Sport and Biomotor Sciences
ورزش و علوم زیست حرکتی

تاثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله‌گر سدیم هیدروژن۱ (NHE1) و هم‌انتقال‌دهنده سدیم بی‌کربنات۱ (NBC1) در عضله قلبی رت

امیرعباس منظمی [۱]، حمید رجبی[۲]، وحید شهبازی ندر[۳]

۱- استادیاردانشگاه رازی کرمانشاه

۲- دانشیار دانشگاه خوارزمی

۳- کارشناس ارشد دانشگاه پیام نور

نشانی نویسنده مسئول: کرمانشاه، باغ ابریشم،دانشگاه رازی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی

Email: monazzami.amirabbas@gmail.com

وصول: ۹۳/۰۹/۱۳ **اصلاح:** ۹۳/۱۰/۲۱ **پذیرش:** ۹۳/۱۲/۱۱

چکیده

مقدمه و هدف: تمرین با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن‌های MCTs و NHEs و NBCs می‌شود اما اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های NHEs و NBCs مشخص نیست. بنابراین هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله‌گر سدیم هیدروژن۱ (NHE1) وهم‌انتقال‌دهنده سدیم بی‌کربنات ۱ (NBC1) در عضله قلبی رت بود.

روش‌شناسی: بدین منظور تعداد ۲۰ رت نژاد ویستار نر در سن چهار هفتگی با میانگین وزن ۹۳/۷±۹/۸ گرم انتخاب و به طور تصادفی به دوگروه کنترل (۱۰ سر رت) و تمرینی (۱۰سر رت) تقسیم شدند. تمرین استقامتی (دویدن روی نوار گردان جوندگان، شروع با ۲۰ متر بر دقیقه تدریجاً به ۳۰ متر بر دقیقه در هفته آخر) به مدت هفت هفته، بر گروه تمرینی اعمال شد. میزان بیان ژن mRNA (NHE1 وNBC1) از طریق تکنیک Real time-PCR انجام گرفت. از آزمون آماری t مستقل و از نرم افزار REST(permutation test) جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها استفاده گردید.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق نشان داد بیان ژن NHE1 mRNA عضله قلبی در گروه تمرین‌کرده ۸۰ درصد نسبت به گروه کنترل افزایش داشت و این افزایش معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین میزان بیان ژن NBC1 mRNA گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل ۵۰ درصد افزایش داشت اما این افزایش معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن mRNA (NHE1 وNBC1) در گروه تمرینی می‌شود و این الگوی افزایش بیان ژن مختص ترانسپورترهایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم‌تری را در تنظیم و نگهداری pH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند.

واژه‌های کلیدی: *تنظیم pH درون سلولی ، بیان ژن ، مبادله‌گر سدیم هیدروژن، هم‌انتقال‌دهنده سدیم‌بی‌کربنات، تمرین استقامتی.*

مقدمه

کنترل و تنظیم pH_i سلول قلب جهت حفظ انقباض‌های مکرر عضلانی و جلوگیری از آسیب درحین تمرین و فعالیت بدنی از اهمیت خاصی برخوردار است (۴-۱). بسیاری از تحقیقات نشان داده‌اند که تجمع یون هیدروژن و در پی آن اسیدوز طی فعالیت‌های ورزشی در کاهش عملکرد ورزشی از طریق تغییر در ساختار پروتئین‌ها وکانال‌های یونی و اختلال در عملکرد آنها و همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و نهایتا اختلال در سرعت سنتز ATP انجام می‌گیرد

(۷-۵) .در عضله قلب تجمع یون هیدروژن و در پی آن اسیدوز با تاثیر بالقوه بر هر مرحله از فرایند زوج تحریک – انقباض و هوموستاز کلسیم موجب اختلال درانقباض میوسیت می‌گردد(۷). هر چند مکانیسم‌هایی که از طریق آن اسیدوز موجب اختلال در عملکرد انقباضی میوسیت می‌گردد به خوبی مشخص نشده اما نشان داده شده است که اسیدوز علاوه بر اثر بر روی فرایند زوج تحریک – انقباض، همچنین از طریق مهار کانال‌های کلسیمی،کاهش ذخیره کلسیم شبکه سارکوپلاسمی و تغییر جایگاه کلسیم در سیتوپلاسم موجب اختلال در عملکرد کلسیم می‌گردد (۱۲-۹). در نتیجه برای سلول قلبی حیاتی است که کاهشpH_i را در سیتوزول از طریق جلوگیری از تجمع پروتون در حین تمرین و فعالیت بدنی به تاخیر بیاندازد (۱۳،۱٤).

به هر حال در حین فعالیت بدنی مکانیسم‌هایی جهت هومئوستاز pH_i فعال می‌شوند که از مهمترین آنها می‌توان به فعالیت سیستم تامپونی و فعالیت انتقال‌دهنده‌های غشایی اشاره کرد. تغییر سریع در غلظت سیتوپلاسمی یون هیدروژن به وسیله مکانیسم‌های تامپونی که از بی‌کربنات ، فسفات و پروتئین استفاده می‌کنند خنثی می‌شود اما به دلیل ظرفیت محدود این مکانیسم‌ها سلول به وسیله مکانیسم‌های انتقالی ویژه pH_i را حفظ می‌کنند (۱۵). مهمترین انتقال‌دهنده‌های غشایی در تنظیم pH_i در حالت استراحت و فعالیت عضلانی مبادله گر سدیم- هیدروژن ، هم انتقال‌دهنده سدیم- بی‌کربنات و هم انتقال‌دهنده لاکتات – پروتون می‌باشند. در این مجموعهMCTها یا انتقال‌دهنده‌های لاکتات و پروتون به عنوان تنظیم‌کننده‌های وابسته به لاکتات و NBCها (انتقال‌دهنده سدیم و بی‌کربنات که دارای چهار ایزوفرم وابسته به بافت هستند)وNHEها (مبادله‌گر سدیم و هیدروژن که دارای ۱۰ ایزوفرم وابسته به بافت هستند) هر دو به عنوان تنظیم‌کننده‌های غیر وابسته به لاکتات شناسایی شده‌اند (۱٤،۱۳). در حالت استراحت و فعالیت با شدت پایین بخش عمده‌ای از خنثی-سازی پروتون با مبادله‌گر سدیم- هیدروژن و هم انتقال‌دهنده سدیم- بی‌کربنات تعدیل می‌شود اما در شرایط فعالیت با شدت بالا هم انتقال دهنده‌های لاکتات- پروتون که با شیب لاکتات بالا تحریک می‌شوند بخش عمده تعدیل pH_i را به عهده می‌گیرند (۱٤،۱۳). با توجه به ویژگی‌های ساختاری و عملکردی عضله قلب، نشان داده شده است که مبادله‌گر و انتقال‌دهنده NHE1 و NBC1 نقش بسیار مهمی را در تنظیم pH_i در شرایط اسیدوز ناشی از فعالیت بدنی ایفا می‌کنند و فعالیت و عملکرد آنها از دلایل توجیهی جهت پاسخ‌های تطابقی قلب به این شرایط است (۱٤،۱۳).

مطالعه تغییراتNHE1 وNBC1 در عضله قلبی فقط به تعدادی تحقیق در زمینه فعالیت و بیان پروتئین محدود می‌شود و در زمینه بیان ژن این انتقال‌دهنده‌ها در شرایط تمرین و فعالیت بدنی تحقیقات محدودی صورت گرفته است. در تحقیقی که توسط گان و همکاران (۱۹۹۹) برروی عضله قلب رت ها انجام گرفت نشان داده شد که ایسکمی عضله قلب موجب افزایش بیان ژن mRNA (NHE1) می‌گردد (۱۳). علاوه بر این سندمن و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیق دیگر گزارش کردند که در اثر انسداد عروق کرونری قلب بیان ژن وپروتئین هر دو مبادله‌گر و انتقال‌دهنده NHE1 و NBC1 افزایش پیدا می‌کند (۳۰). جاندلیت و همکاران (۲۰۰۰)در تحقیقی دیگر نشان دادند که بیان ژن mRNA (NHE1) نیز در عضلات عروق رت‌های دیابتی افزایش می‌یابد(۱۵).

نیکویی و همکاران (۱۳۸۹)، در یک مطالعه اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 در عضلات اسکلتی رت‌های دیابتی و سالم را مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد که تمرین استقامتی بیان ژن و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 را در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است (٤).همچنین در تحقیق دیگر که توسط بیکر و همکاران (۱۹۹۸)بر روی رت‌ها انجام گرفت نشان داده شد که تمرینات با شدت پایین موجب افزایش بیانmRNA (MCT1) در قلب و تمرینات با شدت بالا فقط در عضلات اسکلتی اکسیداتیو موجب افزایش mRNA (MCT1) می-شوند(۵). منظمی و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیق دیگر نشان دادند که تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن (NHE1 mRNA و NBC1) در عضله قلب دیابتی رت‌ها می‌گردد (۳). در تحقیق دیگر راسموسن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی‌دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می‌شود. آنها همچنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌دار بیان mRNA (NHE1) در عضلات اسکلتی کند

می‌گردد اما این افزایش در سطح پروتئین NHE1 در عضلات اسکلتی معنی‌دار نبود (۲۹). در مجموع به نظر می رسد این گونه تحقیقات بیشتر انتقال دهنده‌هایی راکه در شرایط تمرینات بیشینه فعال می شوند مورد توجه قرار داده‌اند و همچنین تحقیقات محدودی در زمینه اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن این انتقال دهنده‌ها در عضله قلب وجود دارد.

در نتیجه با توجه به تحقیقات محدود در زمینه اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن این انتقال‌دهنده‌ها در عضله قلبی، در این تحقیق به بررسی این که آیا تمرین استقامتی بیان ژن این انتقال‌دهنده‌ها را تغییر می‌دهد و همچنین پاسخ تمرین به بیان ژن این انتقال دهنده‌ها چگونه است؟، پرداخته می‌شود تا از این طریق برخی از مکانیسم‌های مسئول تنظیم pH_i در عضله قلب معین گردد.

روش‌شناسی

تعداد ۲۰ رت نر نژاد ویستار در سن چهار هفتگی با میانگین وزنی ۹/۸±۹۳/۷ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و تحت چرخه ۱۲:۱۲ساعت تاریکی- روشنایی در محیط آزمایشگاهی با درجه حرارت٤±۲۲ و رطوبت (٤۹ تا٥۱ درصد) به صورت ۱۰ تایی در قفس‌های مخصوص جوندگان نگهداری شدند. وزن بدن به طور روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت(ساخت شرکت‌های کانی دام و سرم سازی رازی) و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه)، رت‌ها با میانگین وزن ۱۱/٤±۱۸۳/٤۷ گرم به طور تصادفی ضمن همسان‌سازی بر اساس وزن به دو گروه کنترل (n=۱۰) و تمرینی (n=۱۰) تقسیم شدند. لازم به یادآوری است که تعدادی از نمونه‌های حیوانی در جریان پروتکل تحقیق از جمله بیهوشی و نمونه‌گیری خون (چهار سر رت) و استخراج نمونه(چهار سر رت) از تحقیق خارج شدند و به همین خاطر تعداد نمونه‌های تحقیق (N) در مراحل اندازه‌گیری متفاوت در نظر گرفته شد (۱۹،۳۳).

پروتکل تمرینی

تمرین استقامتی به مدت هفت هفته بر روی تریدمیل مجهز به سیستم تحریک الکتریکی ، هر روز (سرعت ۲۰m/min و زمان ۲۰min در هفته اول و به تدریج به سرعت ۳۰ m/min و زمان ۳۵min در هفته آخر می‌رسید) بر گروه تمرینی اعمال شدکه خلاصه آن در جدول یک گزارش شده است. ضمن این که شدت به گونه‌ای انتخاب گردید که سطوح لاکتات را در حین تمرین دستخوش تغییر قابل ملاحظه نماید (۷۰-٦۰ درصد VO_{2max}). بروکس و همکاران نشان دادند که این شدت تمرینی موجب افزایش قابل توجه سطوح لاکتات می‌شود (٦). تمامی این اطلاعات با انجام مطالعات پایلوت روی چهار رت بدست آمد. میزان لاکتات در شدت تمرینی ۳۰ متر بر دقیقه (٦۰ تا ۷۰ درصد VO_{2max}) برابر با چهار میلی مولار بود. دو هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند (۱۹،۳۳).

استخراج نمونه

٤۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها بوسیله تزریق درون صفاقی کتامین (۹۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و عضله قلب بلافاصله استخراج و در نیتروژن ۸۰- منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد (۱۹).

Real time –PCR

حدود ٥۰ میلی‌گرم عضله قلبی رت با روش هاون کوبی پودر گردید و جهت استخراج RNA تام به نسبت یک به ۱۰ در بافر لیز Bisol RNA-Lysis regent به مدت ۱٥ دقیقه هموژن - گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در ٤C، ده دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. مایع رویی برداشته و با نسبت یک به ۰/۲Bisol اولیه با کلروفورم مخلوط و به مدت هر ۱٥ ثانیه یک‌بار به آرامی تکان داده شد و سپس محصول را به مدت ۱٥ دقیقه روی یخ قرار گرفت. محصول در ٤C، ۱٥ دقیقه، ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آلی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و هم حجم مایع رویی به آن ایزوپروپانل اضافه نموده و به مدت بیش از ۲۰ دقیقه در یخچال ۲۰- قرار داده تا RNA جدا سازی شود. در مرحله بعد محصول ر ابه مدت ۱۰ دقیقه، ۱۲۰۰۰g،٤C سانتریفیوژ نموده تا RNA رسوب کند. رسوب حاوی RNA در اتانول۷٥ درصد شستشو و در ۲۰µl آب فاقد RNAS-Free حل گردید. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده و نسبت ۲٦۰ به ۲۸۰ بین ۱/۸ تا ۲ به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. cDNA با استفاده از یک میکروگرم از

RNA و با استفاده از Reverse primers و آنزیم نسخه‌برداری معکوس انجام گرفت (جدول دو). Real-Time PCR با استفاده غلظت ۱۰۰نانو گرم از cDNA انجام گرفت (جدول سه). برنامه مورد استفاده در Real time شامل ۹٤^{o} به مدت ۵ دقیقه – ۹٤^{o} به مدت ٤۵ (باز شدن ٤۵ ثانیه) ، ٦۰^{o} به مدت ٤۵ ثانیه (جفت شدن) و۷۲^{o} به مدت ٤۵ثانیه (تکثیر) (تکرار ٤۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ اندازه‌گیری شد (۲۹،۳۰) .

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از این که نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K –S تأیید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری t مستقل و با استفاده از نرم‌افزار REST(permutation test) استفاده گردید. مقدار α در تمامی مراحل برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بیان ژن NHE1 و NBC1

کل تغییرات بیان ژنmRNA (NHE1 و NBC1) در گروه تحقیق مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل از طریق محاسبه ارزش RQ استاندارد شدند. نتایج تحقیق نشان داد که بیان ژن mRNA (NHE1) در گروه تمرینی ۸۰ درصد افزایش داشت که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود شکل(۱) ($P<0.05$). از طرف دیگر افزایش بیان NBC1 در گروه تمرینی به میزان ۵۰ درصد نسبت به گروه کنترل، موجب تغییر معنی‌دار در بین گروه‌ها نشد (شکل۲)($P<0.05$).

جدول ۱. مشخصات پروتکل تمرینی

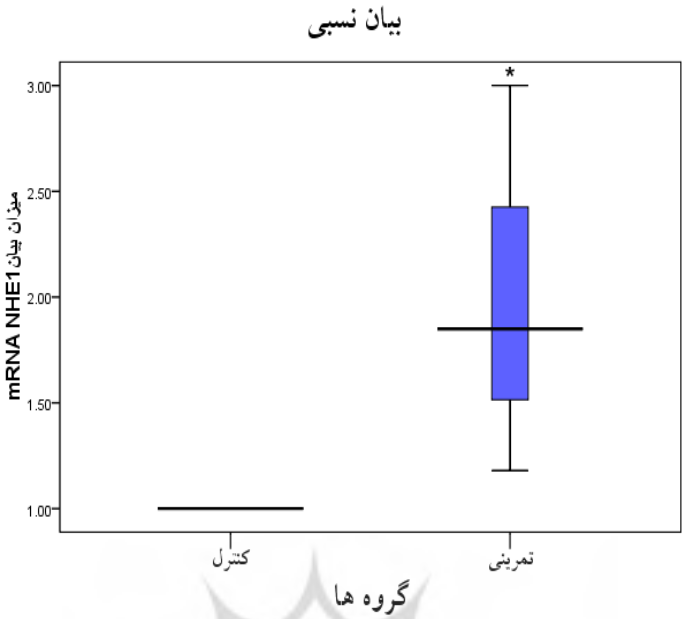
زمان	آشناسازی ۵ روز	هفته ۱	هفته ۲	هفته۳	هفته٤	هفته۵	هفته ۶	هفته۷
سرعت [m/min]	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت [min]	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

جدول۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

ژن	Forward primer	Reverse primer	Gene bank
NHE1	CACATCAATGAGCTGCTGC	GCTGGCAAACTCCTCAAAG	Slc9a1
NBC1	ACTCCCTTCATTGCCTTTG	CATGGTAGGACTTGGCTTTC	Slc4a4
18S	GTC GGC ATC GTT TAT GGT CG	GTTGGTTTTCGGAACTGAGGC	18s

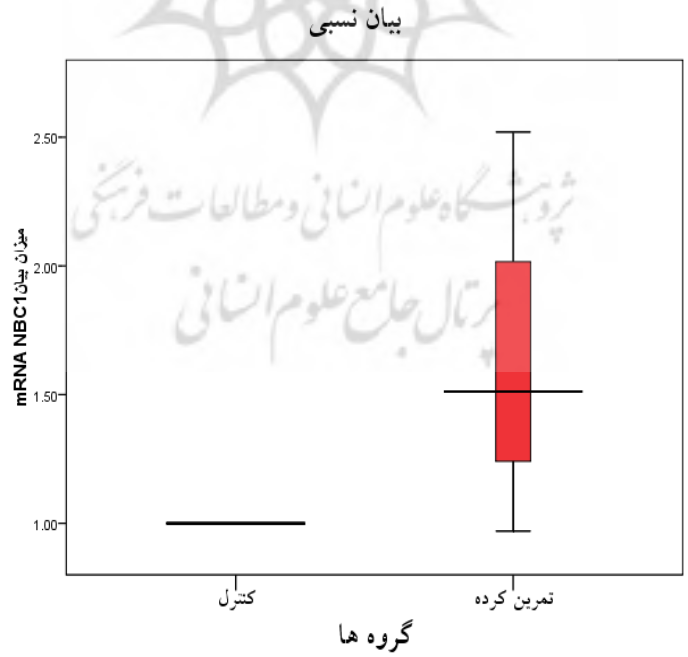
جدول ۳. اجزایPCR جهت تکثیر ژن

Product	Syber mix(µl)	Primers(µl)	Taq-polymerase(µl)	cDNA (µl)	ddH2O(µl)
NHE1	12.5	0.5	0.15	2	9
NBC1	12.5	0.5	0.15	2	9
18S	12.5	0 .5	0.15	2	9



شکل۱. میزان بیان ژن NHE1 در عضله قلبی گروه‌های تحقیق

*اختلاف معنی‌دار (P<0.05)، کنترل (n=6)، تمرینی (n=6)،



شکل۲. میزان بیان ژنNBC1 در عضله قلبی گروه‌های تحقیق

(P<0.05)، کنترل سالم (n=6) ، تمرینی (n=6)

بحث و نتیجه‌گیری

کنترل و تنظیم pH_i سلول قلب جهت حفظ انقباض‌های مکرر عضلانی و جلوگیری از آسیب درحین تمرین و فعالیت بدنی از اهمیت خاصی برخوردار است. درمطالعه حاضر مدل تمرین استقامتی به عنوان شرایط ایجاد کننده اسیدوز مورد استفاده قرار گرفت تا بیان ژن‌هایmRNA (NHE1 و NBC1)را مورد ارزیابی قرار دهد. تحقیق حاضر اولین تحقیقی است که اثرات بلند مدت تمرین استقامتی را بر بیان ژن‌هایmRNA (NHE1 و NBC1) در عضله قلب رت ، مورد بررسی قرار می‌دهد. مهمترین یافته‌های تحقیق این است که تمرین استقامتی می‌تواند بیان ژن‌های mRNA (NHE1 و NBC1) را در شرایط تمرین نسبت به شرایط کنترل افزایش دهد و این الگوی افزایش بیان مختص ترانسپورترهایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم‌تری را در تنظیم و نگهداری PH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند. مطالعه تغییرات NHE1 و NBC1 در عضله قلب فقط به تعدادی تحقیق در زمینه فعالیت و بیان پروتئین محدود می‌شود و در زمینه بیان ژن این انتقال‌دهنده‌ها در شرایط اسیدوز و اثر تمرین بر روی آن تحقیقات محدودی صورت گرفته است. افزایش بیان ژن‌هایmRNA (NHE1 و NBC1) در گروه تمرینی دلالت بر این دارد که بیان ژن این انتقال دهنده‌ها نیز تحت تاثیر تغییرات متابولیکی قرار می‌گیرند. همچنین نتایج این تحقیق نشان دادکه پاسخ انتقال‌دهنده‌های غشایی به شرایط اسیدوز ناشی از تمرین متفاوت می‌باشد و اطلاعات در این زمینه ضد و نقیض و وابسته به سطح فعالیت، محتوی پروتئین و بیان ژن می‌باشد. در تحقیق حاضر افزایش قابل توجه در بیان ژن‌هایmRNA (NHE1 و NBC1) در عضلات قلب گروه تمرینی دیده شد.

افزایش بیان ژن مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 در گروه تمرینی در تحقیق حاضر حاکی از اثرات تطابقی تمرین استقامتی بر متغیرهای درگیر در تنظیم PH درون سلولی در شرایط اسیدوز است. اغلب تصور بر این است که افزایش بیان ژن منجر به افزایش پروتئین می‌گردد اما فاکتورهای متعدد دیگری مانند تجزیه پروتئین، تغییرات پس ترجمه‌ای و ثبات RNA می‌توانند بر ارتباط بین ژن و پروتئین تاثیر بگذارند. البته ما در این تحقیق فقط تغییرات ژن را بررسی کرده‌ایم و اینکه بتوان نتیجه گرفت که افزایش mRNA این انتقال‌دهنده‌ها منجر به کنترل اسیدوز ناشی از تمرین می‌شود، خارج از حیطه این تحقیق است و تحقیق در مورد ارتباط بین بیان ژن و پروتئین به محققین بعدی توصیه می‌گردد. در تایید این موضوع راسموسن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی‌دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می‌شود.آنها همچنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی‌داری در بیان (NHE1) mRNA در عضلات اسکلتی کند می‌گردد اما این افزایش در سطح پروتئینNHE1 در عضلات اسکلتی معنی‌دار نبود (۲۹). بیان mRNA (NHE1) در پاسخ به تمرین استقامتی(۸۰ درصد افزایش) بیشتر از بیان mRNA (NBC1) (۵۰ درصد افزایش) در عضله قلبی گروه تمرین‌کرده بود (شکل یک و دو) . دلایل این افزایش را می‌توان به خصوصیات اکسیداتیوی عضله قلبی و نحوه توزیع و کنتیک فعالیت این انتقال‌دهنده‌ها در بافت قلب از یک طرف و همچنین شدت و نوع تمرین (استقامتی) از طرف دیگر نسبت داد (۳٤). پریجنت و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادند که مشارکت مبادله‌گر و انتقال‌دهنده NHE1 و NBC1 در خارج ساختن پروتونH^+ از سلول قلب در PH=6.90 به ترتیب ٦۹ و ۳۱ درصد است(۲۳). همچنین بروکس و همکاران نشان دادند که دویدن بر روی نوار گردان با شدت ٦۰ تا ۷۰ درصد VO_{2max} موجب تغییر قابل ملاحظه ای در سطوح لاکتات (4mmol/l) می‌گردد (۷). بدین منظورتمرین دویدن بر روی نوار گردان در تحقیق حاضر با این شدت انتخاب گردید (جدول یک). در نتیجه افزایش بیان mRNA (NHE1) نسبت بهmRNA(NBC1) در عضله قلب با توجه به خصوصیات اکسیداتیوی این عضله و همچنین کنتیک انتقال‌دهنده‌ها و از طرف دیگر شدت تمرین استقامتی به کار رفته در این تحقیق منطقی به نظر می‌رسد. این نتایج با نتایج تحقیق نیکویی و همکاران (۱۳۸۹) که نشان دادند تمرین استقامتی بیان ژن‌ها و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 عضلات اسکلتی در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است همسو می‌باشد (٤).

مکانیسم‌هایی که از طریق آن تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن مبادله‌گر و هم انتقال‌دهنده NHE1 و NBC1 می‌شود به خوبی مشخص نشده است اما اختلاف بین بیان ژن و پروتئین نشان‌دهنده تاثیر متغیرهای مداخله‌گر پس‌ترجمه‌ای

بر کنترل سنتز پروتئین می‌باشد. نتایج تحقیق راسموسن و همکاران، پریجنت و همکاران ، دارملا و همکاران و دیگر محققین موید این موضوع می‌باشد (۱۱،۲۹). از طرف دیگر تغییرات متابولیکی نیز می‌توانند به عنوان عوامل موثر پس-ترجمه‌ای در افزایش بیان این انتقال‌دهنده‌ها باشد. تمرین استقامتی موجب آزاد سازی کلسیم درون سلولی می‌گردد و کلسیم از طریق فعال کردن چندین مکانیسم به تغییرات در سطح mRNA وپروتئین ترانسپورترهای غشایی کمک می‌کند (۱۸). پیشنهاد شده است که ساختار ترانسپورتر NHE1 دارای دو جایگاه اختصاصی کالمودلین Ca^{2+}می‌باشد و پیوند کلسیم به این جایگاه‌ها موجب فعال‌شدن این ترانسپورتر می‌گردد و تمرین استقامتی می‌تواند از طریق افزایش کلسیم درون سلولی طی انقباض‌های مکرر به فعال‌شدن آن پاسخ دهد (۱۸).

در یک مطالعه برتراند و همکاران (۱۹۹٤) دو مسیر درون سلولی را برای کنترل فعالیت NHE1 از طریق کلسیم پیشنهاد دادند. مسیر اول از طریق پیوند مستقیم کلسیم/کالمودلین (Ca/CAM) به مبادله‌گر و مسیر دوم فسفوریلاسیون مبادله‌گر بوسیله کلسیم/کالمودلین وابسته به پروتئین کیناز دو می‌باشد (۷). لاگادیک گوسمان و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادندکه کاهش کلسیم درون سلولی ناشی از دیابت نوع دو موجب کاهش فعالیت مبادله‌گر NHE1 می‌شود (۲۱). علاوه بر این همچنین پریجنت و همکاران (۱۹۹٦) نشان دادند که فعالیتNBC1 در شرایط دیابت نوع دو با شرایط کنترل سالم تفاوتی ندارد (۲٤).پروتئین‌کینازC (PKC) دیگر فاکتور فعالیت ورزشی است که در تغییرات پروتئین‌های غشایی نقش دارد. پیشنهاد شده است که ترانسپورترهای NHE1 وNBC1 دارای جایگاه‌هایی هستند که توسط PKC فعال می‌شوند. در اثر فعالیت ورزشی و افزایش آزاد سازی کلسیم این کیناز نیز فعال می‌شود و می‌تواند نقش مهمی در فعال‌سازی وسنتز پروتئین-های غشایی NHE1 وNBC1 ایفا کنند (۱۸).

در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که که بیان ژن انتقال دهنده‌ها در گروه تمرینی افزایش قابل ملاحظه‌ای دارد و الگوی افزایش بیان ژن مختص انتقال دهنده‌هایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم‌تری را در تنظیم و نگهداری PH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند.

منابع

1. Ghaeini A A, Khaledi N, Ravasi A A, Sahebghadamlotfi A, Hedayati M, Arabkordi M and et al. The Response of skeletal muscle sarcomeric proteins to 8 week progressive resistance training in Sprague-Dawley rats. Olympic quarterly 2012 ;56(4):125-135.
2. Monazzami A, Rajabi H, Ghrakhanlou R. The effect of endurance training on skeletal muscle sodium bicarbonate cotransporter1(NBC1) and sodium proton exchanger1(NHE1) gene expression in rat. Sport Physiology 2014;22:55-68.
3. Nikoei R, Rajabi H, ghrakhanlou R, Omidfar K, Monazzami A A,Atabi F and et al. Modulation of skeletal muscle monocarboxylate cotrans-porter 1 (MCT1) and 4 (MCT4) gene expression in type 2 diabetic rats following endurance training. ijdld 2012;10(3):241-250.
4. Baker S, Karl JA, Mcculla GH, Bonen A. Training intensity-dependent and tissue-specific increasesin lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. J Appl Physiol 1998; 84:987-994.
5. Bertrand B, Wakabayashi S, Ikeda T, Pouyssegur J, Shigekawa M. The NaH exchanger isoform _NHE 1 is a novel member of thecalmodulin-binding proteins. Identification and characterization ofcalmodulin-binding sites. J Biol Chem 1994;269:13703–13709.
6. Brooks GA , White TP. Determination of metabolic and heart rat responses of rats to treadmill exercise. J Appl Physiol 1978; 45: 1009–1015.
7. Claire T, David B. Effect of High- Intensity Training on MCT1,MCT4 and NBC Expressions in Rat Skeletal Muscles:Influwnce of Chronic Metabolic Alkalosis. Am J Physiol End Met 2007;293:E916-E922.
8. Charles TP, Norman L, George N, Heigenhauser JF . Effects of short-term training on plasma acid–base balance during incremental exercise in man. Physiol 2003; 55: 585–603.
9. Danielle F. The regulation of intracellular pH in the diabetic myocardium. Cardio Res 1997; 34: 48–54.
10. Darmellah D. Enhanced activity of myocardial na/h exchanger contribute to left ventricular hypertrophy in GOTO-KAKIZAKIrat model of type 2 diabetes: critical role of Akt. diabetologia 2007 ; 50:1335-1344.
11. Fligel L. molecular biology of the myocardial Na/H exchanger . J Mol and Cell Cardio 2008;44 : 228–237.
12. Gan XT, Chakrabarti S, Karmazyn M. Modulation of Na+/H+ exchangeisoform 1 mRNA expression in isolated rat hearts. Am J Physiol 1999; 277:H993–8.
13. Grinstein S, Goetz JD, Rosthstein A. Na/H fluxes in thymiclymphocytes. II. Amiloride sensitive Na/H exchange pathway:reversibility of transport and asymmetry of the modifier site. J GenPhysiol 1984;84:585–600.

14. Jandeleit-Dahm K, Hannan KM, Farrelly, CA, Allen, TJ, Rumble JR, Gilbert RE and et al.Diabetes-induced vascular hypertrophy is accompaniedby activation of Na(+)–H(+) exchange and prevented by Na(+)–H(+)exchange inhibition. Circ Res 2000;87:1133–40.
15. Juel C. Muscle pH regulation: role of training. Acta Physiol Scand 1998; 162: 359-366.
16. Juel C. Regulation of PH in Human Skeletal Muscle : Adaptaion to Physical Activity. Acta Physiol 2008; 193:17-24.
17. Juel C. Training-induced changes in membrane transport proteins of humanskeletal muscle. Eur J Appl Physiol 2006 ;96: 627–635.
18. Juel C. Expression of The Na/H Exchanger Isoform NHE1 in Skeletal Muscle and Effect of Training . Acta Physiol Scand 2000;170:59-63.
19. Juel C, Mads KH, Dela F. Effect of Strenght Training on Muscle Lactate Release and MCT1 and MCT4 Content in Healthy and Type 2 Diabetic Humans.J Physiol 2004; 55:297-304.
20. Lagadic-Gossmann D, Buckler KJ, Le- Prigent K, Feuvray D. AlteredCa2 handling in ventricular myocytes isolated from diabetic rats. Am J Physiol 1996;270:H1529–H1537.
21. Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Intracellular sodium activity in papillary muscle from diabetic rat hearts. Exp Physiol 1991;76:147–149.
22. Le – Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Modulation byextracellular pH and intracellular calcium of Na/H exchange in diabetic rat isolated ventricular myocytes. Circ Res 1997;80:253–260.
23. Le -Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Na–HCO3 symport activity in diabetic ventricular myocytes. J Mol Cell Cardiol 1996;28:A67.
24. Norten A. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. Eur soc of cardio 2007; 14: 753-760.
25. Orchard CH, Kentish JC. Effects of changes in pH on the contractilefunction of cardiac muscle. Am J Physiol 1990;258:C967–C981.
26. Pierce GN, Ramjiawan B, Dhalla, NS, Ferrari, R. Na/H exchange incardiac sarcolemmal vesicles isolated from diabetic rats. Am JPhysiol 1990;258:H255–H261
27. Pierce GN, Slotin T, Fliegel L, Gilchrist JSC, Maddaford TG. Expression and activity of the sodium–hydrogen exchanger in cardiac sarcolemma in health and disease. In: Fliegel L, ed. TheNa/H Exchanger. Springer-Verlag 1996;217–228.
28. Rasmussen M, Juel C, Nordsborg B. Exercise-induced regulation of muscular Na_-K_ pump, FXYD1, and NHE1mRNA and protein expression: importance of training status, intensity,and muscle type.Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; 300:R1209-R1220.
29. Sandmann SYu, M, Kaschina E, Blume A, Bouzinova E, Aalkjaer C. Differential effects of angiotensin AT1 and AT2 receptors on theexpression, translation and function of the Na+–H+ exchanger and Na+–HCO3 − symporter in the rat heart after myocardial infarction. J Am CollCardiol 2001;37:2154–65.
30. Sharma AK, Srinivasan BP. Triple verses glimepiride plus metformin therapy on cardiovascular risk biomarkers and diabetic cardiomyopathy in insulin resistance type 2 diabetes mellitus rats. Euro J Pharm Scie 2009; 38: 433–444.
31. Van ZD. Diagnosis and Treatment of Diabetic Ketoacidosis. SA FAMPRAC 2008;50: 35-40.
32. Viswanad KB, Lydia A , Ramarao P.Combination of High-Fat-Diet-Fed and Low-Dose Streptocin-Treated Rat: A Model for Type 2 Diabetes and Pharmacological Screening Srinivasan. Pharm Res 2005; 52: 313-32.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

The effects of endurance training on myocardial sodium proton exchanger 1 (NHE1) and sodium bicarbonate cotransporter1 (NBC1) mrna expression in rats

Monazzami AA [1], Rajabi H[2], Shahbazi Nedar V[3]

1. University of Razi
2. Khawrazmi University
3. University of Payam Nur

Received: 2015/12/05 **Revised:** 2016/01/11 **Accepted:** 2016/03/01

Corrspondence:
Amir Abbas Monazzami,
Department of Physical Education and Sport Sciences, Kermanshah, Iran

Email:
monazzami.amirabbas@gmail.com

Abstract

Introduction: High intensity exercise training increases MCTs, NHEs and NBCs gene expression but the effect of endurance training on NHEs and NBCs gene and protein expression is uncertain. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of endurance training on myocardial NHE1 and NBC1 mRNA expressions in rat.

Methods: 20 male Wistar rats (4 weeks age and 93.7±9.8g in weight) were selected and randomly divided into control and training groups. The rats were exposed to endurance training for 7 weeks (20m/min and 20 min respectively) in the first week and reached to 30m/min and 35min gradually in the last week. NHE1 and NBC1 mRNA expressions were determined by Real time-PCR technique in myocardial preparation. To analyze the data, independent samples t-test and REST (permutation test) were employed.

Results: There was a significant increase in NHE1 mRNA in training group by 80% in comparison with the control group ($P<0.05$). Also, NBC1 mRNA expression was increased in trained group by 50% but it was not statistically significant at ($P<0.05$).

Conclusions: In conclusion, these result show that endurance training increases NHE1 NBC1 mRNA expression in myocardial in trained group and this pattern of increase in gene expression depends on transporter-type specifications that are metabolically important in intracellular pH regulation of the heart muscle.

Keywords: PH_i regulation, gene expression, Na/H exchanger, Na/HCO3 cotransporter , endurance training.