

## The crosstalk between exercise and ncRNAs in NAFLD: bioinformatic evidence and regulatory network analysis

Zahra Asheghi<sup>1</sup>, sayed Mohammad Marandi<sup>1</sup> •

Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

### Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is linked to metabolic dysfunction, high-fat diets, and physical inactivity, culminating in chronic inflammation, hepatic fibrosis, and increased risk of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Given the limitations of pharmacotherapy, exercise represents a safe, accessible intervention that can attenuate lipogenesis, suppress inflammation, and enhance mitochondrial function. This review-plus-bioinformatic study interrogated the crosstalk between exercise and non-coding RNAs (ncRNAs)—microRNAs (miRNAs), long non-coding RNAs (lncRNAs), and circular RNAs (circRNAs)—in NAFLD, with the goals of identifying exercise-modulated ncRNAs and reconstructing competitive endogenous RNA (ceRNA) networks governing lipid metabolism, inflammation, and bioenergetics. We first retrieved murine high-fat diet (HFD) liver datasets with and without exercise from GEO (GSE239729, GSE226132), then conducted a systematic literature search of PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar (2019–2025) using standard keywords. RNA-Seq preprocessing and normalization were performed in R (v4.5.0) with DESeq2; ncRNAs were prioritized using  $|\log_2FC| \geq 2$  and  $FDR < 0.05$ . Annotations were drawn from Ensembl, NONCODE, LNCipedia, circBase, and circAtlas; miRNA targets from TargetScan and miRWalk; circRNA–miRNA interactions from starBase. ceRNA networks were reconstructed in Cytoscape (v3.10.1), and functional enrichment (GO/KEGG) was conducted with clusterProfiler and DAVID. Integrated evidence from the literature and reanalysis showed that exercise consistently downregulates miR-34a and the lncRNAs MALAT1/HOTAIR, while upregulating miR-122 and circScd1 and decreasing circRNA\_002581. The resulting ceRNA programs converge on AMPK, SIRT1/PGC-1 $\alpha$ , and PPAR $\alpha$  axes, aligning with reduced lipogenesis ( $\downarrow$ SREBP1/FASN), enhanced fatty-acid oxidation ( $\uparrow$ CPT1/FAO), dampened inflammation ( $\downarrow$ NF- $\kappa$ B/TNF- $\alpha$ ), and modulation of TGF- $\beta$  signaling. Concordant patterns across both datasets support a robust, exercise-driven ncRNA response; sensitivity analyses with more permissive thresholds preserved the key signals. In sum, exercise reprograms NAFLD liver through coordinated ncRNA regulation that reshapes gene networks controlling metabolism, inflammation, and mitochondrial function. By integrating systematic evidence with RNA-Seq reanalysis and ceRNA modeling, we outline a practical framework for (i) ncRNA-based biomarkers of exercise response, and (ii) RNA-directed “exercise-mimetic” interventions targeting AMPK/SIRT1/PPAR $\alpha$  to optimize therapy and improve metabolic/inflammatory outcomes in NAFLD.

**Key words:** non-coding RNAs (ncRNAs)/ Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/ Exercise intervention/ Transcriptomic analysis/ Gene regulatory networks

**How to cite this article:** Asheghi, Z. Marandi, M. The crosstalk between exercise and ncRNAs in NAFLD: bioinformatic evidence and regulatory network analysis. *J Sport Exerc Physiol.* 2026;19(1):1-?.

\*Corresponding Author's E-mail: smmarandi2001@yahoo.com

نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی  
دوره ۱۹، شماره ۱، صفحه‌های ۱-۹

مقاله مروری

## تعامل میان فعالیت ورزشی و RNA های غیر کد کننده در NAFLD : شواهد بیوانفورماتیکی و تحلیل شبکه‌های تنظیمی

زهرا عاشقی<sup>ID</sup>، سید محمد مرندي<sup>ID\*</sup>

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) با اختلالات متابولیک، رژیم‌های غذایی پرچرب و سبک زندگی کم‌تحرک مرتبط است و منجر به التهاب مزمن، فیبروز کبدی و افزایش خطر ابتلا به سیروز و سرطان کبد می‌شود. با توجه به محدودیت‌های درمانی دارویی، فعالیت ورزشی به عنوان یک رویکرد ایمن و در دسترس، نقش کلیدی در بهبود لیپوژنز، کاهش التهاب و ارتقای عملکرد میتوکندری ایفا می‌کند. هدف این مطالعه مروری-بیوانفورماتیکی، بررسی تعاملات بین فعالیت ورزشی و RNA های غیرکدکننده (miRNA، circRNA و lncRNA) در زمینه کبد چرب غیرالکلی، شناسایی ncRNA های تعدیل‌شده توسط فعالیت ورزشی، و بازسازی شبکه‌های تنظیمی رقابتی (ceRNA) مرتبط با متابولیسم لیپید، التهاب و بیوژنز میتوکندری است. برای دستیابی به این هدف، داده‌های مدل حیوانی (رژیم پرچرب با/بدون مداخله ورزشی) از GEO (GSE226132 و GSE239729) بازیابی گردید. سپس جستجوی نظام‌مند در پایگاه‌های داده PubMed، Scopus، Web of Science و Google Scholar از سال ۲۰۱۹ تا ۲۰۲۵ با استفاده از کلیدواژه‌های استاندارد انجام شد. پیش‌پردازش و نرمال‌سازی داده‌ها در محیط R (نسخه ۴.۵.۰) با بسته DESeq2 صورت گرفت و تمرکز بر ncRNA ها با آستانه‌های  $|\log_2FC| \geq 2$  و  $FDR < 0.05$  بود. انوتیشن از منابع Ensembl، circAtlas، circBase، LNCipedia، NONCODE، miRWalk، starBase از تعاملات circRNA-miRNA استخراج گردید و شبکه‌های ceRNA در Cytoscape (نسخه ۳.۱۰.۱) بازسازی شد. غنی‌سازی عملکردی (GO/KEGG) نیز با ابزارهای clusterProfiler و DAVID انجام پذیرفت. یافته‌های ادغام‌شده از مرور ادبیات و بازتحلیل داده‌ها نشان داد که فعالیت ورزشی به طور مداوم بیان miR-34a را کاهش و miR-122 را افزایش می‌دهد؛ در lncRNA ها، بیان MALAT1 و HOTAIR کاهش می‌یابد؛ و در circRNA ها، circRNA\_002581 کاهش و circScd1 افزایش می‌یابد. شبکه‌های ceRNA عمدتاً محورهای AMPK، SIRT1/PGC-1 $\alpha$  و PPAR $\alpha$  را هدف قرار می‌دهند و با کاهش لیپوژنز ( $\downarrow$ SREBP1/FASN)، تقویت اکسیداسیون اسیدهای چرب

(CPT1/FAO) ↑، مهار التهاب (NF-KB/TNF-α) ↓ و تعدیل سیگنالینگ TGF-β همخوانی دارند. همسانی الگوها بین دو مجموعه داده، پایداری پاسخ-ncRNA محور به فعالیت ورزشی را تأیید کرد و تحلیل حساسیت با آستانه‌های ملایم‌تر نیز نتایج کلیدی را حفظ نمود. به طور خلاصه، فعالیت ورزشی از طریق بازتنظیم هماهنگ ncRNAها، معماری شبکه‌های ژنی مرتبط با متابولیسم، التهاب و عملکرد میتوکندری را در کبد چرب غیر الکلی بازآرایی می‌کند. این مطالعه، از طریق ادغام شواهد ادبیات و بازتحلیل RNA-Seq، چارچوبی عملی-مفهومی برای هدف‌گیری ncRNAها، توسعه نشانگرهای زیستی مرتبط با پاسخ به فعالیت ورزشی، و طراحی مداخلات RNA-محور مقلد اثرات فعالیت ورزشی فراهم می‌آورد. با ادغام مرور نظام‌مند و بازتحلیل داده‌های موجود و بازسازی شبکه‌های ceRNA، نشان دادیم اثرات فعالیت ورزشی عمدتاً از محورهای AMPK، SIRT1/PGC-1α و PPARα میانجی‌گری می‌شود و با الگوهای ncRNA (circScd1 ↑، MALAT1/HOTAIR ↓، miR-122 ↑، miR-34a ↓) هم‌راستا است. این نقشه شبکه‌ای، کاربرد بالینی روشن دارد: (۱) نشانگرهای زیستی پاسخ به ورزش، (۲) مداخلات RNA-محور (مقلد ورزش) با هدف‌گیری این محورها، برای بهینه‌سازی درمان و بهبود نتایج متابولیک/التهابی در کبد چرب غیر الکلی.

کلیدواژه: RNAهای غیرکدکننده (ncRNA) / بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) / تحلیل ترنسکریپتومی / فعالیت ورزشی / شبکه‌های تنظیمی ژن

نحوه استناد به این مقاله: عاشقی، زهرا، مرندی، محمد. تعامل میان فعالیت ورزشی و RNAهای غیر کدکننده در NAFLD: شواهد بیوانفورماتیکی و تحلیل شبکه‌های تنظیمی. نشریه فیزیولوژی ورزش و فعالیت بدنی. ۱۴۰۵؛ ۱۹(۱): ۴-۹.

\* رایانامه نویسنده مسئول: smmarandi2001@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۰/۰۰

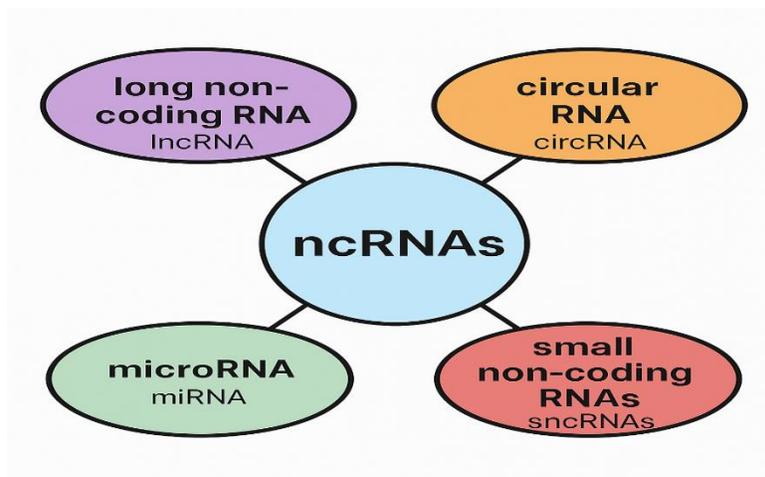
بیماری کبد چرب غیرالکلی<sup>۱</sup> به عنوان یکی از چالش‌های اصلی سلامت جهانی، به ویژه در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، شناخته می‌شود. این بیماری با تجمع بیش از حد چربی در سلول‌های کبدی مشخص می‌شود و ارتباط نزدیکی با اختلالات متابولیک نظیر چاقی، مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک دارد. بیماری کبد چرب غیرالکلی طیف گسترده‌ای از حالات پاتولوژیک را در بر می‌گیرد، از استئاتوز ساده کبدی تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)، فیروز و حتی سیروز. با وجود شیوع بالای این بیماری (طبق تخمین‌های اخیر، حدود ۳۲/۴ درصد (۹۵٪. ۳۴،۹-۲۹،۹ CI) جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد)، گزینه‌های درمانی دارویی همچنان محدود بوده و اغلب با اثربخشی ناکافی همراه هستند [۱، ۲]. در این راستا، مداخلات غیر دارویی، به ویژه فعالیت ورزشی، به عنوان راهکاری مؤثر برای کاهش پیشرفت بیماری و بهبود سلامت متابولیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی، به ویژه فعالیت‌های هوازی، می‌تواند با کاهش چربی کبدی، بهبود حساسیت به انسولین و کاهش التهاب، به مدیریت کبد چرب غیرالکلی کمک کند [۳].

پژوهش‌های اخیر بر نقش تنظیم رونویسی در پاسخ کبد به فعالیت ورزشی تأکید دارند [۴]. در این میان، RNAهای غیرکدکننده<sup>۲</sup> به عنوان تنظیم‌گرهای کلیدی در فرآیندهای سلولی و متابولیک شناخته شده‌اند. این مولکول‌ها، که در گذشته به عنوان «نویز رونویسی» نادیده گرفته می‌شدند، اکنون به دلیل نقش‌هایشان در تنظیم بیان ژن، بازآرایی کروماتین و کنترل مسیرهای متابولیک مورد توجه قرار گرفته‌اند [۵، ۶]. RNAهای غیرکدکننده در تنظیم متابولیسم چربی [۶]، پاسخ‌های التهابی [۷] و عملکرد میتوکندری [۸] نقش دارند که همگی در پاتوژنز بیماری کبد چرب غیرالکلی دخیل هستند. با این حال، در حالی که مطالعات متعددی به بررسی RNAهای غیرکدکننده در بیماری کبد چرب غیرالکلی یا تأثیر فعالیت ورزشی بر ترانسکریپتوم کبد پرداخته‌اند [۹]، تعامل این دو حوزه، یعنی تأثیر فعالیت ورزشی بر تنظیم RNAهای غیرکدکننده در زمینه بیماری کبد چرب غیرالکلی، همچنان کمتر بررسی شده است. این خلأ شامل کمبود تحلیل‌های یکپارچه بر روی شبکه‌های تنظیمی ncRNA-محور و عدم تمرکز بر مدل‌های حیوانی برای شبیه‌سازی اثرات ورزش است. بنابراین، این مرور سیستماتیک برای پر کردن این شکاف دانشی انجام شده تا شواهد موجود را ادغام کرده و چارچوبی برای تحقیقات آینده فراهم آورد.

این مطالعه مروری با هدف پر کردن این شکاف دانشی، به شناسایی و تحلیل RNAهای غیرکدکننده تنظیم‌شده توسط فعالیت ورزشی در مدل‌های کبد چرب غیرالکلی می‌پردازد. سؤال اصلی مرور این است: چگونه فعالیت ورزشی ncRNAها (مانند miRNA، lncRNA و circRNA) را در کبد چرب غیرالکلی تعدیل می‌کند و این تعدیل چه تأثیری بر شبکه‌های تنظیمی مرتبط با متابولیسم چربی، التهاب و عملکرد میتوکندری دارد؟ ما با بهره‌گیری از رویکردهای بیوانفورماتیکی و زیست‌شناسی سیستمی، به دنبال کشف شبکه‌های تنظیمی هستیم که در آن‌ها RNAهای غیرکدکننده نقش‌های کلیدی در متابولیسم چربی، التهاب ایفا می‌کنند. این پژوهش از پیشرفت‌های اخیر در ترانسکریپتومیکس برای شناسایی الگوهای بیان RNAهای غیرکدکننده و تحلیل تعاملات آن‌ها با سایر اجزای شبکه‌های ژنی استفاده می‌کند. درک این برهم‌کنش‌ها می‌تواند به شناسایی مسیرهای مولکولی جدیدی منجر شود که اثرات متابولیکی فعالیت ورزشی را تقلید کرده و راه را برای توسعه مداخلات درمانی نوین در مدیریت بیماری کبد چرب غیرالکلی هموار سازد.

<sup>1</sup> NAFLD(Non-alcoholic fatty liver disease)

<sup>2</sup> ncRNA( non-coding RNAs)



شکل ۱. انواع اصلی RNA های غیرکدکننده (برگرفته از سایت bioRender).

## ۱. مواد ورودی ها

### 1) طراحی مطالعه و چارچوب کلی

این پژوهش یک مرور سیستماتیک با رویکرد بیوانفورماتیکی است که در دو مرحله انجام شد: مرحله ۱ بازتحلیل بیوانفورماتیکی داده‌های RNA-Seq عمومی برای شناسایی ncRNA های کاندید و گره‌های ceRNA، و مرحله ۲ (اعتبارسنجی) مرور سیستماتیک مطابق PRISMA 2020 جهت نداشت شواهد، تقویت اعتبار نتایج و تفسیر مسیرهای بیولوژیک مرتبط با ورزش در کبد چرب غیر الکلی.

### 2) مرور سیستماتیک

#### 2.1 پایگاه‌های داده و راهبرد جست‌وجو

جست‌وجوی نظام‌مند ادبیات در چهار پایگاه اصلی انجام شد: PubMed (هسته زیست‌پزشکی با نمایه‌سازی MeSH و امکان راهبردهای دقیق)، Scopus (پوشش گسترده بین‌المللی و شاخص‌های استنادی)، Web of Science – Core Collection (ژورنال‌های باکیفیت و تحلیل ارجاعات)، و Google Scholar (بازیابی ادبیات خاکستری و تکمیل دامنه پوشش). برای جزء بیوانفورماتیکی، داده‌های RNA-Seq عمومی از GEO (شناسه‌های GSE239729 و GSE226132) بازیابی شد تا بازتولیدپذیری تضمین شود.

راهبرد جست‌وجو به صورت بولی و بر بستر عنوان، چکیده و متن کامل تنظیم شد. برای مؤلفه مولکولی از واژگان non-coding RNA، lncRNA، circRNA، microRNA/miRNA و برای مؤلفه بیماری از non-alcoholic fatty liver disease/NAFLD همراه با برچسب‌های MeSH در PubMed استفاده گردید. مؤلفه مداخله با کلیدواژه‌های exercise.

exercise و NAFLD terms و ncRNA terms ترکیب نهایی به شکل physical activity و training پوشش داده شد. در تمامی پایگاه‌ها اعمال شد. جست‌وجو در چهار پایگاه PubMed، Scopus، Web of Science Core Collection و Google Scholar به صورت موازی انجام گرفت و برای افزایش دقت بازبایی، نگارش‌های مترادف و گونه‌های اختصاری هر اصطلاح نیز گنجانده شد. بازه زمانی جست‌وجو از ژانویه ۲۰۲۴ تا ژوئیه ۲۰۲۵ تعیین شد (آخرین به‌روزرسانی در ژوئیه ۲۰۲۵). نتیجه‌های بازبایی شده در هر پایگاه صادر شد، موارد تکراری با EndNote حذف گردید و فهرست نهایی برای غربالگری بر اساس معیارهای ازپیش‌تعریف‌شده مورد استفاده قرار گرفت.

## 2.2 معیارهای ورود و خروج

جست‌وجو و غربالگری بر اساس معیارهای ازپیش‌تعریف‌شده انجام شد: مقالات واجد شرایط باید به زبان انگلیسی منتشر شده باشند، ارتباط مستقیم با NAFLD و ncRNA و/یا تعدیل ncRNAها توسط فعالیت ورزشی داشته باشند، از نوع مطالعات اصلی حیوانی (in vivo)، مرورهای مرتبط یا تحلیل‌های بیوانفورماتیکی باشند، و داده بیان ncRNA و/یا شبکه‌های تنظیمی/مسیرهای زیستی را گزارش کنند؛ همچنین دسترسی به متن کامل الزامی بود. موارد تکراری، مطالعات in vitro خالص (فاقد مدل in vivo)، پژوهش‌های مربوط به بیماری‌های کبدی غیر-NAFLD (الکلی/ویروسی/خودایمنی)، مقالات فاقد مؤلفه ورزش یا داده ncRNA، و اقلام غیرپژوهشی فاقد متن کامل (مانند چکیده کنفرانسی، نامه، دیدگاه یا پروتکل بدون داده) از مطالعه خارج شدند.

## 3) بازتحلیل بیوانفورماتیکی

### 3.1 داده‌ها و معیار انتخاب مجموعه‌ها

برای بازتحلیل، دو مجموعه RNA-Seq از پایگاه GEO برگزیده شد که مدل حیوانی تغذیه‌شده با رژیم پرچرب (HFD) را در شرایط با/بدون مداخله ورزشی پوشش می‌دادند و از نظر کیفیت برای استخراج و کمی‌سازی ncRNA مناسب بودند. معیارهای انتخاب شامل: (۱) ارتباط مستقیم با محور NAFLD-ورزش در بافت کبد (۲) حداقل سه نمونه در هر گروه ( $n \geq 3$ ) برای توان آماری کافی و (۳) عمق توالی‌یابی  $> 20$  میلیون خوانش برای تضمین حساسیت در شناسایی رونوشت‌های کم‌بیان (به‌ویژه lncRNA/circRNA) بود. این پیش‌شرط‌ها، مبنا کیفیت و بازتولیدپذیری لازم را فراهم کرد و امکان مقایسه معتبر بین گروه‌های HFD و HFD+Exercise را مهیا ساخت.

### 3.2 مسیر پردازش و کنترل کیفیت

کنترل کیفیت داده‌های خام با FastQC و تریم آداپتور/کیفیت با Cutadapt (آستانه کیفیت  $Q > 20$ ) انجام شد. نگاشت خوانش‌ها به ژنوم مرجع GRCm39 (Ensembl r109) با STAR و تنظیمات استاندارد صورت گرفت و شمارش ژنی با featureCounts پارامترها (-t exon -g gene\_id) استخراج شد. برای شناسایی circRNAها از CIRI2 (تراز BWA-MEM روی ژنوم) با آستانه  $\geq 2$  خوانش BSJ و  $RPM \geq 0.1$  استفاده شد. اثرات دسته‌ای با طراحی مدل  $\sim \text{batch} + \text{condition}$  DESeq2 کنترل گردید و ComBat صرفاً بر ماتریس vst برای مصورسازی (PCA/heatmap) به کار رفت. برای حذف رونوشت‌های کم‌بیان، فیلتر  $\geq 2$  (rowSums(counts)  $\geq 10$ ) اعمال شد.

### 3.3. تحلیل تفاضلی و آستانه‌ها

تحلیل تفاضلی lncRNAها (با تمرکز بر lncRNA و circRNA؛ استفاده از ژن‌های کدکننده فقط برای نگاشت شبکه و غنی‌سازی) با بسته DESeq2 در R v4.5.0 و طراحی مدل  $\text{batch} + \text{condition} \sim$  انجام شد. آستانه معناداری اصلی  $|\log_2FC| \geq 2$  و  $FDR < 0.05$  (تصحیح Benjamini-Hochberg) تعیین گردید. برای تحلیل حساسیت، آستانه به  $FDR < 0.1$  (با حفظ  $|\log_2FC| \geq 2$ ) تعدیل شد تا پایداری یافته‌های کلیدی ارزیابی گردد.

### 3.4. انوتیشن و پیش‌بینی تعاملات

انوتیشن lncRNAها از پایگاه‌های Ensembl، NONCODE، LNCipedia و circBase/circAtlas استخراج و با مختصات ژنومی داده‌های مطالعه هم‌تراز شد. اهداف miRNA با TargetScan (آستانه  $\text{context}+ \leq -0.2$ )، اولویت با توالی‌های conserved (score  $\geq 0.95$ ) و miRWalk (پیش‌بینی گردید. تعاملات circRNA-miRNA از starBase (شواهد CLIP-supported در موش) بازبازی شد. بر مبنای این تعاملات و الگوهای هم‌بینی، شبکه‌های ceRNA (شامل lncRNA-miRNA-mRNA و mRNA) در Cytoscape v3.10.1 بازسازی و یال‌ها صرفاً در صورت برآورده کردن آستانه‌های فوق و وجود شواهد CLIP ترسیم شدند.

### 3.5. غنی‌سازی عملکردی و همگرایی بین‌مجموعه‌ای

غنی‌سازی کارکردی GO/KEGG با بسته‌های clusterProfiler و DAVID و آستانه معناداری  $q < 0.05$  (تصحیح Benjamini-Hochberg) انجام شد. برای ارزیابی ناهمگنی بین‌مجموعه‌ای، هم‌نهشتی الگوها و PCA بر روی ماتریس vst پس از ComBat بررسی گردید. یافته‌ها در هر دو مجموعه RNA-Seq بر محورها/مسیرهای مشترک از جمله AMPK، SIRT1/PGC-1 $\alpha$  و PPAR $\alpha$  همگرا شد. خروجی، فهرست کاندیداهای ncRNA تفاضلی و گره‌های کلیدی شبکه ceRNA بود که مبنای اعتبارسنجی و تفسیر در مرور سیستماتیک قرار گرفت.

### 4) ادغام مرور و بازتحلیل، و کنترل سوگیری

برای ادغام شواهد، الگوهای به‌دست‌آمده از بازتحلیل داده‌های عمومی با یافته‌های مطالعات واردشده در مرور سیستماتیک هم‌نهشت و اعتبارسنجی تقاطعی شد؛ همگرایی شاخص شامل کاهش miR-34a، افزایش miR-122، کاهش lncRNAهای MALAT1/HOTAIR و افزایش circScd1 بود که با محورهای AMPK، SIRT1/PGC-1 $\alpha$  و PPAR $\alpha$  همسو است.

### 5) ملاحظات اخلاقی، نرم‌افزار و بازتولیدپذیری

این پژوهش صرفاً از داده‌های عمومی و آزاد GEO استفاده کرده است؛ بنابراین نیازی به مصوبه اخلاقی/کمیته IRB وجود نداشت.

## ۲. LncRNA

۲،۱. طبقه‌بندی، منشأ و غربالگری lncRNAها در بیماری کبد چرب غیرالکلی و در پاسخ به فعالیت ورزشی

RNAهای بلند غیرکدکننده گروهی از رونوشت‌های RNA با طول بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید هستند که توانایی کد کردن پروتئین ندارند، اما از طریق تعامل با DNA، RNA یا پروتئین‌ها، در تنظیم‌های مختلف ژنتیکی مانند بیان ژن، بازآرایی کروماتین و کنترل ترجمه مشارکت دارند. در ابتدا این مولکول‌ها به‌عنوان محصولات زائد ناشی از «نویز رونویسی» [۱۰] تلقی می‌شدند، اما شواهد فزاینده نشان داده‌اند که RNAهای بلند غیرکدکننده واسطه‌های فعال در تنظیمات اپی‌ژنتیکی، رونویسی و پسا‌رونویسی هستند. طبقه‌بندی RNAهای بلند غیرکدکننده بر پایه موقعیت ژنومی آن‌ها نسبت به ژن‌های کدکننده پروتئین انجام می‌شود و شامل انواع RNAهای غیرکدکننده بلند بین‌ژنی<sup>۳</sup>، RNAهای غیرکدکننده داخلی<sup>۴</sup>، آنتی‌سنس<sup>۵</sup>، هم‌جهت<sup>۶</sup> و دوطرفه است [۱۱]. این طبقه‌بندی نه تنها از لحاظ ساختاری، بلکه از نظر عملکرد بالقوه‌ی آن‌ها نیز حائز اهمیت است [12, 13]. مانند mRNAها، اغلب RNAهای بلند غیرکدکننده توسط پلی‌مراز II رونویسی می‌شوند و دارای ساختارهایی مانند کلاهِک ۵' و دم پلی‌آدنین در انتهای ۳' هستند. [۱۴، ۱۵] با این حال، برخلاف mRNAها، اغلب RNAهای بلند غیرکدکننده دارای بیان پایین‌تر [۱۶]، الگوی بافتی اختصاصی [۱۷] و محافظت ژنتیکی محدودتری [۱۸] بین گونه‌ها هستند. در بافت کبد، که مرکزی برای تنظیم متابولیسم انرژی در بدن محسوب می‌شود، بیان RNAهای بلند غیرکدکننده تحت تأثیر تغییرات متابولیکی مانند رژیم غذایی [۱۹]، شرایط التهابی یا استرس اکسیداتیو [۲۰] قرار دارد [۲۱]. در مدل‌های حیوانی (مانند موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرچرب)، مطالعات ترنسکرپتومیک نشان داده‌اند که RNAهای بلند غیرکدکننده مانند MEG3 [۲۲]، HULC<sup>۶</sup> [۲۳] و Gm16551 [24] در تنظیم مسیرهایی همچون SREBP1<sup>۷</sup>، PPAR $\gamma$ <sup>۸</sup> و TGF- $\beta$ <sup>۹</sup> مشارکت داشته [۲۵] و در پیشرفت بیماری نقش دارند [۲۰].

فعالیت ورزشی، به‌ویژه تمرینات هوازی مداوم، به‌عنوان یکی از مؤثرترین مداخلات غیر دارویی در کنترل بیماری کبد چرب غیر الکلی شناخته می‌شود [۲۶]. شواهد نشان می‌دهد که فعالیت ورزشی می‌تواند الگوی بیان RNAهای بلند غیرکدکننده را در کبد بازنویسی کرده و از این طریق به کاهش لیپوژنز، التهاب و فیبروز کمک کند [۲۷]. برای مثال، تمرینات ورزشی با کاهش بیان RNAهای بلند غیرکدکننده التهابی مانند MALAT1<sup>۱</sup> و HOTAIR<sup>۱</sup> [۲۴، ۲۸] و افزایش RNAهای بلند غیرکدکننده محافظتی نظیر Gm16551<sup>۱۲</sup> و FLRL6<sup>۱۳</sup> در مدل‌های حیوانی همراه بوده‌اند [۲۴]. این بازتنظیم مولکولی، بخشی از پاسخ تطبیقی کبد به فعالیت ورزشی است که به بهبود عملکرد میتوکندری و متابولیسم چربی کمک می‌کند [۲۹]. شناسایی RNAهای بلند غیرکدکننده درگیر در پاتوفیزیولوژی بیماری کبد چرب غیر الکلی و پاسخ به فعالیت ورزشی، عمده‌تاً از طریق روش‌های بیوانفورماتیکی و تحلیل داده‌های ترنسکرپتومیک صورت می‌گیرد. این فرایند شامل الحاق رونویس‌ها، پیش‌بینی توانایی غیرکدکنندگی با استفاده از ابزارهایی مانند CPC<sup>۱۴</sup>، CNCI<sup>۱۵</sup> و Pfam<sup>۱۶</sup>، طبقه‌بندی ساختاری، و تحلیل عملکردی از طریق

<sup>3</sup> . lncRNA ( Long Non-Coding RNA)

<sup>4</sup> . lincRNA ( long intergenic non-coding RNA)

<sup>5</sup> . Maternally Expressed Gene 3

<sup>6</sup> . Highly Upregulated in Liver Cancer

<sup>7</sup> . Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1

<sup>8</sup> . Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma

<sup>9</sup> . Transforming Growth Factor beta

<sup>۱</sup> . Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1

<sup>۱</sup> . HOX Transcript Antisense RNA

<sup>۱</sup> . Fatty Liver-Related lncRNA 6

<sup>۱</sup> . Coding Potential Calculator<sup>3</sup> version 2

<sup>۱</sup> . Coding-Non-Coding Index<sup>4</sup>

<sup>۱</sup> . Protein families database<sup>5</sup>

هم‌بینی با ژن‌های شناخته‌شده و غنی‌سازی مسیرها است. پایگاه‌هایی نظیر LNCipedia، NONCODE و lncRNADB و داده‌های عمومی مانند GEO منابع اصلی این تحلیل‌ها را فراهم می‌کنند.

در نهایت، غربالگری RNAهای بلند غیرکدکننده ای که در اثر فعالیت ورزشی تنظیم می‌شوند و با مسیرهای لیپیدی، التهابی و فیبروتیک در کبد چرب غیر الکلی همپوشانی دارند، می‌تواند چشم‌اندازهای نوینی برای طراحی درمان‌های RNA-محور فراهم آورد. این درمان‌ها ممکن است قادر باشند اثرات مفید فعالیت ورزشی را از طریق مداخلات مولکولی تقلید کرده و در آینده جایگزینی برای مداخلات درمانی در بیماران ناتوان فراهم سازند.

### ۳. circRNA ها

#### ۳،۱. منشأ، توصیف و غربالگری circRNA ها در بیماری کبد چرب غیرالکلی و در پاسخ به فعالیت ورزشی

RNAهای حلقوی<sup>۱۶</sup> گروهی از RNAهای غیرکدکننده‌اند که برخلاف RNAهای بلند غیرکدکننده ساختار خطی ندارند، بلکه از طریق پدیده‌ای به نام back-splicing [30] به صورت کووالانسی حلقه می‌شوند. این ساختار حلقوی باعث پایداری فوق‌العاده RNAهای حلقوی در برابر تخریب توسط اگزونوکلازها شده و آن‌ها را به تنظیم گره‌های مؤثری در فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک، از جمله متابولیسم کبد، تبدیل کرده است [۳۱]. بر اساس منشأ ژنومی، RNAهای حلقوی را می‌توان به سه گروه اصلی تقسیم کرد: اگزونی، اینترونی و اگزون-اینترونی [32, 33].

RNAهای حلقوی معمولاً از ژن‌هایی با ساختار پیچیده یا حاوی توالی‌های تکراری مشتق می‌شوند و نقش آن‌ها شامل تنظیم بیان ژن، تنظیم ترجمه، مهار miRNA [34]، تعامل با پروتئین‌ها [۳۵] و حتی در مواردی ترجمه نهفته است [۳۲]. در کبد، RNAهای حلقوی در واکنش به عوامل محیطی مانند رژیم غذایی پرچرب یا استرس‌های متابولیک، دستخوش تغییر در بیان می‌شوند [۳۶]. در بیماری کبد چرب غیرالکلی، شواهد تجربی و بیوانفورماتیکی نشان داده‌اند که RNAهای حلقوی می‌توانند از طریق تنظیم miRNAها و mRNAهای هدف، در مسیرهای کلیدی مانند لیپوز، التهاب، استرس اکسیداتیو، آپوپتوز و فیبروز ایفای نقش کنند [۳۷، ۳۸]. برای مثال، [۳۹] circRNA\_002581 در مدل‌های حیوانی کبد چرب غیر الکلی با افزایش لیپیدهای کبدی و اختلال عملکرد میتوکندری [۴۰] همراه است و از طریق محور PTEN-AMPK<sup>۱۷</sup>miR-122-CPEB1 در متابولیسم انرژی و استئاتوز نقش دارد [۴۱]. همچنین circRNA\_0046366 با مهار miR-34a، از فعالیت SIRT1 و مسیر PPAR $\alpha$  محافظت می‌کند که در کنترل اکسیداسیون اسیدهای چرب نقش حیاتی دارد [۴۲]. از دیگر RNAهای حلقوی کلیدی می‌توان به circScd1<sup>۱۸</sup> اشاره کرد که بیان آن در موش‌های تحت رژیم پرچرب کاهش یافته و افزایش مجدد آن با مهار استئاتوز و بهبود حساسیت انسولینی همراه بوده است [۴۳].

1 . circular RNAs

<sup>۱۶</sup> microRNA-122 (miR-122) با مهار CPEB1 (Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein 1) باعث تنظیم PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog) می‌شود و در نهایت AMPK (AMP-Activated Protein Kinase) را فعال می‌کند تا متابولیسم چربی و انرژی را کنترل کند.

<sup>۱۸</sup>Circular RNA derived from the Stearoyl-CoA Desaturase 1 gene

با ظهور فناوری‌های توالی‌یابی نسل جدید (NGS) و توسعه الگوریتم‌های اختصاصی RNAهای حلقوی، امکان شناسایی دقیق این مولکول‌ها فراهم شده است. تحلیل‌های circRNA-Seq معمولاً با استفاده از ابزارهایی نظیر CIRI2، find\_circ، circExplorer2 و پایگاه‌هایی نظیر circBase، circAtlas و CIRCpedia صورت می‌گیرد. پس از شناسایی اولیه، مراحل بعدی شامل پیش‌بینی اسفنج miRNA، تحلیل GO/KEGG، تحلیل هم‌بینایی می‌باشد. در سال‌های اخیر، نقش تعدیل‌کننده فعالیت ورزشی بر بیان RNAهای حلقوی در بافت کبد نیز مورد توجه قرار گرفته است [۴۴]. مطالعات اولیه نشان داده‌اند که فعالیت ورزشی منظم، به‌ویژه تمرینات هوازی، می‌تواند با کاهش RNAهای حلقوی در شرایط پاتولوژیک و افزایش RNAهای حلقوی محافظ، اثر ضد استخوانوز خود را اعمال کند [۹]. برای نمونه، در یک مطالعه، فعالیت ورزشی منجر به کاهش circRNA\_021412 (مرتبط با مهار SIRT1) [۴۵] و افزایش circScd1 [۴۶] شد که بهبود در شاخص‌های لیپید و التهاب کبدی را به همراه داشت. از سوی دیگر، محورهای circRNA-miRNA-mRNA [47] فعال در پاسخ به فعالیت ورزشی، مسیرهای سیگنالینگ AMPK، SIRT1 و PPAR $\alpha$  را هدف قرار می‌دهند که همگی در کنترل متابولیسم لیپید و بهبود مقاومت به انسولین دخیل‌اند [۹].

این شواهد نشان می‌دهد که RNAهای حلقوی نه‌تنها در پاتوژنز بیماری کبد چرب غیر الکلی نقش دارند، بلکه در بازتنظیم ژنتیکی ناشی از فعالیت ورزشی نیز شرکت می‌کنند. بنابراین، شناسایی و غربالگری RNAهای حلقوی پاسخ‌دهنده به فعالیت ورزشی می‌تواند به توسعه راهبردهای درمانی نوین با الهام از اثرات بیولوژیک فعالیت بدنی منجر شود، به‌ویژه در بیمارانی که به دلایل فیزیکی یا پزشکی قادر به انجام تمرین نیستند.

#### ۴. Small non-coding RNAs (sncRNA)

##### 4.1. RNAهای کوچک غیرکدکننده: زیست‌شناسی و عملکرد در کبد چرب غیرالکلی و در پاسخ به فعالیت ورزشی

RNAهای کوچک غیرکدکننده<sup>۱</sup> مجموعه‌ای از مولکول‌های RNA با طول کمتر از ۲۰۰ نوکلئوتید هستند که بدون تولید پروتئین، در تنظیم پسارونویسی ژن‌ها نقش کلیدی ایفا می‌کنند [۴۸]. شناخته‌شده‌ترین انواع RNAهای کوچک غیرکدکننده شامل siRNAs، miRNAs و piRNAs هستند [۴۹]. این مولکول‌ها با ورود به کمپلکس‌های تنظیمی مانند کمپلکس خاموش‌سازی القا شده توسط RNA<sup>۲</sup>، از طریق جفت شدن با mRNAهای هدف، باعث مهار ترجمه یا تخریب mRNA شده و مسیرهای بیولوژیکی مهمی مانند لیپوژنز، التهاب، آپوپتوز و تنظیم چرخه سلولی را کنترل می‌کنند [۵۰].

فرآیند زیست‌زایی RNAهای کوچک غیرکدکننده، به‌ویژه miRNAها، فرآیندی چندمرحله‌ای و دقیق است که از هسته آغاز شده و تا سیتوپلاسم ادامه می‌یابد [۵۱]. در ابتدا، ژن‌های miRNA به‌وسیله RNA پلیماز ۲ رونویسی شده و رونوشت‌های اولیه‌ای به نام pri-miRNA ایجاد می‌کنند که دارای ساختار ساقه-حلقه هستند [۵۲]. این رونوشت‌ها توسط کمپلکس Droscha-DGCR8 در هسته پردازش شده و به پیش‌ساز miRNA تبدیل می‌شوند [53]. پیش‌ساز miRNA سپس توسط ناقل

<sup>1</sup> . sncRNAs( small non-coding RNAs)

<sup>2</sup> . small interfering RNA

<sup>3</sup> . PIWI-interacting RNA

<sup>4</sup> . RISC( RNA-Induced Silencing Complex)

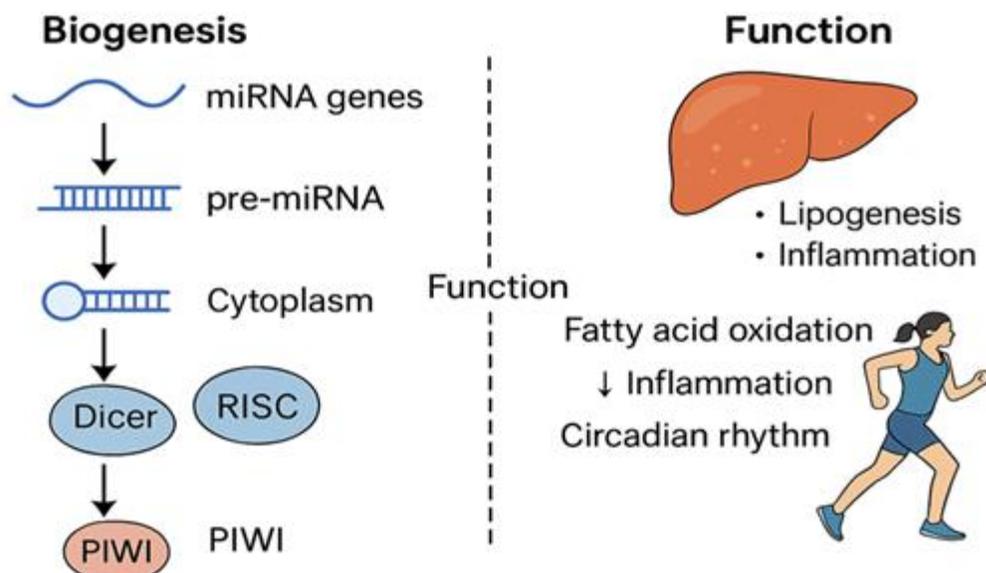
<sup>5</sup> . Droscha- DiGeorge syndrome Critical Region gene 8

هسته‌ای به سیتوپلاسم منتقل شده و در آنجا تحت فعالیت آنزیم دایسرازه<sup>۴</sup> miRNA دوتایی تبدیل می‌شود [۵۴]. در نهایت، یکی از رشته‌های راهنما به کمپلکس خاموش‌سازی القا شده توسط RNA متصل شده و به‌عنوان یک تنظیم‌گر دقیق برای مهار mRNA های هدف عمل می‌کند [۵۵]. زیست‌زایی RNA های کوچک غیر کدکننده نیز به‌طور مشابه انجام می‌شود، در حالی که piRNA ها عمدتاً در سلول‌های زایشی سنتز شده و مستقل از آنزیم دایسرازه هستند [۵۱]. در کبد، RNA های کوچک غیر کدکننده به‌عنوان حسگرهای تغییرات متابولیسم عمل می‌کنند و در پاسخ به محرک‌هایی مانند رژیم غذایی پرچرب، استرس اکسیداتیو، یا التهاب، دچار بازتنظیم بیانی می‌شوند [۵۶]. در کبد چرب غیر الکلی، مجموعه‌ای از miRNA ها به‌عنوان تنظیم‌گرهای اصلی مسیرهای پاتوفیزیولوژیک معرفی شده‌اند [۵۷]. برای نمونه، miR-122 که فعال‌ترین miRNA در کبد است، در تنظیم لیپوژنز، اکسیداسیون اسیدهای چرب و کلسترول نقش دارد، اما در مراحل پیشرفته کبد چرب غیر الکلی کاهش یافته و با پیشرفت بیماری، فیبروز و حتی سرطان همراه می‌شود [58]. miR-34a با مهار SIRT1 و افزایش استرس اکسیداتیو، آسیب سلولی کبد را تشدید می‌کند [59]. miR-21، miR-155 و miR-33 نیز از طریق تأثیر بر مسیرهای NF-κB، TGF-β و ژن‌های لیپولیتیک در التهاب مزمن و تجمع چربی نقش دارند [۶۰].

فعالیت ورزشی، به‌ویژه فعالیت‌های هوازی منظم، با تنظیم الگوی بیان RNA های کوچک غیر کدکننده در کبد، اثرات محافظتی خود را در سطح مولکولی اعمال می‌کند [۹]. مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که تمرین هوازی باعث افزایش miR-122 و کاهش miR-34a شده که به فعال‌سازی SIRT1، بهبود اکسیداسیون اسیدهای چرب و کاهش التهاب منجر می‌شود [۶۱]. همچنین miRNA هایی مانند miR-206 [62] و miR-192 [۶۳] نیز تحت تأثیر فعالیت ورزشی دچار تغییر بیان شده‌اند. به‌طور خاص، کاهش miR-192 و miR-221 پس از فعالیت ورزشی، با بهبود نشانگرهای آسیب کبدی در مدل‌های حیوانی همراه بوده است [۶۴].

علاوه بر تغییرات بیانی، فعالیت ورزشی با اثر بر اجزای مسیر زیستی RNA های کوچک غیر کدکننده، مانند افزایش فعالیت دایسرازه و دروشا<sup>۵</sup> بر تولید و بلوغ این مولکول‌ها نیز اثر می‌گذارد. این تنظیمات نه‌تنها در جهت مهار روند بیماری، بلکه در بازبرنامه‌ریزی عملکردی کبد عمل کرده و بخشی از مزایای متابولیسمی فعالیت ورزشی را توضیح می‌دهند. به‌همین دلیل، شبکه‌های miRNA-mRNA شناسایی شده در پاسخ به فعالیت ورزشی، این مولکول‌ها به‌عنوان اهداف درمانی نوین شناخته می‌شوند و می‌توانند مبنایی برای توسعه داروهایی باشند که با تقلید اثرات مفید ورزش، به بهبود بیماری در بیمارانی که توانایی ورزش ندارند، کمک کنند.

<sup>2</sup> . Dicer enzyme 4  
<sup>2</sup> . Drosha enzyme 5



شکل ۲. زیست‌زایی و عملکرد RNA های کوچک غیرکدکننده در کبد چرب غیرالکلی و پاسخ به فعالیت ورزشی. مسیر زیستی miRNA ها شامل مراحل دروشا، دایسر و ورود به کمپلکس خاموش‌سازی القا شده توسط RNA است. در کبد چرب غیر الکلی، برخی RNA های کوچک غیرکدکننده با افزایش لیپوژنز، التهاب و آپوپتوز نقش پاتولوژیک دارند؛ در حالی که فعالیت ورزشی با بازتنظیم بیان این مولکول‌ها، اکسیداسیون چربی، کاهش التهاب و هماهنگی ریتم شبانه‌روزی را تقویت می‌کند. (تصویر برگرفته از سایت bioRender).

## ۵. اهمیت زیستی تعاملات میان RNA های غیرکدکننده

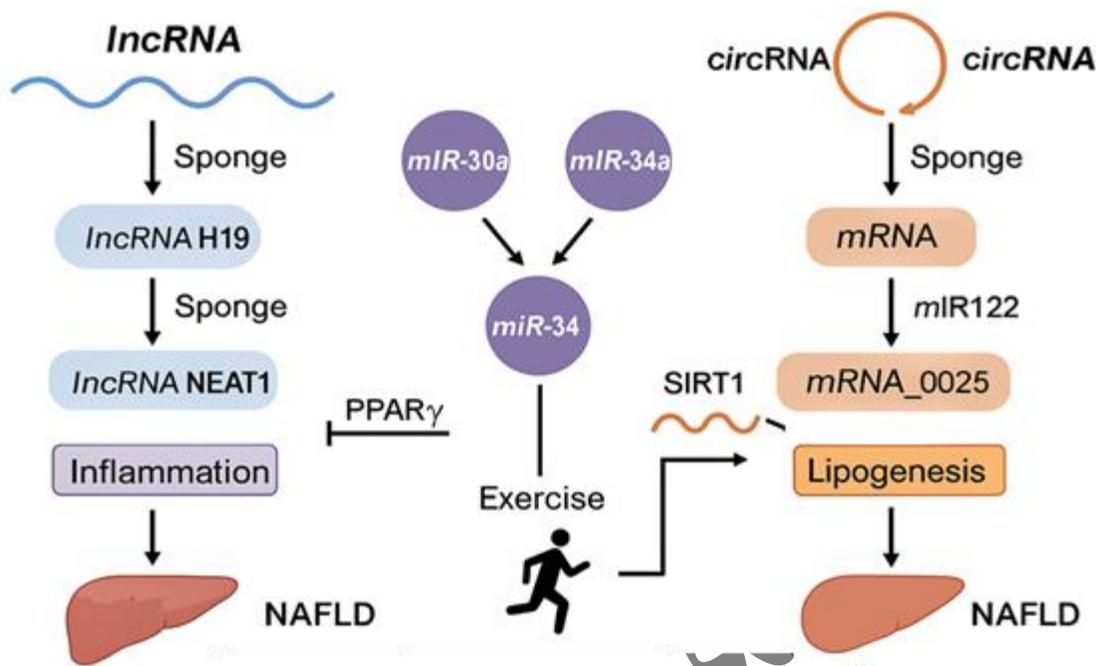
RNA های غیرکدکننده از جمله واسطه های کلیدی تنظیم بیان ژن در سطح سلولی هستند که بدون کد کردن پروتئین، از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند تنظیم اپی‌ژنتیک، کنترل رونویسی، پایداری RNA و ترجمه، بر مسیرهای بیولوژیکی حیاتی تأثیر می‌گذارند. این RNA ها شامل گروه‌های مختلفی نظیر miRNA ها، lncRNA ها، circRNA ها، piRNA ها و snoRNA ها هستند که به صورت مستقل یا در تعامل با یکدیگر، شبکه‌ای پیچیده از تنظیمات ژنتیکی را تشکیل می‌دهند [۶۵]. اهمیت زیستی تعاملات میان RNA های غیرکدکننده در این است که آن‌ها به صورت شبکه‌های هم‌تنظیم‌گر عمل می‌کنند که از طریق رقابت، مکمل بودن، یا تنظیم متقابل، الگوهای بیان ژن‌ها و مسیرهای پیام‌رسانی را در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک شکل می‌دهند [66].

در بیماری کبد چرب غیرالکلی، که در اثر چاقی، مقاومت به انسولین، و سبک زندگی بی‌تحرک ایجاد می‌شود، اختلال در تعاملات میان RNA های غیرکدکننده یکی از مکانیسم‌های مهم در پیشرفت بیماری به شمار می‌رود [۳۹]. برای مثال، RNA های بلند غیرکدکننده اغلب با miRNA ها وارد تعامل می‌شوند و به عنوان جاذب برای آن‌ها عمل می‌کنند، یعنی با اتصال به miRNA ها از مهار mRNA های هدف توسط آن‌ها جلوگیری می‌کنند؛ در نتیجه، بیان ژن‌های لیپوژنیک، التهابی یا فیبروزی افزایش می‌یابد [۶۷]. یک نمونه‌ی شناخته‌شده در کبد چرب غیر الکلی محور lncRNA H19-miR-130a-PPAR $\gamma$  است که منجر به افزایش لیپوژنز در سلول‌های کبدی می‌شود [۶۸، ۶۹]. همچنین، RNA های حلقوی با ایفای نقش مشابه، miRNA هایی مانند miR-34a یا miR-122 را مهار می‌کنند و مسیرهای کلیدی مانند SIRT1/AMPK را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این تعاملات

می‌توانند به تغییر تعادل متابولیکی، افزایش ذخیره چربی در کبد، تشدید التهاب و در مراحل پیشرفته‌تر، فیبروز و آسیب مزمن کبدی منجر شوند [۷۰، ۷۱].

اهمیت تعاملات RNAهای غیرکدکننده تنها به نقش آن‌ها در بیماری محدود نمی‌شود، بلکه در پاسخ‌های سازگاری بدن به مداخلات درمانی مانند فعالیت ورزشی نیز نقش بسزایی دارند. تمرینات هوازی، به‌عنوان یک مداخله‌ی غیر دارویی، نه‌تنها بیان جداگانه RNAهای غیرکدکننده را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، بلکه به بازتنظیم تعاملات میان آن‌ها نیز منجر می‌شود [۷۲]. برای مثال، فعالیت ورزشی با کاهش بیان RNAهای بلند غیرکدکننده مانند MALAT1 یا HOTAIR، که در شرایط پاتولوژیک با miRNAهای ضدالتهابی رقابت می‌کنند، اجازه می‌دهد miRNAهایی مانند miR-122 و miR-206 مجدداً فعال شده و از طریق مهار mRNAهای التهاب‌زا یا چربی‌ساز، عملکرد کبد را بهبود بخشند [۷۳، ۷۴]. به‌طور مشابه، RNAهای حلقوی که در وضعیت بیماری افزایش یافته‌اند و عملکرد miRNAهای کلیدی را سرکوب می‌کنند مانند (circRNA\_002581) پس از تمرینات ورزشی کاهش بیان نشان داده‌اند [۷۵، ۷۶]، که این امر به بازگشت فعالیت محورهای تنظیمی حیاتی منجر می‌شود. از نظر مولکولی، این تعاملات می‌توانند به‌صورت شبکه‌های circRNA-miRNA-lncRNA-mRNA مدل‌سازی شوند که هر مؤلفه در یک مسیر خاص تنظیمی وارد شده و بر دیگری اثر می‌گذارد [۷۷]. برای نمونه، lncRNA NEAT1 با miR-122 تعامل می‌کند، که خود تنظیم‌کننده KLF6 در سلول‌های ستاره‌ای کبد است؛ کاهش NEAT1 در پاسخ به فعالیت ورزشی، باعث کاهش تکثیر این سلول‌ها و مهار فیبروز می‌شود [۷۸، ۷۹]. در موارد دیگر، RNAهای بلند غیرکدکننده نظیر Blnc1 با miRNAهایی که روی SREBP1 یا FASN اثر می‌گذارند رقابت کرده و بیان آن‌ها را در لیپوژنز افزایش می‌دهند [۳۹]؛ فعالیت ورزشی با سرکوب Blnc1 می‌تواند این مسیر را خاموش کند [۹].

این تعاملات پیچیده، نمایانگر آن است که RNAهای غیرکدکننده نه صرفاً به‌عنوان عناصر مستقل، بلکه به‌عنوان اجزای به‌هم‌پیوسته در یک شبکه تنظیمی پویا عمل می‌کنند. درک این شبکه‌ها، به‌ویژه در زمینه پاسخ به فعالیت ورزشی، می‌تواند نه‌تنها به شناسایی اهداف درمانی مؤثر منجر شود، بلکه مبنایی برای توسعه درمان‌های RNAمحور فراهم آورد که قابلیت تقلید از پاسخ‌های سودمند فعالیت ورزشی در افراد ناتوان یا کم‌تحرک را داشته باشند.



شکل 3. تعاملات زیستی میان RNA های غیرکدکننده در پاتوفیزیولوژی کبد چرب غیرالکلی و تنظیم آن‌ها توسط فعالیت ورزشی

- در سمت چپ، RNA های بلند غیر کدکننده مانند H19 و NEAT1 به عنوان اسفنج برای miRNA ها عمل کرده و عملکرد آن‌ها را مهار می‌کنند. این مهار باعث کاهش دسترسی miRNA به mRNA های هدف شده و در نتیجه التهاب را افزایش می‌دهد. افزایش التهاب در نهایت به پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی کمک می‌کند. RNA های بلند غیر کدکننده در این مسیر از طریق مهار miRNA هایی مثل miR-30a یا miR-34a بر مسیر PPAR $\gamma$  تأثیر می‌گذارند.
- در سمت راست، RNA ها حلقوی نیز به عنوان جاذب برای miRNA هایی مانند miR-122 عمل می‌کنند. مهار miR-122 باعث کاهش فعالیت SIRT1 و افزایش بیان ژن‌های لیپوژنیک مانند mRNA\_0025 می‌شود. این مسیر منجر به افزایش لیپوژنز در کبد و تشدید کبد چرب غیر الکلی می‌گردد.
- فعالیت ورزشی به عنوان یک عامل خارجی، در مرکز شکل قرار دارد و از طریق مهار miR-34 و فعال سازی SIRT1، باعث بهبود تنظیم این شبکه‌ها می‌شود. فعالیت ورزشی با این مکانیسم‌ها، التهاب و لیپوژنز را کاهش داده و اثرات محافظتی بر کبد اعمال می‌کند (تصویر برگرفته از سایت bioRender).

## ۶. چشم‌اندازها و کاربردهای بالینی RNA های غیر کد کننده در بیماری کبد چرب غیرالکلی و پاسخ به فعالیت

### ورزشی

RNA های غیر کدکننده با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردشان از جمله پایداری نسبی در مایعات زیستی، و نقش کلیدی در تنظیم مسیرهای متابولیک، به عنوان اهداف نوین در حوزه‌ی پزشکی فردمحور و زیست‌نشانگرهای بالقوه در بیماری‌هایی نظیر کبد چرب غیرالکلی مطرح شده‌اند. در سال‌های اخیر، داده‌های حاصل از مطالعات ترنسکریپتومیک و بیوانفورماتیکی آشکار کرده‌اند که برخی RNA های غیر کدکننده (به ویژه miRNA ها، lncRNA ها و circRNA ها) در مراحل مختلف پیشرفت بیماری کبد چرب غیرالکلی، از استئاتوز ساده تا فیبروز، به طور متمایز بیان می‌شوند. یکی از مهم‌ترین کاربردهای بالینی RNA های غیر کد کننده، استفاده به عنوان نشانگر زیستی برای تشخیص زودهنگام، پایش پیشرفت بیماری و حتی پیش‌بینی پاسخ به مداخلات غیردارویی مانند فعالیت ورزشی است. برای مثال، miR-122 و miR-34a در بسیاری از مطالعات به عنوان نشانگرهای غیرتهاجمی برای

تعیین شدت آسیب کبدی شناخته شده‌اند. از طرف دیگر، کاهش سطح miR-34a و بازیابی miR-122 پس از مداخلات ورزشی در مدل‌های حیوانی، می‌تواند به‌عنوان شاخص اثربخشی مداخله تلقی شود [80]. علاوه بر نقش تشخیصی، RNAهای غیر کد کننده به‌عنوان اهداف درمانی مستقیم نیز در حال بررسی هستند. توسعه‌ی آنتاگومیرها [۸۱] برای مهار miRNAها، ابزارهای مهار بیان lncRNA و حتی روش‌های درمانی بر پایه RNAهای حلقوی در مراحل پیش‌بالینی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند [۸۲]. با این حال، چالش‌هایی مانند ایمنی- اختصاصی بافتی، پایداری در بدن و سیستم‌های تحویل مؤثر، هنوز به‌صورت کامل حل نشده‌اند. در این میان، فعالیت ورزشی به‌عنوان یک مداخله‌ی فیزیولوژیک با عوارض ناچیز، توانایی بازتنظیم الگوهای بیان RNAهای غیر کد کننده را دارد و می‌تواند به‌صورت طبیعی مسیرهایی را هدف قرار دهد که داروهای RNA محور هنوز در آن موفق نبوده‌اند.

در مجموع، RNAهای غیر کد کننده نمایانگر یکی از امیدبخش‌ترین ابزارها در تشخیص، پیش‌آگهی و درمان هدفمند بیماری کبد چرب غیر الکلی هستند. همگرایی میان فعالیت ورزشی، تنظیم RNAهای غیر کد کننده و فناوری‌های RNA محور، افق‌های تازه‌ای برای مدیریت مولکولی این بیماری متابولیک فراهم می‌سازد.

## ۷. بحث

RNAهای غیر کد کننده به‌عنوان تنظیم‌کنندگان مهم در پاتوژنز بیماری کبد چرب غیر الکلی شناخته شده‌اند و در فرآیند انباشت چربی کبدی، التهاب و فیبروز نقش‌های کلیدی ایفا می‌کنند. miRNAها به‌عنوان کوچک‌ترین RNAهای غیر کد کننده پس‌اسازگاری ژن‌ها را تنظیم می‌کنند و شبکه‌های متابولیکی مرتبط با چربی و گلوکز را تحت تأثیر قرار می‌دهند [83]. در موجود زنده و شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است که برخی miRNAها (مانند miR-122، miR-34a، و miR-192) در مراحل اولیه کبد چرب غیر الکلی و استئاتوز افزایش بیان می‌یابند و مسیرهای اکسیداسیون اسید چرب، مقاومت به انسولین و التهاب را مختل می‌کنند. هر miRNA می‌تواند مسیرهای متعددی را هدف قرار دهد؛ برای مثال افزایش miR-34a و miR-122 باعث تشدید استئاتوز و التهاب کبدی می‌شود، در حالی که مهار موقت miR-122 در موش‌های تغذیه‌شده با چربی بالا منجر به بهبود متابولیسم لیپید و کاهش استئاتوز شده است [84]. این موارد نشان می‌دهد که تغییرات بیان miRNA می‌تواند تأثیرات علی بر پیشرفت یا مهار کبد چرب غیر الکلی داشته باشد. RNAهای بلند غیر کد کننده نیز با تنظیم رونویسی و اپی‌ژنتیک ژن‌های دخیل در لیپوژنز، اکسیداسیون چربی و التهاب در کبد، در پاتوژنز کبد چرب غیر الکلی سهیم هستند [85]. تاکنون صدها RNA ی بلند غیر کد کننده با بیان غیر طبیعی در بافت کبد چرب شناسایی شده‌اند که برخی از آن‌ها از طریق برهم‌کنش به‌عنوان جاذب miRNA عمل کرده و بیان ژن‌های هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهند [86]. برای نمونه، افزایش بیان RNAهای بلند غیر کد کننده مانند H19 و NEAT1 با انباشت لیپید و فیبروز کبدی همراه بوده است؛ این مولکول‌ها با جذب miRNAهای تنظیم‌کننده متابولیسم (نظیر miR-146a یا miR-122) موجب فعال‌شدن مسیرهای لیپوژنیک و فیبروتیک می‌شوند [87]. از سوی دیگر، RNAهای بلند غیر کد کننده مهاری مانند Gm16551، MEG3 و HNF1A-AS1 نیز شناسایی شده‌اند که عملکرد محافظتی دارند و کاهش بیان آن‌ها در کبد چرب غیر الکلی به پیشرفت بیماری کمک می‌کند. RNAهای حلقوی هم با جذب miRNAها (مثل یک اسفنج) و هم با اتصال به پروتئین‌ها یا RNAهای بلند غیر کد کننده، تعیین می‌کنند چه ژن‌هایی در کبد روشن یا خاموش

شوند. هر چند مطالعات RNA های حلقوی در کبد چرب غیر الکلی نسبتاً جدید است، هم‌منطور که گفته شد شواهد اولیه حاکی از آن است که چندین RNA ی حلقوی (circScd1, circRNA\_002581 و...) در کبد چرب و استئاتوز دچار تغییر بیان می‌شوند و برخی از آن‌ها با اتصال به miR-122 بر ژن‌های متابولیسم لیپید تأثیر می‌گذارند [۸۸]. این ویژگی‌ها در مجموع نشان می‌دهد شبکه‌ای درهم‌تنیده از RNA های غیر کد کننده (miRNA-lncRNA-circRNA) در تنظیم هم‌ایستایی لیپید و پاسخ‌های التهابی کبد نقش دارد و اختلال در این شبکه می‌تواند به پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی منجر شود. از منظر انتقادی، درک کامل عملکرد این شبکه پیچیده هنوز چالش‌برانگیز است و نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

فعالیت ورزشی به‌عنوان یک مداخله غیر دارویی مؤثر، می‌تواند بیان RNA های غیر کد کننده کلیدی در کبد را بازتنظیم کرده و از این طریق در بهبود بیماری کبد چرب غیر الکلی سهیم باشد [89]. شواهد نشان می‌دهند ورزش هوازی از طریق تغییر الگوی بیان برخی miRNA ها و RNA های بلند غیر کد کننده، به کاهش چربی کبد و التهاب کمک می‌کند [۹]. برای مثال، در موش‌های مبتلا به کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم پرچرب، برنامه تمرین هوازی طولانی‌مدت توانست استئاتوز کبدی را کاهش دهد که هم‌زمان با آن، miR-212 که در کبد بیمار بیش‌ازحد بیان شده بود به سطح طبیعی بازگردد [90]. این یافته حاکی از آن است که بهبود حاصل از فعالیت ورزشی با تغییر در پروفایل miRNA همراه است. به‌علاوه، گزارش شده است که فعالیت ورزشی از طریق مهار RNA ی بلند غیر کد کننده موسوم به SRA<sup>۲</sup> فعالیت فاکتور رونویسی FoxO1<sup>۲</sup> را کاهش می‌دهد و بدین ترتیب موجب افزایش بیان آنزیم تجزیه‌کننده تری‌گلیسرید (ATGL)، کاهش لیپوژنز و مهار مسیرهای التهابی JNK/p38MAPK در کبد می‌شود [28]. نتیجه این تنظیم مجدد توسط فعالیت ورزشی، کاهش التهاب و تجمع چربی در کبد است. همچنین یک مطالعه نشان داده است اثر ضد استئاتوز فعالیت ورزشی با واسطه تنظیم miR-33 و تحریک اتوفاژی در کبد رخ می‌دهد که به کاهش لیپیدهای تجمع‌یافته منجر می‌شود [4]. بنابراین، فعالیت ورزشی می‌تواند با اصلاح بیان RNA های غیر کد کننده مختل شده در کبد چرب، مسیرهای زیستی مخرب را معکوس کند. در مطالعه حاضر، تحلیل بیوانفورماتیکی داده‌های مدل حیوانی نیز مؤید همین روند بود. فعالیت ورزشی باعث تغییر بیان مجموعه‌ای از RNA های غیر کد کننده مرتبط با متابولیسم و التهاب گردید. به‌طور مشخص، یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از تعدیل بیان چند miRNA و RNA های بلند غیر کد کننده مهم پس از مداخله ورزشی بود که هم‌جهت با گزارش‌های پیشین است؛ برای مثال همان‌طور که گفته شد، تعدادی از miRNA هایی که در بیماری کبد چرب غیر الکلی افزایش می‌یابند، در موش‌های تمرین کرده کاهش بیان نشان دادند که هم‌خوان با نقش محافظتی فعالیت ورزشی در ادبیات است. این همگرایی میان نتایج تحلیل مطالعه حاضر و مطالعات منتشرشده، اعتبار بیولوژیکی یافته‌های این بررسی را تقویت می‌کند و نشان می‌دهد تنظیم RNA های غیر کد شونده یکی از مکانیزم‌های اثرگذاری فعالیت ورزشی بر بهبود کبد چرب است.

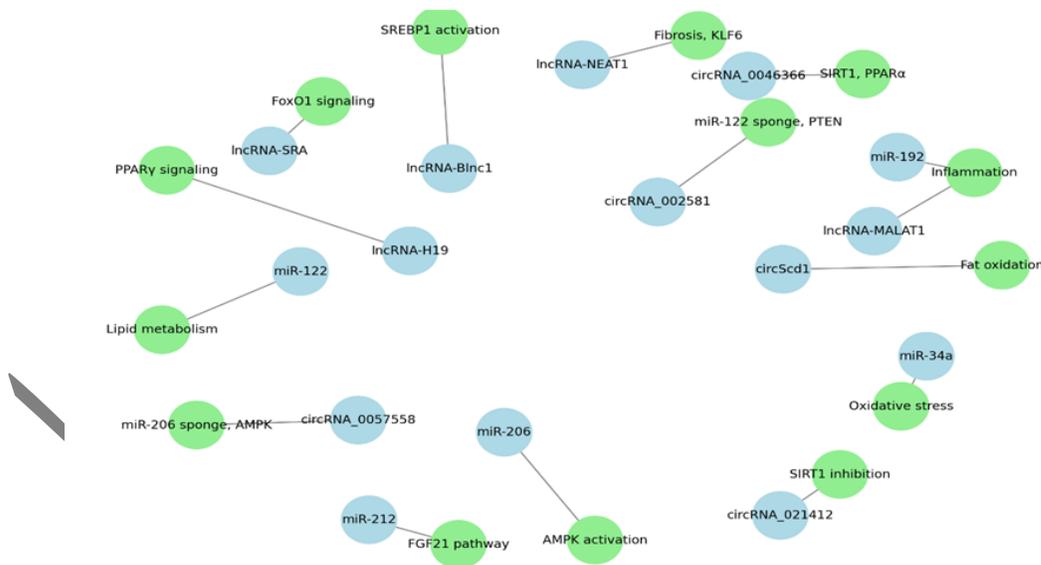
توصیه نویسندگان مطالعه حاضر به محققان این حوزه آن است که در تفسیر داده‌های مرتبط با RNA های غیر کد کننده در بیماری کبد چرب غیر الکلی به این موارد توجه ویژه داشته باشند؛ چرا که با وجود شواهد رو به رشد درباره نقش RNA های غیر کد کننده، تفسیر عملکرد دقیق آن‌ها در مدل‌های حیوانی کبد چرب غیر الکلی با چالش‌هایی همراه است. اول اینکه بسیاری از ncRNA ها بین گونه‌ها قابل تعمیم نیستند؛ برخی RNA های بلند غیر کد کننده یا RNA های حلقوی شناسایی شده در مدل‌های حیوانی معادل

<sup>2</sup> . Steroid Receptor RNA Activator

<sup>2</sup> . Forkhead box O1

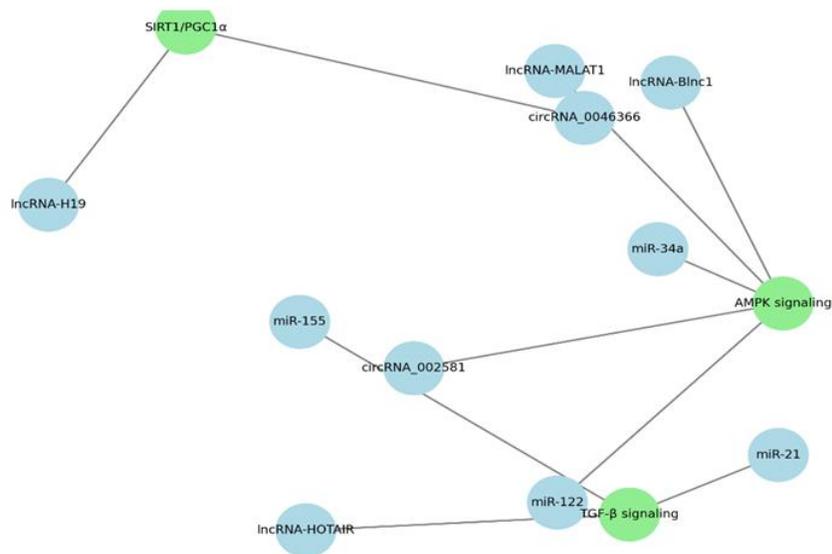
<sup>2</sup> . Adipose Triglyceride Lipase

مستقیمی در انسان ندارند یا توالی و عملکرد آن‌ها متفاوت است. این مسأله تعمیم نتایج حیوانی به بالین انسان را دشوار می‌سازد. دوم، تغییرات بیان RNA های غیر کد کننده در کبد ممکن است پیامد ثانویه آسیب کبدی باشد نه لزوماً عامل آغازگر آن؛ برای نمونه، افزایش برخی miRNA های سرمی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می‌تواند بازتابی از نکروز و نشت محتویات سلولی باشد. در نتیجه باید احتیاط کرد که همبستگی‌ها را به‌عنوان رابطه علت و معلول قلمداد نشود. سوم، عملکرد یک RNA غیر کد کننده می‌تواند با توجه به شرایط بیولوژیکی متفاوت باشد. مثال قابل توجه miR-122 است که مهار موقت آن سبب بهبود استئاتوز می‌شود، اما حذف ژنتیکی کامل آن در موش‌ها اثرات جبرانی نامطلوبی از جمله تشدید استئاتوز و تومورزایی کبدی دارد. چنین تناقضاتی نشان می‌دهد که نتایج وابسته به شدت و زمان مداخله و وجود مسیرهای تعاملی است؛ لذا تفسیر عملکرد RNA های غیر کد کننده نیازمند بررسی‌های دقیق مکانیکی است. چهارم، در تحلیل‌های بیوانفورماتیکی شبکه‌های ceRNA (تعاملات رقابتی بین lncRNA ها، circRNA ها و miRNA ها) صرفاً بر اساس هم‌بستگی و پیش‌بینی به‌دست می‌آیند. تأیید اینکه آیا یک RNA بلند غیر کد کننده مشخص با جذب یک miRNA باعث تنظیم بیان ژن هدف در کبد می‌شود، مستلزم آزمایش‌های عملکردی در مدل‌های سلولی/حیوانی است. در مجموع، این چالش‌ها ایجاب می‌کند که نتایج به‌دست‌آمده از مدل‌های حیوانی و آنالیزهای بیوانفورماتیکی با دید نقادانه نگرینسته شود و برای درک مکانیسم‌های دقیق، از رویکردهای تجربی تکمیلی بهره گرفته شود.



شکل ۴. شبکه تعامل ncRNA ها با مسیرهای کلیدی تنظیمی در پاسخ به ورزش در بیماری کبد چرب غیرالکلی

این نمودار شبکه‌ای، تعامل بین انواع مختلف RNA های غیر کدکننده (مانند miRNA، lncRNA و circRNA) مرتبط با لیپوژنز، التهاب و متابولیسم انرژی را در پاسخ به فعالیت ورزشی در مدل حیوانی مبتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی نشان می‌دهد. دایره‌های آبی نمایانگر ncRNA ها و دایره‌های سبز نشان‌دهنده مسیرهای تنظیمی اصلی هستند که توسط این RNA های غیر کد کننده هدف قرار گرفته‌اند. این شبکه‌نمایی از نقش هماهنگ RNA های غیر کد کننده در بازتنظیم مولکولی کبد در اثر فعالیت ورزشی را ارائه می‌دهد. تصویر برگرفته از نرم افزار Cytoscape3.10.1.



شکل ۵. شبکه تنظیمی RNA های غیر کد کننده در مسیرهای کلیدی بیماری کبد چرب غیرالکلی و پاسخ به فعالیت ورزشی

این نمودار شبکه‌ای، تعامل میان انواع مختلف RNA های غیر کدکننده (مانند miRNA ها، lncRNA ها و circRNA ها) و مسیرهای سیگنالینگ اصلی شامل AMPK، SIRT1/PGC1 $\alpha$  و TGF- $\beta$  را در بافت کبد نشان می‌دهد. این RNA های غیر کد کننده در پاسخ به فعالیت ورزشی، از طریق تنظیم بیان ژن‌ها در این مسیرها، نقش مهمی در کاهش لیپوژنز، التهاب و فیبروز ایفا می‌کنند و در بهبود پاتوفیزیولوژی کبد چرب غیر الکلی مؤثرند. تصویر برگرفته از نرم افزار Cytoscape3.10.1.

در این مرور ترکیبی همراه با بازتحلیل (HFD $\pm$ Exercise) داده های عمومی و تحلیل ادبیات پیشین، نشان دادیم که فعالیت ورزشی با بازتنظیم ncRNA ها (امضای پایدار  $\downarrow$  miR-34a،  $\uparrow$  miR-122،  $\downarrow$  MALAT1/HOTAIR،  $\downarrow$  circRNA\_002581،  $\uparrow$  circScd1) شبکه‌های ceRNA را به سوی AMPK، SIRT1/PGC-1 $\alpha$  و PPAR $\alpha$  جهت می‌دهد و به مهار لیپوژنز/التهاب و تقویت اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد چرب غیر الکلی می‌انجامد. این همگرایی میان داده‌های عمومی و ادبیات، نقش ncRNA- محور را به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های کانونی اثرات فعالیت ورزشی در کبد چرب غیر الکلی تقویت می‌کند و چارچوبی عملی برای نشانگرهای زیستی فراهم می‌آورد.

قوت کار، ادغام شواهد چندمنبعی (GEO+ادبیات پیشین) و تمرکز هم‌زمان بر miRNA/lncRNA/circRNA است که درک جامعی از شبکه‌های تنظیمی ارائه می‌دهد. با این حال، محدودیت‌هایی مانند حفاظت گونه‌ای محدود lncRNA/circRNA، ناهمگنی طراحی‌های مطالعات موجود، و تکیه بخشی از ارتباطات ceRNA بر پیش‌بینی (نه آزمون عملکردی) باقی است که می‌تواند تفسیر را چالش‌برانگیز کند. برای رفع این شکاف‌ها، مسیرهای آینده به‌طور هدف‌مند پیشنهاد می‌شود: (۱) برای مشکل حفاظت گونه‌ای، مطالعات انسانی طولی با small RNA-Seq و پروفایل EV-ncRNA (سرم/پلاسما) جهت شناسایی امضاهای قابل انتقال انسان-حیوان (۲) برای گذار از هم‌بستگی به علیت، اعتبارسنجی عملکردی کاندیداها با CRISPRi/ASO و گزارشگرهای لوسیفراز CLIP-seq/روی یال‌های کلیدی ceRNA (۳) برای ناهمگنی و استانداردسازی، کارآزمایی‌های چندمرکزی با شدت

فعالیت ورزشی تعریف شده (نوع/شدت/مدت/تکرار) و نمونه‌گیری زمانی جهت ترسیم دینامیک ncrRNA (۴) برای دقت ایزوفرم و circRNA، به‌کارگیری long-read/isoform-aware RNA-Seq و آشکارسازی back-splice با عمق کافی (۵) برای اختصاصیت بافتی، single-cell/spatial transcriptomics (هیپاتوسیت/کوپفر/سلول ستاره‌ای کبدی/صفرا) و مدل‌سازی تعاملی بافت‌های درگیر در فعالیت ورزشی (عضله-کبد-بافت چربی-روده). بدین ترتیب، نقشه شبکه‌ای حاصل می‌تواند بستر نشانگرهای زیستی پاسخ به فعالیت ورزشی و طراحی مداخلات-RNA محور، مقلد ورزش را فراهم کند تا مسیرهای AMPK/SIRT1/PPAR $\alpha$  به صورت هدفمند فعال شوند و در نهایت نتایج متابولیک-التهابی بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی به طور معنی‌دار بهبود یابد.

## ۸. نتیجه‌گیری

این مرور ترکیبی با بازتحلیل داده‌های عمومی و مرور نظام‌مند مطالعات پیشین نشان داد که RNAهای غیرکدکننده (miRNA، lncRNA، circRNA) شبکه‌ای پیچیده در پاتوژنز کبد چرب غیرالکلی تشکیل می‌دهند و متابولیسم لیپید، مقاومت به انسولین و التهاب را از طریق محورهای ceRNA تنظیم می‌کنند. فعالیت ورزشی منظم این شبکه‌ها را بازآرایی کرده و با کاهش ncrRNAهای بیماری‌زا (miR-34a $\downarrow$ ، MALAT1/HOTAIR $\downarrow$ ) [۹۱، ۹۲] و افزایش ncrRNAهای محافظ (miR-122 $\uparrow$ )، AMPK، SIRT1/PGC-1 $\alpha$  و PPAR $\alpha$  را فعال می‌کند [۹۴]، که لیپوژنز و التهاب را مهار و استئاتوز را بهبود می‌دهد. این الگوها با مطالعات اخیر همخوان است، اما شدت کمتر اثر miR-122 در مدل‌های انسانی نسبت به حیوانی، نیاز به بررسی حفاظت گونه‌ای را نشان می‌دهد [۹۵]. با این حال، حفاظت گونه‌ای محدود ncrRNAها، ناهمگنی شدت فعالیت ورزشی، و اتکای برخی یال‌های ceRNA به پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیکی، تعمیم‌پذیری را چالش‌برانگیز می‌کند [۹۶-۹۸]. اهمیت بالینی این یافته‌ها در دو خروجی قابل ترجمه است: بیومارکرهای غیرتهاجمی پاسخ به فعالیت ورزشی (مانند miR-122، miR-34a) برای تشخیص زودهنگام، مداخلات-RNA محور مقلد ورزش (مانند مهارکننده‌های miR-122 یا آنتی‌سنس‌های MALAT1). برای پیشبرد، مطالعات طولی انسانی با small RNA-Seq، اعتبارسنجی با CRISPRi/ASO، و کارآزمایی‌های چندمرکزی با شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی پیشنهاد می‌شود. این نقشه شبکه‌ای، ncrRNAها را مسیری برای تشخیص و درمان بیماری کبد چرب غیرالکلی قرار می‌دهد و دروازه‌ای به سوی پزشکی فردمحور برای میلیون‌ها بیمار می‌گشاید.

## تشکر و قدردانی

از نشریه فیزیولوژی ورزشی و فعالیت بدنی که فرصت ارائه این مطالب را در اختیار ما قرار دادند، صمیمانه سپاسگزاریم.

- 1 Younossi, Z.M., et al., The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among patients with type 2 diabetes. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2024. 22(10): p. 1999-2010. e8.
- 2 Spremović Rađenović ,S., et al., Prevalence, risk factors, and pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Biomedicines*, 2022. 10(1): p. 131.
- 3 Semmler, G., et al., Diet and exercise in NAFLD/NASH: beyond the obvious. *Liver International*, 2021. 41(10): p. 2249-2268.
- 4 Zhang, C.-K., Z.-Z. Wang, and F.-H. Li, Long-term aerobic exercise enhances liver health: miRNA regulation and oxidative stress alleviation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020. 529: p. 151677.
- 5 Zou, Y., et al., Transcriptomic profiling of long non-coding RNAs and messenger RNAs in the liver of mice during *Toxoplasma gondii* infection. *Parasites & vectors*, 2024. 17(1): p. 20.
- 6 Abubakar, M., et al., Non-coding RNA-mediated gene regulation in cardiovascular disorders: current insights and future directions. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 2024. 17(4): p. 739-767.
- 7 Shin, J.-J., et al., Roles of lncRNAs in NF- $\kappa$ B-Mediated macrophage inflammation and their implications in the pathogenesis of human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024. 25(5): p. 2670.
- 8 Li, C., et al., Regulatory mechanisms of long non-coding RNAs on mitochondrial function in congestive heart failure. *Non-coding RNA Research*, 2024. 9(1): p. 178-184.
- 9 Wu, B., et al., Aerobic exercise promotes the expression of ATGL and attenuates inflammation to improve hepatic steatosis via lncRNA SRA. *Scientific Reports*, 2022. 12(1): p. 5370.
- 10 Varabyou, A., S.L. Salzberg, and M. Pertea, Effects of transcriptional noise on estimates of gene and transcript expression in RNA sequencing experiments. *Genome research*, 2021. 31(2): p. 301-308.
- 11 Klapproth, C., et al., Common features in lncRNA annotation and classification: a survey. *Non-coding RNA*, 2021. 7(4): p. 77.
- 12 Mattick, J.S., et al., Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2023. 24(6): p. 430-447.
- 13 Statello, L., et al., Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2021. 22(2): p. 96-118.
- 14 Studniarek, C., S. Egloff, and S. Murphy, Noncoding RNAs set the stage for RNA polymerase II transcription. *Trends in Genetics*, 2021. 37(3): p. 271-279.
- 15 Pisignano, G. and M. Lodomery, Post-transcriptional regulation through long non-coding rnas (lncrnas). 2021, MDPI. p. 29.
- 16 Grammatikakis, I. and A. Lal, Significance of lncRNA abundance to function. *Mammalian Genome*, 2022. 33(2): p. 271-281.
- 17 Zhang, S., et al., Screening of bovine tissue-specific expressed genes and identification of genetic variation within an adipose tissue-specific lncRNA gene. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022. 9: p. 887520.
- 18 Camilleri-Robles, C., et al., Genomic and functional conservation of lncRNAs: lessons from flies. *Mammalian Genome*, 2022. 33(2): p. 328-342.
- 19 Brandt, A. and F. Kopp, Long Noncoding RNAs in Diet-Induced Metabolic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024. 25(11): p. 5747.
- 20 Ji, M., et al., Naringenin prevents oxidative stress and inflammation in LPS-induced liver injury through the regulation of lncRNA-mRNA in male mice. *Molecules*, 2022. 28(1): p. 198.
- 21 Zhu, S.-F., et al., Research progress of lncRNA and miRNA in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 2023. 22(1): p. 45-53.
- 22 Zou, D., et al., LncRNA MEG3 up-regulates SIRT6 by ubiquitinating EZH2 and alleviates nonalcoholic fatty liver disease. *Cell Death Discovery*, 2022. 8(1): p. 103.
- 23 Moradzad, M., et al., TMAO promotes metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) development through long-non coding RNA-highly upregulated liver cancer (HULC). *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 2025. 24 : (1) p. 1-11.
- 24 Shi, N., et al., The impact and role of identified long noncoding RNAs in nonalcoholic fatty liver disease: A narrative review. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2023. 37(11-12): p. e24943.
- 25 Mukherjee, A.G., et al., Exploring the regulatory role of ncRNA in NAFLD: a particular focus on PPARs. *Cells*, 2022. 11(24): p. 3959.
- 26 Fei, Q., et al., The Impact of Aerobic and Anaerobic Exercise Interventions on the Management and Outcomes of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Physiological Research*, 2024. 73(5): p. 671.

- .27 Zhang, Y., et al., Long-Term Aerobic Exercise Enhances Hepatoprotection in MAFLD by Modulating Exosomal miR-324 via ROCK1. *Metabolites*, 2024. 14(12): p. 692.
- .28 Hu, J., X. Miao, and L.-H. Yu, Long Non-Coding RNAs in Diabetic Cardiomyopathy: Potential Function as Biomarkers and Therapeutic Targets of Exercise Training. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 2025: p. 1-17.
- .29 Pino-de la Fuente, F., et al., Exercise regulation of hepatic lipid droplet metabolism. *Life Sciences*, 2022. 298: p. 120522.
- .30 Shen, Z., et al., Prediction of Back-splicing sites for CircRNA formation based on convolutional neural networks. *BMC genomics*, 2022. 23(1): p. 581.
- .31 Wang, P., et al., The function and regulation network mechanism of circRNA in liver diseases. *Cancer Cell International*, 2022. 22(1): p. 141.
- .32 Yang, L., J.E. Wilusz, and L.-L. Chen, Biogenesis and regulatory roles of circular RNAs. *Annual review of cell and developmental biology*, 2022. 38(1): p. 263-289.
- .33 Chodurska, B. and T. Kunej, Long Non-Coding RNAs in Humans: Classification, Genomic Organization and Function. *Non-coding RNA Research*, 2025.
- .34 Ma, B., et al., Mechanisms of circRNA/lncRNA-miRNA interactions and applications in disease and drug research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023. 162: p. 114672.
- .35 Zheng, S., et al., CircRNA—protein interactions in muscle development and diseases. *International journal of molecular sciences*, 2021. 22(6): p. 3262.
- .36 Zheng, M., et al., Expression profile and N6-methyladenosine modification of circular RNA analysis in MAFLD. *BMC gastroenterology*, 2025. 25(1): p. 162.
- .37 Yepmo, M., et al., Discussing the role of circular RNA in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease and its complications. *Frontiers in Endocrinology*, 2022. 13: p. 1035159.
- .38 Li, L.-P., et al., Oxidative stress-induced circSOD2 inhibits osteogenesis through sponging miR-29b in metabolic-associated fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2025. 31(9): p. 98027.
- .39 Qian, G. and N. Morral, Role of non-coding RNAs on liver metabolism and NAFLD pathogenesis. *Human molecular genetics*, 2022. 31(R1): p. R4-R21.
- .40 Cao, J., et al., Identification of mitochondrial function and programmed cell death associated key biomarkers and the circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in systemic lupus erythematosus. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2025. 12: p. 1586294.
- .41 Wang, Y., et al., A read-through circular RNA RCRIN inhibits metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease. *Journal of Hepatology*, 2025. 82(6): p. 1068-1079.
- .42 Zeng, Q., et al., Circular RNAs in non-alcoholic fatty liver disease: Functions and clinical significance. *RNA biology*, 2024. 21(1): p. 65-79.
- .43 Shao, J., et al., Interference of a mammalian circRNA regulates lipid metabolism reprogramming by targeting miR-24-3p/Igf2/PI3K-AKT-mTOR and Igf2bp2/Ucp1 axis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2023. 80(9): p. 252.
- .44 Wang, L., et al., Exercise-induced circular RNA circUtrn is required for cardiac physiological hypertrophy and prevents myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovascular research*, 2023. 119(16): p. 2638-2652.
- .45 Zaiou, M., Noncoding RNAs as additional mediators of epigenetic regulation in nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*, 2022. 28(35): p. 5111.
- .46 Yu, G., et al., Circular RNAs: Rising stars in lipid metabolism and lipid disorders. *Journal of cellular physiology*, 2021. 236(7): p. 4797-4806.
- .47 Zhong, G., Y. Lin, and Z. Huang, Identification of a novel circRNA-miRNA-mRNA regulatory axis in hepatocellular carcinoma based on bioinformatics analysis. *Scientific reports*, 2023. 13(1): p. 3728.
- .48 Chen, L.-L. and V.N. Kim, Small and long non-coding RNAs: Past, present, and future. *Cell*, 2024 : (23) 1-17 . p. 6451-6485.
- .49 Joshi, M., et al., Small RNAs, spermatogenesis, and male infertility: a decade of retrospect. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2023. 21(1): p. 106.
- .50 Iwakawa, H.-o. and Y. Tomari, Life of RISC: Formation, action, and degradation of RNA-induced silencing complex. *Molecular cell*, 2022. 82(1): p. 30-43.
- .51 Kim, H., Y.-Y. Lee, and V.N. Kim, The biogenesis and regulation of animal microRNAs. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2025. 26(4): p. 276-296.
- .52 Zheng, H., et al., A computational modeling of pri-miRNA expression. *Plos one*, 2024. 19(1): p. e0290768.

- .٥٣ Khadgi, B. and Y. Nam, Effects of METTL3-METTL14 on primary microRNA processing by Drosha-DGCR8. *bioRxiv*, 2024: p. 2024.10. 15.618347.
- .٥٤ Li, H., et al., Prognostic significance of exportin-5 in hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2024. 16(7): p. 3069.
- .٥٥ Goel, H. and A. Goel, MicroRNA and Rare Human Diseases. *Genes*, 2024. 15(10): p. 1243.
- .٥٦ Liu, F., et al., Long non-coding RNA SNHG6 couples cholesterol sensing with mTORC1 activation in hepatocellular carcinoma. *Nature metabolism*, 2022. 4(8): p. 1022-1040.
- .٥٧ Zhu, Y., et al., Therapeutic effects of microRNAs on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*, 2023. 24(11): p. 9168.
- .٥٨ Tobaruela-Resola, A.L., et al., Circulating miR-122-5p, miR-151a-3p, miR-126-5p and miR-21-5p as potential predictive biomarkers for Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease assessment. *Journal of physiology and biochemistry*, 2024: p. 1-14.
- .٥٩ Shan, W., et al., Activation of the SIRT1/p66shc antiapoptosis pathway via carnosis acid-induced inhibition of miR-34a protects rats against nonalcoholic fatty liver disease. *Cell death & disease*, 2015. 6(7): p. e1833-e1833.
- .٦٠ Latief, U., et al., Micro RNAs as emerging therapeutic targets in liver diseases. *Current Protein and Peptide Science*, 2022. 23(6): p. 369-383.
- .٦١ Guo, X., et al., MiRNA-122 contributes to the effect of exercise on non-alcoholic fatty liver. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2024. 28(2): p. 272.
- .٦٢ Delfan, M., et al., High-intensity interval training improves cardiac function by miR-206 dependent HSP60 induction in diabetic rats. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2022. 9: p. 927956.
- .٦٣ Dos Santos, J.A.C., et al., Physical exercise and the functions of microRNAs. *Life sciences*, 2022. 304: p. 120723.
- .٦٤ Panico, A., et al., The influence of lifestyle factors on miRNA expression and signal pathways: a review. *Epigenomics*, 2021. 13(2): p. 145-164.
- .٦٥ Elazazy, O., et al., Long non-coding RNAs and rheumatoid arthritis: pathogenesis and clinical implications. *Pathology-Research and Practice*, 2023. 246: p. 154512.
- .٦٦ Tang, Z., et al., The role of competing endogenous RNA network in the development of hepatocellular carcinoma: potential therapeutic targets. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2024. 12: p. 1341999.
- .٦٧ Zeng ,Q., et al., LncRNA and circRNA in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Biomolecules*, 2023. 13(3): p. 560.
- .٦٨ Yonis, N., et al., Cracking the code: lncRNA-miRNA-mRNA integrated network analysis unveiling lncRNAs as promising non-invasive NAFLD biomarkers toward precision diagnosis. *Computational Biology and Chemistry*, 2025. 115: p. 108325.
- .٦٩ Zaiou, M., Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  as a target and regulator of epigenetic mechanisms in nonalcoholic fatty liver disease. *Cells*, 2023. 12(8): p. 1205.
- .٧٠ Shabgah, A.G., et al., A comprehensive review of long non-coding RNAs in the pathogenesis and development of non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition & Metabolism*, 2021. 18(1): p. 22.
- .٧١ Zeng, X., et al., Circular RNA as an epigenetic regulator in chronic liver diseases. *Cells*, 2021. 10(8): p. 1945.
- .٧٢ Wang, S., J. Li, and Y. Zhao, Construction and analysis of a network of exercise-induced mitochondria-related non-coding RNA in the regulation of diabetic cardiomyopathy. *Plos one*, 2024. 19(3): p. e0297848.
- .٧٣ Zhao, W., et al., Exercise improves endothelial function via the lncRNA MALAT1/miR-320a axis in obese children and adolescents. *Cardiology Research and Practice*, 2021. 2021(1): p. 8840698.
- .٧٤ Ramezani, M., et al., A crosstalk between epigenetic modulations and non-alcoholic fatty liver disease progression. *Pathology-Research and Practice*, 2023. 251: p. 154809.
- .٧٥ Yoshitomi, R., et al., Regulatory effect of epigallocatechin-3-O-gallate on circular RNA expression in mouse liver. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2024. 124: p. 109506.
- .٧٦ Wu, L.-F., et al., Circular RNA RRM2 alleviates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease by targeting miR-142-5p to increase NRG1 expression. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2024. 327(4): p. G485-G498.
- .٧٧ Yang, Y.-b., et al., Identification of a Novel Ferroptosis-Related Gene Prediction Model for Clinical Prognosis and Immunotherapy of Colorectal Cancer. *Disease Markers*, 2021. 2021(1): p. 4846683.
- .٧٨ Hochreuter, M.Y., et al., MicroRNAs in non-alcoholic fatty liver disease: Progress and perspectives. *Molecular metabolism*, 2022. 65: p. 101581.

- .٧٩ Tang, S., Y. Geng, and Q. Lin, The role of mitophagy in metabolic diseases and its exercise intervention. *Frontiers in Physiology*, 2024. 15: p. 1339128.
- .٨٠ Ferro, A., et al., Extracellular vesicles as delivery vehicles for non-coding RNAs: potential biomarkers for chronic liver diseases. *Biomolecules*, 2024. 14 : (٧) p. 277.
- .٨١ Tang, Q. and A. Khvorova, RNAi-based drug design: considerations and future directions. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2024. 23(5): p. 341-364.
- .٨٢ Cao, X., et al., ncRNADrug: a database for validated and predicted ncRNAs associated with drug resistance and targeted by drugs. *Nucleic Acids Research*, 2024. 52(D1): p. D1393-D1399.
- .٨٣ Suksangrat, T., P. Phannasil, and S. Jitrapakdee, miRNA regulation of glucose and lipid metabolism in relation to diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Reviews on biomarker studies of metabolic and metabolism-related disorders*, 2019: p. 129-148.
- .٨٤ Atic, A.I., et al., Circulating miRNAs associated with nonalcoholic fatty liver disease. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2023. 324(2): p. C588-C602.
- .٨٥ Aghaei, S.M. and S.M. Hosseini, Inflammation-related miRNAs in obesity, CVD, and NAFLD. *Cytokine*, 2024. 182: p. 156724.
- .٨٦ Anwar, A.A., N. Jalan-Sakrikar, and R.C. Huebert. LncRNAs, RNA Therapeutics, and Emerging Technologies in Liver Pathobiology. in *Seminars in liver disease*. 2024. Thieme Medical Publishers, Inc.
- .٨٧ Wade, H., et al., Mechanistic role of long non-coding RNAs in the pathogenesis of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease and fibrosis. *eGastroenterology*, 2024. 2 (٤) . ١٢٤
- .٨٨ Xie, Y., et al., Profile analysis and functional modeling identify circular RNAs in nonalcoholic fatty liver disease as regulators of hepatic lipid metabolism. *Frontiers in Genetics*, 2022. 13: p. 884037.
- .٨٩ Zhang, J., et al., The effects of exercise on epigenetic modifications: focus on DNA methylation, histone modifications and non-coding RNAs. *Human Cell*, 2024. 37(4): p. 887-903.
- .٩٠ Qin, F., et al., The effects of exercise on microRNA expression profiling in adipose tissue macrophages of mice. *Frontiers in Immunology*, 2024. 15: p. 1412621.
- .٩١ Soltanieh, S.K., et al., Long Non-Coding RNAs in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease; Friends or Foes? *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2025. 83(1): p. 279-294.
- .٩٢ Ma, X., et al., Physical exercise: a promising treatment against organ fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025. 26(1): p. 343.
- .٩٣ Lou, J., et al., Exercise promotes angiogenesis by enhancing endothelial cell fatty acid utilization via liver-derived extracellular vesicle miR-122-5p. *Journal of Sport and Health Science*, 2022. 11(4): p. 495-508.
- .٩٤ Wu, B., et al., Aerobic exercise improves hepatic steatosis by modulating miR-34a-mediated PPAR $\alpha$ /SIRT1-AMPK signaling pathway. 2023.
- .٩٥ Marroncini, G., et al., Gut–liver–pancreas axis crosstalk in health and disease: from the role of microbial metabolites to innovative microbiota manipulating strategies. *Biomedicines*, 2024. 12(7): p. 1398.
- .٩٦ Jiang, C., et al., Comparative transcriptomics analyses in livers of mice, humans, and humanized mice define human-specific gene networks. *Cells*, 2020. 9(12): p. 2566.
- .٩٧ Huppertz, I. and A.C. Mullen, Function Over Form: Defining Evolutionarily Conserved Long Noncoding RNAs Regulating Hepatic Metabolism. *Gastroenterology*, 2025.
- .٩٨ Zhang, Y., et al., Protective effect of exercise on metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: Potential epigenetic mechanisms. *International Journal of Molecular Medicine*, 2025. 56(4): p. 146.