علوم زیستی ورزشی - تابستان ۱۳۹۷
دورهٔ ۱۰، شمارهٔ ۲، ص: ۲۶۱ – ۲۴۹
تاریخ دریافت : ۰۵ / ۰۸ /۹۶
تاریخ پذیرش : ۱۰ / ۰۳ / ۹۷

تأثیر ۱۰ هفته شنای وامانده‌ساز بر بیان ژن هیستون‌داستیلاز۴ و عامل‌افزایش‌دهندهٔ میوسیت۲c در بطن چپ موش‌های نر صحرایی

پریوش پیرکی[۱]- احمد همت فر[*۲] – ناصر بهپور[۳] – محمدعلی سماواتی شریف[۴]
۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش،گروه تربیت بدنی، واحدبروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران ۲. استادیار فیزیولوژی ورزش،گروه تربیت بدنی،واحد بروجرد،دانشگاه آزاد اسلامی،بروجرد،ایران ۳. دانشیار فیزیولوژی ورزش،گروه تربیت بدنی،واحد بروجرد،دانشگاه آزاد اسلامی،بروجرد،ایران ۴. دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم ورزشی،دانشگاه بوعلی سینا،همدان،ایران

چکیده

تغییرات اپی‌ژنتیک و تجدید ساختار قلب از مهم‌ترین سازگاری‌های تمرینات استقامتی است. هدف مطالعه بررسی میزان بیان ژن هیستون‌داستیلاز۴ و عامل افزایش‌دهندهٔ مایوسیت۲c بطن چپ موش‌های نر صحرایی در تعامل با شنای وامانده‌ساز است. بدین‌منظور ۱۲ سر موش نر نژاد صحرایی با میانگین سنی ۱±۷ هفته و وزن ۲۵±۲۷۵ گرم به‌صورت تصادفی به دو گروه شش‌تایی کنترل و تمرین تقسیم شدند. پس از اجرای شنای وامانده‌ساز به مدت سه ساعت در هر جلسه و پنج روز در هفته به مدت ده هفته، بافت بطن چپ قلب آنها جدا شده، سپس بیان ژن به روش Real Time-PCR بررسی شد. داده‌ها توسط آزمون تی مستقل تحلیل و سطح معناداری ۰/۰۵ ≥P انتخاب شد. نتایج نشان داد که پس از ۱۰ هفته تمرین شنای وامانده‌ساز در مقایسه با گروه کنترل، میزان ژن هیستون‌داستیلاز۴ افزایش (P=۰/۰۲)، اما میزان ژن عامل‌افزایش‌دهندهٔ مایوسیت۲c کاهش معناداری (P=۰/۰۰۱) یافت. بنابراین، اجرای ۱۰ هفته شنای شدید وامانده‌ساز از طریق افزایش فعالیت فاکتورهای رونویسی متصل به هیستون‌داستیلاز۴، به افزایش میزان بیان این ژن منجر شد، و در پی آن بیان ژن عامل‌افزایش‌دهندهٔ مایوسیت۲c را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی

---

[*] **نویسندهٔ مسئول : تلفن: ۰۹۱۶۳۶۲۰۰۹۳** Email: ahematfar@yahoo.com

شنای وامانده‌ساز، عامل افزایش‌دهندهٔ مایوسیت۲ نوع c، هیستون‌داستیلاز۴.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

مقدمه

بافت‌های بدن موجود زنده به استرس و فعالیت‌های بدنی واکنش‌های سازگاری انجام می‌دهند؛ از جملهٔ آنها، بافت عضلانی است که در پاسخ به استرس‌های واردشده توانایی سازگاری دارد. فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی حاد و بلندمدت از جمله عوامل استرس‌زای مطلوب‌اند. از طرفی نوع سازگاری و تجدید ساختار عضلات اسکلتی و قلبی به نوع، شدت، مدت و طول دورهٔ تمرینی بستگی دارد. فعالیت‌های هوازی و استقامتی با اعمال پیش‌بار حجمی بر عضلهٔ قلب، از الگوی هایپرتروفی برون‌گرا پیروی می‌کند (۱). برای مثال، تغییرات ساختاری بطن چپ در ورزشکاران استقامتی از طریق کشیدگی بطن ناشی از بازگشت سیاهرگی بیشتر، به افزایش حجم ضربه‌ای و ظرفیت کاری آنها منجر می‌شود (۲). این تغییرات در بافت قلب با تغییرات ژنی همراه است که شایع‌ترین تغییرات اپی‌ژنیک القاشده، تعدیل‌های هیستونی مانند متیلاسیون و استیلاسیون DNA است که توسط هیستون‌آسیل‌ترانسفرازها (HATs)[1] و هیستون‌داستیلازها (HDACs)[2] صورت می‌گیرد (۳)، به‌صورتی که HDACs موجب فشردن کروماتین می‌شود و بیان ژن را سرکوب می‌کند (۴). HDAC4 از طریق دو ناحیهٔ مستقل، رونویسی را سرکوب می‌کند: یکی از طریق ناحیه‌ای که متشکل از قسمت ۲۰۸ در پایانهٔ N خود است و دیگری ناحیه‌ای که در قسمت داستیلاز قرار دارد. همچنین عنوان شده HDAC4 از طریق ناحیهٔ کوچکی در پایانهٔ N خود، با ایزوفرم c ژن افزایش‌دهندهٔ مایوسیت۲نوعc (MEF2c)[3] در تعامل است (۵)، و موجب سرکوب این ژن می‌شود (۶). در واقع HDAC نوع II، از طریق واکنش سیگنالینگ، به MEF2c متصل شده و بیان آن را مهار می‌کند؛ به‌طوری‌که مقادیر HDAC4 اغلب در بافت‌هایی (مانند قلب، مغز و عضلهٔ اسکلتی) که بالاترین مقادیر MEF2c را دارند، بیان می‌شود. در همین زمینه، MEF2c از طریق تعامل با HDACها میوژنز را فعال یا سرکوب می‌کند (۷). در بافت‌های بالغ، پروتئین‌های MEF2c به‌عنوان یک نقطهٔ مستقل برای پاسخ به استرس و بازسازی (هیپرتروفی قلبی و تغییر شکل تارهای عضلهٔ اسکلتی و قلبی) عمل می‌کنند (۸). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت سرکوب انتخابی HDAC4 نوع II در عضلات اسکلتی، منجر به فعال شدن فرآیندی می‌شود که از طریق افزایش فعالیت MEF2c، موجب بهبود اجرای فعالیت بدنی شده و مقاومت در برابر خستگی را در پی خواهد داشت (۹). در پژوهشی، بیان شکل فعال MEF2c در عضلات اسکلتی موش‌های ترانس ژنیک موجب شکل‌گیری تارهای کندانقباض و افزایش

1. Histone Asiltransfrase
2. Histone Deacetylases
3. Myocyte Enhancer Factor2c

استقامت آنها شد و توانستند حدود دو برابر همتایان خود بدوند (۱۰). عنوان شده که فسفوریله شدن HDAC4 به‌وسیلهٔ کیناز وابسته به کلسیم-کالمادولین (CaMKII)، موجب می‌شود که به درون سیتوپلاسم رانده شود و به این طریق فرصتی برای فعالیت MEF2c و رشد هایپرتروفیک قلب ایجاد کند (۱۱). برخلاف دیگر هیستون داستیلازها، HDAC4 دارای یک جایگاه اتصالی برای CaMKII است که از این طریق سیگنال‌های وابسته به کلسیم، قادر است رشد قلب را تنظیم کند (۱۲). در مطالعات ثابت شده که فعالیت‌های استقامتی موجب افزایش فعالیت CaMKII می‌شود (۱۳). از طرفی فتحی و همکاران (۱۳۹۲) افزایش معنادار ژن HDAC4 را در بطن چپ موش‌های نری که ۱۴ هفته تمرین استقامتی داشتند، مشاهده کردند. پروتکل تمرینی موش‌ها در مطالعهٔ فتحی نیز، فزاینده بود؛ به‌طوری‌که هر هفته ۲متر بر دقیقه بر سرعت تردمیل افزوده شد؛ تا اینکه از هفتهٔ ششم تا چهاردهم با شدت ۷۰درصد VO_2max دویدند (۱۴). در مقابل مدیروس و همکاران (۲۰۰۴) عنوان داشتند تمرین شنای استقامتی به افزایش حجم و اندازهٔ دیوارهٔ بطن چپ قلب موش‌های نر منجر می‌شود، که با کاهش HDAC4 ارتباط دارد. در این مطالعه موش‌ها با حمل وزنه‌ای به اندازهٔ ۵ درصد وزن بدنشان، به مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته و روزانه ۶۰ دقیقه شنا کردند (۱۵). چالش این مطالعه، کسب اطمینان از کنترل کافی فعالیت MEF2c (که به کاردیومیوپاتی و افزایش خطر ابتلا به انفارکتوس میوکارد منجر می‌شود) به‌دنبال اجرای ۱۰ هفته شنای طولانی‌مدت وامانده‌ساز است. اگرچه سرکوب رونویسی MEF2c وابسته به HDAC4 به اثبات رسیده، داستیلاز مستقیم MEF2c هنوز مشخص نشده است. MEF2c از اهمیت پاتولوژیکی برخوردار است. در حال حاضر ظهور عوامل HDACها به‌عنوان عوامل درمانی، امیدوارکننده است. همچنین پژوهش حاضر، پیشنهاد یک سازوکار جدید مولکولی به‌منظور تنظیم فعالیت رونویسی MEF2c در شرایط تحت کنترل را می‌دهد. با توجه به یافته‌ها نتایج شایان ملاحظه‌ای در خصوص اثر شنای شدید و طولانی‌مدت، بر بیان ژن‌های هایپرتروفی بطن چپ در دست نیست، زیرا این نوع تمرین به‌دلیل حالت غوطه‌وری در آب و افزایش فشار هیدرواستاتیک، بازگشت سیاهرگی و حجم ضربه‌ای بیشتری را در پی دارد (۱۶)، که به‌نظر می‌رسد استرس بیشتری بر قلب وارد شود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر ۱۰ هفته شنای وامانده‌ساز بر ژن‌های مؤثر در هایپرتروفی بطن چپ موش‌های نر صحرایی است.

روش‌شناسی

آزمودنی‌ها

آزمودنی‌های این پژوهش دوازده سر موش نر از نژاد صحرایی در محدودهٔ وزنی ۲۵±۲۷۵ گرم بودند. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین درجهٔ حرارت ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰ تا ۲۰ درصد نگهداری شدند. آب و غذا به‌صورت آزادانه در اختیار آنها قرار داده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه شش‌تایی کنترل و تمرین تقسیم شدند. به‌دلیل امکانات موجود در آزمایشگاه، هر سه سر موش به‌صورت جداگانه در قفس‌های پلی‌اتیلن نگهداری شدند. استخر شنای موش‌ها شامل یک وان برای هر گروه تمرینی، به ابعاد ۶۰×۶۰×۱۰۰ سانتی‌متر بود. درجهٔ حرارت آب استخر حدود ۳۰ تا ۳۲ درجهٔ سانتی‌گراد تعیین شد.

آشنایی حیوانات با محیط و برنامهٔ تمرین

یک هفته تمرین شنا به‌منظور سازگاری موش‌ها و خو گرفتن با محیط شنا در نظر گرفته شد. بدین‌صورت که جلسهٔ اول با ۲۰ دقیقه شنا شروع شد، سپس جلسهٔ دوم ۴۰ دقیقه و جلسهٔ سوم ۶۰ دقیقه در نظر گرفته شد. برنامهٔ تمرینی، شامل ۱۰ هفته و ۵ روز در هفته بود. هفتهٔ اول با یک ساعت در هر جلسه آغاز، و از هفتهٔ دوم هر هفته به‌طور فزاینده، ۳۰ دقیقه به مدت زمان شنا افزوده می‌شد، به‌طوری‌که مدت زمان شنای موش‌ها از هفتهٔ پنجم تا هفتهٔ دهم به سه ساعت در هر جلسه افزایش یافت (۱۷). نمونه‌برداری: ۲۰ ساعت پس از پایان پروتکل تمرین، موش‌ها توسط گاز "پنتوباربیتال سدیم" (۶۰-۵۰ mg/kg) بی‌هوش شدند. پس از بی‌هوشی کامل (به‌طوری‌که به تحریک اعمال‌شده پاسخ ندهند)، در شرایط استریل قلب آنها از ریشهٔ آئورت جدا شده و بطن چپ توسط متخصص آناتومی برش زده شد (۱۴). بافت موردنظر (بطن چپ) بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت، موش و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند . پس از اتمام تشریح و تا شروع هموژن بافت‌ها، همهٔ آنها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد با برچسب مناسب نگهداری شدند.

استخراج RNA از بافت و سنتز cDNA

ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل تکنیک Real Time-PCR انجام گرفت. برای استخراج RNA، مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت منجمد قلب موش هموژن شده و براساس دستورالعمل شرکت سازندهٔ کیت RNA-Plus (سیناژن، ایران)، محلول RNA از آن استخراج شد. سپس از هر نمونه، ۲میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشتهٔ cDNA استفاده شد. برای سنتز cDNA از کیت cDNA synthesis

(Fermentas، آلمان) استفاده شد. سایبرگرین مسترمیکس Ampliqon ساخت دانمارک استفاده شد. براساس دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونهٔ ۱۰ لاندایی ترکیبی از مسترمیکس (۵ لاندا)، پرایمر (۱ لاندا)، cDNA (۱ لاندا) و آب مقطر (۳ لاندا) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. پس از انتقال اطلاعات به نرم‌افزار Exell، طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ میزان بیان ژن MEF2c و HDAC4 محاسبه شد (۱۸). مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. ژن رفرنس مطابق تحقیقات انجام‌گرفته، ژن HPRT-1[1] در نظر گرفته شد (۸).

تجزیه‌وتحلیل آماری

پس از تأیید توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک، داده‌های خام توسط نسخهٔ ۲۰ نرم‌افزار SPSS، روش آماری تی مستقل آنالیز شدند. نتایج به‌صورت آمار توصیفی با ذکر میانگین ± انحراف معیار، ارائه شده‌اند. مقادیر $P\leq ۰/۰۵$ به‌عنوان حداقل سطح معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها استفاده شد. نمودارها توسط اکسل ۲۰۱۳ رسم شدند.

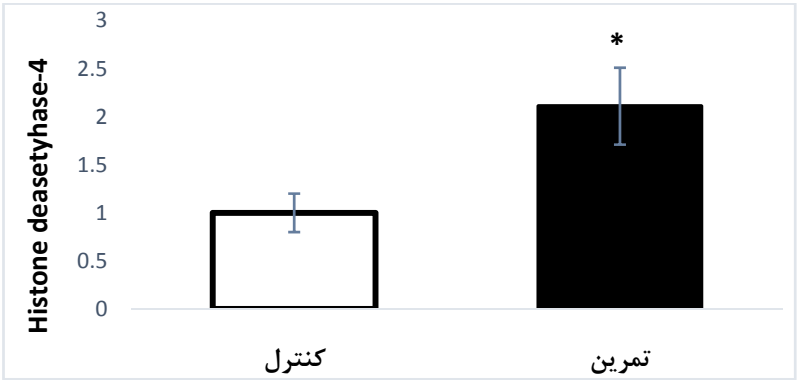
جدول ۱. توالی پرایمرهای موردنظر

Name	Sequence 5-3	Accession number
HPRT1	F CCTCCTCAGACCGCTTTTCC	NM_012583.2
	R CACTAATCACGACGCTGGGA	
HDAC-4	F GACAGAAACTGGACAGCTCG	NM_053599
	R CCACTACACAGCCTACAGCC	
MEF-2C	F CTGAGGATGTGGACTTGCTGT	NM_017591163
	R GCTGCTCAGAGAGTATTCGGTA	

نتایج

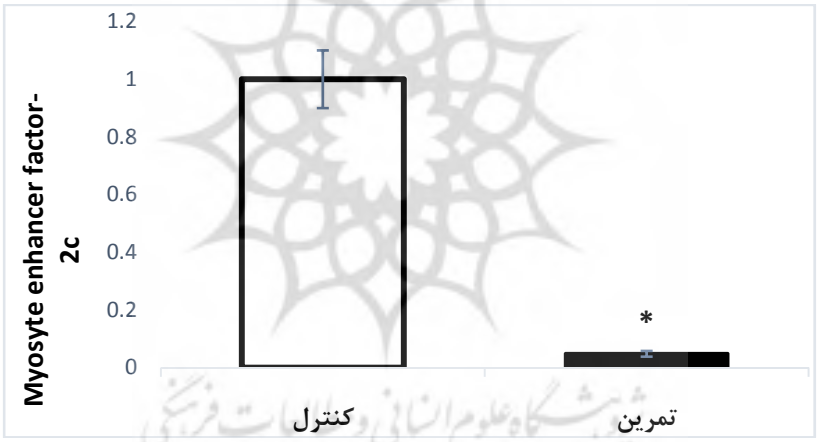
نتایج حاکی از آن است که ۱۰ هفته تمرین شنای استقامتی در مقایسه با گروه کنترل، به افزایش معنادار سطح ژن HDAC4 در گروه تمرین منجر شده است (شکل ۱). همچنین سطح ژن MEF2c متعاقب ۱۰ هفته شنای شدید و طولانی‌مدت به‌صورت معناداری کاهش یافته است (شکل ۲).

1. Hypoxanthine Phospho Ribosyl Transferase-1



شکل ۱. میزان بیان ژن هیستون داستیلاز۴ در عضلۀ قلبی

***: افزایش معنادار در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل (P=۰/۰۲)**



شکل۲. میزان بیان ژن عامل افزایش‌دهندۀ مایوسیت۲ عضلۀ قلبی

***: کاهش معنادار در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل (P=۰/۰۰۱)**

بحث و نتیجه‌گیری

تحلیل یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که فعالیت ده‌هفته‌ای شنای طولانی‌مدت موجب افزایش معنادار ژن HDAC4 شد، که شاید از این طریق به کاهش معنادار ژن MEF2c منجر شده است. فتحی

و همکاران (۱۳۹۲) پس از اجرای ۱۴ هفته تمرین دویدن استقامتی، افزایش معنادار ژن HDAC4 را در بطن چپ موش‌های نر مشاهده کردند (۱۴). در مقابل مدیروس[1] و همکاران (۲۰۰۴) عنوان داشتند تمرین شنای استقامتی به افزایش حجم و اندازهٔ دیوارهٔ بطن چپ قلب موش‌های نر منجر می‌شود، که با کاهش HDAC4 ارتباط دارد (۱۵). در راستای مقایسه با پیشینه، پژوهشی در زمینهٔ سطح ژن MEF2c یافت نشد، اما در مورد ژن HDAC4، این نتیجه با نتیجهٔ تحقیق مدیروس (۲۰۰۴) ناهمسو و با نتایج پژوهش فتحی (۱۳۹۲) همسو بود. مشخص شده که ژن‌های زیادی توسط HDAC4 در قلب کنترل می‌شوند؛ همچون ژن‌های میوفیبریل‌ها، ژن‌های انقباضی قلب و ژن‌های مسئول کدگذاری پروتئین‌های هموستازکنندهٔ کلسیم، که همگی با هایپرتروفی قلب ارتباط دارند (۱۹). همچنین بیشتر فاکتورهایی که بیان ژن زنجیره‌سنگین میوزین (MHC) قلب را کنترل می‌کنند، با HDACs در ارتباط‌اند، و عنوان شده که سرکوب ژن HDACs نوع II، از طریق فعالیت MEF2، موجب افزایش بیان ژن تارهای کند اکسیداتیو می‌شود، اما تأثیری بر بیان تارهای نوع تند ندارد (۹). فعالیت بدنی به‌خصوص نوع استقامتی، موجب هایپرتروفی اکسنتریک و فیزیولوژیک قلب می‌شود که با هایپرتروفی پاتولوژیک و کانسنتریک قلب متفاوت است (۱). به‌نظر می‌رسد که رشد هایپرتروفیک قلب با فعال‌سازی مسیر AKT و PI3K در ارتباط است (۱۹)، و یون کلسیم در فعال‌سازی این مسیرهای سیگنالیک درگیر است (۲۰). اما در سطح رونویسی عنوان شده که جایگاه اتصالی برای فاکتورهای رونویسی SP1[2] و SP3[3] در پروموتر ژن HDAC4 وجود دارد، به این معنا که فعالیت این فاکتورهای رونویسی، موجب افزایش بیان این ژن و سرکوب آنها موجب کاهش بیان ژن HDAC4 می‌شود (۲۱). بر این اساس به‌نظر می‌رسد اجرای ۱۰ هفته شنای وامانده‌ساز از طریق افزایش فعالیت فاکتورهای رونویسی SP1 و SP3 به افزایش ژن HDAC4 منجر شده باشد. یکی از ژن‌های هدف miR-1[4] (میکرو RNA بیان ژن در سطح رونویسی)، ژن HDAC4 است (۲۲) و در پایین‌دست HDAC4، ژن MEF2 قرار دارد که توسط HDAC4 سرکوب می‌شود (۲۳). اجرای ۱۴ هفته دویدن استقامتی در موش‌های نر در مطالعهٔ فتحی و همکاران (۱۳۹۵) تأثیر معناداری بر miR-1 نداشت (۲۴)، اما نتایج پژوهش سوسی[5] (۲۰۱۱) در پی اجرای ۱۰ هفته شنای استقامتی بلندمدت در موش‌های نر، موجب کاهش miR-1 در بافت قلب شد (۲۵). در همین

1. Medeiros
2. specificity protein1
3. specificity protein3
4. micro RNA
5. Soci

زمینه هان (۲۰۱۱) بیان داشت که میزان بیان miR-1 هنگام هایپرتروفی قلب کاهش می‌یابد (۲۶). بنابراین اگر فعالیت‌های استقامتی به کاهش بیان miR-1 منجر شود، بیان ژن HDAC4 افزایش می‌یابد و موجب سرکوب بیان ژن MEF2 می‌شود و نتیجهٔ نهایی آن، کاهش بیان زنجیرهٔ سنگین نوع بتا (MHCβ) یا تارهای نوع کند است که می‌تواند موجب افزایش کارایی قلب شود، زیرا بهبود عملکرد انقباضی قلب با کاهش همزمان MHCβ و افزایش MHCα در پی فعالیت‌های ورزشی تأیید شده است (۲۷). فارغ از فرایندهای پس‌ترجمه‌ای انتظار می‌رود که بیان miR-1 به‌دنبال فعالیت استقامتی کاهش یابد تا کارایی قلب بهبود پیدا کند. در این تحقیق ممکن است مدت طولانی شنا موجب کاهش سطح miR-1 شده باشد. از طرف دیگر فعالیت استقامتی شدید تولید رادیکال‌های آزاد را در زنجیرهٔ انتقال الکترون افزایش می‌دهد (۲۸) که این رخداد در بافت‌های اکسیداتیو از جمله قلب نیز اتفاق می‌افتد (۲۹)، و پیامد آن تجمع فاکتور فشردن کروماتین (HDACs) است (۱۷). شاید به‌دنبال استرس اکسایشی و افزایش نیاز به این فاکتور، بیان این ژن افزایش می‌یابد و به این صورت بیان MEF2 را نیز کاهش می‌دهد (۶). نکتهٔ دیگری که می‌توان به آن اشاره کرد این است که چالش‌های متابولیکی در اثر فعالیت‌های استقامتی در قلب، به فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با مسیرهای متابولیک منجر می‌شود. از جمله عناصر مهم پاسخگو به این چالش‌ها، فاکتور AMPK است (۳۱) که بسیاری از فرایندهای قلبی مانند تنظیم عملکرد میتوکندریایی و خصوصیات الکتروفیزیولوژی قلب را تنظیم می‌کند (۳۲). دیده شده که فعالیت‌های استقامتی موجب افزایش بیان زیر واحدهای AMPK در قلب (۳۳)، و فعال‌سازی آنها می‌شود (۱۱). به‌دنبال آن، AMPK موجب فسفوریله شدن و خروج HDAC4 از هستهٔ سلول می‌شود (۳۴) و به این طریق به رشد هایپرتروفیک قلب می‌افزاید. هیپرتروفی قلب، به‌عنوان پاسخ به استرس همودینامیک، با اختلال عملکرد قلبی و مرگ همراه است. اما اینکه آیا هیپرتروفی خود نشان‌دهندهٔ یک فرایند آسیب‌شناختی است، نامعلوم است. هیپرتروفی تحت تأثیر تغییرات بیان ژن قلبی است، که نیاز به خانوادهٔ MEF2 متصل به فاکتورهای رونویسی DNA و نیز لیزین اسیل‌ترانسفراز p300 دارد. در اینجا بررسی تأثیرات جلوگیری از سرکوب MEF2 بر واحدهای ژنتیک و مولکول‌های کوچک و سازگاری قلب با استرس، عنوان شد. ویی[1] و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که سرکوب MEF2 از یک طرف برای توسعه و حفظ هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی لازم است، و از طرف دیگر، ممانعت از سرکوب MEF2 می‌تواند به بهبود هایپرتروفی بدون آسیب رساندن به سازگاری فیزیولوژیک، منجر شود (۳۵).

1. Wei

شواهد جمع‌آوری‌شده نشان می‌دهد که هیپرتروفی ممکن است با سازگاری موفقیت‌آمیز برای افزایش پیش‌بار قلبی مؤثر نباشد (۳۶). در عین حال، هایپرتروفی به‌طور فزاینده‌ای نه‌تنها زمینه‌ساز ایست قلبی بیان شده، حتی به‌عنوان مراحل اولیهٔ نارسایی قلبی، منجر به فراخوان مداخلهٔ اولیه در این رخداد شناسایی می‌شود (۳۷). هیپرتروفی قلبی پیامد فرایند بیان ژن هماهنگ‌شده‌ای است که اغلب در میوسیت‌ها اجرا می‌شود. این پاسخ اپی‌ژنیک به استرس خارج‌سلولی، به تغییرات و تولیدات پروتئین سارکوپلاسمیک، آرمیدگی دیاستولیک، متابولیسم، دستکاری کلسیم و سنتز کلاژن منجر می‌شود، که اغلب تحت کنترل عوامل رونویسی فاکتورهایی در پاسخ به استرس همچون خانوادهٔ MEF2 هستند (۸).

نتیجه‌گیری

در نهایت نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اجرای شنای وامانده‌ساز به مدت ۱۰ هفته به افزایش مقادیر ژن HDAC4 در بطن چپ منجر می‌شود که این افزایش احتمالاً از طریق کاهش miR-1 و افزایش فعالیت فاکتورهای رونویسی که به پروموتر HDAC4 متصل‌اند، رخ می‌دهد و متعاقباً موجب سرکوب ژن MEF2c می‌شود.

منابع و مآخذ

1. Henriksen E, Sundstedt M, Hedberg P. Left ventricular end-diastolic geometrical adjustments during exercise in endurance athletes. Clin Physiol Funct Imaging 2008; 28(2): 76-80.
2. Mihl C, Dassen WR, Kuipers H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. Neth Heart J. 2008; 16 (4):129-33.
3. Eccleston A, Cesari F, Skipper M. Transcription and epigenetics. Nature. 2013; 502 (7472): 461.
4. Feng J, Fouse S, Fan G. Epigenetic regulation of neural gene expression and neuronal function. Pediatr Res. 2007; 61(5):58-63.
5. Wang AH, Bertos NR, Vezmar M, Pelletier N, Crosato M, Heng HH, et al. HDAC4, a human histone deacetylase related to yeast HDA1, is a transcriptional corepressor. Mol Cell Biol. 1999; 19 (11):7816-27.
6. Miska EA, Karlsson C, Langley E, Nielsen SJ, Pines J, Kouzarides T. HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor. EMBO J. 1999; 18(18):5099-107.

7. Nebbiso A and et al. Selective class II HDAC inhibitors impair myogenesis by modulating the stability and activity of HDAC–MEF2 complexes. EMBO reports. 2009; 10(7): 776-782.
8. Khoshbin Nazdik M, Khazaei Koohpar Z, Sayad A. Investigation of TIMP-1 Gene Expression in Patients with Multiple Sclerosis (MS). AMUJ 2017; 20(123): 22-30.
9. Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. J Clin Invest. 2007; 117(9):2459-67.
10. Potthoff MJ, Olson EN. MEF2: a central regulator of diverse developmental programs. Development. 2007; 134(23):4131-40.
11. Rose AJ, Frosig C, Kiens B, Wojtaszewski JFP, Richter EA. Effect of endurance exercise training on Ca2+calmodulin-dependent protein kinase II expression and signalling in skeletal muscle of humans. J Physiol. 2007; 583(2):785-95.
12. Backs J, Song K, Bezprozvannaya S, Chang S, Olson EN. CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy. J Clin Invest. 2006; 116(7):1853-64.
13. Rose AJ, Frosig C, Kiens B, Wojtaszewski JFP, Richter EA. Effect of endurance exercise training on Ca2+calmodulin-dependent protein kinase II expression and signalling in skeletal muscle of humans. J Physiol. 2007; 583(2):785-95.
14. Fathi M, Gharakanlou R, Rezaei R. The Effect of 14-Week Endurance Training on Left Ventricle HDAC4 Gene Expression of Wistar Male Rat. J Sport Biomotor Sci. 2013; 11(1): 5-15.
15. Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrao CE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. Braz J Med Biol Res. 2004; 37(12):1909-17.
16. Obad A, Palada1 I, Valic1 Z, Ivancev V, BakovicD, 1, Wisløff U et al. The effects of acute oral antioxidants on diving-induced alterations in human cardiovascular function. J Physiol. 2007; 578(3): 859-870.
17. Kilic M, Ulusoy O, Cirrik S, Hindistan I E, Ozkaya YG. Effect of exercise intensity on cerebrospinal fluid interleukin-6 concentration during recovery from exhaustive exercise in rats. Acta Physiol Hung. 2014; 101: 21-31.
18. Kenneth J, Livak and Thomas D, Schmittgen. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $22^{-\Delta\Delta C}{}_{T}$ Method. Applied Biosystems, Foster City, California 94404; and †Department of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy.
19. DeBosch B, Treskov I, Lupu TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, et al. Akt1 is required for physiological cardiac growth. Circulation. 2006; 113(17):2097-104.
20. O'Neill BT, Kim J, Wende AR, Theobald HA, Tuinei J, Buchanan J, et al. A conserved role for phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt signaling in mitochondrial adaptations that accompany physiological cardiac hypertrophy. Cell Metab. 2007; 6 (4):294-306.

21. Liu F, Pore N, Kim M, Voong KR, Dowling M, Maity A, et al. Regulation of histone deacetylase 4 expression by the SP family of transcription factors. Mol Biol Cell. 2006; 17(2):585-97.
22. Van Rooij, E., N. Liu, and E.N. Olson. MicroRNAs flex their muscles. Trends in Genetics. 2008; 24(4): p. 159-166.
23. Miska EA, Karlsson C, Langley E, Nielsen SJ, Pines J, Kouzarides T. HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor. EMBO J. 1999; 18(18):5099-107.
24. Fathi M, Gharakhanlou R, Rajabi H. The Effect of 14 Week of Endurance Activity on miR-1 Expression of Left Ventricle in Male Wistar Rats. J Sport Biomotor Sci. 2016; 8(1): 65-75.
25. Soci, U.P., et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. Physiol Genomics. 2011; 43(11): 665-73.
26. Han, M., J. Toli, and M. Abdellatif. MicroRNAs in the cardiovascular system. Curr Opin Cardiol. 2011; 26(3): 181-9.
27. Wan W, Xu X, Zhao W, Garza MA, Zhang JQ. Exercise training induced myosin heavy chain isoform alteration in the infarcted heart. Appl Physiol Nutr Metab. 2014; 39(2):226-32.
28. Schneider CD, de Oliveira AR. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. Rev Bras Med Esporte. 2004; 10:314-8.
29. Mimić-Oka J, Simić DV, Simić TP. Free Radicals in Cardiovascular Diseases. Facta Universitatis. 1999; 6(1):11 - 22.
30. Luijsterburg MS, Dinant C, Lans H, Stap J, Wiernasz E, Lagerwerf S, et al. Heterochromatin protein 1 is recruited to various types of DNA damage. J Cell Biol. 2009; 185(4):577-86.
31. Hardie DG, Carling D. The AMP-activated protein kinase--fuel gauge of the mammalian cell? European journal of biochemistry / FEBS. 1997; 246 (2):259-73.
32. Zaha VG, Young LH. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. Circ Res. 2012; 111 (6):800-14.
33. Musi N, Hirshman MF, Arad M, Xing Y, Fujii N, Pomerleau J, et al. Functional role of AMP-activated protein kinase in the heart during exercise. FEBS Lett. 2005; 579 (10):2045-50.
34. Mihaylova MM, Vasquez DS, Ravnskjaer K, Denechaud PD, Yu RT, Alvarez JG, et al. Class IIa histone deacetylases are hormone-activated regulators of FOXO and mammalian glucose homeostasis. Cell. 2011; 145 (4):607-21.
35. Wei j, Joshi SH, Speransky S, Crowley CH, et al. Reversal of pathological cardiac hypertrophy via the MEF2-coregulator interface. JCI insight. 2017; 2(16): 1-16.
36. Backs J, et al. The delta isoform of CaM kinase II is required for pathological cardiac hypertrophy and remodeling after pressure overload. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106 (7):2342–2347.

37. Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? Circulation. 2004; 109 (13):1580–1589.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

The Effect of 10 Weeks of Exhaustive Swimming on Gene Expression of Histone Deacetylase-4 and Myocyte Enhancer Factor-2c in Left Ventricle in Male Rats

Parivash Piraki[1] - Ahmad Hematfar[2*] - Naser Behpour[3] - Mohammad Ali Samavati Sharif[3]

1.Sport Physiology Student, Department of Physical Education, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran 2.Assistant Professor in Sport Physiology, Department of Physical Education, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran

3. Associate Professor in Sport Physiology, Department of Physical Education,Boroujerd Branch,Islamic Azad University,Boroujerd,Iran

4. Associate Professor in Sport Physiology,Sport Science Faculty,Buali Sina University,Hamadan,Iran

(Received: 2017/10/27;Accepted: 2018/5/31)

Abstract

Epigenetic changes and cardiac reconstruction are among the most important adaptations in endurance training. The aim of this study was to investigate the gene expression of histone deacetylase-4 and myocyte enhancer factor-2c (MEF-2c) in male rats in interaction with exhaustive swimming. 12 male Wistar rats (mean age: 7±1 weeks, weight 275±25 gr) were randomly divided into two groups (each group 6 subjects): control and training. After performing the exhaustive swimming for 3 hours per session and 5 days per week for 10 weeks, their left ventricle was isolated; then the gene expression were investigated by Real Time-PCR. Data were analyzed by independent t test and the significance level was $P \leq 0.05$. The results showed that after 10 weeks of exhaustive swimming, the HDAC4 gene significantly increased ($P=0.02$), but MEF-2c gene significantly decreased ($P=0.001$) compared with the control group. Therefore, 10 weeks of exhaustive swimming increased gene expression of HDAC-4 and consequently reduced gene expression of MEF-2c by an increase in the activity of transcription factors attached to HDAC-4.

Keywords

Exhaustive swimming, histone deacetylase-4, myocyte enhancer factor-2c.

* Corresponding Author: Email: ahematfar@yahoo.com, Tel: +989163620093