

تاثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن Pur β بطن چپ رت های نر نژاد ویستارمحمد فتحی^{*}، سعید آبرون^۲

(۱) گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

(۲) گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۰

چکیده

مقدمه: فعالیت استقامتی تاثیر قابل ملاحظه ای بر تجدید ساختار قلب از جمله پروتئین MHC دارد از طرف دیگر Pur β واسطه سرکوب بیان ژن β MHC است که موجب کاهش بیان آن می شود، هدف این پژوهش بررسی تاثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن Pur β در قلب رت های نر تمرین کرده نژاد ویستار بود.

مواد و روش ها: بدین منظور ۱۴ رت تحت شرایط کنترل شده (دما، چرخه روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و بعد از آشناسازی با پروتکل تمرینی به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه استقامتی (۱۴ هفته‌ای، ۳۰ متر در دقیقه، ۶ روز در هفته) را روی تردمیل اجرا کرد و سپس ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی بی هوش و تشریح شدند، سپس قلب و در ادامه بطن چپ آن ها خارج و با استفاده از روش Real time-PCR میزان بیان Pur β بطن چپ آن ها اندازه گیری شد. در پایان با استفاده از آزمون آماری t اطلاعات به دست آمده ارزیابی شد.

یافته های پژوهش: نتایج این تحقیق نشان داد فعالیت های استقامتی ضمن تغییر در شاخص های m-mod و هم چنین توزین قلب که افزایش معنی داری ابعاد داخلی قلب و هم چنین وزن آن را به خصوص در بطن چپ به همراه داشت با کاهش معنی دار بیان ژن Pur β در بافت بطن چپ رت های تمرین کرده همراه بود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به تاثیر متفاوت فعالیت های استقامتی بر اندازه توده قلب و بیان ژن Pur β و هم چنین نقش Pur β در بیان ایزوفرم MHC نوع آلفا، به نظر می رسد که تغییرات توده قلب در اثر فعالیت استقامتی با بیان ایزوفرم MHC نوع آلفا، در ارتباط باشد.

واژه های کلیدی: ژن Pur بتا، استقامت بدنی، قلب، بطن چپ

* نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

مقدمه

فعالیت های استقامتی موجب کاهش عوامل خطرزای قلبی-کرونی می شود (۱) و در سازگاری به فشارهای گوناگون، عضله آن دستخوش تغییرات ساختاری و عملکردی زیادی می شود. فعالیت های بدنی و ورزشی تاثیر قابل ملاحظه ای بر تجدید ساختار قلب و برنامه ژنی آن دارند (۲،۳). سازگاری قلب نسبت به فعالیت های استقامتی و قدرتی متناسب با نوع باری (بار فشاری یا حجمی) است که بر قلب تحمیل می شود، بنا بر این تجدید ساختار قلب در پاسخ به این فعالیت ها متفاوت است (۴). به عنوان مثال دیواره بین بطنی، دیواره بطن چپ و توده بطن چپ در دونده های استقامتی نسبت به دونده های سرعتی و افراد بی تحرک بیشتر است و قطر نسبی بطن چپ در دونده های استقامتی نسبت به دونده های سرعتی بالاتر است (۵). تغییرات ساختاری در بطن چپ در ورزشکاران رقابتی نشان می دهد که یک سازگاری به اضافه بار همودینامیکی به وسیله تمرین القاء می شود و این نوع سازگاری با نوع ورزش و فعالیت های بدنی متناسب است ضمن این که در ورزشکاران استقامتی ظرفیت کاری در زمان ورزش به وسیله افزایش پیش بار به طور مثبت تحت تاثیر قرار می گیرد، در حالی که در ورزشکاران قدرتی افزایش پس بار ناشی از تمرینات ایزومتریک موجب مقاومت سیستولیک بالاتر می شود و نقش تعیین کننده ای دارد (۶).

طبیعی است که همراه با تغییرات ساختاری تغییرات بافتی نیز رخ دهد، مسیرهای سیگنالینگ متعددی در قلب موجب تجدید ساختار بافت آن می شود (۷). محرک های فیزیولوژی و پاتولوژیکی وسیعی بر پروتئین های حرکتی MHC قلب اثر می گذارند. بیان پروتئین های حرکتی تند (α MHC) در قلب موجب افزایش تولید نیروی بیشتری نسبت به پروتئین های حرکتی کندتر (β MHC) می شود و در نتیجه میزان انقباض پذیری و توان قلب افزایش می یابد (۵). در قلب سالم مقدار بیشتری از mRNA نوع α MHC بیان می شود و در مراحل پایانی نارسایی قلبی بیان mRNA نوع α MHC (در بطن چپ) تا ۱۵ برابر کاهش می یابد (۵) و هم چنین این تغییرات در سطح پروتئین

MHC نیز رخ می دهد. در افراد سالم میزان بیان پروتئین α MHC حدود ۷ درصد از کل پروتئین های MHC را تشکیل می دهد در صورتی که در افرادی که به نارسایی قلبی دچار بودند این پروتئین قابل ردیابی نیست (۸) هایپرتروفی ناشی از ورزش با تجمع کلاژن قلبی همراه نیست (۹). در هایپرتروفی ناشی از ورزش، بیان گیرنده های هورمون تیروئید، α MHC و β MHC با آن چه که در هایپرتروفی ناشی از افزایش فشارخون رخ می دهد متفاوت است (۱۰).

Purine-rich element-binding protein B (Pur β) واسطه سرکوب بیان ژن β MHC است که موجب کاهش بیان آن می شود و در حقیقت تعامل بین Pur β ، Pura α ، Sp3، تعیین کننده های مهمی برای تغییر در بیان نوع تارها در پاسخ به بی وزنی هستند (۱۱). در تجدید ساختار سلولی، فعالیت اتصال به DNA پروتئین های Pur β و میزان پروتئین آن ها در پاسخ به شرایط بی وزنی افزایش می یابد، اما در پاسخ به اضافه بار مکانیکی کاهش می یابد. سطوح Pur β در زمان نارسایی قلبی افزایش می یابد و در تنظیم رونویسی α MHC مشارکت می کند (۱۱). با توجه به نقش فعالیت های استقامتی بر نوع MHC قلب و هم چنین تاثیر Pur β بر این پروتئین، هدف این پژوهش بررسی تاثیر فعالیت استقامتی بلند مدت بر بیان ژن Pur β بطن چپ است.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی را بر بیان ژن Pur β عضله قلب را به روش تجربی ارزیابی کرد. بدین منظور ۲۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (20 ± 113 گرم) از انستیتو پاستور تهیه شد. برای همه آن ها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما 22 ± 3 درجه سانتی گراد) به صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در این مدت رت ها در ۴ قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن رت ها عبارت بود از 231 ± 24 گرم. سپس یک دوره آشناسازی (۱۰ روزه-۵ جلسه) با تمرینات استقامتی (دویدن روی تردمیل) آغاز

روز اعمال می‌شد.

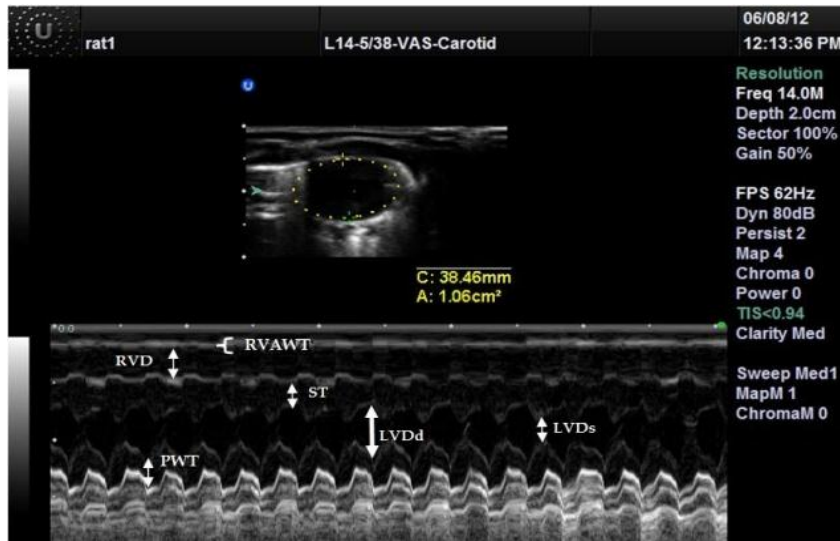
در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی رت‌ها با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به طوری که به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، قلب آن‌ها تحت شرایط استریل خارج شد و بطن چپ آن‌ها توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت مورد نظر (بطن چپ) بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت، رت و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموزن بافت‌ها، همه آن‌ها در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموزن و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

برای اطمینان از تاثیر فعالیت‌های استقامتی بر بافت قلب، از روش m-mode (شکل شماره ۱) و توزین تغییرات آن ارزیابی شد. مشخص شد بیشتر فاکتورهای که شاخص‌های پیرتروفی قلب هستند، افزایش داشتند. هم‌چنین سایر شاخص‌های توزین قلب نیز حاکی از هایپرتروفی قلب بود (۱۴) علاوه بر این، پژوهش‌های متعددی برای ارزیابی میزان هایپرتروفی قلب، از ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن کل قلب، وزن بدن (۱۵) و سطح رویه بدن استفاده کرده‌اند (۱۶). بنا بر این برای تایید میزان هایپرتروفی، در این پژوهش از دو شاخص برای نسبی‌کردن وزن بطن چپ (نرمالایز) استفاده شده است. برای این کار، در حالت بی‌هوشی، وزن و طول بدن حیوان (از دهان تا ابتدای دم) برای محاسبه Body Surface Area (BSA) اندازه‌گیری شد (۱۷). سپس متخصص تشریح، قلب حیوان را خارج و بطن چپ آن را جدا کرد که هر دوی آن‌ها (قلب و بطن) به طور جداگانه با دقتی تا ۴ رقم اعشار با ترازوی دیجیتال (A&D) ساخت کشور ژاپن وزن شدند. BSA آن‌ها با استفاده از فرمول زیر برآورد شد. برای محاسبات مورد نظر از برنامه Excel استفاده شد.

$$\text{طول بدن (سانتی‌متر)} = L = \text{وزن بدن (گرم)} = W = (0.34 / \sqrt[3]{W/L}) \times 6.67 \times BSA$$

شد. در پایان جلسات آشناسازی، رت‌ها به صورت تصادفی به ۲ گروه (۱۰ سر به عنوان گروه شاهد و ۱۰ سر دیگر به عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. از رت‌های گروه تمرینی ۳ سر نتوانست پروتکل را به پایان برسانند. از آن جایی که در روش Real Time-PCR (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشند، با حذف سه سر از رت‌های گروه کنترل (به طور تصادفی) تعداد نهایی آن‌ها به ۱۴ سر (۷ سر شاهد و ۷ سر تجربی) کاهش یافت.

پروتکل تمرینی: با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل تمرین استقامتی برای رت‌ها طراحی شد (۱۳، ۱۲) به طوری که منجر به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از فعالیت استقامتی شود. پروتکل (۱۴) هفته، هفته‌ای ۶ روز) گروه تجربی عبارت بود از: دویدن روی تردمیل که سرعت و شیب و زمان آن قابل برنامه‌ریزی بود و در انتهای آن یک شوکر برای جلوگیری از توقف رت‌ها تعبیه شده بود، هر جلسه با یک بخش ۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای گرم‌کردن شروع می‌شد. در جلسه اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود. به طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش یافت؛ بدین صورت (در هفته ۱-۳ هر روز ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد) به طوری که در پایان روز ۲۳ مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید که با احتساب ۵ دقیقه گرم‌کردن و ۵ دقیقه سرد کردن، مدت زمان کلی ۶۰ دقیقه شد. شدت تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه شروع شد. سپس هر هفته ۲ متر بر دقیقه به سرعت اضافه به طوری که در پایان هفته ششم سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. در نهایت در طی هفته‌های ۷ تا ۱۰ به تدریج ۵ درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) نیز اضافه شد. این پروتکل [۶۰ دقیقه دویدن (شامل ۵ دقیقه گرم‌کردن با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، ۵۰ دقیقه دویدن با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، با شیب ۵ درجه به عنوان بخش اصلی پروتکل و در نهایت ۵ دقیقه دویدن با سرعت ۹ متر در دقیقه به عنوان بخش سردکردن)] تا پایان هفته ۱۴ حفظ شد. پروتکل بین ساعات ۵ تا ۷ بعد از ظهر هر



شکل شماره ۱. تصویری از m-mode قلب رت و شاخص های آن ناشی از ۱۴ هفته تمرین استقامتی (۱۴)

استخراج RNA از بافت: برای استخراج RNA از بافت های هموژن شده، به ۱۰۰ میلی گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی لیتر تریازول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژ کردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد، سپس ۰/۲ میلی لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از پیپتاژ (۱۵ ثانیه) حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در ادامه میکروتیوب ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (شرکت eppendorff) شدند سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد (از این مرحله به بعد با سرسمپلر فیلتردار کار شد) سپس ۰/۵ میلی لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملایم در دمای ۲۰- باقی ماندند (overnight). روز بعد میکروتیوب ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفید رنگ در ته اکثر میکروتیوب ها قابل مشاهده بود. با سمپلر (شرکت eppendorff) مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با ۷۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع

روش اکوکاردیوگرافی: از آن جایی که حرکت بر مقادیر اولتراسوند اثر می گذارد، موش ها با میزان کمی از کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) (۱۸) بی هوش شدند و در وضعیت خوابیده به پشت قرار داده شدند. ژل اولتراسوند روی قفسه سینه آن ها که از قبل آماده شده بود (حذف موها) مالیده شد. اولتراسوند بر پایه روشی اجرا شد که انجمن اکوکاردیوگرافی آمریکا به عنوان راهنما برای ارزیابی قلب ارائه داده بود (۱۹). شاخص ها با استفاده از دستگاه اولتراسوند با اسم تجاری اولتراسونیک (ساخت کشور کانادا) انجام شد. تصاویر با کیفیت ۱۴ مگاهرتز (فرکانس) و عمق ۲/۵ سانتی متر به دست آمد. عمل اکوکاردیوگرافی تا جایی که پروب دستگاه روی قفسه سینه بتواند یک m-mode با کیفیت مناسب اسکن کند ادامه می یافت. مجوز این پژوهش توسط کمیته اخلاق دفتر حمایت از طرح های پژوهشی دفتر ریاست جمهور صادر شد (شماره طرح ۹۰۰۷۰۱۴). در زمان ارائه برنامه تمرینی، موش هایی که نمی توانستند دوره تمرینی را ادامه دهند کنار گذاشته شدند. در هنگام کشتن آن ها، مقدار مناسبی از کتامین و زایلازین تزریق شد، به طوری که کاملاً بی هوش شدند و به تحریک ها پاسخ ندادند و سپس تشریح شدند.

(Purβ)(Housekeeping)(gapdh) و ژن هدف (Purβ) بررسی شده، که این کار صورت گرفت، میزان کارایی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی ۱ بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time-PCR و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم استفاده شد. سایر گرین مسترمیکس استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی ترکیبی از مسترمیکس (۵ لاند) پرایمر (۱ لاند)، cDNA (۱ لاند) و آب مقطر (۳ لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run (۴۰ سیکل) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (gapdh)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و Purβ هم زمان (در یک Run) ارزیابی شد. نمونه ها به صورت دوتایی (Duplicate) ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه میانگین آن ها محاسبه شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ میزان بیان ژن Purβ محاسبه شد (۲۰). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره ۱ آمده است. ژن رفرنس مطابق تحقیقات انجام شده (۲۱) ژن gapdh در نظر گرفته شد.

رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی مانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاند آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چندبار به آرامی پیتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت eppendorff) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود. غیر از مرحله‌ای که نیاز بود میکروتیوب های حاوی مواد سانتریفیوژ و یا ورتکس شوند، تمام مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام می شد. در طی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می شد و به محض نیاز به تعویض، دستکش ها تعویض می شدند. کیت ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج می شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می شدند. تمام سمپلرها طبق زمان بندی های گروه کالیبره شده بودند.

سنتر *cDNA* برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Scientific Thermo با Cat # K1621 استفاده شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

ارزیابی بیان ژن: قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل تکنیک Real Time-PCR نیاز بود که میزان کارایی (Efficiency) ژن رفرنس

جدول شماره ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

name	Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_017008.4	74
	R CACGACATACTCAGCACCAG		
Purβ	F GTGAGGAAGTGGATGAGGATTG	NM_001017503.1	100
	R GGACGAGTAGGAAAGGGAAC		

سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ اعداد نهایی به دست آمد (۲۵). با انتقال این اعداد به نرم افزار SPSS vol.16، ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilks ارزیابی شد و مشخص شد

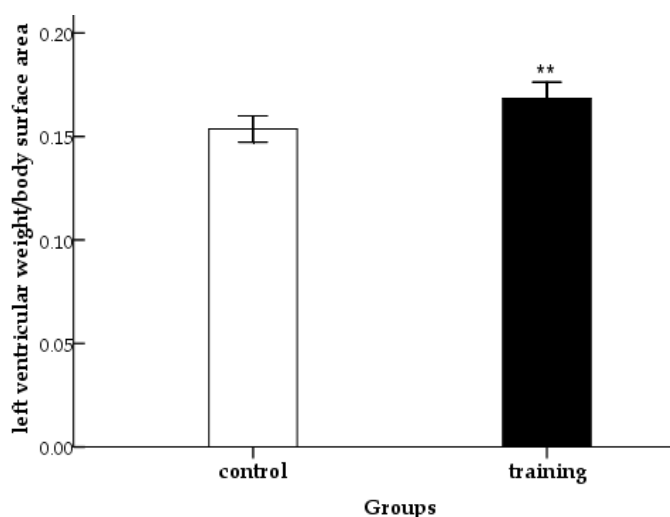
داده های به دست آمده از دستگاه Real Time-PCR که به صورت Cycle threshold (CT) (میانگین CT برای هر نمونه) بودند (۲۲-۲۴)، با استفاده از نرم افزار Excel به $\Delta\Delta Ct$ تبدیل شدند و

تجربی بیشتر از گروه کنترل است. این شاخص ها نشان می دهد که بطن چپ رت ها گروه تجربی بزرگ تر از گروه کنترل است، به این صورت که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن گروه تجربی ($2/3 \pm 0/18$) در مقایسه با گروه کنترل ($2/049 \pm 0/12$) بیشتر و در سطح $P=0.05$ معنی دار بود و نسبت وزن بطن چپ به BSA در گروه تجربی ($0/168 \pm 0/008$) در مقایسه با گروه کنترل ($0/153 \pm 0/006$) بیشتر و در سطح $P=0.01$ معنی دار بود.

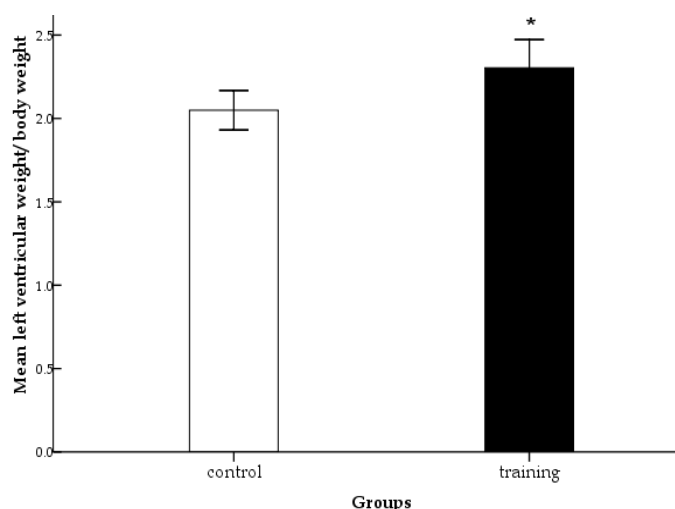
که داده ها دارای توزیع طبیعی هستند. بعد از تعیین نرمال بودن، برای تعیین اختلاف میانگین ها از آزمون t استفاده شد.

یافته های پژوهش

نتایج نشان داد، در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی هایپرتروفی در بطن چپ رخ می دهد که این هایپرتروفی توسط ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن تایید شد که نمودار آن ها در شکل شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است. شاخص های وزنی نشان داد که وزن قلب و بطن چپ جدا شده گروه



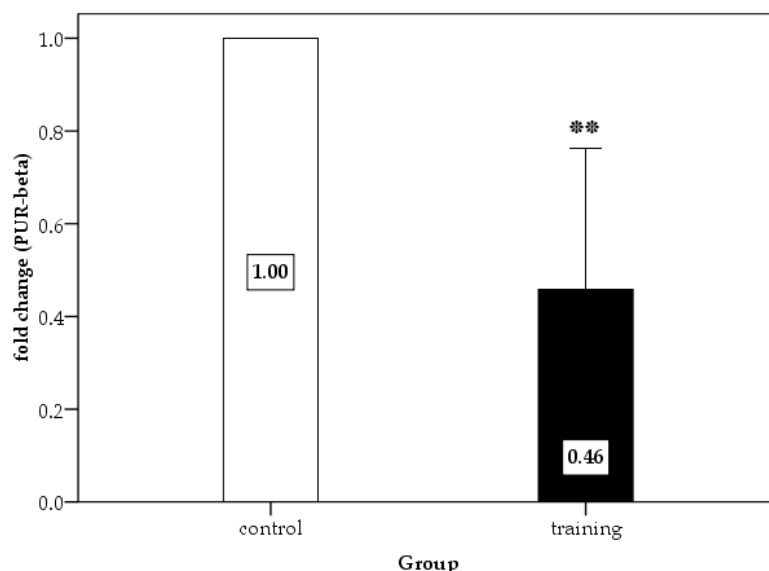
شکل شماره ۲. در ارزیابی هایپرتروفی نتایج نشان داد که نسبت وزن بطن چپ به سطح رویه بدن در رت هایی که تمرین استقامتی داشتند بالاتر بود. **معنی داری در سطح $P \leq 0.01$



شکل شماره ۳. نتایج نشان داد که میانگین نسبت های وزن بطن چپ به وزن بدن در رت هایی که تمرین استقامتی داشتند بیشتر از گروه کنترل است که تاییدی است بر هایپرتروفی ناشی از تمرین استقامتی. * معنی داری در سطح $P \leq 0.05$

کاهش می یابد که این میزان در سطح $P=0.005$ معنی دار بود (شکل شماره ۴).

هم چنین نتایج آزمون t ($t=-4/35$) نشان داد که میانگین بیان ژن $\text{pur}\beta$ قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی ۵۴ درصد



شکل شماره ۴. تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان $\text{PUR}\beta$ عضله قلب در گروه کنترل و تجربی
*** = تفاوت میانگین گروه ها (تجربی و کنترل) در سطح $P \leq 0.01$

است (۲۷). علاوه بر این فعالیت های بدنی به خصوص نوع استقامتی منجر به افزایش حجم داخلی حفره های بطن به خصوص بطن چپ می شود (۲۸) که پیامد این پذیرش خون بیشتر و افزایش حجم ضربه ای بالاتر است که مجموع این عوامل موجب کاهش تعداد ضربان قلب استراحت می شود که در حقیقت فرصتی است برای استراحت قلب. پژوهش ها نشان داده اند که مقادیر این ایزوفرم در زمان نارسایی قلبی و هایپرتروفی پاتولوژیکی کاهش می یابند به طوری که تقریباً غیرقابل ردیابی است (۸). miRs تاثیر زیادی بر فرآیندهای سلولی دارند (۲۹) به نظر می رسد دلیل احتمالی که بیان این ژن در بطن چپ در پی فعالیت های استقامتی کاهش می یابد به این صورت باشد که ناحیه غیرترجمه ای ۳ پریم mRNA ژن $\text{Pur}\beta$ دارای ۱ جایگاه اتصالی برای miR-499 است، به این معنی که این ژن توسط miR-499 مهار می شود (۳۰). به نظر می رسد فعالیت بدنی از طریق افزایش بیان miR-

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیقات در مورد اثر فعالیت های استقامتی بر ساختار قلب با تحقیقات مشابه همخوانی دارد (۲۶) هم چنین نتایج این تحقیق نشان داد که میزان بیان ژن $\text{PUR}\beta$ در اثر فعالیت استقامتی در بطن چپ به کمتر از نصف رسید (۴۶ درصد) که این کاهش در سطح $P < 0.01$ معنی دار شد. لازم به یادآوری است پژوهشی که تاثیر فعالیت های استقامتی را بر بیان ژن $\text{Pur}\beta$ اندازه گیری کرده باشد یافت نشد بنا بر این نتیجه این پژوهش با توجه به مطالعاتی تفسیر می شود که منجر به شناسایی و بررسی سایر جنبه های این ژن شده است. فعالیت بدنی با افزایش بیان ایزوفرم های αMHC در قلب همراه است و فعالیت ATPase ایزوفرم نوع α پروتئین MHC بیشتر است، به همین دلیل سرعت کوتاه شدن بالاتری دارند و تعداد بیشتر این ایزوفرم در قلب به معنی مقاومت سیستولیک کمتر و ظرفیت ذاتی بیشتر برای ایجاد جریان خون

های α MHC و کاهش ایزوفرم های β MHC همراه است (۳۴). مقایسه نتایج پژوهش McCarthy و گزارش حاضر، این موضوع را نشان می دهد که miR-499 و Pur β در تجدید ساختار سلول های عضلانی در پاسخ به دو متغیر مستقل کاملاً متضاد (آتروفی و هایپرتروفی) نقش اصلی را بازی می کنند. در این پژوهش ما میزان بیان پروتئین Pur β چیزی که در حقیقت واحد عملکردی بیان ژن می باشد و میزان آن در حقیقت تعیین کننده تأثیر نهایی فعالیت استقامتی بر بافت است را اندازه گیری نکردیم، بنا بر این پژوهشی پیشنهاد می شود که میزان بیان پروتئین این ژن را در طی یک دوره فعالیت استقامتی اندازه گیری کند. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت های استقامتی ضمن تأثیر بر اندازه توده قلب به خصوص بطن چپ موجب کاهش بیان ژن Pur β می شود که با توجه به تأثیر متفاوت فعالیت های استقامتی بر اندازه توده قلب و بیان ژن Pur β و هم چنین نقش Pur β در بیان ایزوفرم MHC نوع α ، به نظر می رسد که تغییرات توده قلب در اثر فعالیت استقامتی با بیان ایزوفرم MHC نوع α ، در ارتباط باشد.

499 موجب افزایش بیان α MHC می شود و miR-499 ژن هدف خود را (Pur β) سرکوب می کند، کاهش میزان Pur β (سرکوب کننده بیان α MHC) موجب افزایش بیان ژن α MHC می شود که فرآیندی است برخلاف آن چه که در هایپرتروفی نوع پاتولوژیکی رخ می دهد (۳۲). دیده شده که تعامل بین Pur β ، Pura و Sp3، تعیین کننده های مهمی برای تغییر در بیان نوع تارها در پاسخ به بی وزنی هستند. در تجدید ساختار سلولی، فعالیت اتصال به DNA پروتئین Pur β و میزان پروتئین آن ها در پاسخ به شرایط بی وزنی افزایش می یابد، اما در پاسخ به اضافه بار مکانیکی کاهش می یابند. سطوح Pur β در زمان نارسایی قلبی افزایش می یابد و در تنظیم رونویسی α MHC مشارکت می کند (۱۱). در تایید گزارش قبلی، گزارش McCarthy (۲۰۰۹) قابل توجه است، او مشاهده کرد که در اثر آتروفی عضلات نعلی، بیان miR-499 و miR-208b به ترتیب ۴۰ و ۶۰ درصد کاهش می یابد که این کاهش با افزایش Sox6 (۲/۲ برابر) و Pur β (۲۳ درصدی) همراه بود (۳۳) و فرآیند آتروفی عضلات با افزایش بیان ایزوفرم

References

1. Fathi M, Rahmaninia F, Moradpoorian MR, Asgari M, Rezaee R. The Relationship between Maximum Aerobic Power and Coronary Heart Disease Risk Factors. *WJSS* 2009;2: 01-6.
2. Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. *N Engl J Med* 2008; 358: 1370-80.
3. Fathi M, Gharakanlou R, Rezaei R. The Effect of 14-Week Endurance Training on Left Ventricle HDAC4 Gene Expression of Wistar Male Rat. *J Spo Bio Sci* 2014; 11: 1-15.
4. Pluim BM, Zwinderman AH, vanderlaarse A, vanderwall EE. The athletes heart a meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation* 2000; 101: 336-44.
5. Swynghedauw B. Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles. *Physiol Rev* 1986; 66: 710-71.
6. Dandrea A, Limongelli G, Caso P, Sarubbi B, Dellapietra A, Brancaccio P, et al. Association between left ventricular structure and cardiac performance during effort in two morphological forms of athletes heart. *Int J Cardiol* 2002; 86: 177-84.
7. Heineke J, Molkentin JD. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7: 589-600.
8. Miyata S, Minobe W, Bristow MR, Leinwand LA. Myosin heavy chain isoform expression in the failing and nonfailing human heart. *Circ Res* 2000; 86: 386-90.
9. Dorn GW. The fuzzy logic of physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension* 2007; 49: 962-70.
10. Kinugawa K, Yonekura K, Ribeiro RC, Eto Y, Aoyagi T, Baxter JD, et al. Regulation of thyroid hormone receptor isoforms in physiological and pathological cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2001;89: 591-8.
11. Ji J, Tsika GL, Rindt H, Schreiber KL, McCarthy JJ, Kelm RJ, et al. Puralpha and Purbeta collaborate with Sp3 to negatively regulate beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle inactivity. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1531-43.
12. Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effects of exercise training on cardiac function gene expression and apoptosis in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: 2994-3002.
13. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. *Life Sci* 2010; 86:39-44.
14. Fathi M, Gharakanlou R, Abroun S, Mokhtaridizaji M, Rezaei R. [Considerations in the evaluation of cardiac changes following endurance training in male Wistar rats]. *yafteh* 2013; 15: 112-23. (Persian)
15. Zhua SS, Mab JZ, Yong YH, Niu J, Zhang JN. Left ventricular function in physiologic and pathologic hypertrophy in Sprague-Dawley rats. *Sci Sports* 2008; 23:299-305.
16. Seo JS, Lee SY, Won KJ, Kim DJ, Sohn DS, Yang KM, et al. Relationship between normal heart size and body indices in Korean. *J Korean Med Sci* 2000; 15: 641-6.
17. Farriol M, Rossell J, Schwar S. Body surface area in Sprague-Dawley rats. *J Anim Physiol Anim Nut* 1997; 77: 61-5.
18. Kong SW, Bodyak N, Yue P, Liu Z, Brown J, Izumo S, et al. Genetic expression profiles during physiological and pathological cardiac hypertrophy and heart failure in rats. *Physiol Gen* 2005; 21: 34-42.
19. Sahn DJ, Demaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations Regarding Quantitation in M-Mode Echocardiography: Results of a Survey of Echocardiographic Measurements. *Circulation* 1978;6: 1071-83.
20. Tang H, Macpherson P, Marvin M, Meadows E, Klein WH, Yang XJ, et al. A histone deacetylase 4/myogenin positive feedback loop coordinates denervation-dependent gene induction and suppression. *Mol Biol Cell* 2009;20: 1120-31.
21. Silver N, Cotroneo E, Proctor G, Osailan S, Paterson KL, Carpenter GH. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in the adult rat submandibular gland under normal inflamed atrophic and regenerative states. *BMC Mol Biol* 2008; 9:64.
22. Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart CN, Jr. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinform* 2006; 7:85.

23. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*2005;39:75-85.
24. Gunning P, Oneill G, Hardeman E. Tropomyosin-based regulation of the actin cytoskeleton in time and space. *Physiol Rev*2008; 88: 1-35.
25. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*2001; 29: 45.
26. Scharhag J, Schneider G, Urhausen A, Rochette V, Kramann B, Kindermann W. Athlete's heart: right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*2002; 40: 1856-63.
27. Barany M. ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening. *J Gen Physiol*1967; 50: 197-218.
28. Fathi M, Gharakanlou R, Abroun S, Mokhtaridizaji M, Rezaei R. [The evaluation of cardiac changes following endurance training in male Wistar rats]. *yafteh*2014; 15: 112-23. (Persian)
29. Fathi M, Gharakhanluo R, Solimani M, Rajabi H, Rezaei R. [The study of timing series response of microRNA-1 expression to resistance exercise in slow and fast muscles of Wistar male rats]. *J Spo Bio Sci* 2013;9:5-15. (persian)
30. vanrooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*2007;316: 575-9.
31. Gupta M, Sueblinvong V, Raman J, Jeevanandam V, Gupta MP. Single-stranded DNA-binding proteins PURalpha and PURbeta bind to a purine-rich negative regulatory element of the alpha-myosin heavy chain gene and control transcriptional and translational regulation of the gene expression. Implications in the repression of alpha-myosin heavy chain during heart failure. *J Biol Chem*2003;278: 44935-48.
32. Weiner RB, Baggish AL. Exercise-induced cardiac remodeling. *Prog Cardiovasc Dis*2012; 54:380-6.
33. McCarthy JJ, Esser KA, Peterson CA, Dupontversteegden EE. Evidence of myomir network regulation of beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy. *Physiol Genomics*2009; 39: 219-26.
34. Stevenson EJ, Giresi PG, Koncarevic A, Kandarian SC. Global analysis of gene expression patterns during disuse atrophy in rat skeletal muscle. *J Physiol*2003; 551: 33-48.

The effect of Endurance Activity on Left Ventricle Pur β Gene Expression in Wistar Male Rat

Mohammad F^{*1}, Abroun S²

(Received: December 31, 2014

Accepted: March 1, 2015)

Abstract

Introduction: Endurance activity has a significant influence on remodeling of the heart, such as MHC protein, on otherhand, Pur β is mediator of repression of β MHC gene expression and decrease of its expression, the purpose of this study was to investigate the effects of endurance training on Pur β gene expression in the heart of trained wistar male rats. So the aim of this study was to investigate the effect of endurance training on Pur β gene expression in left ventricle.

Materials & methods: For this purpose, 14 rats under controlled conditions (temperature, light/dark (12:12) cycle, with ad Libitum access to food and water) were housed and randomly assigned to control and experimental groups, the experimental group performed 14 weeks endurance exercise on motorized treadmill, and then 48 hours after the end of the last session were anesthetized as sacrificed. The left ventricle of the heart was removed.

Real time RT-PCR method was used to determine the expression levels of Pur β in the left ventricle. Finally, the obtained data were evaluated using t-test.

Findings: The results of this research showed, physical activity not only influence on m-mode indices and heart weigh, but also it enhance weight and internal dimensions of heart which is coincide with the significantly decrease Pur β gene expression.

Discussion & Conclusions: Given to the different effects of endurance activities in the size of the heart And Pur β gene expression and also Pur β role on type α of MHC isoform expression, it seems that heart mass changes due to physical activities is related to type α of MHC isoform.

Keywords: Purbeta gene, physical endurance, heart, left ventricle

1. Dept of Physical Education, Faculty of Humanity, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Dept of Hematology, Faculty of Medical sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

* Corresponding author Email: abroun_s@yahoo.co.uk