

## The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on mir-27a levels and serum c-reactive protein (CRP) concentration in middle-aged obese men

Hamidreza Zolfi<sup>1\*</sup>, Amir Shakib<sup>2</sup>, Adel Valipour<sup>2</sup>

1. Department of Physical Education and Sport Science, Technical and Vocational University (TVU), Tehran, Iran
2. Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\* Corresponding author e-mail: hzolfi@tvu.ac.ir

Citation: H Zolfi, Shakib A, Valipour A. The effect of eight weeks of high-intensity interval training (HIIT) on mir-27a levels and serum c-reactive protein (CRP) concentration in middle-aged obese men. Daneshvar Medicine 2022; 30(4):36-47.  
doi: 10.22070/DANESHMED.2022.16187.1205

### Abstract

**Background and Objective:** Obesity is known as a hazardous factor for many diseases including cardiovascular ones. Since the effect of exercise training on microRNAs (miRNA) related to obesity, especially mir-27a, has rarely been investigated; Therefore, the current research was conducted with the aim of investigating the effect of eight high-intensity interval training (HIIT) on mir-27a levels and C-reactive protein (CRP) concentration in obese men.

**Materials and Methods:** A total of 24 middle-aged obese men (BMI>30 and 44.07±4 years) volunteered were randomly divided into training (n=12) and control (n=12) groups. The training group performed eight weeks of HIIT in a circuit training (High Knee Jog, Jumping jack, burpee, kettlebell snatch, and goblet squat) at an intensity of 80-90% of the Karvonen heart rate (first four weeks: three sessions per week, second four weeks: four sessions per week). Mir-27a and CRP indices were measured in blood samples taken from subjects 48 hours before and after the last training session. Then, the data were analyzed by using independent and paired t-tests.

**Results:** Eight weeks of HIIT training significantly reduced mir-27a and CRP levels as compared to the control group (P <0.05).

**Conclusion:** Doing exercise, especially HIIT training one, can apparently reduce mir-27 and CRP and possibly prevent the metabolic diseases by counteracting inflammation caused by obesity.

**Keywords:** High-intensity interval training (HIIT), mir-27a, C-reactive protein (CRP), Obesity

Received: 10 May 2022  
Last revised: 21 Sep 2022  
Accepted: 08 Oct 2022

# تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر سطوح mir-27a سرمی و غلظت پروتئین واکنش گر C- در مردان چاق میانسال

## مقاله پژوهشی

نویسندگان: حمیدرضا زلفی<sup>۱\*</sup>، امیر شکیب<sup>۲</sup>، عادل ولیپور<sup>۲</sup>

۱. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه فنی و حرفه ای، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، ایران

\*نویسنده مسئول: حمیدرضا زلفی Email: hzolfi@tvu.ac.ir

### چکیده

**مقدمه و هدف:** چاقی به عنوان یک عامل خطر برای بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های سوخت و سازی و قلبی-عروقی شناخته می‌شود. از آنجایی که تأثیر تمرینات ورزشی روی میکرو RNAهای (miRNA) مرتبط با چاقی بویژه mir-27a به ندرت بررسی شده است؛ لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر هشت تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT) بر سطوح mir-27a و غلظت پروتئین واکنشگر C (CRP) در مردان چاق انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ۲۴ داوطلب مرد میانسال چاق (BMI ۳۰ و دامنه سنی ۴۰-۵۰ سال) بصورت تصادفی به دو گروه تمرین و کنترل تقسیم شدند. گروه تمرینی هشت هفته تمرینات HIIT را بصورت دایره‌ای (زانو بلند، پروانه، بورپی، کتل بل اسنچ و اسکات گابلت)، با شدت ۸۰-۹۰٪ ضربان قلب کاروون اجرا کردند (چهار هفته اول: سه جلسه و چهار هفته دوم: چهار جلسه در هفته). نمونه‌های خونی ۴۸ ساعت قبل و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی به منظور تحلیل شاخص‌های mir-27a و CRP از آزمودنی‌ها دریافت شد. سپس، داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تی مستقل و تی همبسته تجزیه و تحلیل شد.

**نتایج:** هشت هفته تمرین HIIT در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش معنی‌دار سطوح mir-27a و CRP شد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرینات ورزشی به ویژه تمرینات HIIT می‌تواند سبب کاهش mir-27 و CRP شده و احتمالاً با جلوگیری از التهاب ناشی از چاقی، از بروز بیماری‌های متابولیکی جلوگیری نماید.

**واژه‌های کلیدی:** تمرینات تناوبی با شدت بالا (HIIT)، mir-27a، پروتئین واکنشگر C (CRP)، چاقی

دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۱/۰۶/۳۰

پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۶

## مقدمه

طریق ساختارهایی به نام وزیکول خارج سلولی<sup>۲</sup> به داخل گردش خون منتقل شده و به مجموعه‌های پروتئینی یا لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا متصل شوند (۵،۶). اگرچه پیش‌سازهای miRNAهای بالغ یا نابالغ در خارج از سلول و در گردش خون مشاهده شده است، اما اطلاعات کمی در مورد مکانیسم انتشار miRNA در خارج از سلول به داخل جریان خون یا ثبات آن در طی این فرآیند ها وجود دارد (۶).

طبق شواهد موجود، miRNAهای مشتق از بافت چربی عمدتاً از سلولهای چربی و ماکروفاژها آزاد می‌شوند و در انسان میزان آنها تحت تأثیر درجه چاقی و عوارض آن است (۴،۶). miRNAهای ترشح شده از بافت چربی، منبع مهمی از آدیپوکاین‌ها در گردش هستند و شکل جدیدی از آدیپوکاین‌ها در نظر گرفته می‌شوند بنابراین میزان آنها در گردش خون می‌تواند به عنوان نشانگرهای زیستی برای چاقی و اختلالات متابولیکی باشد (۶). همچنین تحقیقات نشان می‌دهد که چاقی باعث تغییر نیمرخ miRNAهای در گردش در انسان و موش می‌شود که بسیاری از آنها به طور قابل توجهی با شاخص توده بدنی<sup>۳</sup> (BMI) و یا سایر عوامل مرتبط با چاقی مانند درصد چربی، نسبت دور کمر به قد و سطح آدیپوکین پلازما در ارتباط هستند (۶،۷). از جمله miRNAهای پیش التهابی که از بافت چربی ترشح می‌شود mir-27a است (۶،۸). این miRNA به طور قابل توجهی توسط سلولهای چربی (آدپوسیت‌ها) ترشح شده و می‌تواند با اثرات پاراکرینی خود باعث فعالسازی ماکروفاژهای M1<sup>۴</sup> در بافت چربی شود (۴،۶،۸). از سویی دیگر در افراد چاق، ماکروفاژهای M1 بافت آدیپوز باعث ترشح سایتوکین‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین-۶<sup>۵</sup> (IL-6) می‌شود و اینترلوکین-۶ با اثرگذاری بر کبد باعث ترشح پروتئین واکنش گر-C<sup>۱</sup> (CRP) می‌شود (۹،۱۰). پروتئین واکنش گر-C شاخصی است که اغلب در شرایط بالینی برای ارزیابی التهاب سیستمیک به ویژه در

چاقی یک بیماری پیچیده چند عاملی است. شیوع اضافه وزن و چاقی در سراسر جهان از سال ۱۹۸۰ دو برابر شده است، به طوری که نزدیک به یک سوم جمعیت جهان اکنون به عنوان اضافه وزن یا چاق طبقه بندی می‌شوند. میزان چاقی در تمام سنین و در هر دو جنس بدون توجه به موقعیت جغرافیایی، قومیت یا وضعیت اجتماعی-اقتصادی افزایش یافته است، با این حال شیوع چاقی عموماً در افراد مسن و زنان بیشتر است (۱). چاقی خطر ابتلا به چندین بیماری مانند دیابت و بیماری های قلبی عروقی و غیره را افزایش داده و تقریباً بر تمام عملکردهای فیزیولوژیکی بدن تأثیر منفی می‌گذارد و یک تهدید برای سلامت عمومی است. هزینه‌های پزشکی چاقی و همچنین افزایش مرگ‌ومیر در میان افراد چاق، احتمالاً به جای خود چاقی، به شرایطی که همراه آن است مربوط می‌شود (۱،۲). عدم تعادل انرژی (افزایش کالری دریافتی نسبت به کالری مصرفی) از عوامل ایجاد کننده چاقی محسوب می‌شود و عوامل متعددی مانند سبک زندگی (عادات غذایی، الگوهای خواب)، عوامل اجتماعی (سطح تحصیلات و وضعیت اقتصادی، اختلالات غدد درون ریز (کم کاری تیروئید) می‌توانند بر تعادل انرژی تأثیر بگذارند (۲،۳). با این حال، سهم صفات ژنتیکی و اپی ژنتیکی را نمی‌توان نادیده گرفت (۳). مطالعات معتبری نشان داده‌اند که جایگاه‌های متعدد روی ژنوم انسان، با چاقی و فنوتیپ‌های مرتبط با چاقی مرتبط است (۳).

در حال حاضر در ژنوم انسان، بیش از ۷۰۰ میکرو RNA<sup>۱</sup> (miRNA) به عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم فرآیندهای مختلف سلولی از طریق چندین مسیر سیگنالینگ، از جمله توسعه، تکثیر و آپوپتوز توصیف می‌شوند (۴). miRNAها، RNAهای غیر رمزگذار تک رشته ای که دارای ۱۹-۲۲ نوکلئوتید می‌باشند تعریف می‌شوند که قادر به تنظیم بیان ژن در سطح پس رونویسی هستند (۵،۴). میکرو RNAها می‌توانند با اتصال به طیف وسیعی از مناطق 3'UTR mRNA، باعث تجزیه آنها یا مانع ترجمه آنها به پروتئین‌ها می‌شوند. علاوه بر این، miRNAها می‌توانند از

2 Extracellular vesicles

3 Body mass index

4 M1 macrophage

5 interleukin-6

6 C-reactive protein

1 MicroRNAs

به طور کلی با توجه به اینکه مطالعات بسیار اندکی وجود دارد که تأثیر تمرینات ورزشی را روی mirRNAهای مرتبط با چاقی بررسی کرده باشد و در اکثر تحقیقات از تمرینات مقاومتی و یا استقامتی استفاده شده است، لذا با توجه به جستجوی محققان، تأثیر تمرینات HIIT روی mirRNAها و به خصوص mir-27a و ارتباط آن با شاخص‌های التهابی مانند CRP بررسی نشده است، بنابراین هدف این تحقیق تعیین تأثیر هشت هفته تمرینات تناوبی با شدت بالا بر مقادیر mir-27a و پروتئین واکنش گر-C را در مردان چاق میانسال می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### جامعه آماری و معیارهای ورود و خروج از تحقیق

پژوهش حاضر در چارچوب طرح‌های نیمه تجربی با دو گروه انجام پذیرفت. شاخص‌های ورود به مطالعه عبارت بودند از دامنه ی سنی ۴۰ تا ۵۰ سال، شاخص توده بدنی بالای ۳۰، نداشتن بیماری‌های قلبی-تنفسی و عضلانی-اسکلتی و نیز سایر بیماری‌های مزمن. همچنین، شاخص‌های خروج از طرح پژوهش شامل مصرف دخانیات، قندخون، چربی خون، مصرف داروهای خاص و کنترل کننده وزن بدن و فشارخون در طی سه ماه اخیر، فشارخون بالا (فشار دیاستولی و سیستولی به ترتیب بیش از ۱۰۰ و ۱۴۰ میلی‌متر جیوه) بود. به دنبال فراخوان، افراد داوطلب با حضور در جلسه هماهنگی، پس از شرح کامل اهداف و روش‌های اندازه‌گیری، یادآمد تغذیه‌ای ۲۴ ساعته، پرسشنامه سلامتی و پرسشنامه ارزیابی سبک زندگی را تکمیل کردند که با توجه به معیارهای ورود و خروج به طرح، از بین افراد داوطلب در دسترس و با توجه به مطالعات مشابه قبلی (۱۵) تعداد ۲۴ نفر انتخاب شدند. یک هفته قبل از شروع تحقیق، نمونه آماری رضایت نامه کتبی (مشارکت آگاهانه) را در حضور شاهد امضا کرده و ویژگی‌های فردی و برخی از شاخص‌های پیکرسنجی مثل سن، قد، وزن بدن، درصد چربی و غیره، همچنین میزان هزینه انرژی روزانه (TEE) آنها محاسبه شد. بر اساس آن، رژیم غذایی هر نفر اصلاح شد تا تنها مداخله و ایجاد کسر کالری، صرفاً مربوط به تمرینات ورزشی باشد. لازم

موقعیت‌های عفونی اندازه‌گیری می‌شود. مطالعات همبستگی مثبتی را بین CRP و شاخص توده بدنی گزارش کرده‌اند به طوری که غلظت CRP با کاهش وزن ناشی از جراحی کاهش یافته است که ارتباط محکم بین وزن بدن و سطوح CRP را تقویت می‌کند (۱۰). یکی از روش‌های پیشنهاد شده برای مداخله و بهبود چاقی و نقاط کنترلی آن، تمرینات ورزشی است (۷،۱۱). گزارش شده است که تمرینات ورزشی با اثرگذاری بر میزان mirRNA در گردش بر هومئوستاز سلولی تأثیر می‌گذارند (۷). به طور خاص، برخی مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی باعث تغییر در سطح mirRNA در سلولهای مختلف می‌شود و نوسانات در سطح mirRNA می‌تواند با تنظیم ژنهای خاص درگیر در این سازگاری‌ها، سازگاری‌های تمرینی را افزایش دهد (۱۱،۱۲). از جمله تمریناتی که در رابطه با mirRNAها کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، تمرینات تناوبی با شدت بالا (HITT) است (۱۳). این تمرینات به اجرای تمرینات با شدت بالا در دوره‌های کوتاه مدت و متعاقب آن، به دوره‌های استراحت بین آن‌ها اشاره دارد که در سال‌های اخیر به دلیل بازدهی زمانی بیشتر، توجه زیادی به خود جلب کرده است (۱۳،۱۴). شدت تمرینات HIIT باید بالا و >۸۰ حداکثر ضربان قلب و بالای آستانه لاکتات باشد (۱۳). مطالعات متعددی به بررسی تأثیر تمرینات HIIT روی چاقی پرداخته‌اند اما تاکنون، برتری HIIT از نظر بهبود آمادگی جسمانی، قلبی عروقی و یا کاهش وزن در مقایسه با سایر تمرینات با شدت متوسط در افراد با چاقی نشان داده نشده است (۱۳). برای مثال تسیرینگاکیس<sup>۱</sup> و همکاران به بررسی دو نوع شیوه تمرینی HIIT روی ترکیب بدنی مردان چاق پرداختند و گزارش کردند که هر دو شیوه تمرینی، باعث کاهش چربی و اکسیداسیون بیشتر چربی در مردان چاق می‌شود (۱۵). قراردادهای تمرین ورزشی که در این مطالعات استفاده می‌شود تنوع زیادی دارند بنابراین، در حال حاضر نمی‌توان توصیه‌هایی قطعی راجع به نوع مطلوب تمرین در بزرگسالان مبتلا به چاقی انجام داد (۱۳،۱۴).

1 High-Intensity Interval Training

2 Tsirigakis

تمرین ۲ نفر از گروه تمرین و ۱ نفر از گروه کنترل به دلیل عدم تمایل به همکاری از مطالعه کنار گذاشته شدند.

### قرارداد ورزشی

قبل از شروع برنامه تمرینی، دو هفته تمرینات هوازی با شدت ۵۵-۶۵ درصد ضربان قلب ذخیره (کاروون) به منظور آماده سازی آزمودنی‌ها در تمرینات تناوبی با شدت بالا انجام شد. سپس قرارداد ورزشی هشت هفته‌ای به اجرا در آمد که به این صورت بود که گروه تمرینی در چهار هفته اول سه جلسه و در چهار هفته دوم چهار جلسه تمرین کردند. آزمودنی‌ها پس از ۱۰ دقیقه گرم کردن و انجام حرکات کششی، پنج حرکت ۱- زانو بلند ۲- پروانه ۳- بورپی ۴- کتل بل اسنچ و ۵- اسکات گابلت را پنج ست به صورت دایره‌ای و هر کدام را ۱۵ ثانیه انجام دادند (۱۶-۱۸). با توجه به اینکه رسیدن به ضربان قلب تعیین شده هدف اصلی بود لذا آزمودنی‌ها تشویق می‌شدند تا حرکات را به صورت مداوم و تا حد امکان سریع انجام بدهند تا به ضربان قلب تعیین شده دست یابند (۱۸، ۱۹). جزئیات برنامه تمرینی در جدول ۱ نشان داده شده است.

بذکر است داشتن سلامت عمومی برای همکاری در طرح تمرینی به عنوان شرط اصلی بود که با تأیید پزشک (جناب آقای دکتر غلامعلی کرامتی به شماره نظام پزشکی (۱۳۱۴۳۴)) انجام پذیرفت. در نهایت از آزمودنی‌ها آزمون اصلاح شده بروس به منظور تعیین آمادگی هوازی به عمل آمد. سپس آزمودنی‌ها براساس شاخص های توان هوازی ( $\dot{V}O_2\max$ ) و درصد چربی به صورت تخصیص تصادفی در دو گروه همگن تمرین HIIT و کنترل جایگزین شدند. ابتدا و ۴۸ ساعت قبل از شروع دوره تمرینات ورزشی، نمونه های خونی (بعد از ناشتایی شبانه) به منظور اندازه گیری شاخص های پروتئین واکنش گر C و mir-27a در حالت استراحتی، از آزمودنی‌ها اخذ شد سپس هشت هفته تمرین HIIT اجرا شده (در تایم اختصاصی و در نظر داشتن تهویه مناسب و استفاده ماسک، محلول های ضد عفونی کننده دست و تجهیزات ورزشی (و سرویس بهداشتی) و با بررسی دریافت دو دوز واکسن کووید-۱۹) و ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی نمونه های خونی مجدداً اخذ شدند. لازم به ذکر است در طی فرآیند

جدول ۱. مشخصات و زمانبندی برنامه تمرینات تناوبی با شدت بالا

هفته	مدت هر حرکت	استراحت بین حرکات	تعداد ست	استراحت بین ست	شدت	نسبت کار به استراحت	تعداد جلسات هفتگی
۱	۱۵ ثانیه	۴۵ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۰٪	۱ به ۳	۳
۲	۱۵ ثانیه	۴۵ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۰٪	۱ به ۳	۳
۳	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۰٪	۱ به ۲	۳
۴	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۰٪	۱ به ۲	۳
۵	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۵٪	۱ به ۲	۴
۶	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۲ دقیقه	۸۵٪	۱ به ۲	۴
۷	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۱ دقیقه	۹۰٪	۱ به ۲	۴
۸	۱۵ ثانیه	۳۰ ثانیه	۵	۱ دقیقه	۹۰٪	۱ به ۲	۴

### جمع آوری داده ها

بعد از انتقال به لوله های ویژه جداسازی سرم و انجام سانتریفیوژ، سرم بدست آمده در اسرع وقت برای اندازه گیری های بعدی در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. به منظور اندازه گیری سطح سرمی CRP از کیت های hs-CRP ساخت شرکت Aptec بلژیک با روش ایمنوتوربیدومتری به وسیله دستگاه اتوآنالایزر

(Abbott, model Alcyon 300, USA) در طول موج nm ۵۰۰ استفاده شد. به منظور اندازه گیری mir-27a نیز مراحل استخراج RNA و سنتز cdNA و بیان ژن دنبال شد.

### استخراج RNA

به منظور استخراج RNA کل از معرف Tripure

تبدیل شدند. تجزیه و تحلیل میزان بیان (سنجش میزان light (miRNA) طی واکنش Real-time PCR بوسیله cyclor 96 ساخت شرکت Roche آلمان به همراه توالی پرایمر اختصاصی mir-27a انجام شد. توالی پرایمرهای اختصاصی در جدول ۲ آورده شده است. در نهایت از سطح رونوشت ژن مرجع miR-U6 برای استانداردسازی سطح بیان ژن هدف استفاده شد. در ادامه، براساس داده های بدست آمده از واکنش Real-time PCR و شناسایی میزان Ct مربوط به ژن هدف (mir-27a) و ژن کنترل داخلی، میزان دلتا Ct (Ct کنترل-Ct هدف= $\Delta Ct$ ) بدست آمده تغییرات بیان (fold change) براساس فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  محاسبه شد (۲۰).

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 (NanoDrop ND-2000C, Thermo Fisher Scientific) ساخت شرکت Thermo ایالات متحده امریکا استفاده شد و تا زمان سنتز cDNA در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  - درجه 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

جدول ۲. توالی پرایمرها در آزمون Real-time PCR

Primer (Genes)	Sequence 5'→ 3' (10-50 bp)	Length
Mir 27a stem	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACTGGATACGAGCGGAA	49
Mir 27a forward	CGTGCTCATTACAGTGGC	19

ترسیم نمودار های مورد نیاز نیز از نرم افزار Excel میکروسافت آفیس نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد.

### نتایج

مشخصات بدنی و برخی شاخص های آنروپومتریکی آزمودنی ها در قبل و بعد از دوره تمرینی در جدول ۳ ارائه شده است.

### تجزیه و تحلیل آماری

سطوح CRP سرمی و همچنین داده های نهایی بدست آمده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  در سطح معنی  $P < 0.05$  به صورت به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد تجزیه و تحلیل شد و وضعیت طبیعی بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیروویلیک تعیین گردید ( $P > 0.05$ ). سپس به منظور بررسی تغییرات درون گروهی و بین گروهی در شاخص های مورد مطالعه، به ترتیب از آزمون های تی همبسته و تی مستقل در سطح معنی داری  $P < 0.05$  و با استفاده از نرم افزار SPSS25 صورت گرفت. به منظور

جدول ۳. مشخصات بدنی و شاخص‌های آنتروپومتریکی آزمودنی‌ها

شاخص	گروه	پیش آزمون M±SD	پس آزمون M±SD	P درون گروهی	P بین گروهی
قد (cm)	تمرین	۱۲۷/۷۷ ± ۵/۹۳	۱۲۷/۷۷ ± ۵/۹۳		
	کنترل	۱۷۴/۲۰ ± ۸/۳۷	۱۷۴/۲۰ ± ۸/۳۷		
سن (year)	تمرین	۴۳/۷۷ ± ۳/۵۲	۴۳/۷۷ ± ۳/۵۲		
	کنترل	۴۴/۳۰ ± ۴/۲۱	۴۴/۳۰ ± ۴/۲۱		
وزن (kg)	تمرین	۹۸/۹۷ ± ۹/۷۵	۹۵/۱۴ ± ۱۰/۰۴	P=۰/۰۰۱*	P=۰/۰۴۵
	کنترل	۹۹/۶۳ ± ۱۴/۶۵	۹۹/۷۰ ± ۱۵/۱۳	P=۰/۰۸۸	
درصد چربی (%)	تمرین	۳۲/۴۳ ± ۲/۱۷	۲۹/۲۲ ± ۱/۸۸	P=۰/۰۰۰*	P=۰/۰۰۲#
	کنترل	۳۱/۷۴ ± ۲/۷۵	۳۱/۸۶ ± ۳/۲۶	P=۰/۰۹۸	
شاخص توده بدنی (kg/m <sup>2</sup> )	تمرین	۳۳/۰۵ ± ۲/۲۸	۳۰/۸۶ ± ۱/۹۶	P=۰/۰۰۰*	P=۰/۰۲۵
	کنترل	۳۲/۳۳ ± ۱/۷۰	۳۲/۱۷ ± ۲/۷۴	P=۰/۰۷۵	
حداکثر اکسیژن مصرفی (ml/kg/min)	تمرین	۳۷/۵۷ ± ۱/۴۳	۳۷/۷۱ ± ۱/۰۹	P=۰/۰۰۸*	P=۰/۰۰۸
	کنترل	۳۶/۶۵ ± ۰/۸۳	۳۶/۷۰ ± ۱/۲۶	P=۰/۰۰۸	

M±SD: میانگین ± انحراف استاندارد. مقادیر بین گروهی بر اساس مقادیر پس آزمون می باشد. \*: معنی داری درون گروهی # معنی داری بین گروهی

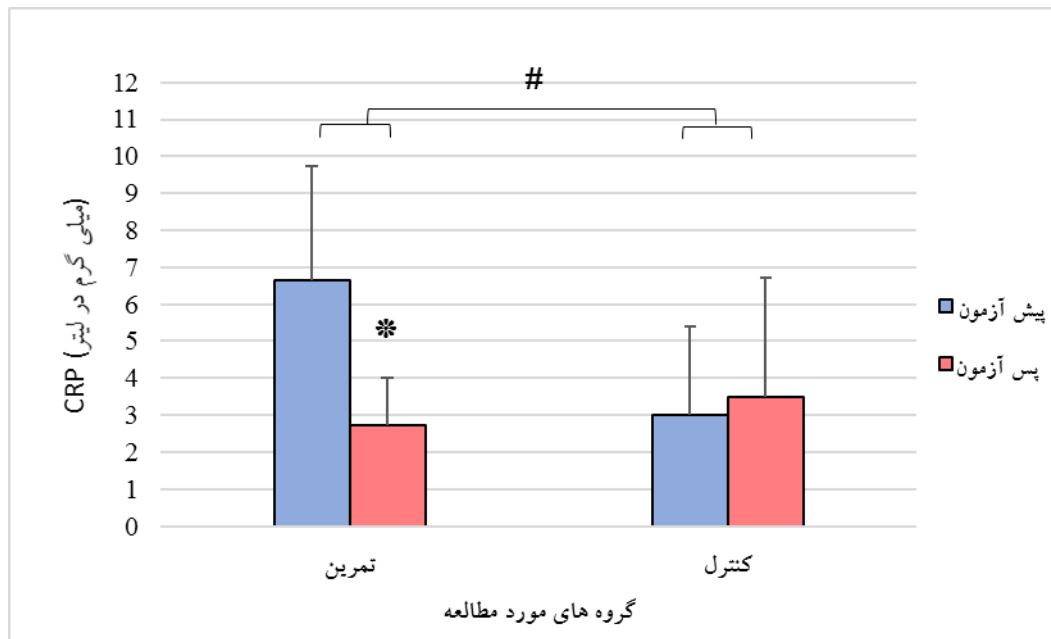
که درصد چربی، مقادیر پروتئین واکنش‌گر-C و mir-27a در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است (P<0.05) که در جدول ۴ و شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است.

نتایج آزمون تی وابسته نشان داد که وزن، درصد چربی، شاخص توده بدنی، مقادیر پروتئین واکنش‌گر-C و mir-27a در گروه تمرینی در پس آزمون، کاهش معنی داری نسبت به مقادیر پیش آزمون داشته است (P<0.05). همچنین نتایج بدست آمده از آزمون تی مستقل نشان داد

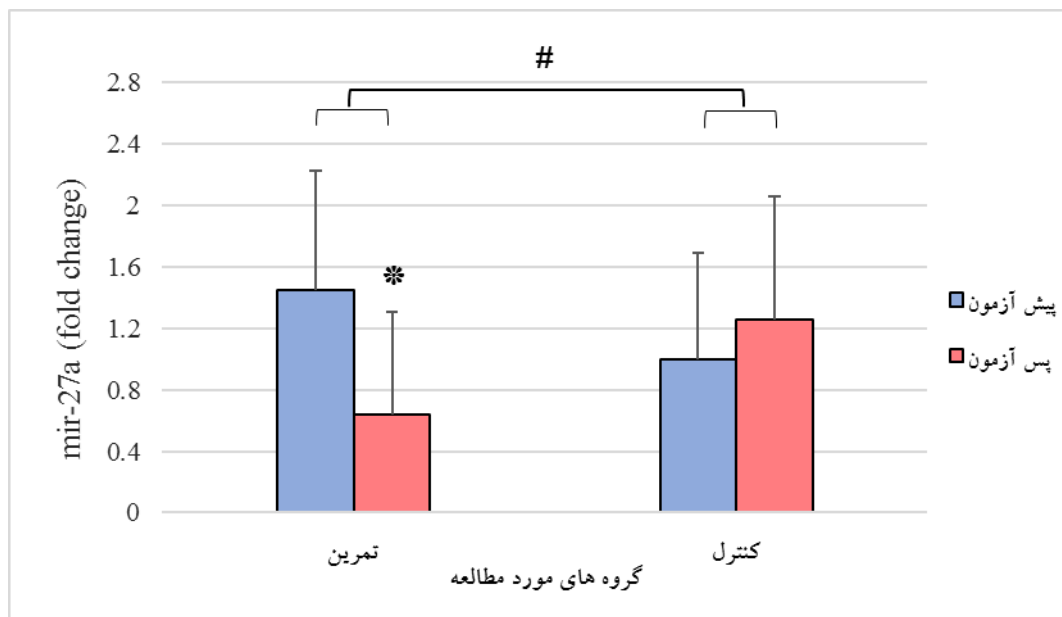
جدول ۴. مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در طول مداخله

شاخص	گروه	پیش آزمون M±SD	پس آزمون M±SD	P درون گروهی	P بین گروهی
CRP (mg/l)	تمرین	۶/۶۵ ± ۳/۰۹	۲/۷۱ ± ۱/۲۹	P=۰/۰۳۸*	
	کنترل	۳/۰۰ ± ۲/۴۱	۳/۴۹ ± ۳/۲۲	P=۰/۱۷۰	P=۰/۰۴۳#
Mir-27a (میزان بیان)	تمرین	۵۰۵۷/۷۴ ± ۲۶۶۶/۶۳	۲۲۵۳/۸۸ ± ۲۴۲۴/۰۴	P=۰/۰۳۷*	
	کنترل	۳۴۷۰/۷۳ ± ۲۳۳۷/۳۴	۴۴۰۱/۰۹ ± ۳۹۶۰/۷۰	P=۰/۱۵۶	P=۰/۰۰۸#

Mean±SD: میانگین ± انحراف استاندارد. مقادیر بین گروهی بر اساس مقادیر پس آزمون می باشد. \*: معنی داری درون گروهی # معنی داری بین گروهی



شکل ۱. میزان تغییرات غلظت CRP سرمی در گروه های مورد مطالعه  
 $M \pm SD$ : میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد. #: معنی داری درون گروهی. # معنی داری بین گروهی



شکل ۲. میزان تغییرات (fold change) بیان mir27-a سرمی در گروه های مورد مطالعه  
 $M \pm SD$ : میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد. #: معنی داری درون گروهی. # معنی داری بین گروهی



## بحث

ترشح می‌کنند، به طوری که طبق نتایج برخی تحقیقات مقادیر در گردش *mir-27a* در بیماران چاق به طور قابل توجهی در مقایسه با افراد لاغرافزایش یافته است (۶). همچنین گزارش شده است که بین *mir-27a* سرم و آدیپوسیتوکین ها همبستگی وجود دارد. لذا *mir-27a* مشتق از بافت چربی، ممکن است یک میانجی مهمی برای فراخوان فعال سازی ماکروفاژها و فرآیند پلازماسیون ماکروفاژها در بافت چربی باشد (۶،۲۴).

گزارش شده است که ممکن است *PPARγ* یک نقطه هدف بالقوه *mir-27a* باشد (۲۴،۲۵). *PPARγ* ممکن است انتقال *NF-kB* و بیان *TLR4* را در دوره پیش التهابی کاهش دهد. *TLR4* به عنوان یک میانجی التهابی می‌تواند مقاومت به انسولین ناشی از چاقی و ترشح سایتوکین ها را تحت تاثیر قرار دهد (۲۳). تنظیم مثبت *mir-27a* در افراد چاق می‌تواند بیان *PPARγ* را با پلازماسیون *M1* سرکوب کند، و بیان *p-NF-kB* یا *TLR4* را با تجزیه *IκBα* افزایش دهد (۲۴،۲۵). در تحقیق حاضر *mir-27a* و *CRP* در گروه تمرینی کاهش معنی دار داشت، لذا یکی از سازوکارهای احتمالی کاهش التهاب (*CRP*) در این تحقیق را می‌توان به کاهش سطوح *mir-27a* نسبت داد که ممکن است با فعال شدن *PPARγ*، بیان *p-NF-kB*، *TLR4* و *IκBα* را معکوس کند. این نتایج با نتایج تحقیق هوبال<sup>۷</sup> و همکاران هم‌سو است که پس از کاهش وزن یک ساله (ناشی از عمل جراحی) کاهش مقادیر *mir-27a* را گزارش کردند (۲۶).

مطالعات اشاره کرده‌اند که تغییرات متیلاسیون *DNA* ناشی از تمرینات ورزشی، می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر بیان ژن در بافت چربی داشته باشد (۲۷،۲۸). همچنین شواهد اخیر نشان می‌دهد که، *miRNA* ها با تعدیل متیلاسیون *DNA* مرتبط هستند. در این زمینه فابره<sup>۸</sup> و همکاران (۲۰۱۹) برخی تغییرات خاص ژنی ناشی از تمرینات ورزشی را شناسایی کردند که ممکن است در آدیپوژنز یا ایمنی مرتبط باشد.

هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر هشت تمرینات *HIIT* به صورت دایره‌ای بر سطوح *mir-27a* و *CRP* در مردان چاق میانسال بود که نتایج تحقیق نشان داد که انجام هشت هفته تمرین تناوبی با شدت بالا در گروه تمرینی، در مقایسه با گروه کنترل، باعث کاهش مقادیر *CRP* و *mir-27a* در افراد چاق میانسال می‌شود. بافت چربی از دو نوع ماکروفاژ *M1* و *M2* تشکیل شده است که تا ۴۰ درصد از تمام سلول های بافت چربی را در موش های چاق در مقایسه با ۱۰ درصد در موش های لاغر تشکیل می‌دهند (۹). در طول چاقی این سلول ها به دلیل افزایش مقادیر چندین عامل از جمله اسیدهای چرب آزاد<sup>۱</sup> (*FATS*)، کلسترول و لیپوپلی ساکارد<sup>۲</sup> (*LPS*) در بافت چربی، افزایش می‌یابند. همچنین گزارش شده است که یک سوئیچ فنوتیپی از ماکروفاژهای ضد التهابی *M2* به ماکروفاژهای پیش التهابی *M1* در بافت آدیپوز در هنگام چاقی وجود دارد (۹،۲۱). نوع *M1* ماکروفاژها با نشانگر سطحی خاص (*CD11c<sup>+</sup>*) و تولید نیتریک اکسید سنتاز القایی<sup>۳</sup> (*iNOS*) مشخص می‌شود که یک نشانگر کلاسیک پیش التهابی بوده و منجر به ترشح سایتوکین‌هایی مانند *IL-1* و *IL-6* شده و این دو سایتوکین نیز می‌توانند در سلول‌های کبدی انسان باعث سنتز *CRP* شوند (۹،۲۱،۲۲). لذا کاهش مقادیر چربی در آزمودنی‌ها و متعاقباً با آن مهار مسیر پیام‌رسانی اشاره شده، می‌تواند یکی از سازوکارهای کاهش مقادیر *CRP* در این تحقیق ما باشد. مطالعه رودریگز<sup>۴</sup> و همکاران با نتایج تحقیق ما هم‌سو است، به طوری که آن‌ها اشاره کردند که سطوح سرمی *IL-6* و *CRP* در افرادی که *BMI* بالای ۳۰ داشتند به طور قابل توجهی از افراد دارای *BMI* زیر ۲۵، بالاتر است (۲۳).

از طرفی دیگر مطالعات گزارش کرده‌اند که هم سلول‌های چربی و هم ماکروفاژهای بافت چربی، علاوه بر تولید سایتوکین‌های پیش التهابی و ضد التهابی، *miRNA* حاوی اگزوزوم‌ها<sup>۵</sup> یا میکرووزیکول‌ها<sup>۶</sup> را به داخل گردش خون

<sup>1</sup> free fatty acids

<sup>2</sup> lipopolysaccharide

<sup>3</sup> Inducible nitric oxide synthase

<sup>4</sup> Rodrigues

<sup>5</sup> exosomes

<sup>6</sup> microvesicles<sup>36</sup>

7 Hubal

8 Fabre

تمرینات ورزشی به خصوص تمرینات HIIT می‌تواند با اثرگذاری بر متیلاسیون DNA و miRNAها باعث کاهش CRP و mir-27a شده و در نتیجه با جلوگیری از التهاب ناشی از چاقی، از بروز بیماری‌های سوخت و سازی جلوگیری کنند.

### ملاحظات اخلاقی

تحقیق حاضر در چارچوب طرح‌های نیمه تجربی، پس از اخذ کد اخلاق در پژوهش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی به شماره SSRI.REC-2110-1322 (R1) و کد کارآزمایی بالینی به شماره IRCT20220128053844N1 انجام شد.

### تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر نتیجه طرح پژوهشی در دانشگاه فنی و حرفه‌ای استان آذربایجان شرقی به شماره ۴۱۰/۱۴۰۰/۹۸/۲۵ می‌باشد. از تمامی کسانی که ما را در اجرای این طرح یاری نمودند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

برای مثال CBLB یک لیگاز یوبیکوئیتین E3 است که به عنوان یک تنظیم کننده منفی مهاجرت و فعال شدن ماکروفاژها در بافت چربی در چاقی شناخته شده است که با مقاومت به انسولین نیز مرتبط است (۲۷).

METRNL ژن دیگری است که نشان داده شده است که در بافت چربی سفید در مقادیر بالایی بیان می‌شود و متابولیسم انرژی در موش‌ها را بهبود می‌بخشد. در واقع، سطوح بالای در گردش METRNL مصرف انرژی را افزایش می‌دهد و بیان ژن‌های مرتبط با ترموزن چربی و سیتوکین‌های ضد التهابی را بهبود می‌بخشد (۲۷،۲۸). METRNL تمایز سلول‌های چربی سفید را افزایش داده و التهاب بافت چربی را مهار می‌کند (۲۷،۲۸).

هر چند در تحقیق ما این ژن‌ها اندازه‌گیری نشدند با این حال متیلاسیون DNA ناشی از تمرین، ممکن است عملکرد سلول‌های چربی را به وسیله این ژن‌های کنترلی تعدیل کرده و در نتیجه کاهش التهاب و mir-27a را توجیه کند (۲۷،۲۹،۳۰).

با توجه به نتیجه تحقیق حاضر مبنی بر کاهش درصد چربی در گروه تمرینی، یکی از عوامل کاهش mir-27a را می‌توان به کاهش مقادیر چربی بدن ناشی از تمرینات HIIT نسبت داد که با تحقیق روسو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۸) هم راستا است.

در این تحقیق آن‌ها به بررسی کاهش وزن ناشی از تمرینات هم زمان هوازی و مقاومتی روی miRNAهای مشتق از بافت چربی پرداختند و گزارش کردند که در افراد چاق، یک مداخله ۳ ماهه و شامل ۲۶ جلسه تمرین هوازی ترکیبی و استقامتی ۹۰ دقیقه‌ای، باعث کاهش سطوح پلاسمایی miR-146a-5p75 می‌شود (۳۱).

همچنین مینینگ و همکاران نیز اشاره کرده‌اند که کاهش وزن کوتاه مدت، باعث به تنظیمی miRNAهای مشتق از بافت چربی در افراد چاق می‌شود (۳۲) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌سو است.

### نتیجه‌گیری

احتمال می‌رود که از منظر ژنتیکی miRNAهای مرتبط با چاقی یک نقطه کنترلی مناسبی برای چاقی هستند و

<sup>1</sup> Russo

1. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism* 2019;92:6-10.
2. Samblas M, Milagro FI, Martínez A. DNA methylation markers in obesity, metabolic syndrome, and weight loss. *Epigenetics*. 2019 May 4;14(5):421-44.
3. Iacomino G, Siani A. Role of microRNAs in obesity and obesity-related diseases. *Genes & Nutrition* 2017;12(1):1-6.
4. Ortiz-Dosal A, Rodil-García P, Salazar-Olivo LA. Circulating microRNAs in human obesity: a systematic review. *Biomarkers* 2019;24(6):499-509 .
5. Lee MW, Lee M, Oh KJ. Adipose tissue-derived signatures for obesity and type 2 diabetes: adipokines, batokines and microRNAs. *Journal of Clinical Medicine* 2019;8(6):854 .
6. Ji C, Guo X. The clinical potential of circulating microRNAs in obesity. *Nature Reviews Endocrinology* 2019;15(12):731-43.
7. Ehtesham N, Shahrbanian S, Valadiathar M, Mowla SJ. Modulations of obesity-related microRNAs after exercise intervention: a systematic review and bioinformatics analysis. *Molecular Biology Reports* 2021;48(3):2817-31.
8. Agbu P, Carthew RW. MicroRNA-mediated regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2021;22(6):425-38.
9. Castoldi A, Naffah de Souza C, Câmara NO, Moraes-Vieira PM. The macrophage switch in obesity development. *Frontiers in Immunology* 2016:637.
10. Paepgeaey AC, Genser L, Bouillot JL, Oppert JM, Clément K, Poitou C. High levels of CRP in morbid obesity: the central role of adipose tissue and lessons for clinical practice before and after bariatric surgery. *Surgery for Obesity and Related Diseases* 2015;11(1):148-54.
11. Improta Caria AC, Nonaka CK, Pereira CS, Soares MB, Macambira SG, Souza BS. 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. Bao F, Slusher AL, Whitehurst M, Huang CJ. Circulating microRNAs are upregulated following acute aerobic exercise in obese individuals. *Physiology & Behavior* 2018;197:15-21 .
13. Laursen P, Buchheit M. Science and application of high-intensity interval training. *Human Kinetics* 2019.
14. Sultana RN, Sabag A, Keating SE, Johnson NA. The effect of low-volume high-intensity interval training on body composition and cardiorespiratory fitness: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine* 2019;49(11):1687-721.
15. Tsirigkakis S, Mastorakos G, Koutedakis Y, Mougios V, Nevill AM, Pafili Z, Bogdanis GC. Effects of two workload-matched high-intensity interval training protocols on regional body composition and fat oxidation in obese men. *Nutrients* 2021;13(4):1096.
16. Bompa TO, Buzzichelli C. Periodization: theory and methodology of training. *Human Kinetics* 2019.
17. Bompa T, Buzzichelli C. Periodization training for sports, 3e. *Human kinetics* 2015.
18. Gibson AL, Wagner D, Heyward V. Advanced Fitness Assessment and Exercise Prescription, 8E. *Human Kinetics* 2019.
19. Moghaddam M, Estrada CA, Muddle TW, Magrini MA, Jenkins ND, Jacobson BH. Similar Anaerobic and Aerobic Adaptations After 2 High-Intensity Interval Training Configurations: 10: 5 s vs. 20: 10 s Work-to-Rest Ratio. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 2021;35(6):1685-92.
20. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 2001;29(9): e45.
21. Karczewski J, Śledzińska E, Baturo A, Jończyk I, Maleszko A, Samborski P, Begier-Krasińska B, Dobrowolska A. Obesity and inflammation. *European Cytokine Network* 2018;29(3):83-94.
22. Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Archives of Medical Science: AMS*. 2017;13(4):851.
23. Rodrigues KF, Pietrani NT, Bosco AA, Campos FM, Sandrim VC, Gomes KB.

- IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. *Archives of Endocrinology and Metabolism* 2017;61:438-46 .
24. Yao F, Yu Y, Feng L, Li J, Zhang M, Lan X, Yan X, Liu Y, Guan F, Zhang M, Chen L. Adipogenic miR-27a in adipose tissue upregulates macrophage activation via inhibiting PPAR  $\gamma$  of insulin resistance induced by high-fat diet-associated obesity. *Experimental Cell Research* 2017;355(2):105-12 .
  25. Yu Y, Du H, Wei S, Feng L, Li J, Yao F, Zhang M, Hatch GM, Chen L. Adipocyte-derived exosomal MiR-27a induces insulin resistance in skeletal muscle through repression of PPAR  $\gamma$  . *Theranostics* 2018;8(8):2171.
  26. Hubal MJ, Nadler EP, Ferrante SC, Barberio MD, Suh JH, Wang J, Dohm GL, Pories WJ, Mietus-Snyder M, Freishtat RJ. Circulating adipocyte-derived exosomal MicroRNAs associated with decreased insulin resistance after gastric bypass. *Obesity* 2017;25(1):102-10.
  27. 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.
  28. Du Y, Ye X, Lu A, Zhao D, Liu J, Cheng J, Yang T. Inverse relationship between serum Metrnl levels and visceral fat obesity (VFO) in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2020;161:108068.
  29. McGee SL, Hargreaves M. Epigenetics and exercise. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2019;30(9):636-45.
  30. Gallardo-Escribano C, Buonaiuto V, Ruiz-Moreno MI, Vargas-Candela A, Vilches-Perez A, Benitez-Porres J, Romance-Garcia AR, Ruiz-Moreno A, Gomez-Huelgas R, Bernal-Lopez MR. Epigenetic approach in obesity: DNA methylation in a prepubertal population which underwent a lifestyle modification. *Clinical Epigenetics* 2020;12(1):1-4.
  31. Russo A, Bartolini D, Mensà E, Torquato P, Albertini MC, Olivieri F, Testa R, Rossi S, Piroddi M, Cruciani G, De Feo P. Physical activity modulates the overexpression of the inflammatory miR-146a-5p in obese patients. *IUBMB Life* 2018;70(10):1012-22.
  32. Manning P, Munasinghe PE, Bellae Papannarao J, Gray AR, Sutherland W, Katare R. Acute weight loss restores dysregulated circulating microRNAs in individuals who are obese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2019;104(4):1239-48.