائه شده است.

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مقادیر پیش آزمون نشان داد که تفاوت معنی داری بین گروه‌ها در بین متغیرهای مطالعه وجود ندارد ($P > 0/05$). همچنین نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه با اندازه‌گیری‌های تکراری نشان داد که اثر زمان، اثر گروه و اثر تعاملی در شاخص‌های وزن، درصد چربی، BMI، گلوکز، CRP و miR-155 معنی دار است ($P < 0/05$) به طوری که شاخص‌های وزن، درصد چربی، BMI، گلوکز، CRP و miR-155 در گروه CAST1 و CAST2، در پس آزمون، کاهش معنی داری نسبت به مقادیر پیش آزمون خود داشتند ($P < 0/05$).

ریتم حرکات قدرتی در شش هفته‌ی اول، ۲/۰/۲/۰ و در شش هفته‌ی دوم، ۳/۰/۱/۰ بود (اعداد به ترتیب از چپ به راست: مرحله‌ی برون‌گرا، تبدیل از برون‌گرا به درون‌گرا، درون‌گرا و تبدیل از مرحله‌ی درون‌گرا به برون‌گرا). لازم به ذکر است که تمرینات محقق ساخته و بر اساس اصول تمرین و طرح‌های مشابه برنامه‌ریزی شده بود.

نمونه‌های خونی به میزان ۱۰ میلی‌لیتر از ورید پیش آرنجی دست چپ آزمودنی‌ها ۴۸ ساعت قبل از شروع دوره‌ی تمرینی و همچنین ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه‌ی تمرینی گرفته شدند و به لوله‌های ویژه جداسازی سرم اضافه شد و بلافاصله در محل دریافت نمونه، سانتریفیوژ گردید و سرم به دست آمده به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری اضافه شد و در اسرع وقت برای اندازه‌گیری‌های بعدی در دمای -70°C درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور اندازه‌گیری سطح سرمی CRP از کیت‌های hs-CRP ساخت شرکت Aptec بلژیک با روش ایمنوتوربیدومتری به وسیله‌ی دستگاه اتوآنالایزر (Abbott, model Alcyon 300, USA) در طول موج ۵۰۰ nm و همچنین برای اندازه‌گیری سطح سرمی گلوکز از کیت شرکت پارس آزمون و با حساسیت کیت، ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری miR-155 نیز مراحل استخراج RNA و سنتز cDNA و بیان ژن دنبال شد.

استخراج RNA: به منظور استخراج RNA کل از معرف Tripure isolation reagent ساخت شرکت Roche آلمان (Roche, Cat No.11667165001) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. به منظور تعیین کیفیت و کمیت RNAهای استخراج شده، از دستگاه Nano Drop (Nano Drop ND-2000C, Thermo Fisher Scientific) ساخت شرکت ایالات متحده آمریکا استفاده شد و تا زمان سنتز cDNA در دمای -70°C درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد.

سنتز cDNA و ارزیابی بیان microRNA به روش Real-time PCR

در ادامه بعد از مشخص شدن غلظت و خلوص RNAهای استخراج شده، miRNA با استفاده از روش stem-loop مطابق دستورالعمل کیت سنتز cDNA شرکت سازنده (TAKARA Cat No. 6130) به cDNA تبدیل شدند. تجزیه و تحلیل میزان بیان (سنجش میزان miRNA) طی واکنش Real-time PCR به وسیله‌ی

جدول ۳. توالی پرایمرها در آزمون Real-time PCR

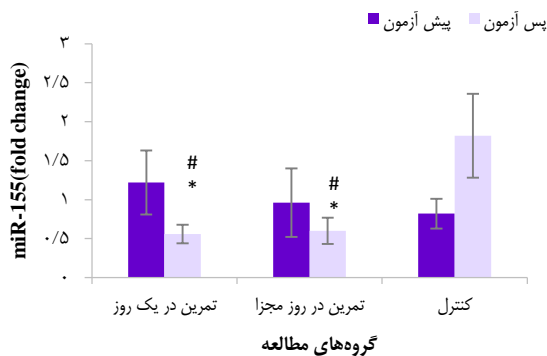
Primer (Genes)	Sequence 5' → 3' (10-50 bp)	Length
miR-155 stem	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGAaacc	48
miR-155 forward	CGTGCTCATTaaTgcTaaT	19

جدول ۴. مشخصات آنترپومتریکی آزمودنی‌ها قبل و بعد از ۱۲ هفته تمرینات CAST

اثر تعاملی	اثر گروه	اثر زمان	پس آزمون		پیش آزمون		
			میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
miR-155 (بیان نسبی)	۰/۰۴۶°	< ۰/۰۰۱°	۱۸۵/۰۱ ± ۴۱/۹۲	۷۹۸/۲۶ ± ۲۷۳/۰۵	تمرین در یک روز	۷۹۸/۲۶ ± ۲۷۳/۰۵	تمرین در یک روز
			۱۹۷/۳۴ ± ۵۶/۰۸	۶۲۸/۳۶ ± ۲۸۸/۸۲	تمرین در روز مجزا	۶۲۸/۳۶ ± ۲۸۸/۸۲	تمرین در روز مجزا
			۵۹۴/۲۴ ± ۱۷۶/۵۴	۵۳۶/۶۰ ± ۱۲۸/۵۲	شاهد	۵۳۶/۶۰ ± ۱۲۸/۵۲	شاهد
CRP (mg/l)	۰/۰۱۴°	۰/۰۰۱°	۲/۱۶ ± ۱/۶۳	۶/۰۷ ± ۱/۵۳	تمرین در یک روز	۶/۰۷ ± ۱/۵۳	تمرین در یک روز
			۱/۷۱ ± ۱/۱۹	۵/۷۲ ± ۱/۹۱	تمرین در روز مجزا	۵/۷۲ ± ۱/۹۱	تمرین در روز مجزا
			۶/۱۲ ± ۳/۷	۶/۰۹ ± ۴/۱۴	شاهد	۶/۰۹ ± ۴/۱۴	شاهد
گلوکز (mg/dl)	۰/۰۰۱°	< ۰/۰۰۱°	۱۰۵ ± ۶/۲	۱۱۹/۹ ± ۵/۳۴	تمرین در یک روز	۱۱۹/۹ ± ۵/۳۴	تمرین در یک روز
			۹۵/۶ ± ۴/۳۷	۱۱۶/۸ ± ۷/۵۹	تمرین در روز مجزا	۱۱۶/۸ ± ۷/۵۹	تمرین در روز مجزا
			۱۱۸/۶ ± ۹/۵۵	۱۱۸/۱ ± ۷/۷	شاهد	۱۱۸/۱ ± ۷/۷	شاهد

°: معنی‌داری (P < ۰/۰۵)

CAST و شیوه‌های تمرینی آن را روی miR-155 بررسی کرده است.



شکل ۱. میزان تغییرات (fold change) بیان miR-155 سرمی در گروه‌های مورد مطالعه.

°: معنی‌داری نسبت به پیش‌آزمون (P < ۰/۰۵). #: معنی‌داری نسبت به گروه شاهد (P < ۰/۰۵)

همچنین طبق نتایج آزمون Bonferroni، شاخص‌های وزن، درصد چربی، BMI، گلوکز، CRP و miR-155 هر دو گروه تمرینی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد تجربه کردند (P < ۰/۰۵) که در جدول ۶ و شکل‌های ۱ تا ۳ آورده شده است. همچنین بین هیچ کدام از متغیرهای اندازه‌گیری شده بین CAST1 و CAST2 تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P > ۰/۰۵).

بحث

هدف از مطالعه‌ی حاضر، تعیین تأثیر دو شیوه‌ی تمرینی CAST بر مقادیر miR-155 و CRP در مردان میانسال چاق بود که آزمودنی‌ها در هر دو گروه تمرینی، کاهش معنی‌داری را در هر سه شاخص خونی اندازه‌گیری شده (miR-155، CRP و گلوکز)، نسبت به گروه شاهد تجربه کردند. لازم به یادآوری است که تا زمان تدوین این مجموعه، تحقیق حاضر جزء اولین مطالعاتی بود که اثر تمرینات

جدول ۵. شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده قبل و بعد از ۱۲ هفته تمرینات CAST

اثر تعاملی	اثر گروه	اثر زمان	پس آزمون		پیش آزمون		متغیر
			میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
< ۰/۰۰۱°	< ۰/۰۴۹°	< ۰/۰۰۱°	۹۸/۳۸ ± ۵/۳۰	۱۰۵/۳۸ ± ۷/۲۱	تمرین در یک روز	۱۰۵/۳۸ ± ۷/۲۱	وزن (کیلوگرم)
			۹۶/۳ ± ۶/۴۷	۱۰۲/۰۲ ± ۶/۱	تمرین در روز مجزا	۱۰۲/۰۲ ± ۶/۱	تمرین در روز مجزا
			۱۰۶/۳۲ ± ۷/۲۳	۱۰۳/۹۸ ± ۸/۵۸	کنترل	۱۰۳/۹۸ ± ۸/۵۸	کنترل
< ۰/۰۰۱°	۰/۰۰۱°	< ۰/۰۰۱°	۲۷/۷ ± ۲/۲۶	۳۲/۱ ± ۲/۸	تمرین در یک روز	۳۲/۱ ± ۲/۸	درصد چربی
			۲۶/۸ ± ۲/۳۹	۳۲/۲ ± ۲/۶۹	تمرین در روز مجزا	۳۲/۲ ± ۲/۶۹	تمرین در روز مجزا
			۳۴/۸ ± ۳/۰۹	۳۳/۱ ± ۲/۶	شاهد	۳۳/۱ ± ۲/۶	شاهد
۰/۰۰۱°	۰/۰۲۸°	< ۰/۰۰۱°	۳۰/۴۳ ± ۰/۶	۳۲/۱ ± ۱/۰۶	تمرین در یک روز	۳۲/۱ ± ۱/۰۶	شاخص توده‌ی بدنی
			۳۰/۱۲ ± ۲/۰۸	۳۱/۳۱ ± ۱/۱۱	تمرین در روز مجزا	۳۱/۳۱ ± ۱/۱۱	تمرین در روز مجزا
			۳۲/۲۸ ± ۱/۲۵	۳۲/۱۶ ± ۱/۵۷	شاهد	۳۲/۱۶ ± ۱/۵۷	شاهد

°: معنی‌داری (P < ۰/۰۵)

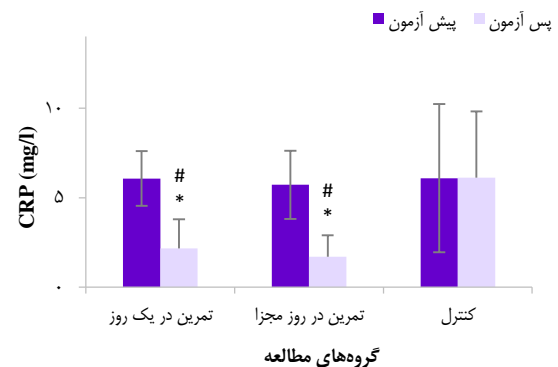
جدول ۶. نتایج آزمون Bonferroni

گروه	متغیر				
	miR-155	CRP	گلوکز	وزن	درصد چربی
شاهد CAST1	۰/۰۳۴°	۰/۰۴۱°	۰/۰۱۱°	۰/۰۴°	۰/۰۰۳°
CAST2	۰/۰۰۴°	۰/۰۱۹°	< ۰/۰۰۱°	۰/۰۳۱°	۰/۰۰۱°

°: معنی داری (P < ۰/۰۰۵)

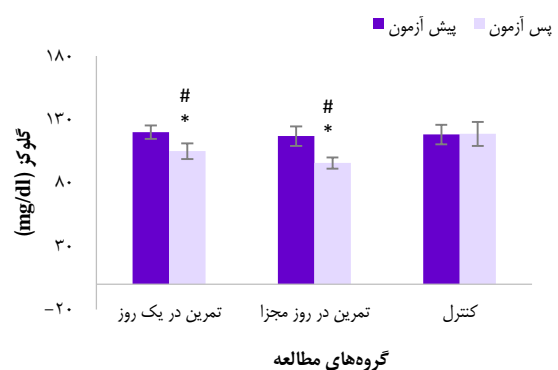
در این راستا Fabre و همکاران گزارش کردند که ژن METRNL با افزایش تمایز سلول‌های سفید چربی، باعث کاهش التهاب بافت چربی می‌شود (۱۷). علاوه بر آن لاکتاتی که به هنگام تمرینات ورزشی تولید می‌شود، هم در بافت عضلانی و هم در سایر بافت‌های بدن می‌تواند با اثرگذاری بر متیلاسیون DNA و بیان miRNA، تأثیرات اپی‌ژنتیکی را خود را بر جای بگذارد؛ لذا متیلاسیون DNA ناشی از تمرینات CAST می‌تواند با تعدیل این ژن‌های کنترلی، عملکرد سلول‌های چربی را تغییر داده و در نتیجه کاهش مقادیر miR-155 را توجیه کند (۱۵، ۱۷، ۱۸). با توجه به اینکه مقادیر miR-155 هنگام چاقی افزایش می‌یابد (۲، ۳، ۱۹)، لذا علاوه بر موارد ذکر شده، یکی دیگر از سازوکارهای کاهش miR-155 در مطالعه‌ی حاضر را می‌توان به کاهش مقادیر چربی آزمودنی‌ها در گروه‌های تمرینی نسبت داد که این نتایج با تحقیق Russo و همکاران هم‌سو بود. آن‌ها به بررسی تأثیرات تمرینات هم‌زمان هوازی و قدرتی (از نوع CAST2) روی miRNAهای مشتق از بافت چربی پرداختند و تأیید کردند که در افراد چاق، این تمرینات باعث کاهش سطوح پلاسمایی miR-146a-5p75 می‌شود (۸).

سازوکارهای کاهش مقادیر گلوکز در مطالعه‌ی حاضر و ارتباط آن با miR-155 را می‌توان در چندین بافت و به صورت جداگانه مورد تجزیه تحلیل قرار داد. miR-155 باعث فعال‌سازی ماکروفاژهای M1 در بافت چربی شده و این ماکروفاژها فسفوریلاسیون AKT ناشی از تحریک انسولین در سلول‌های چربی را مهار کرده و متعاقب آن جذب گلوکز توسط سلول‌های چربی را مهار می‌کند (۲). در کبد miR-155 برون‌داد گلوکز کبدی ناشی از انسولین را در هپاتوسیت‌های اولیه و در نتیجه، تنظیم هومئوستاز گلوکز خون را می‌تواند مختل کند (۲). miR-155 همچنین می‌تواند مقاومت به انسولین را در عضله اسکلتی و بافت آدیپوز و از طریق مهار گیرنده‌ی γ فعال‌کننده‌ی تکثیر پروکسی PPAR γ (Peroxisome proliferator-activated receptor γ) افزایش دهد. PPAR γ ارتباط نزدیکی با مقاومت به انسولین در عضله اسکلتی دارد و از طریق تعدیل بیان GLUT4 و IRS-1 نقش کلیدی در مسیر جذب گلوکز عضله اسکلتی ایفا می‌کند (۲، ۳، ۲۰).



شکل ۲. میزان تغییرات غلظت CRP سرمی در گروه‌های مورد مطالعه °: معنی داری نسبت به پیش‌آزمون (P < ۰/۰۰۵). #: معنی داری نسبت به گروه شاهد (P < ۰/۰۰۵)

سوخت و ساز سلول‌های چربی تحت تأثیر تمرینات ورزشی تغییر می‌کند که توسط فرایندهای متیلاسیون DNA نیز کنترل می‌شود (۱۴، ۱۵). از طرفی دیگر شواهد اخیر نشان می‌دهد که، miRNAها با تعدیل متیلاسیون DNA مرتبط هستند (۱۶). به طور خاص، تمرینات ورزشی باعث ایجاد تغییرات مثبت در میزان ذخیره‌ی چربی شده و باعث افزایش سطح متیلاسیون DNA هزاران ژن مرتبط به چاقی، از جمله METRNL، NCOR2، HDAC4، RALBP1 می‌شوند (۱۴-۱۷).



شکل ۳. میزان تغییرات غلظت گلوکز سرمی در گروه‌های مورد مطالعه °: معنی داری نسبت به پیش‌آزمون (P < ۰/۰۰۵). #: معنی داری نسبت به گروه شاهد (P < ۰/۰۰۵)

جلوگیری کنند (۷). از طرفی دیگر، طبق برخی مطالعات، اگر تمرینات CAST در روزهای مجزا و با مدت زمانی کوتاه در هر جلسه، اما تعداد جلسات هفتگی بیشتر انجام شوند، اثرات تجمعی EPOC در هر جلسه ممکن است باعث هزینه‌ی انرژی بیشتری شود (۷، ۱۱، ۱۲).

با این حال در مطالعه‌ی حاضر تفاوتی در شاخص‌های اندازه‌گیری شده بین دو گروه تمرینی مشاهده نشد که با نتایج مطالعه‌ی Eklund و همکاران ناهم‌سو بود. آن‌ها مشاهده نمودند که تمرینات از نوع CAST2 باعث هزینه‌ی بیشتر انرژی شده و در نتیجه ممکن است برای بهینه‌سازی ترکیب بدن مناسب‌تر بوده و احتمالاً در پیشگیری اولیه از بیماری‌های قلبی-عروقی و متابولیک مفید باشد (۶).

هم راستا با مطالعه‌ی ما، خسروی‌انفر و همکاران نیز با بررسی اثر تمرینات همزمان (CAST1) روی ترکیب بدنی و CRP زنان چاق، گزارش کردند که این تمرینات باعث کاهش درصد چربی و مقادیر CRP می‌شود؛ اما تفاوت معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌های مطالعه تجربه نکردند (۲۵). با این حال به دلیل کمبود مطالعات در این زمینه، تحقیقات بیشتری باید انجام پذیرد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد miRNAهای مرتبط با چاقی و به ویژه miR-155 یک هدف کنترل‌ی مناسب برای جلوگیری از التهاب و اختلالات سوخت و سازی ناشی از چاقی به وسیله‌ی تمرینات ورزشی و به خصوص تمرینات CAST هستند. به طوری که این تمرینات با تغییر متیلاسیون DNA برخی ژن‌ها در بافت چربی، هزینه‌ی بیشتر انرژی، کاهش التهاب از افزایش miR-155 و CRP و در نتیجه از بروز بیماری‌های سوخت و سازی جلوگیری می‌کند. با این حال تفاوتی بین دو شیوه‌ی تمرینی CAST (CAST1 و CAST2) وجود ندارد و علاقه‌مندان به تمرینات CAST، می‌توانند از مزیت‌های هر دو شیوه‌ی تمرینی (در یک روز یا در روزهای مجزا) بهره‌مند شوند.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر نتیجه‌ی رساله‌ی دکتری در دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز می‌باشد. از تمامی کسانی که در این کار پژوهشی مشارکت فعال داشتند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

با اینکه در مطالعه‌ی حاضر، PPAR γ اندازه‌گیری نشد، اما با توجه به کاهش مقادیر miR-155 می‌توان استنباط کرد که این miRNA نقش مهمی در تنظیم و بهبود سوخت و ساز گلوکز از طریق مسیرهای پیام‌رسانی اشاره شده دارد که این نتایج با یافته‌های Ying و همکاران هم‌سو بود. آن‌ها مشاهده کردند که miR-155 در آن‌ها حذف شده بود، حساسیت انسولینی بالاتر و مقدار گلوکز پایین‌تری در مقایسه با گروه شاهد داشتند (۲۱). همچنین با نتایج مطالعه‌ی Meza و همکاران ناهم‌سو بود. آن‌ها به بررسی تأثیر هشت هفته تمرینات همزمان هوازی و قدرتی روی miRNAهای مرتبط با سوخت و ساز گلوکز (miR-155) پرداخته و گزارش کردند که با وجود بهبود در حساسیت انسولین، مقادیر miR-155 بدون تغییر باقی می‌ماند (۲۲).

در رابطه با CRP نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هر دو گروه تمرینی کاهش معنی‌داری را در این شاخص تجربه کردند که این نتایج با مطالعه‌ی Costa و همکاران (۲۰۱۹) هم‌سو بود. آن‌ها در یک تحقیق فراتحلیلی به بررسی تأثیر تمرینات قدرتی (Resistance training) بر روی شاخص‌های التهابی و نیم‌رخ‌های چربی خون پرداخته و نتیجه گرفتند که تمرینات قدرتی باعث کاهش سطوح CRP در بزرگسالان چاق شده و بنابراین می‌تواند به عنوان یکی از راه‌های درمانی برای کاهش التهاب به کار برده شود (۲۳).

نتایج ما همچنین با مطالعه‌ی صادقی و همکاران نیز هم‌سو بود که گزارش کردند تمرینات ترکیبی (قدرتی-استقامتی) باعث کاهش CRP در مردان چاق می‌شود (۲۴). طبق گزارش تحقیقات ترشح miR-155 از بافت آدیپوز هنگام چاقی افزایش می‌یابد (۲). این miRNA یک miRNA پیش‌التهابی بوده که با اثرات پاراکرینی در بافت چربی، SOCS1 را هدف قرار داده و از این طریق باعث فعال‌سازی ماکروفاژهای پیش‌التهابی M1 می‌شود (۲). ماکروفاژهای M1 بافت آدیپوز، باعث ترشح سایتوکین‌های پیش‌التهابی مانند ایتروکین ۶- شده و این سایتوکین‌ها، ترشح پروتئین‌های التهابی مثل CRP از کبد را افزایش می‌دهند (۲، ۳). تمرینات CAST می‌توانند با ایجاد کسرکالری و در نتیجه کاهش درصد چربی، از سوئیچ فنوتیپی ماکروژها در بافت آدیپوز جلوگیری کرده و با معکوس کردن مسیر پیام‌رسانی اشاره شده، از ایجاد التهاب و تولید CRP ناشی از چاقی

References

1. Paley CA, Johnson MI. Abdominal obesity and metabolic syndrome: exercise as medicine? BMC Sports Sci Med Rehabilitation 2018; 10(1): 1-8.
2. Ji C, Guo X. The clinical potential of circulating microRNAs in obesity. Nat Rev Endocrinol 2019; 15(12): 731-43.
3. Tryggestad JB, Teague AM, Sparling DP, Jiang S, Chernausk SD. Macrophage-derived microRNA-155 increases in obesity and influences adipocyte metabolism by targeting peroxisome proliferator-activated receptor gamma. J Obes 2019; 27(11): 1856-64.

4. Catrysse L, van Loo G. Adipose tissue macrophages and their polarization in health and obesity. *Cell Immunol* 2018; 330: 114-9.
5. Ehtesham N, Shahrbanian S, Valadiathar M, Mowla SJ. Modulations of obesity-related microRNAs after exercise intervention: a systematic review and bioinformatics analysis. *Mol Biol Rep* 2021; 48(3): 2817-31.
6. Eklund D, Häkkinen A, Laukkanen JA, Balandzic M, Nyman K, Häkkinen K. Fitness, body composition and blood lipids following 3 concurrent strength and endurance training modes. *Appl Physiol Nutr Metab* 2016; 41(7): 767-74.
7. Schumann M, Rønnestad BR. Concurrent aerobic and strength training: Scientific basics and practical applications. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer; 2018.
8. Russo A, Bartolini D, Mensà E, Torquato P, Albertini MC, Olivieri F, et al. Physical activity modulates the overexpression of the inflammatory miR-146a-5p in obese patients. *IUBMB life* 2018; 70(10): 1012-22.
9. Wang S, Liao J, Huang J, Yin H, Yang W, Hu M. miR-214 and miR-126 were associated with restoration of endothelial function in obesity after exercise and dietary intervention. *J Appl Biomed* 2018; 16(1): 34-9.
10. Gibson AL, Wagner D, Heyward V. Advanced fitness assessment and exercise prescription, 8E. Champaign, Illinois: Human Kinetics; 2019.
11. Bompa TO, Buzzichelli C. Periodization: Theory and methodology of training. Champaign, Illinois: Human Kinetics; 2018.
12. Bompa TO, Buzzichelli C. Periodization training for sports. 3rd ed. Champaign, Illinois: Human Kinetics; 2015.
13. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Re* 2001; 29(9): e45.
14. Światowy WJ, Drzewiecka H, Kliber M, Szaśiadek M, Karpiński P, Pławski A, et al. Physical activity and DNA methylation in humans. *Int J Mol Sci* 2021; 22(23): 12989.
15. McGee SL, Hargreaves M. Epigenetics and exercise. *Trends Endocrinol Metab* 2019; 30(9): 636-45.
16. Fuso A, Raia T, Orticello M, Lucarelli M. The complex interplay between DNA methylation and miRNAs in gene expression regulation. *Biochimie* 2020; 173: 12-6.
17. Fabre O, Ingerslev LR, Garde C, Donkin I, Simar D, Barres R. Exercise training alters the genomic response to acute exercise in human adipose tissue. *Epigenomics* 2018; 10(08): 1033-50.
18. Domańska-Senderowska D, Laguette MJN, Jegier A, Cięszczyk P, September AV, Brzezińska-Lasota E. MicroRNA profile and adaptive response to exercise training: a review. *Int J Sports Med* 2019; 40(4): 227-35.
19. Jankauskas SS, Gambardella J, Sardu C, Lombardi A, Santulli G. Functional role of miR-155 in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Noncoding RNA* 2021; 7(3): 39.
20. Lorente-Cebrián S, González-Muniesa P, Milagro FI, Martínez JA. MicroRNAs and other non-coding RNAs in adipose tissue and obesity: emerging roles as biomarkers and therapeutic targets. *Clin Sci (Lond)* 2019; 133(1): 23-40.
21. Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, Dong Y, Birmingham A, Seo JB, et al. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miRNAs can modulate in vivo and in vitro insulin sensitivity. *Cell* 2017; 171(2): 372-84.
22. Meza CA, Amador M, McAinch AJ, Begum K, Roy S, Bajpeyi S. Eight weeks of combined exercise training do not alter circulating microRNAs-29a,-133a,-133b, and-155 in young, healthy men. *Eur J Appl Physiol* 2022; 122(4): 921-33.
23. Costa RR, Buttelli ACK, Vieira AF, Coconcelli L, de Lima Magalhães R, Delevatti RS, et al. Effect of strength training on lipid and inflammatory outcomes: systematic review with meta-analysis and meta-regression. *J Phys Act Health* 2019; 16(6): 477-91.
24. Sadeghi A, Gholami M, Matinhomae H, Aabednatanzi H, Ghazalian F. Changes in the serum levels of ANGPTL3, ANGPTL4 and CRP following combined training alone or in combination with thyme ingestion in the obese men [in Persian]. *Daneshvar Medicine* 2022; 30(2): 61-73.
25. Khosravianfar M, Jalali Dehkordi KH, Sharifi G, Jalali Dehkordi A. Compari برنامه‌ی تمرینات جدول ۱: برنامه‌ی تمرینات (دویدن روی تردمیل) of resistance, aerobic and concurrent training on irisin, CRP serum levels in obese women [in Persian]. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2018; 20(2): 13-23.

The Effect of 12 Weeks of Concurrent Training (Aerobic and Strength) on the Levels of miR-155 and C-reactive Protein in Obese Middle-Aged Men

Amir Shakib¹, Ramin Amirsasasn², Vahid Sari-Sarraf², Javad Vakili²

Original Article

Abstract

Background: Some micro RNAs (miRNA) are secreted by adipose tissue and play a role in intercellular communication and are considered as a valuable target point in order to control obesity and its consequences. The aim of the present study is to determine the effect of two concurrent aerobic and strength training methods on the levels of miR-155 and C-reactive protein (CRP) in obese middle-aged men.

Methods: Thirty middle-aged men with an average age of 44.57 ± 3.54 years and weight 103.79 ± 8.46 kg, randomly and based on fat percentage, aerobic capacity ($\dot{V}O_{2max}$) and one repetition maximum (1-RM) were assigned to three groups: 1) concurrent aerobic and strength training in one day (CAST1), 2) concurrent aerobic and strength training on separate days (CAST2) and 3) control group. Blood samples were collected from the subjects 48 hours before and after 12 weeks of concurrent training, in order to analyse of miR-155, CRP and glucose indices. One-way ANOVA with repeated measures and Bonferroni's post hoc test were used to analyze the data.

Findings: After 12 weeks of training, CAST1 group experienced a significant decrease in miR-155, CRP and glucose indices compared to the control group. Also, in the CAST2 group, miR-155, CRP and glucose indices were significantly decreased compared to the control group.

Conclusion: It seems that both CAST training methods reduce obesity-related inflammation by affecting miR-155, and middle-aged men may be able to use both training methods to prevent metabolic diseases.

Keywords: Strength training; Obesity; miR-155; C-reactive protein; Glucose

Citation: Shakib A, Amirsasasn R, Sari-Sarraf V, Vakili J. **The Effect of 12 Weeks of Concurrent Training (Aerobic and Strength) on the Levels of miR-155 and C-reactive Protein in Obese Middle-Aged Men.** J Isfahan Med Sch 2023; 40(694): 908-16.

1- PhD Student in Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Corresponding Author: Ramin Amirsasasn, Associate Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran; Email: amirsasan@tabrizu.ac.ir