دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی

تأثیر تمرین تداومی و محدودیت کالریایی متناوب (ICR) بر بیان ژن miR-146a و سطوح TNF-α وIL-6 زنان چاق

نویسندگان: وحید ساری صراف*، رامین امیرساسان، سیده فریده عراقی

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول: وحید ساری صراف E-mail: sarraf@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۸/۱۰/۲۸
پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۵

چکیده

مقدمه و هدف: چاقی یک بیماری چندعاملی می‌باشد که عوامل محیطی و ژنتیکی در آن دخالت دارند و با بر هم زدن هومئوستاز متابولیسم چربی می‌تواند باعث بروز اختلالات متعدد گردد. در میان ساز و کارهای مختلف که زمینه ساز ایجاد تفاوت‌های بین فردی در چاقی میشود، عوامل اپی‌ژنتیکی در بیان ژن‌های مرتبط نقش تعیین کننده‌ای دارند. همچنین تأثیر تمرین تداومی همراه با محدودیت کالریک بر میزان برخی از سایتوکاین های التهابی به طور جدی بررسی نشده است. لذا، مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر تمرین تداومی به همراه رژیم غذایی متناوب (ICR) بر بیان miR-146a و میزان TNF-α وIL-6 خون محیطی زنان چاق انجام شد.

مواد و روش ها: ۲۷ زن میان‌سال چاق به مدت ۸ هفته در سه گروه همگن کنترل ، ICR و تمرین تداومی همراه با ICR شرکت نمودند؛ میزان بیان miR-146a و سطوح پلاسمایی TNF-α و IL-6 طی ۷۲ ساعت قبل و بعد از دوره تمرین ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های شاپیرو–ویلک، تحلیل واریانس مکرر و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معنی داری α<۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج در گروه تمرینی همراه با ICR ، افزایش معنی دار در میزان بیان miR-146a و کاهش در میزان TNF-α و IL-6 را نشان داد (p<0.05). ولی در گروه ICR ، کاهش سطح IL6، TNF-α نسبت به گروه کنترل معنادار نبود (P>0.05).

نتیجه‌گیری: تمرین تداومی و ICR بر افزایش بیان ژن miR-146a تأثیر داشته و هرگاه تمرین با ICR همراه باشد این اثر چندین برابر شده و در کاهش التهاب مزمن (TNF-α وIL-6) نقش به سزایی خواهد داشت.

واژگان کلیدی: تمرین تداومی ، محدودیت کالریایی متناوب (ICR)، miR-146a ، TNF-α، IL6.

مقدمه

امروزه در سراسر جهان، اضافه وزن و چاقی به عنوان یکی از مشکلات جدی سلامت مطرح شده است. به طوری که محدوده شیوع چاقی را در بزرگسالان ایرانی ۱۲/۶ تا ۲۵/۹ درصد گزارش کرده‌اند (۱). که بیشترین میزان شیوع را زنان با نسبت بیش از دو برابر مردان تشکیل می‌دهند (۲). از طرفی، پژوهش‌های متعدد نشان داده است که تفاوت‌های قابل مشاهده در میزان توده بدنی افراد، تا حدودی ناشی از فاکتورهای ژنتیکی و اپی ژنتیکی است (۳). بر اساس مطالعات موجود، miRNAها در توسعه و تمایز سلول‌های چربی، حساسیت به انسولین و متابولیسم لیپیدی نقش تنظیمی مهمی را بر عهده دارند. در این راستا، از جمله miRNAهای درگیر در اختلالات متابولیکی مرتبط با چاقی، miR-1 46a است که در تحریک پاسخ‌های التهابی (به‌ویژه التهاب مزمن در افراد چاق)، تنظیم حساسیت به انسولین و متابولیسم انرژی نقش مهمی‌دارد. هم‌چنین، بین miRNA مذکور و میزان TNFα[1] و IL-۶[2] دستگاه گردش خون رابطه منفی گزارش شده است. از طرفی، براساس تحلیل‌های بیوانفورماتیکی، ژن miR-146a به عنوان ژن هدف در متاستاز، چرخه سلولی، آپوپتوز و مسیرهای‌اندوکرین مانند: مسیر پیام رسانی Wnt، MAPK[3]، JAK- STAT[4] مورد توجه و تأکید است (۴). TNF-α به‌عنوان یک سیتوکین و نشانگر التهابی درگیر در فرآیند دفاع در برابر عفونت‌های ویروسی-باکتریایی و قویترین عامل محرک سیتوکین IL-6 به شمار می‌رود (۵). افزایش سطوح سرمی و بیان ژنی TNF-α، به عنوان یک نشانگر پیش التهابی با چاقی، سندروم متابولیک، دیابت قندی نوع دو و بیماری قلبی- عروقی و حتی برخی از سرطان‌ها در ارتباط است (۶). لازم به ذکر است که گزارش‌های اخیر نشان دهنده این موضوع است که سازوکارهای اپی ژنتیک یکی از عواملی است که در کنترل بیان TNF-α نقش دارند (۷).

در میان راهکارهای مؤثر برای غلبه بر مشکلات مرتبط با چاقی و راهکارهای درمانی آن، محدودیت کالریایی و فعالیت بدنی منظم علاوه بر اینکه از روش‌های مؤثر کنترل وزن هستند، کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و بیماری‌های سوخت و سازی مزمن را ممکن می‌سازند. از دیدگاه برخی از محققان محدودیت کالری دریافتی روشی مؤثر برای جلوگیری از چاقی و کاهش وزن و همچنین پیشگیری از پیامدهای مرتبط با آن از جمله بیماری‌های قلبی عروقی و دیابت نوع دو است (۸). در روش محدودیت کالریایی متناوب[5] (ICR) از کاهش تواتر وعده‌های غذایی برای کاهش کالری دریافتی استفاده می‌شود (۹).

فلاح و همکاران (۱۳۹۷) در بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی بر سطوح miR-146a در گردش خون وسطوح پلاسمایی IL-6 در زنان، افزایش معنی‌دار miR-146a و کاهش معنادار IL-6 را پس از دوره تمرینی گزارش کردند (۱۰) که همسو با نتایج تحقیق سلیبر[6] و همکاران (۲۰۱۸) بود (۱۱). همچنین کرانن‌براک[7] و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که کاهش میزان miR-146a پلاسمایی به‌دنبال فعالیت حاد رکاب‌زنی بیشینه قبل و بعد از ۱۲ هفته تمرین هوازی رکاب‌زنی (جلسات ده دقیقه‌ای چهار روز در هفته) در بیماران کلیوی مشاهده شد (۱۲).

ایمایاما و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که محدودیت کالریایی با و بدون ورزش هوازی باعث کاهش معنی‌داری در تمامی‌شاخص‌های التهابی واینتر لوکین ۶ می‌شود (۱۳). در این راستا تحقیق کاسیمی[8] و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از این بود که محدودیت کالری باعث کاهش معنی‌داری در سطح IL-6 و TNF-α هم در طول محدودیت و هم بعد از محدودیت در هر دو جنس شده است. لیکن تأثیر چهار ماه تمرین هوازی با محدودیت کالریایی بر سیتوکاین‌های التهابی زنان در تحقیق رید و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که TNF-α تغییر معنی‌داری نداشت (۱۴).

به هر حال با توجه به نتایج محدود و متناقض مربوط

[1] Tumor necrosis factor alpha
[2] Interleukin 6
[3] Mitogen- activated protein kinases
[4] Janus kinase- signal transducer and activator of transcription

[5] Intermittent caloric restriction
[6] Celber
[7] Craenenbroeck
[8] Kacimi

به تأثیر تمرینات تداومی هوازی و اثر هم‌افزایی ترکیب محدودیت کالریایی با این نوع تمرینات بر بیان miR-146a و میزان شاخص‌های التهابی و عدم دسترسی به مطالعات جامع روی زنان میانسال و غیرفعال این سؤال مطرح است که آیا واقعاً ترکیب این نوع تمرین ورزشی با محدودیت کالریایی می‌تواند از آثار نامطلوب محدودیت کالریایی (عوارض زیست شیمیایی مهمی مانند کاهش توده عضلانی و تراکم استخوانی، تغییرات هورمونی و اختلال یا سرکوب دستگاه ایمنی و...) بکاهد (۱۵)؟ به همین دلیل انجام مطالعه‌ی حاضر بر برخی از شاخص‌های التهابی در زنان چاق ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر در قالب طرح‌های نیمه‌تجربی دوگروهی پیش‌آزمون-پس‌آزمون انجام شد. جامعه آماری تحقیق حاضر شامل زنان سالم میان‌سال (با دامنه سنی ۳۵ تا ۴۵ سال)، غیرفعال، غیرسیگاری و غیرالکلی، مبتلا به چاقی (BMI>30) بودند. نمونه تحقیق به روش نمونه‌گیری در دسترس از بین زنان میان‌سال شهرتبریز انتخاب گردید. قبل از شروع مطالعه با استفاده از نرم افزار تحت وب Statstodo و با در نظر گرفتن آلفای پنج درصد و بتا دودهم و توان هشت‌دهم و براساس نتایج موجود تعداد آزمودنی مورد نیاز برای هر گروه حداقل ۱۰ نفر تعیین شد که به منظور کنترل اثرات ناشی از افت آزمودنی، در هر گروه، ۱۱ نفر آزمودنی قرار گرفت. شرایط ورود آزمودنی‌ها به تحقیق موارد زیر بود: ۱) عدم ابتلا به بیماری، ۲) عدم مصرف مکمل و دارو ۳) عدم شرکت منظم در تمرینات ورزشی خاص. در ابتدا روش اجرای تمامی مراحل و بروز خطرات احتمالی و فواید ناشی از پروتکل تمرینی به آزمودنی‌ها توضیح داده شد، آزمودنی‌های داوطلب، فرم رضایت آگاهانه جهت شرکت در مطالعه، فرم یادداشت و یادآمد غذایی ۲۴ ساعته و فرم ثبت فعالیت بدنی را به مدت ۳ روز (دو روز عادی و یک روز تعطیل) و پرسشنامه‌های مرتبط با سوابق فعالیت بدنی و وضعیت سلامت عمومی بدنی را تکمیل نمودند. پس از انجام ارزیابی‌های اولیه، همگن‌سازی گروه‌ها توسط شاخص‌های BMI و اکسیژن مصرفی بیشینه ($\dot{V}O_2max$) (با استفاده از آزمون پیاده روی راکپورت) انجام گرفت و آزمودنی‌ها به طور تصادفی در سه گروه همگن محدودیت کالریایی متناوب (ICR؛ ۲۰ درصد)، ترکیب تمرین تداومی متوسط و ICR (۱۰ درصد محدودیت کالری از تمرین و ۱۰ درصد ICR) و کنترل قرار گرفتند. بعد از هماهنگی با داوطلبان، دو هفته قبل از شروع مطالعه، ۳۳ نفر از این افراد واجد شرایط برای شرکت در تحقیق و اندازه گیری وزن، قد، BMI، درصد چربی و اکسیژن مصرفی بیشینه فراخوانده شدند (که از این تعداد، ۲۷ نفر تا پایان مطالعه حضور داشتند). پیش از شروع برنامه تمرینی، آزمودنی‌ها در شش جلسه تمرین تداومی با شدت متوسط به منظور آماده‌سازی، شرکت نمودند. از آزمودنی‌ها خواسته شد برگه یادآمد غذایی را در سه روز قبل از خون‌گیری اولیه و ثانویه تکمیل و سعی کنند مشابه همین برنامه غذایی اولیه را در سه روز قبل از مرحله خون‌گیری نهایی (۷۲ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی) هم رعایت فرمایند و سپس ساعت هفت تا هشت صبح و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، جهت تهیه نمونه خونی به درمانگاه مراجعه کنند. شاخص‌های آنتروپومتریکی و ورزشی مانند شاخص توده بدنی، اکسیژن مصرفی بیشینه و غیره در سالن ورزشی دانشگاه تبریز اندازه‌گیری شد.

روش اندازه‌گیری

روش سنجش miR146: نمونه‌های خونی گرفته شده از آزمودنی‌ها بعد از نیم ساعت انکوبه شدن در دمای محیط در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس با کمک سمپلر نمونه‌های پلاسمای در آلیکوت‌های یک میلی‌لیتری در لوله‌های پلی پروپیلنی درپوش دار مخصوص جمع‌آوری گردید و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز بیوشیمیائی بعدی نگهداری شد. RNA کل با استفاده از کیت TRIzole کمپانی Invitrogen مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آن برای نمونه‌های مایع استخراج گردید. بعد از مراحل آماده‌سازی محلول‌های لازم برای کیت استخراج RNA از پلاسما، عمل Real-Time PCR با استفاده از پرایمرها و کیت ویژه آن انجام پذیرفت و پس از طی مراحل تعیین سیگنال پایه (baseline)، تعیین سیکل آستانه (Threshold cycle or Ct) و آنالیز منحنی ذوب (Melting curve analysis)، محاسبه میزان

miRNA به شرح زیر انجام گرفت: برای نرمال‌سازی بیان نسبی miRNA در بین نمونه‌ها از RNAی RNU6B مطابق متد 2-ΔΔ Ct (Livak) عمل شد. ابتدا Ct هر نمونه مطابق روشی که قبلاً ذکر گردید، تعیین و سپس ΔCt محاسبه شد. مقدار ΔCt مطابق رابطه زیر بدست آمد: [(Ct RNU6B - (هر نمونه) Ct =ΔCt]. در مرحله بعد مقدار ΔΔCt و مقدار نرمال شده هر نمونه محاسبه شد: ((نمونه پلاسمای کالیبراتور) ΔCt - (نمونه پلاسمای افراد یا کنترل) ΔCt = ΔΔCt) مقدار miRNA ی نرمال شده هر نمونه برابر با ΔΔCt -2 بود (۱۶). جهت محاسبه عامل نکروز دهنده‌ی توموری آلفا (TNF-α) و اینترلوکین-۶ (IL-6) نیز از روش الایزا استفاده گردید. کلیه آزمایش‌ها خونی در مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و آزمایشگاه تحقیقاتی سارا انجام گرفت.

برنامه تمرینی

هر جلسه تمرین تداومی شامل سه بخش گرم کردن، بخش اصلی تمرین و سرد کردن بود. بخش اصلی تمرین در هفته اول با ۳۰ دقیقه راه رفتن سریع در ۶۵-۶۰ درصد ضربان قلب ذخیره شروع و در هفته هشتم به ۴۰ دقیقه راه رفتن سریع و دویدن در ۷۵-۶۵ درصد ضربان قلب ذخیره افزایش یافت (۱۷).

جدول ۱. پروتکل تمرینات تداومی

هفته	مدت زمان راه رفتن-دویدن	محدوده ضربان قلب (درصد ضربان ذخیره)
۱	۳۰	۶۰-۶۵
۲	۳۰	۶۰-۶۵
۳	۳۰	۶۵-۷۰
۴	۳۰	۶۵-۷۰
۵	۳۵	۷۰-۷۵
۶	۳۵	۷۰-۷۵
۷	۴۰	۷۰-۷۵
۸	۴۰	۷۰-۷۵

محدودیت کالریایی

با استفاده از فرم یادداشت و یادآمد غذایی ۲۴ ساعته و فرم ثبت فعالیت بدنی ۳ روزه (دو روز عادی و یک روز تعطیل) تکمیل شده، میانگین انرژی دریافتی و مصرفی آزمودنی‌ها محاسبه گردید. دریافت کالری گروه ICR به میزان ۲۰ درصد با نسبت ۱۵ درصد از چربی و ۵ درصد از کربوهیدرات کاهش یافت. میزان انرژی دریافتی آزمودنی گروه تمرین +ICR به میزان ۱۰ درصد دریافت کالری آنها با نسبت ۷ درصد از چربی و ۳ درصد از کربوهیدرات کاهش و ۱۰ درصد از طریق فعالیت بدنی (معادل انرژتیک) ۱۰ درصد به هزینه فعالیت بدنی روزمره آنها افزوده شد. از این رو، در مطالعه حاضر کاهش دریافت کالری از طریق کاهش مواد غذایی هدف (مواد غذایی مربوط به میان وعده‌ها یا مواد غذایی که دارای محتوای انرژی بالا و سطح مواد مغذی پایین) صورت گرفت که در شش روز هفته برای آزمودنی‌ها قابل اجرا بود. به منظور ایزوکالریک کردن میزان کاهش دریافت کالری از طریق رژیم غذایی و افزایش هزینه انرژی از طریق افزایش فعالیت بدنی از معادلات سوخت و سازی استفاده شد. میزان انرژی مصرفی هر فرد در طی تمرین (افزایش ۱۰ درصدی هزینه مصرفی انرژی از طریق فعالیت بدنی) با استفاده از روابط زیر محاسبه شد.

$$VO_2 = \%HRR \times VO_{2max} \qquad MET = VO_2/3.5$$
$$Kcal = MET \times time\ (h) \times weight(kg)$$

به پرایمرهای طراحی شده جهت اندازه‌گیری بیان ژن miR-146a و u6 (برای نرمال‌سازی داده‌ها) در زیر اشاره شده است:

hsa-miR-146a
stemloop:
5-
GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT
CGCACTGGATACGACTTCCCT_3
f primer: CGTGCTGTGACCTATGCTG
reverse:5- CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA-3
u6:
Stemloop:
5-
GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT
CGCACTGGATACGACAAAAATAT-3
Forward primer:
5-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3
Reverse primer:
5-C
GCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3

روش آماری

پس از تائید توزیع طبیعی با استفاده از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و همگنی داده حاصله در مرحله اول، تغییرات هر یک از شاخص‌های مورد مطالعه طی مراحل مختلف اندازه‌گیری با آزمون‌های تحلیل واریانس مکرر با استفاده از نرم‌افزار SPSS/PASW[1] نسخه ۲۲ تحت

[1] Statistical Package for the Social Sciences

ویندوز، در سطح معنی‌داری $\alpha<0/05$ بررسی شد.

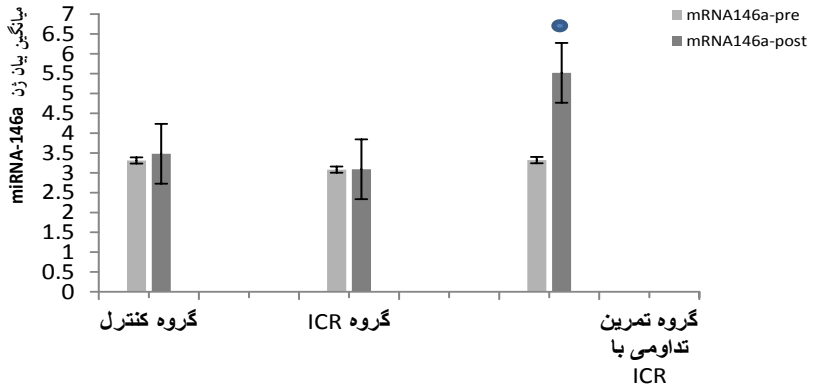
یافته‌ها

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها، تجزیه تحلیل آماری انجام شد. برخی از شاخص‌های آماری مربوط به فاکتورهای‌اندازه گیری شده تحقیق **miR46a**، **TNF-α** و **IL6** در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. شاخصهای آماری شامل میانگین، انحراف معیار، کمینه و بیشینه مربوط به فاکتورهای‌اندازه گیری شده تحقیق

گروه	شاخص آماری	miR146a pre	miR146a post	TNF-α pre	TNF-α post	IL6 pre	IL6 post
کنترل	میانگین	۳/۳۱	۳/۴۸	۹/۶۸	۱۰/۰۱	۵/۰۶	۵/۴۵
	انحراف معیار	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۸۳	۰/۹۳	۰/۶۱	۰/۷۰
	کمینه	۲/۹۲	۳/۲۴	۸/۵۰	۹/۱۰	۴/۴۰	۴/۵۰
	بیشینه	۳/۵۷	۳/۸۹	۱۰/۶۰	۱۱/۰۰	۶/۱۰	۶/۴۰
محدودیت کالریایی	میانگین	۳/۰۸	۳/۰۹	۹/۵۲	۸/۶۴	۵/۱۱	۴/۴۴
	انحراف معیار	۰/۲۰	۰/۱۹	۰/۸۶	۰/۵۰	۰/۴۸	۰/۵۲
	کمینه	۲/۸۲	۲/۹۳	۸/۵۰	۸/۱۰	۴/۶۰	۳/۸۰
	بیشینه	۳/۳۴	۳/۴۶	۱۰/۸۰	۹/۳۰	۵/۸۰	۵/۳۰
تمرین+ محدودیت کالریک	میانگین	۳/۳۲	۵/۵۲	۹/۷۷	۶/۷۸	۵/۳۷	۳/۶۲
	انحراف معیار	۰/۲۰	۰/۴۵	۰/۹۵	۰/۷۲	۰/۴۰	۰/۵۸
	کمینه	۳/۰۵	۴/۷۴	۸/۸۰	۵/۸۰	۴/۸۰	۳/۰۰
	بیشینه	۳/۶۰	۵/۹۲	۱۱/۷۰	۷/۸۰	۵/۸۰	۴/۲۰

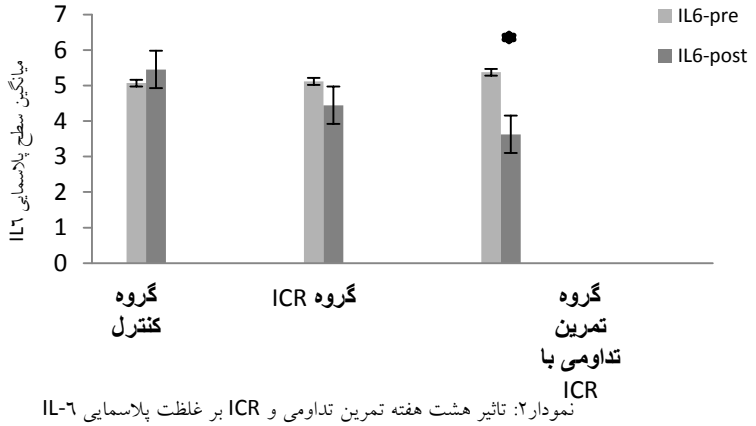
نتایج تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن **miR-146a** در گروه تمرینی همراه با **ICR** نسبت به قبل از شروع دوره افزایش معنادار داشته و همچنین در گروه تمرینی (**T+ ICR**) نسبت به گروه کنترل این تفاوت در بیان ژن معنی‌دار مشاهده شد (**P<۰/۰۵**). (نمودار ۱).



نمودار 1: تاثیر هشت هفته تمرین تداومی و ICR بر بیان ژن miRNA-146a

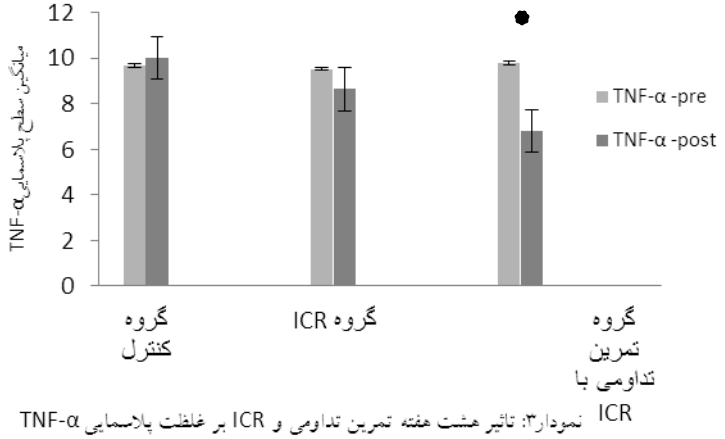
● نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (**P<۰/۰۵**) بین گروهی

سطوح پلاسمایی TNF-α و IL-6 در گروه تمرین تداومی‌نسبت به دو گروه دیگر تفاوت معنی‌داری داشت. نتایج تحقیق در نمودارهای (۳,۲) نشان داده شده است. همچنین اثر متقابل زمان و گروه در بیان ژن miR146a و سطوح پلاسمایی TNF-α و IL-6 معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).



نمودار۲: تاثیر هشت هفته تمرین تداومی و ICR بر غلظت پلاسمایی IL-٦

● نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروهی



نمودار۳: تاثیر هشت هفته تمرین تداومی و ICR بر غلظت پلاسمایی TNF-α

نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین گروهی

لازم به ذکر است که در گروه ICR بر خلاف گروه ترکیبی (تمرین +ICR) میزان کاهش بیشتر در توده بدون چربی (توده عضلات و تراکم استخوان و...) نسبت به توده چربی بدن معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

بحث

در بررسی پیشینه تحقیق، مقاله مشابه در موتورهای جستجو گر موجود در زبانهای فارسی و انگلیسی یافت نشد. ولی می‌توان بیان نمود که نتایج تحقیق حاضر مبنی بر تأثیر معنی‌دار تمرین بر افزایش بیان ژن miR-146a با نتایج تحقیقات فلاح و همکاران (۱۳۹۷)، امپورتا[1] و همکاران (۲۰۱۸)(۱۱)، کانگاس[2] و همکاران (۲۰۱۷)(۱۸)، اوقباعی[3] و همکاران (۲۰۱۷)(۱۹)، نیلسن[4] و همکاران (۲۰۱۴)(۳)، بگیش[5] و همکاران (۲۰۱۱)(۲۰) و وو[6] و همکاران (۲۰۱۴)(۲۱) همسو بود. سووادا[7] و همکاران (۲۰۱۳)(۲۲) ، کرانن‌براک[8] و همکاران (۲۰۱۵)(۱۲)، نیلسن[9] و همکاران (۲۰۱۴) و بگیش و همکاران (۲۰۱۴)(۲۳) در بررسی تأثیر تمرین بر بیان ژن miR-146a کاهش یا عدم تغییر معنی‌دار را مشاهده کردند که با یافته‌های پژوهش حاضر همسو نمی‌باشند. با توجه به نتایج تحقیقات سلیبر و سووادا به نظر می‌رسد مکانیسم تأثیر تمرین مقاومتی بر بیان ژن miR-146a با تمرین هوازی تا حدودی متفاوت باشد و احتمالاً کوفتگی و آسیب‌های جزئی در افزایش التهاب و افزایش سطح IL-6 و بیان ژن miR-146a تأثیرگذار باشند. سووادا نیز کاهش اولیه بیان ژن مورد نظر را بلافاصله بعد از تمرین در نتیجه پاکسازی آن‌ها توسط بافت‌های اطراف و ادرار گزارش کرد (۱۱). کرانن‌براک[10] و همکاران (۲۰۱۵) در توجیه کاهش میزان miR-146a پلاسمایی در بیماران کلیوی مزمن بیان کردند که افزایش بیان miR-146a یک بخش از سازوکار تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در وضعیت‌های التهابی مانند بیماری کلیوی مزمن است و فعالیت ورزشی حاد منجر به نرمال‌سازی میزان miR-146a می‌شود احتمال می‌رود کاهش مشاهده شده بازتاب مصرف سریع miR-146a توسط مونوسیت‌ها و در نتیجه کاهش TLRها در این یاخته‌ها باشد (۱۲). بگیش و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی بیان برخی از miRها پس از یک وهله دوی ماراتون در دوندگان مرد سالم افزایش سطح miR-146a را بلافاصله بعد از تمرین و کاهش آن را در ۲۴ ساعت پس از تمرین مشاهده نمودند که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که miRهای التهابی از جمله miR-146a پاسخ‌های متفاوتی به تمرین حاد و مزمن می‌دهند(۲۳). سه مسیر اصلی درگیر در ژن‌های مورد هدف miR که بیانشان تحت تأثیر تمرین نیز قرار می‌گیرند عبارتند از: مسیر پروتئولیزی به واسطه یوبیکوئیتین (ubiquitin-mediated proteolysis pathway)، مسیر سیگنالینگ جانوس کیناز (Jak-STAT signaling pathway) و مسیر سیگنالینگ Hedgehog (مسیر درگیر در القا و مرگ سلول‌های سرطانی). از آنجایی که مسیرهای یوبیکوئیتین و جانوس کیناز در نظارت بر عملکرد االتهابی نقش مهمی دارند و اغلب ژن‌های هدفmiR ها به ویژه miR146a و ژن‌های متاثر از تمرین در مسیر پروتئولیزی وابسته به یوبیکوئیتین درگیر می‌شوند به نظر می‌رسد ژن‌های دخیل در این دو مسیر از جمله miR-146a با تغییر تنظیم NF-KB در کنترل عملکرد ایمنی و التهابی نقش به سزایی‌ایفا می‌کنند (۱۰). به‌این صورت که miR-146a به عنوان یک miRNA ضدالتهابی که توسط سایتوکاین‌هایی مانند: TNF-a، IL-1ß و مسیر NF-κB فعال می‌شود می‌تواند با سرکوب اجزای مسیر NF-κB (Irak1 و Traf6) (۲۴) و در نتیجه سرکوب بیان ژن‌های IL-6، Il-8 و TNF-α (درگیر در لیپولیز) بر کاهش التهاب تأثیر می‌گذارد (۲۵). بنابراین به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی با افزایش سطح بیان miR-146a ، التهاب مرتبط با چاقی را کاهش می‌دهد (۱۹).

هشت هفته تمرین تداومی‌همراه با ICR باعث کاهش معنی‌دار در سطوح IL-6 و TNF- α شد که همسو با

[1] Improta
[2] Kangas
[3] Oghbaei
[4] Nielsen
[5] Baggish
[6] Wu
[7] Sawada
[8] Craenenbroeck
[9] Nielsen
[10] Craenenbroeck

نتایج تحقیقات فلاح و همکاران (۱۳۹۷)(۱۰)، ایمایاما و همکاران (۲۰۱۸)(۱۱)، لوپز[1] و همکاران (۲۰۱۶)(۲۶) و کاسیمی[2] و همکاران (۲۰۱۲)(۲۷) است. تحقیق رید و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که به دنبال چهار ماه تمرین هوازی با محدودیت کالریایی در TNF-α زنان تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین، کاهش وزن ناشی از تمرینات ورزشی و محدودیت کالریایی باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های التهابی به ویژه IL-6 شد (۱۴). آلن[3] و همکاران (۲۰۱۷) با مقایسه تأثیر نه هفته تمرین تناوبی شدید هوازی بر شاخص‌های التهاب دریافتند که تغییرات CRP و TNF-α در گروه تمرین تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (۲۸) که علت این تناقض را می‌توان به تفاوت در نوع، شدت و مدت پروتکل تمرینی در هر دو تحقیق مرتبط دانست.

چندین سازوکار برای تغییرات سایتوکاین‌های التهابی در طول تمرین و محدودیت کالریایی پیشنهاد شده است. با توجه به اینکه بافت چربی یکی از منابع آزادسازی سایتوکاین‌های التهابی است با کاهش در میزان بافت چربی بدن به دنبال محدودیت کالریایی و تمرین تداومی‌کاهش التهاب نیز اتفاق می‌افتد (۲۹). تمرین ورزشی از طریق کاهش تحریک سمپاتیکی)، تغییر عوامل در گردش خون (لاکتات،کاتکولامین‌ها و فاکتورهای رشد)، تحریک گیرنده‌های لنف، افزایش گیرنده‌های IL-6، بهبود ظرفیت اکسیداتیو و افزایش لیپولیز با تحریک لیپاز حساس به هورمون به کاهش در سطح IL-6 و TNF-α منجر می‌شود. لازم به ذکر است که عامل مؤثر در تعیین میزان تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات IL-6 وTNF-α، مدت زمان و شدت فعالیت ورزشی است (۳۰). با توجه به اینکه اعمال محدودیت کالریایی همراه با تمرین تداومی می‌تواند تأثیر چشمگیری در کاهش وزن داشته باشد در نتیجه کاهش وزن بیشتر باعث تغییرات بیشتر در TNF- α و IL-6 خون بعد از دوره تمرینی خواهد شد. لازم به ذکر است که در گروه ICR میزان کاهش بیشتر مشاهده شده در توده بدون چربی در طولانی مدت می‌توانست تائیدی بر اثرات نامطلوب محدودیت کالریایی (بدون فعالیت بدنی) بر تحلیل توده بدون چربی (توده عضلات و تراکم استخوان و...) باشد. به نظر می‌رسد استفاده از دوره محدودیت کالریایی طولانی تر می‌توانست نتایج بهتری را نمایان کند. تأثیر متقابل زمان و گروه در هر سه فاکتور مورد بررسی معنی‌دار مشاهده شد. به طوری که در هر دو گروه تمرین تناوبی و تداومی همراه با محدودیت کالریایی، افزایش بیان ژن miR-146a و کاهش سطح TNF- α و IL-6 نسبت به قبل ازشروع پروتکل تحقیق، معنی‌دار بود. به نظر می‌رسد تأثیر فعالیت بدنی بر کاهش عوامل مرتبط با التهاب از جمله فاکتورهای تحقیق حاضر، وقتی به مدت دو ماه همراه با محدودیت کالریایی اعمال شود، همان طور که در ابتدای بحث توضیح داده شد از طریق کمک به کاهش بیشتر وزن و توده چربی و تأثیر بر عوامل دیگر از جمله عوامل هورمونی می‌تواند افزایش یافته و در معنی‌دار شدن نتایج در دو گروه تمرینی تناوبی و تداومی همراه با ICR نقش بسزائی داشته باشد.

با توجه به این موضوع که تغییرات سطح بیان ژن miR-146a، سطح IL-6 و TNF-α در هر دو گروه ICR و کنترل معنادار نبود، می‌توان اظهار کرد که تغییرات مشاهده شده در سطح شاخص‌های مورد بررسی در گروه ترکیبی (تمرین تداومی+ICR) بیشتر تحت تأثیر تمرین تداومی بوده است و کاهش بیشتر مشاهده شده در توده چربی نسبت به توده بدون چربی آزمودنی‌های گروه ترکیبی، با افزایش توده عضلاتی و بهبود تراکم استخوانی در اثر تمرین تداومی ارتباط داشته باشد. یکی از محدودیت‌های قابل ذکر تحقیق حاضر نبود گروه تمرین تداومی بدون محدودیت کالریایی بود. امید است در تحقیقات آتی از گروه‌های مختلف تمرینی با و بدون محدودیت کالریایی جهت نتیجه گیری بهتر

[1] lopes
[2] Kacimi
[3] Allen

استفاده شود.

نتیجه گیری

احتمالاً تمرین ورزشی تداومی به همراه ICR با تعدیل در بیان NF-κB و تأثیر بر افزایش بیان ژن‌های ضدالتهابی مانند miR-146a و کمک به کاهش وزن و چربی بدن (منابع تولید سایتوکاین‌های التهابی) و تأثیر در کاهش TNF-α و IL-6 خون، در کاهش میزان التهاب و بهبود وضعیت‌ایمنی می‌تواند تأثیر بیشتری داشته باشد (۳۱). پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتری با موضوع حاضر ولی با تعداد بیشتر آزمودنی و انواع پروتکل‌های تمرینی و در مدت زمان طولانی تر، جهت بررسی تأثیر توأم تمرینات ورزشی و رژیم غذایی برایمنی افراد چاق و دارای اضافه وزن صورت گیرد.

سپاسگزاری

از همکاری مسئول مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مسئول آزمایشگاه تحقیقاتی سارا، مدیر تربیت بدنی دانشگاه تبریز و تمامی آزمودنی‌ها در زمینه اجرای مراحل عملی تحقیق تشکر و قدردانی می‌نماییم.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل‌این مطالعه در کمیته پزشکی منطقه‌ای اخلاق دانشگاه تبریز استان آذربایجان شرقی به شماره مرجع IR.TBZMED.REC.1398.686 به تائید رسیده است.

منابع

1. Jafari-Adli S, Jouyandeh Z, Qorbani M, Soroush A, Larijani B, Hasani-Ranjbar S. Prevalence of obesity and overweight in adults and children in Iran; a systematic review. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 2014;13(1):121.
2. Sidik SM, Rampal L. The prevalence and factors associated with obesity among adult women in Selangor, Malaysia. Asia Pacific Family Medicine 2009;8(1):2.
3. 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.
4. Hosseini AH, Kohan L, Fallahi S. The Association of rs2910164 Polymorphism in mir-146a Gene with obesity in iranian women. Journal of Arak University Medical Sciences 2015, 18(8): 27-34.
5. Ye J, McGuinness OP. Inflammation during obesity is not all bad: evidence from animal and human studies. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2012;304(5):E466-E77.
6. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. Physiological reviews. 2013;93(1):359-404.
7. 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.
8. Campbell B, LaBounty P, Oetken A, Greenwood M, Kreider R, Campbell DWB, et al. The anabolic hormone response to a lower-body resistance exercise bout in conjunction with oral BCAA supplementation. Methods 2009;2(3):4.
9. Mattson MP, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. The Journal of Nutritional Biochemistry 2005;16(3):129-37.
10. Falah F, Rahmani Nia F, Shabani R, Hojati Z. Investigation on the effect of endurance training on blood circulating levels of Mir-146a and plasma levels of il-6 in sedentary elderly women. Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 2019;26(10):895-909.
11. Improta Caria AC, Nonaka CKV, Pereira CS, Soares MBP, Macambira SG, Souza BSdF. Exercise training-induced changes in micrornas: beneficial regulatory effects in hypertension, type 2 diabetes, and obesity. International Journal of Molecular Sciences 2018;19(11):3608.
12. Van Craenenbroeck AH, Ledeganck KJ, Van Ackeren K, Jürgens A, Hoymans VY, Fransen E, et al. Plasma levels of microRNA in chronic kidney disease: patterns in acute and chronic exercise. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2015;309(12):H2008-H16.
13. Imayama I, Ulrich CM, Alfano CM, Wang C, Xiao L, Wener MH, et al. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. Cancer Research 2012;72(9): 2314-26.
14. Reed JL, De Souza MJ, Williams NI. Effects of exercise combined with caloric restriction on

inflammatory cytokines. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 2010;35(5):573-82.
15. Davis RA, Halbrooks JE, Watkins EE, Fisher G, Hunter GR, Nagy TR, et al. High-intensity interval training and calorie restriction promote remodeling of glucose and lipid metabolism in diet-induced obesity. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2017;313(2):E243-E56.
16. Blondal T, Nielsen SJ, Baker A, Andreasen D, Mouritzen P, Teilum MW, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. Methods 2013;59(1):S1-S6.
17. Gerosa-Neto J, Antunes BM, Campos EZ, Rodrigues J, Ferrari GD, Neto JCR, et al. Impact of long-term high-intensity interval and moderate-intensity continuous training on subclinical inflammation in overweight/ obese adults. Journal of Exercise Rehabilitation 2016;12(6): 575.
18. Kangas R, Törmäkangas T, Heinonen A, Alen M, Suominen H, Kovanen V, et al. Declining Physical Performance Associates with Serum FasL, miR-21, and miR-146a in Aging Sprinters. BioMed Research International 2017;2017.
19. Oghbaei H, Asl NA, Sheikhzadeh F. Can regular moderate exercise lead to changes in miRNA-146a and its adapter proteins in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats? Endocrine Regulations 2017;51(3): 145-52.
20. 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. The Journal of Physiology 2011;589(16): 3983-94.
21. Wu X-D, Zeng K, Liu W-L, Gao Y-G, Gong C-S, Zhang C-X, et al. Effect of aerobic exercise on miRNA-TLR4 signaling in atherosclerosis. International Journal of Sports Medicine 2014; 35(04):344-50.
22. Sawada S, Kon M, Wada S, Ushida T, Suzuki K, Akimoto T. Profiling of circulating microRNAs after a bout of acute resistance exercise in humans. PloS One 2013;8(7):e70823.
23. Baggish AL, Park J, Min P-K, Isaacs S, Parker BA, Thompson PD, et al. Rapid upregulation and clearance of distinct circulating microRNAs after prolonged aerobic exercise. Journal of Applied Physiology 2014;116(5): 522-31.
24. Huszar J, Payne C. miR-146a Influences Energy Metabolism. Cell Differentiation and Innate Immunity Metabolomics 2013;3(1): 119.
25. Taganov KD, Boldin MP, Chang K-J, Baltimore D. NF-κB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. Proceedings of the National Academy of Sciences 2006; 103(33):12481-6.
26. Lopes WA, Leite N, da Silva LR, Brunelli DT, Gáspari AF, Radominski RB, et al. Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. Journal of sports sciences 2016;34(20): 1902-12.
27. Kacimi S, Ref'at A, Fararjeh MA, Bustanji YK, Mohammad MK, Salem ML. Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. Nutrition Research 2012;32(12): 947-55.
28. Allen NG, Higham SM, Mendham AE, Kastelein TE, Larsen PS, Duffield R. The effect of high-intensity aerobic interval training on markers of systemic inflammation in sedentary populations. European Journal of Applied Physiology 2017;117(6):1249-56.
29. Ogawa K, Sanada K, Machida S, Okutsu M, Suzuki K. Resistance exercise training-induced muscle hypertrophy was associated with reduction of inflammatory markers in elderly women. Mediators of Inflammation 2010;2010.
30. GHORBANIAN B, GHASEMNIAN A. The effects of 8 weeks interval endurance combined training on plasma TNF-α, IL-10, insulin resistance and lipid profile in boy adolescents 2016.
31. Goyal R, Faizy AF, Siddiqui SS, Singhai M. Evaluation of TNF-α and IL-6 levels in obese and non-obese diabetics: pre-and postinsulin effects. North American Journal of Medical Sciences 2012;4(4): 180.

Daneshvar

Medicine

The effect of continuous training and intermittent calorie restriction (ICR) on miR-146a gene expression and TNF-α and IL-6 levels in obese women

Vahid Sari-Sarraf*, Ramin Amirsasan, Seyyedeh Farideh Iraqi

Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Corresponding author e-mail: **sarraf@tabrizu.ac.ir**

Abstract

Background and Objective: Obesity is a multifactorial disease in which environmental and genetic factors are involved. Disrupting homeostasis of lipid metabolism can cause multiple disorders. Among different mechanisms that cause interpersonal differences in obesity, epigenetic factors play a key role in the expression of related genes. Also, the effect of continuous training with caloric restriction on the levels of some inflammatory cytokines has not been seriously investigated. Therefore, the present study aimed to study the effect of continuous training along with intermittent caloric restriction (ICR) on miR-146a expression and TNF- α and IL-6 of peripheral blood in obese women.

Materials and Methods: 27 obese middle-aged women participated for eight weeks in the three groups of homogeneous control, ICR and continuous training with ICR. The expression level of miR-146a and plasma levels of TNF- α and IL-6 were assessed 72 hours before and after exercise. Data were analyzed using Shapiro-Wilk tests, repeated measures ANOVA and Bonferroni post hoc tests at α <0.05.

Results: The results showed a significant increase in the expression level of miR-146a and a decrease in TNF- α and IL-6 levels in the training with ICR group (P <0.05). But in the ICR group, the decrease in IL6 and TNF- α was not significant as compared to control group (P> 0.05.(

Conclusion: Continuous training and ICR increases miR-146a gene expression. Remarkably, when continuous training is associated with ICR, this effect is multiplied and plays a key role in decreasing chronic inflammation (TNF- α and IL-6).

Keywords: Continuous training, Intermittent caloric restriction (ICR), miR-146a, TNF- α, IL6

Scientific-Research Journal of Shahed

Received: 02/10/2019
Last revised: 08/12/2019
Accepted: 17/12/2019