مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۷، شماره ۱/ فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴/ ۸۶-۷۸

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن فاکتور پاسخ سرم (srf) بطن چپ در موش‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی[۱]، رضا قراخانلو[۲*]، راضیه رضایی[۳]

[۱] گروه تربیت بدنی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران؛ [۲] گروه تربیت بدنی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ [۳] دانشجو، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۴

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

چکیده:

زمینه و هدف: **فعالیت استقامتی موجب تجدید ساختار قلب می‌شود و بیان بسیاری از ژن‌ها را القاء می کند، ضمن اینکه فاکتور رونویسی (Serum Response Factor= SRF) نقش مهمی در تجدید ساختار قلب در سطح سلولی بازی می‌کند، هدف این پژوهش بررسی اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن فاکتور پاسخ سرم *(srf)* بطن چپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود.**

روش بررسی: **در این مطالعه تجربی ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، بعد از آشناسازی با پروتکل تمرینی به صورت تصادفی به دو گروه شاهد و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه (۱۴ هفته‌ای) استقامتی را روی نوارگردان اجرا کرد و سپس ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی بی‌هوش و تشریح شدند، سپس قلب و بطن چپ آن ها خارج و با استفاده از روش Real time PCR میزان بیان ژن *srf* قلب آن ها اندازه‌گیری شد. با استفاده از آزمون آماری t، اطلاعات به دست آمده تحلیل شد.**

یافته‌ها: **شاخص‌های ارزیابی هایپرتروفی نشان داد که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن گروه تجربی (۲/۳±۰/۱۸) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۰۴۹±۰/۱۲) بیشتر بود (P<۰/۰۵). نسبت وزن بطن چپ به سطح رویه بدن در گروه تجربی (۰/۱۶۸±۰/۰۰۸) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۱۵۳±۰/۰۰۶) بیشتر بود (P<۰/۰۱). میانگین بیان ژن *srf* بطن چپ گروه تجربی به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل بود (P=۰/۰۰۶).**

نتیجه‌گیری: **تمرین استقامتی موجب افزایش هایپرتروفی و بیان ژن *srf* در بطن چپ موش‌های صحرایی تمرین کرده می‌شود که با توجه به نقش این ژن در تجدید ساختار قلب، به نظر می‌رسد افزایش آن نشانه‌ای از سازماندهی مجدد سارکومرهای قلب جهت سازگاری به تمرینات استقامتی است.**

واژه های کلیدی: **ژن فاکتور پاسخ سرم، تمرین استقامتی، قلب.**

مقدمه:

فعالیت‌های بدنی بر فرآیندهای سلولی تأثیر می‌گذارد و موجب تجدید ساختار در بسیاری از بافت‌های درگیر، از جمله بافت قلب می‌شود (۱). تجدید ساختار با افزایش کارآیی و عملکرد قلب همراه است (۲). فعالیت‌های ورزشی تجدید ساختار خاص خود را در قلب ایجاد می‌کند (۳)، به عنوان نمونه فعالیت های استقامتی موجب افزایش ابعاد داخلی بطن چپ و همچنین هایپرتروفی دیواره آن می‌شود (۴). تجدید ساختار در قلب مستلزم تغییر در فعالسازی بیان بسیاری از ژن هایی است که در ساختار و عملکرد قلب دخیلند (۵). از جمله ژن های درگیر در رشد و تکامل قلب خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی هستند که آن ها را MADS-Box می‌نامند (۶، ۷). فاکتور رونویسی SRF (Serum response factor) یکی از اعضای این خانواده است که در رشد، تمایز سلولی، انتقال نرونی، رشد و عملکرد عضلانی درگیر است. ژن‌های هدف SRF شامل یک یا چند کپی از

نویسنده مسئول: تهران- دانشگاه تربیت مدرس- گروه تربیت بدنی- تلفن: ۰۹۱۲۳۲۷۹۵۳۶، E-mail:ghara_re@modares.ac.ir

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

عناصر مشترک اتصالی به SRF (شناخته شده با عنوان CArG box) می‌باشند که معمولاً در پروموتر ژن‌های تنظیم‌کننده مسیرهای سیگنالینگ رشد، حرکت سلول و عناصر انقباضی قرار دارند (۸، ۹).

فاکتور رونویسی SRF از طریق اثر متقابل ترکیبی با دیگر فاکتورها، تنظیم‌کننده اصلی رونویسی است که تمایز سلول های عضلانی را تنظیم می‌کند. SRF با بسیاری از فاکتورها، به خصوص فاکتورهای مرتبط با عضلات در ارتباط است. به این صورت که در ناحیه پروموتر بسیاری از ژن‌های مرتبط با عضله جایگاه اتصالی برای SRF وجود دارد؛ مانند زنجیره سنگین میوزین α (Myosin Heavy Chain-α= αMHC) زنجیره سنگین میوزین β (βMHC) و سایر فاکتورها (۳). در قلب فاکتورهای MADS-Box از جمله SRF بیان ژن را در ارتباط با فاکتورهای رونویسی GATA (۱۰)، پروتئین هومئودومن Nkx2–5، میوکاردین (یک فعال کننده رونویسی) (۱۱) و برخی فاکتورهای دیگر تنظیم می‌کند (۱۲). SRF توسط فرآیندهای متعددی (مسیرهای انتقال سیگنالی، تعامل با دیگر فاکتورهای رونویسی و فاکتورهای تنظمی مایوژنیک) تنظیم می‌شود (۸) همچنین افزایش کلسیم درون‌سلولی نیز موجب فعالسازی آن می‌شود (۳).

دستکاری‌های ژنی و همچنین مهار آن در سطح پروتئین برخی از کارکردهای این فاکتور را نشان داده است به عنوان نمونه مشاهده شده که مهار SRF به وسیله تزریق آنتی‌بادی SRF (در سطح پروتئین) یا مهار آن در سطح بیان ژن، رشد عضله را سرکوب و تمایز میوبلاست‌ها به میوتیوب را مهار می‌کند (۱۳، ۱۴)؛ اما افزایش بیان SRF سبب میوکاردیوپاتی هایپرتروفیک در موش‌ها می‌شود؛ به طوری که ۶ ماه بعد از تولد این نوع موش‌ها می‌میرند (۱۵). همچنین مشخص شده که SRF مسئول تنظیم سازماندهی سارکومرها قلب است (۸) و برای فرآیند تمایز سلول‌های عضله قلب ضروری است (۱۶). فرآیند سازماندهی مجدد سارکومرها و همچنین تکثیر و تمایز سلول‌های عضلانی در زمان هایپرتروفی رخ می‌دهد (۱۷). فعالیت‌های بدنی از جمله عواملی است که موجب هایپرتروفی قلب می‌شود (۱۸). هرچند فعالیت‌های استقامتی موجب هایپرتروفی قلب به ویژه بطن چپ می‌شود و ژن *srf* در فرآیندهای سلولی قلب نقش بسزایی دارد؛ اما در مورد تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن *srf* هنوز پژوهشی صورت نگرفته است. با توجه به تأثیر این دو عامل (فعالیت استقامتی و ژن *srf*) بر خصوصیات ساختاری، عملکردی و ژنی بافت قلب انجام پژوهشی که رفتار این ژن را به فعالیت استقامتی در بطن چپ ارزیابی کند، ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف این پژوهش ارزیابی تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن *srf* در بافت قلب بود.

روش بررسی:

در این پژوهش تجربی اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی بر بیان ژن *srf* عضله قلب ارزیابی شد. بدین منظور ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همه آن ها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص موش، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما ۳±۲۲ درجه سانتی گراد) به صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن موش‌ها ۲۴±۲۳۱ گرم بود. سپس یک دوره آشناسازی (۱۰-۵ روزه) با تمرینات استقامتی (دویدن روی تردمیل) آغاز شد. در پایان جلسات آشناسازی، موش‌ها به صورت تصادفی به ۲ گروه (۱۰ سر به عنوان گروه شاهد و ۱۰ سر دیگر به عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. از موش‌های گروه تمرینی ۳ سر نتوانست پروتکل را به پایان برسانند. از آنجایی که در روش Real time (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشند، با حذف سه سر از موش‌های گروه کنترل (به طور تصادفی) تعداد نهایی موش‌ها به ۱۴ سر (۷ سر شاهد و ۷ سر تجربی) کاهش یافت.

با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل تمرین استقامتی برای موش‌ها طراحی شد(۱۹، ۲۰)، به طوری که

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

منجر به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از تمرینات استقامتی شود. پروتکل(۱۴ هفته، هفته‌ای ۶ روز) گروه تمرینی 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 موش‌ها 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 ۳-۱ هر جلسه ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد) به طوری که در پایان جلسه ۲۳ مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید که با احتساب ۵ دقیقه گرم‌کردن و ۵ دقیقه سردکردن، مدت زمان کلی ۶۰ دقیقه بود. شدت تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه شروع شد. سپس هر هفته ۲ متر بر دقیقه به سرعت اضافه شد 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 تقریبا 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 بعدازظهر هر روز اعمال می‌شد.

در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی موش‌ها با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به طوری که موش به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، قلب موش‌ها تحت شرایط استریل خارج و بطن چپ آن ها توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت مورد نظر (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. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن بافت‌ها، همه آن ها در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند سپس با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن شدند.

تحقیقات متعدد برای ارزیابی میزان هایپرتروفی قلب از ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن کل قلب، وزن بدن (۲۱) و سطح رویه بدن استفاده کرده‌اند (۲۲)؛ بنابراین برای تأیید 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 سطح رویه بدن (Body Surface Area= BSA) اندازه‌گیری شد (۲۳). سپس قلب حیوان خارج و بطن چپ نیز جدا شد که هر دوی آن ها (قلب و بطن) به طور جداگانه با دقتی تا ۴رقم اعشار با ترازوی دیجیتال (A&D ساخت کشور ژاپن) وزن شدند. BSA موش‌ها با استفاده از فرمول زیر برآورد شد (۲۳). برای محاسبات مورد نظر از برنامه Excel استفاده شد.

$$BSA=6.67\times W0.7\times[0.34/(\sqrt[3]{W/L})]$$

W= (گرم) وزن بدن؛ L= (سانتی متر) طول بدن

مجوز این پژوهش توسط کمیته اخلاق دفتر حمایت از طرح‌های پژوهشی دفتر ریاست جمهور صادر شد (شماره طرح ۹۰۰۰۳۷۲۴). در زمان ارائه برنامه تمرینی موش‌هایی که نمی‌توانستند دوره تمرینی را ادامه دهند؛ کنار گذاشته شدند.

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط‌کردن کامل (پیپتاژکردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد. سپس ۲/ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه و پس از پیپتاژ (۱۵ ثانیه) حدود ۲ تا ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ (شرکت eppendorff) شدند؛ سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم‌زدن ملایم در دمای ۲۰- باقی ماندند (overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفیدرنگ در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل مشاهده بود. با سمپلر (شرکت eppendorff) مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۷۵۰۰ سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده‌شد تا باقیمانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت eppendorff) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود.

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ترموساینتفیک (Thermo Scientific) استفاده شد و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک Real Time PCR، میزان کارآیی ژن رفرنس (gapdh) و ژن هدف (*srf*) بررسی شد که میزان کارآیی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی ۱ بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت Applied Biosystem استفاده شد. SYBR green master mix استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا (Cat # RR820L) بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی ترکیبی از master mix۵µL، ۱µLپرایمر (جدول شماره ۱)، cDNA۱µL و ۳µL آب مقطر در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run (۴۰ سیکلی) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت Applied Biosystem نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (gapdh)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و *srf* همزمان (در یک Run) ارزیابی شد. نمونه‌ها به صورت دوتایی ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه میانگین آن ها محاسبه شد. لازم به ذکر است در برخی موارد نیاز بود که test مجدداً تکرار شود که در صورت نیاز تست تکرار می‌شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار Excel طبق فرمول 2-ΔΔct میزان بیان ژن *srf* محاسبه شد (۲۴).

داده‌های به دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به صورت CT (میانگین CT برای هر نمونه) بودند. با استفاده از نرم افزار Excel به ΔΔct تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول 2-ΔΔct اعداد نهایی به دست آمد. با انتقال این اعداد به نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ ابتدا نرمال‌بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد و مشخص شد که داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند. بعد از تعیین نرمال‌بودن، برای تعیین اختلاف میانگین گروه تجربی از گروه کنترل (که عدد ۱ بود) از آزمون t تک نمونه استفاده شد.

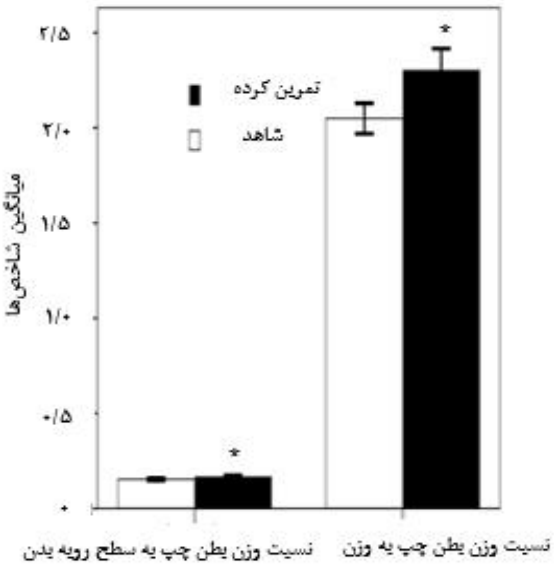
جدول شماره ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

ژن ها	توالی ۵`-۳`		NCBI Reference Sequence	اندازه محصول
gapdh	**AACCCATCACCATCTTCCAG**	**F**	**NM_017008.4**	۷٤
	CACGACATACTCAGCACCAG	**R**		
srf	**CACCTCCACAATCCAAACAG**	**F**	**NM_001109302.1**	۸۹
	GTGCCAGGTAGTTGGTGATG	**R**		

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

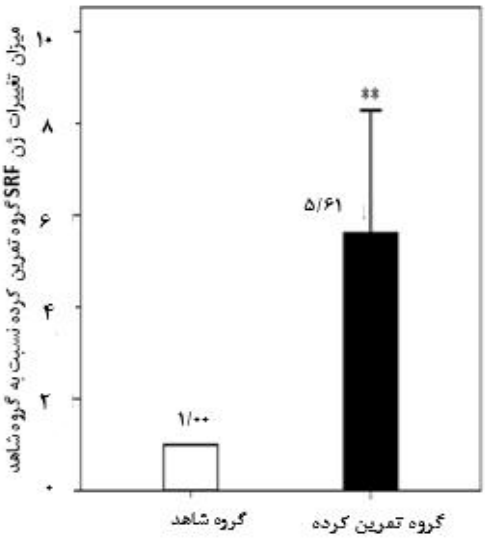
یافته‌ها:

نتایج نشان داد، در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی هایپرتروفی در بطن چپ رخ می‌دهد که این هایپرتروفی توسط ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن تأیید شد. شاخص‌های وزنی نشان داد که وزن قلب و بطن چپ جدا شده گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل است، به این صورت که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن گروه تجربی(۲/۳±۰/۱۸) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۰۴۹±۰/۱۲) بیشتر بود (P<۰/۰۵، نمودار شماره۱) و نسبت وزن بطن چپ به سطح ریه بدن در گروه تجربی (۰/۱۶۸±۰/۰۰۸) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۱۵۳±۰/۰۰۶) بیشتر بود (P<۰/۰۱، نمودار شماره۱). نتایج آزمون t نشان داد که میانگین بیان ژن *srf* قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی ۵/۶۱ برابر افزایش می‌یابد (P=۰/۰۰۶، نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱: افزایش میانگین نسبت‌های وزن بطن چپ به سطح رویه بدن و وزن بدن در گروه شاهد (ستون‌های سفید) و تمرین‌کرده (ستون‌های سیاه) موید هایپرتروفی ناشی از تمرین استقامتی است.

**معنی‌داری در سطح P≤۰/۰۵، **معنی‌داری در سطح P≤۰/۰۱*



نمودار شماره ۲: تأثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن *srf* عضله بطن چپ در گروه شاهد و تجربی

***تفاوت میانگین گروه‌ها (تجربی و شاهد) در سطح P≤۰/۰۱*

بحث:

این پژوهش با هدف بررسی اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن *srf* انجام شد. نتایج آن نشان داد که فعالیت استقامتی به طور معنی‌داری موجب افزایش بیان ژن *srf* در بافت بطن چپ می‌شود، که این موضوع با هایپرتروفی قلب همراه بود. فاکتور رونویسیSRF مسئول تنظیم سازماندهی سارکومرها در قلب است(۸) و هم چنین برای پروسه تمایز سلول‌های عضله قلب ضروری است (۲۵). ژن‌های هدف فاکتور SRF یک یا چند کپی از عناصر مشترک اتصالی به SRF هستند که معمولا در پروموتر ژن‌های تنظیم کننده عناصر انقباضی قرار دارند(۸، ۹). بنابراین بسیاری از ژن‌ها که مسئول هایپرتروفی عضله هستند در توالی افزاینده (Enhancer) و پروموترشان جایگاه‌های ویژه‌ای برای اتصال SRF دارند، مانند ANF و آلفا اکتین عضله اسکلتی، βMHC، αMHC. این نشان می‌دهد که SRF در کنترل بسیاری از ژن‌های بافت قلب تاثیرگذار است. افزایش بیان SRF موجب القای هایپرتروفی عضله می‌شود (۱۵) چیزی که در اثر فعالیت‌های استقامتی رخ می‌دهد که با افزایش اندازه حفره‌ها قلب همراه است(۲). اخیرا مشخص شده که

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

SRF بیان چندین miRNAs از جمله miR-1 و miR-133 را تنظیم می‌کند (۲۶). تحقیقی که تاثیر فعالیت‌های استقامتی بر بیان ژنSRF قلب را اندازه‌گیری کند، مشاهده نشد. اما در پژوهشی گزارش شد که فعالیت استقامتی (سه هفته تمرین یک پا در نمونه‌های انسانی) موجب افزایش ۶۰ درصدی فسفوریلاسیون SRF عضله اسکلتی می‌شود، در صورتی که تاثیری بر میزان بیان mRNA آن در عضله اسکلتی ندارد (۲۷). که بر خلاف نتیجه این پژوهش بود که نشان داد میزان بیان ژن *srf* در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی ۵/۶ برابر افزایش داشت. Zhang و همکاران گزارش کرد که افزایش بیان ژن *srf* (مداخلات ژنتیکی) موجب افزایش نارسایی و گشاد شدن حفره‌ها و افزایش رسوب کلاژن و فیبروزی شدن قلب می‌شود (۱۵). اما در پژوهش Soci و همکاران دیده شده که فعالیت استقامتی موجب کاهش میزان کلاژن بافت قلب می‌شود (۲۸)؛ که با نتایج تحقیق Zhang و همکاران تناقض دارد. اما همانطور که ذکر شد نتیجه پژوهش Zhang و همکاران از مداخلات ژنتیکی مانند ترانس ژنیک منتج شد، که یک افزایش مداوم و بی‌وقفه را القاء می‌کند؛ اما فعالیت‌های بدنی با استراحت‌های متناوب همراه است، بنابراین برخی محرک‌ها که موجب بهبود وضعیت قلب در اثر فعالیت‌های استقامتی می‌شود احتمالاً در دوره‌ی استراحت یعنی بعد از فعالیت‌های شدید بدنی، شرایط سازگاری را بهبود ببخشند و در نتیجه فرصت برای انطباق مناسب با محرک‌ها در اختیار بافت قلب وجود دارد. در نتایج Fathi و همکاران دیده شد که قطر حفره بطن چپ قلب در مرحله پایان دیاستولی افزایش می‌یابد (۲۹) که این افزایش از نشانه‌های سازگاری قلب به تمرینات استقامتی است. شاید افزایش بیان ژن *srf* در این تحقیق به این دلیل باشد که بخشی از افزایش طول سارکومرها ناشی از بیان افزایش یافته SRF باشد، زیرا همانطور که گفته شد، این فاکتور در سازماندهی سارکومرها در قلب و پروسه تمایز سلول‌های عضله قلب نقش دارد (۲۵)، ضمن اینکه فعالیت‌های استقامتی افزایش ابعاد داخلی بطن چپ را القاء می‌کنند (۳۰). نکته دیگر که به آن باید اشاره کرد تأثیر SRF بر هایپرتروفی قلب است شاید بخشی از هایپرتروفی قلب در اثر فعالیت‌های بدنی ناشی از تأثیر SRF باشد، البته در این مورد باید جانب احتیاط را نگه داشت، زیرا نتیجه این پژوهش افزایش بیان ژن *srf* را تأیید کرد نه میزان پروتئین که در حقیقت واحد عملکردی آن است. حد فاصل بین بیان ژن و پروتئین SRF سرکوب‌کننده‌هایی بیان ژن مانند miRs قرار دارند که با اتصال به mRNAs از ترجمه آن ها جلوگیری می‌کنند (۳۱). همچنین ژن *srf* تحت تأثیر miR-133 قرار می‌گیرد (۳۲) و میزان پروتئین آن را تعدیل می‌کند، البته این مستلزم آن است که میزان این miR افزایش یابد تا از ترجمه آن جلوگیری کند. این پژوهش جزو اولین پژوهش‌ها در این زمینه است؛ بنابراین قبل از ارائه پیشنهادات بالینی و کاربردی، پژوهشی پیشنهاد می‌گردد که میزان پروتئین این ژن را در قلب در اثر فعالیت‌های استقامتی و مقاومتی اندازه‌گیری شود. همچنین برای مقایسه بهتر تغییرات این ژن (در هایپرتروفی فیزیولوژی و پاتولوژی قلب) نیاز است که میزان بیان آن (در سطح پروتئین و ژن) در هایپرتروفی نوع پاتولوژیک اندازه‌گیری شود.

نتیجه‌گیری:

شاخص‌های ارزیابی تغییرات ساختاری در قلب مانند نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن نشان داد که فعالیت استقامتی هایپرتروفی قلب را القاء می‌کند که این موضوع با افزایش بیان ژن srf همراه بود، با توجه به نقش این ژن به نظر می‌رسد افزایش آن تلاشی است برای سازماندهی مجدد سارکومرها جهت انطباق بطن چپ به اضافه‌بار اعمال شده توسط تمرینات استقامتی باشد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش (با شماره ۹۰۰۰۳۷۲۴) با منابع مالی دفتر حمایت از طرح های پژوهشی ریاست جمهور انجام شد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

منابع:

1. Haykowsky MJ, Liang Y, Pechter D, Jones LW, McAlister FA, Clark AM. A meta-analysis of the effect of exercise training on left ventricular remodeling in heart failure patients: the benefit depends on the type of training performed. J Am Coll Cardiol. 2007; 49(24): 2329-36.
2. Weiner RB, Baggish AL. Exercise-induced cardiac remodeling. Prog Cardiovasc Dis. 2012; 54(5): 380-6.
3. Chai J, Tarnawski AS. Serum response factor: discovery, biochemistry, biological roles and implications for tissue injury healing. J Physiol Pharmacol. 2002; 53(2): 147-57.
4. Rawlins J, Bhan A, Sharma S. Left ventricular hypertrophy in athletes. Eur J Echocardiogr. 2009; 10(3): 350-6.
5. Li ZB, Gao YQ, Tang ZS. Differential expression of cardiac immediate early and late response gene in exercise-induced and hypertensive cardiac hypertrophic remodeling. Sheng Li Xue Bao. 1998; 50(5): 551-6.
6. McCulley DJ, Black BL. Transcription factor pathways and congenital heart disease. Curr Top Dev Biol. 2012; 100: 253-77.
7. Wu Y, Dey R, Han A, Jayathilaka N, Philips M, Ye J, et al. Structure of the MADS-box/MEF2 domain of MEF2A bound to DNA and its implication for myocardin recruitment. J Mol Biol. 2010; 397(2): 520-33.
8. Sun Q, Chen G, Streb JW, Long X, Yang Y, Stoeckert CJ JR, et al. Defining the mammalian CArGome. Genome Res. 2006; 16(2): 197-207.
9. Zhang SX, Garcia-Gras E, Wycuff DR, Marriot SJ, Kadeer N, Yu W, et al. Identification of direct serum-response factor gene targets during Me2SO-induced P19 cardiac cell differentiation. J Biol Chem. 2005; 280(19): 19115-26.
10. Sepulveda JL, Vlahopoulos S, Iyer D, Belaguli N, Schwartz RJ. Combinatorial expression of GATA4, Nkx2-5, and serum response factor directs early cardiac gene activity. J Biol Chem. 2002; 277(28): 25775-82.
11. Pipes GC, Creemers EE, Olson EN. The myocardin family of transcriptional coactivators: versatile regulators of cell growth, migration, and myogenesis. Genes Dev. 2006; 20(12): 1545-56.
12. Van Rooij 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(5824): 575-9.
13. Soulez M, Rouviere CG, Chafey P, Hentzen D, Vandromme M, Lautredou N, et al. Growth and differentiation of C2 myogenic cells are dependent on serum response factor. Mol Cell Biol. 1996; 16(11): 6065-74.
14. Gauthier-Rouviere C, Vandromme M, Tuil D, Lautredou N, Morris M, Soulez M, et al. Expression and activity of serum response factor is required for expression of the muscle-determining factor MyoD in both dividing and differentiating mouse C2C12 myoblasts. Mol Biol Cell. 1996; 7(5): 719-29.
15. Zhang X, Azhar G, Chai J, Sheridan P, Nagano K, Brown T, et al. Cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of serum response factor. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2001; 280(4): H1782-92.
16. Van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. Trends Genet. 2008; 24(4): 159-66.
17. Charge SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. Physiol Rev. 2004; 84(1): 209-38.
18. Drazner MH. The progression of hypertensive heart disease. Circulation. 2011; 123(3): 327-34.
19. 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(6): H2994-3002
20. 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(1-2): 39-44.
21. Zhu SS, Ma JZ, Yong YH, Niu J, Zhang JN. Left ventricular function in physiologic and pathologic hypertrophy in Sprague–Dawley rats. Sci Spor. 2008; 23: 299-305.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

22. 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(6): 641-6.
23. Farriol M, Rossello J, Schwarz S. Body surface area in Sprague-Dawley rats. J Anim Physiol Anim Nutr. 1997; 77(1-5): 61-5.
24. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C (T)) Method. Methods. 2001; 25(4): 402-8.
25. Van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. Trends Genet. 2008; 24(4): 159-66.
26. Zhao Y, Ransom JF, Li A, Vedantham V, von Drehle M, Muth AN, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2. Cell. 2007; 129(2): 303-17.
27. Rose AJ, Frosig C, Kiens B, Wojtaszewski JF, 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(Pt 2): 785-95.
28. Soci UP, Fernandes T, Hashimoto NY, Mota GF, Amadeu MA, Rosa KT, 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.
29. Fathi M, Gharakanlou R, Abroun S, Mokhtari-Dizaji M, Rezaei R. The evaluation of cardiac changes following endurance training in male Wistar rats. Yafteh. 2014; 15 (5): 112-123.
30. Hoogsteen J, Hoogeveen A, Schaffers H, Wijn PF, van Hemel NM, van der Wall EE. Myocardial adaptation in different endurance sports: an echocardiographic study. Int J Cardiovasc Imaging. 2004; 20(1): 19-26.
31. Catalucci D, Latronico MV, Condorelli G. MicroRNAs control gene expression: importance for cardiac development and pathophysiology. Ann N Y Acad Sci. 2008; 1123: 20-9.
32. Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu Q, Callis TE, Hammond SM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. Nat Genet. 2006; 38(2): 228-33.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2015 Apr, May; 17(1): 78-86 *Original article*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 8:29 +0430 on Saturday August 26th 2017

The effect of endurance training on left ventricle serum response factor gene expression in Wistar male rats

Fathi M[1], Gharakanlou R[2*], Rezaei R[3]
[1]Physical Education Dept., Lorestan University, Khorramabad, I.R. Iran; [2]Physical Education Dept., Tarbiat Modares University, Tehran, I R. Iran; [3]Student, Shahid Chamran University, Ahwaz, I.R. Iran.
Received: 27/Jan/2014 Accepted: 14/Jun/2014

Background and aim: Endurance training causes cardiac remodeling and also induces genes expression. Meanwhile, the serum response factor (SRF) is a transcription factor which plays an important role in the remodeling of myocardium at the cellular level. The aim of this study was to investigate the effect of endurance training on cardiac expression of SRF gene in wistar male rats.
Methods: In this experimental study, 14 wistar male rats which were maintained under controlled conditions [temperature, light/dark (12:12) cycle, with ad Libitum access to food and water] were randomly assigned to control and Experimental groups, after the familiarization process. The experimental group performed (a 14 -week) endurance training program on motorized treadmill, and 48 hours after the end of the last session were anesthetized and sacrificed. The left ventricle of the heart was removed. To determine the expression levels of srf gene, Real time RT-PCR method was used and collected data were evaluated using t-test.
Results: The hypertrophy evaluation indexes showed that the ratio of left ventricle to the body weight in experimental group (2.3±0.18) was significantly (p=0.05) higher compared to control group (2.049±0.12) and the ratio of left ventricle to body surface area in experimental group (0.168±0.008) was significantly (p=0.01) higher compared to control group (0.153±0.006). Finally the mean of srf gene expression level of left ventricle in experimental group was significantly (p=0.006) higher than control group.
Conclusion: Given to the role of this gene in heart remodeling and obtained results that showed endurance training induce cardiac hypertrophy and increase of srf gene expression in left ventricle of trained wistar rats, It seem increase in srf gene expression is a sign for sarcomeres reorganization for adaptation to endurance training.

Keywords: Serum response factor, Endurance training, Heart**.**

Cite this article as: Fathi M, Gharakanlou R, Rezaei R. The effect of endurance training on left ventricle serum response factor gene expression in Wistar male rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(1): 78-86.

[*]Corresponding author:
Physical education Dept., Tarbiat Modares University, Tehran, I R. Iran. Tel: 00989123279536, Email: ghara_re@modares.ac.ir