مجلـه‌ی علمـی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۰، شماره‌ی ۸۱، مهر و آبان ۱۳۹۱، صفحات ۲۸ تا ۳۶

تاثیر دویدن اجباری هوازی کوتاه مدت بر بیان ژن‌های miR-۱۲٤ و RE۱-Silencing Transcription Factor در هیپوکامپ موش‌های صحرایی نر بالغ

شیما مجتهدی[۱]، دکتر محمدرضا کردی[۲]، دکتر مسعود سلیمانی[۳]، سیدابراهیم حسینی[٤]

نویسنده‌ی مسئول: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده‌ی تربیت بدنی گروه فیزیولوژی ورزشی shmojtahedi@ut.ac.ir

دریافت: ۹۰/۱۱/۹ پذیرش: ۹۱/۲/۱٤

چکیده

زمینه و هدف: *فاکتورهای رونویسی و microRNAs، خانواده‌های بزرگ در تعامل با هم و مولکول‌های تنظیم کننده‌ی ژن در ارگانیسم‌های چند سلولی هستند. هدف ما در این مطالعه بررسی اثر دویدن هوازی کوتاه مدت بر میزان بیان ژن RE۱-Silencing Transcription Factor/Neuron-Restrictive Silencer Factor و microRNA-۱۲٤ در هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر بالغ بود.*

روش بررسی: *۱۲ سر موش صحرایی نر بالغ ۸ هفته با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۵ گرم، به‌دنبال یک هفته آشناسازی با دستگاه نوار گردان، به صورت تصادفی به ۲ گروه کنترل (n=٦) و تمرین (n=٦) تقسیم شدند. در گروه تمرین حیوانات به مدت ۲ هفته برای ۱٤ روز متوالی و ۳۰ دقیقه در روز با شدت ۲۵ متر بر دقیقه دویدند. ۲٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی حیوانات قربانی شدند و هیپوکمپ آن‌ها از هر دو نیمکره‌ی مغز جهت انجام آزمایشات بعدی برداشته شد. تغییرات بیان با استفاده از تکنیک Quantitave RT-PCR آنالیز شد.*

یافته‌ها: *نتایج حاصل از آزمون t مستقل نشان داد که در بیان متغیرها در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل، به لحاظ آماری، تفاوت معنی‌داری در سطح (P≤۰/۰۵) وجود دارد و ورزش بیان microRNA-۱۲٤ را افزایش و RE۱-Silencing Transcription Factor را به‌طور معنی‌داری کاهش داد.*

نتیجه‌گیری: *در مجموع یافته‌های این پژوهش نشان داد که دویدن با شدت ۲۵ متر بر دقیقه می‌تواند باعث تغییراتی مثبت در برخی مکانیسم‌های درگیر در روند نورون زایی متاثر از ورزش شود.*

واژگان کلیدی: دویدن، miR-۱۲٤، REST/NRSF، بیان ژن، هیپوکامپ، موش صحرایی بالغ

مقدمه

نورون‌زایی در افراد بالغ در دو ناحیه‌ی زیر گرانولی (Sub Granular Zone) جیروس دندان‌های (Dentate Gyrus) هیپوکمپ و زیر بطنی (Sub Ventricular Zone) پیاز بویایی در مغز اتفاق می‌افتد. این دو ناحیه، مخزن اصلی سلول‌های بنیادی مغز در افراد بالغ هستند. سلول‌های بنیادی عصبی بالغ، سلول‌های تمایز نیافته‌ای هستند که در مغز بالغ

۱-کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران
۲- دکترای فیزیولوژی ورزشی، دانشیار دانشگاه تهران ۳- دکترای هماتولوژی، دانشیار دانشگاه تربیت مدرس
٤- کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزشی، مربی دانشگاه آزاداسلامی واحد سبزوار

Archive of SID
www.SID.ir

وجود دارند و توانایی تکثیر و تمایز به گلیاها و نورون‌های جدید را دارا می‌باشند (۱). پس از شناخت این سلول‌ها تحقیقات بسیاری در زمینه‌ی استفاده‌ی بهینه از سلول‌های بنیادی در درمان ضایعات نخاعی و بیماری‌های تخریب کننده‌ی اعصاب نظیر آلزایمر و هوچینکسون در مدل‌های انسانی و حیوانی صورت گرفته است که امید است زمینه ساز درمان اینگونه بیماری‌ها در آینده باشد (۳و۲).

در پی کشف این یافته‌ها هنریت ون پراگ و همکارانش در سال ۱۹۹۹موفق به کشف پدیده‌ی نورون‌زایی هیپوکمپال در اثر فعالیت بدنی در موش‌های C٥٧BL/٦ بالغ شدند (٤). از آن زمان تاکنون پژوهش‌های بسیاری در زمینه‌ی تحریک نورون‌زایی از طریق محیط‌های غنی شده، فعالیت بدنی و تکالیف مربوط به حافظه و یادگیری انجام گرفته است (٦و٥). همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که روند پیری منجر به کاهش نورون‌زایی در جیروس دندانه‌ای می‌شود (۷و٥). عمده‌ی این تحقیقات در زمینه‌ی تاثیر جنبه‌های مختلف تمرین از لحاظ شدت، مدت و میزان مسافت طی شده در طول دوره‌ی تمرینی انجام شده است. از آنجایی که، در این پژوهش‌ها تمرکز تحقیق بر میزان افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی از طریق نشان‌دار کردن سلول‌ها با BrdU (٥-Bromo-٢'-Deoxyuridine)، نوکلئوزید سنتزی که جهت شناسایی سلول‌های تکثیر شده در بافت‌های زنده به کار می‌رود و یا بررسی تغییر مقادیر کمی مارکرهای نورونی و گلیا یی نظیر NeuN (Antigenneuronal Nuclear) و GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) بوده است؛ لذا دلیل و مکانیسم نورون‌زایی افزایش یافته تحت تاثیر ورزش کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از این رو و با توجه به نوظهور بودن پدیده‌ی افزایش نورون‌زایی هیپوکمپال تحت تاثیر تحریک invivo ورزش، حلقه‌های گمشده‌ی دیگری نیز در خصوص مکانیزم اثر ورزش بر میزان نورون‌زایی قطعاً وجود خواهد داشت که درک این وقایع محقق را بر آن داشت تا به سمت دیگر پیشرفت مهم سال‌های اخیر که کشف اثرات گسترده و موثر RNAs رمزگذاری نشده (Non Coding RNAs) که مهم‌ترین دسته‌ی آن‌ها microRNAs می‌باشند، سوق یابد.

احتمالا هنگامی که ماهیت سلول‌ها تغییر می‌کند و تغییر شکل‌های مخربی در تمایز سلول‌های بنیادی رخ می‌دهد microRNAs وارد عمل می‌شوند. تا کنون بیش از ۷۰۰ microRNA در ژنوم انسان شناسایی شده است و محاسبات کامپیوتری زیادی هدف‌های آن‌ها را تخمین زده‌اند. این RNAs کوچک رمز گذاری نشده (۲۱-۲۲ نوکلئوتید) با ناحیه‌ی ´۳ ترجمه نشده‌ی mRNAs هدف باند شده و ترجمه‌ی آن‌ها را سرکوب می‌کنند. این جز کوچک که بخشی از جفتی mRNA/miRNA است، اجازه می‌دهد تا ژن‌های متعددی هدف قرار داده شوند که ممکن است در تنظیم روندهای رایج در سلول سهیم باشند (۸). microRNAs تنظیم کننده‌های بیان ژن در سطح پس از رونویسی هستند و نقش‌های مهمی در روندهای هموستازی نظیر تکثیر سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلول‌ها دارند (۹). همچنین از مهم‌ترین نقش آن‌ها پاسخ به تحریکات و سازش جاندار با این تحریکات است که ورزش نیز در زمره‌ی این تحریکات قرار دارد (۱۰). لوییز و همکارانش (۲۰۰۵) پیشنهاد کردند که بیشتر از ۱/۳ از همه‌ی ژن‌های انسانی ممکن است توسط miRNAs تنظیم شوند. عمده‌ی miRNAs پستانداران به نوعی حالت موضعی و یا اختصاصی در بافت میزبان خود دارند. مغز، microRNAs پیچیده‌تر و ویژه‌ای را نسبت به سایر اندام‌ها بیان می‌کند. یکی از این microRNAs ویژه miR-١٢٤ است که مغز از آن غنی می‌باشد. MiR-١٢٤، microRNA اختصاصی مغز است که در هیپوکمپ، ناحیه‌ای که از فعالیت بدنی، از نقطه نظر تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی، بسیار تأثیر می‌پذیرد، شناسایی شده است (۱۱). این microRNA فراوان‌ترین miRNA در مغز

Archive of SID
www.SID.ir

پستانداران بالغ است که ۲۵ تا ٤۸ درصد از ۷۰ درصد miRNAs مغز را شامل می‌شود. هر microRNA دارای هدف‌های ژنی خاصی است، زیرا نوکلئوتیدهای ساقه‌ی microRNA تنها با ناحیه‌ی '۳ ترجمه نشده‌ی mRNAs خاصی جفت می‌شوند و بیان آن را کاهش می‌دهند. از این رو miR-۱۲٤ نیز از طریق سرکوب برخی از ژن‌ها سلول بنیادی را در جهت تمایز به عصب پیش می‌برد و نقش مهمی را در تمایز عصبی ایفا می‌کند (۱۲). در مطالعه‌ای روی ناحیه‌ی زیر بطنی نشان داده شد که در سلول‌های بنیادی با افزایش سطح بیان miR-۱۲٤ رفته رفته از میزان بیان برخی ژن‌ها از جمله REST (RE-۱ Silencing Transcription Factor) که یک سرکوب‌گر بالقوه‌ی تمایز عصبی است، کاسته می‌شود و در نهایت در نورون تمایز یافته سطح miR-۱۲٤ بسیار بالا بوده، سطح ژن REST کمترین میزان را دارد، همچنین در این تحقیق ثابت شده است که می‌توان از افزایش سطح miR-۱۲٤ به عنوان یک شاخص مطمئن در نورون‌زایی استفاده کرد (۸).

REST که با عنوان NRSF (Neuron-Restrictive Silencer Factor) نیز شناخته می‌شود، یک فاکتور رونویسی است که در ابتدا به عنوان عاملی برای تنظیم گروهی از ژن‌ها که جهت تمایز عصبی، هموستاز و شکل‌پذیری عصبی ضروری بودند، شناخته شده بود، این ژن‌ها شامل عوامل رشدی، سایتوکاین‌ها، کانال‌های یونی، گیرنده‌های میانجی‌های شیمیایی، مولکول‌های چسبان و پروتئین‌های ویزیکولی- سیناپسی می‌شد (۱۳). در حال حاضر پیشرفت‌های ژنومی و اپی ژنومی، دیدگاه‌های جدیدی را به سمت مکانیسم‌های مولکولی و سلولی، که شامل نقش‌های مهم و مرتبط REST و شبکه‌ی RNAs غیر کد کننده می‌شود، فراهم آورده است. در حقیقت بیان ژن‌های عصبی و هم راستا با آن تا اندازه‌ای ماهیت عصبی، توسط REST کنترل می‌شود که هماهنگ با سایر سیستم‌های کنترلی دیگر از جمله شبکه‌های miRNAs که در تمایز، بقا و تغییرپذیری عصبی نقش دارند، عمل می‌کند (۱٤). با توجه به اندک بودن تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی تاثیر ورزش بر miRNAs مغزی و با عنایت به جستجوهای محققان تحقیق حاضر، تاکنون هیچگونه پژوهشی تاثیر ورزش بر میزان تغییرات در بیان miR-۱۲٤ و REST را مورد بررسی قرار نداده است. لذا این تحقیق برای اولین بار و با هدف بررسی تاثیر تمرین هوازی کوتاه مدت بر تغییرات بیان دو عامل شرح داده شده و آشکار سازی مکانیسم‌های درگیر در نورون‌زایی القا شده انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه، تعداد ۱۲ سر موش صحرایی نر ۸ هفته در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۵ گرم به عنوان آزمودنی استفاده شدند. حیوانات در شرایط دمایی ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، چرخه‌ی تاریکی- روشنایی ۱۲:۱۲ و بدون هیچ‌گونه محدودیتی در غذا و آب در قفس‌های پلی‌گاتیلن قرار گرفتند. حیوانات به ۲ گروه تمرین (n=٦) و کنترل (n=٦) تقسیم شدند. برای کم کردن استرس وارده به حیوانات و آشنایی آن‌ها با شرایط تمرین گروه دونده به مدت ۱ هفته، ۱۵ دقیقه در روز روی دستگاه نوارگردان با سرعت ۱۵ متر بر دقیقه دویدند. در این تحقیق از هیچ‌گونه تحریک الکتریکی به دلیل وارد آمدن استرس منفی به حیوانات استفاده نشد. گروه دونده روزانه ۳۰ دقیقه در روز به مدت ۲ هفته و با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه روی نوارگردان دویدند (۱۵). گروه کنترل نیز روزانه ۳۰ دقیقه در روز به مدت ۲ هفته (۱٤ جلسه) جهت نزدیک کردن شرایط برای ۲ گروه بر روی دستگاه نوار گردان خاموش قرار گرفتند. ۲٤ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، حیوانات توسط گاز دی اکسید کربن عمیقاً بی‌هوش شدند و جهت جداسازی هیپوکمپ، مغز حیوانات جراحی شد. نمونه‌ها سپس سریعاً برای انجام آزمایشات بعدی در نیتروژن مایع قرار گرفتند. در کلیه‌ی مراحل، اصول اخلاقی

Archive of SID
www.SID.ir

کـار بـا حیوانـات آزمایـشگاهی مـورد نظـر قـرار گرفـت.
جداسازی RNA تام: در این مرحله هر دو هیپوکمپ چپ و راسـت از هـر حیـوان در ۱ میلـی‌لیتـر از محلـول کـایزول (QIAGEN,۷۹۳۰٦) ادغـام شـد و بـا اسـتفاده از دسـتگاه همگن کننده‌ی بافـت (QIGENE ۲۳،۱۰۰۱/۰۵۲٤۵) کـاملاً هموژن شد. در مرحله‌ی بعد جداسازی RNA از فاز آبی بـه کمک ۰/۲/۵ میلی‌لیتر کلروفرم انجام پذیرفت. جهـت بررسـی mRNA بـه مقـدار محلـول‌رویـی، ایزوپروپـانول و جهـت مطالعه‌ی miRNA ۲ برابر حجم محلول‌رویـی اتـانول سـرد ۱۰۰ درصد اضافه شد. در ایـن مرحلـه، ترکیـب بـرای آنـالیز miRNA بیـشتر از یـک شـب در یخچـال ۲۰- درجـه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شد. RNA استخراج شده با ۱ میلی‌لیتـر اتانول سرد ۷۰ درصد شستشو و خشک شـد و سـپس بـه آن آب استریل، اضافه شد. جهت سنجش کمی RNA اسـتخراج شده از دستگاه بایو فوتـومتر (eppendorf)، بـا طـول مـوج ۲٦۰ نانومتر استفاده شد. میـانگین OD (Optical Density) های خوانده شده ۱/۹ (مقیاس ۱/۸-۲) بود که نشانگر کـارایی مناسب RNA استخراج شده بود.
آنالیز بیان miRNA بالغ: جهت انجام Real Time PCR از دوکیت کمپانی Strata Gene در کنار هـم اسـتفاده شـد. (#٦۰۰۰۳٦) Strata Gene miRNA ۱st-strand cDNA Synthesis Kit بـرای دو مرحلـه پلـی آدنیلاسـیون و cDNA سـازی و High specificity miRNA QPCR core reagent kit (#٦۰۰٤۵) جهت انجـام Real Time PCR پـس از سـاخت cDNA. پرایمـر Forward miR-۱۲٤ بـا تـوالی "TAA GGC ACG CGG TGA ATG" و بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار Gene Runner طراحـی و بـا مراجعـه بـه پایگـاه BLAST،NCBI شد. پرایمـر معکـوس (Universal) بـه عنوان پرایمر Reverse از کیت شـماره‌ی ۱، بـرای مرحلـه‌ی Real Time PCR مـورد اسـتفاده قـرار گرفـت.
واکنش پلی آدنیلاسیون: پس از آماده‌سازی ترکیبات مورد نظر در این مرحله، برای هر یک از ۱۲ نمونه، میکروتیوب‌ها را بـه آرامی ورتکس کرده و هر نمونـه ۳۰ دقیقـه در ۳۷°C جهـت انجام واکنش پلی‌آدنیلاسیون و ۵ دقیقه در ۹۵°C جهـت غیـر فعال کردن آنزیم PAP انکوبه شد. نمونه‌ها بلافاصله به روی یخ جهت انجام مرحله‌ی بعد منتقل شدند.
ساخت cDNA: طی این مرحله با استفاده از پرایمـر مکمـل ناحیه پلی آدنیله (آداپتور پرایمر)، تک رشته cDNA، مکمـل miRNA ساخته شد. در این مرحله نیز پس از آمـاده سـازی ترکیبات مورد نظر بـرای هـر نمونـه پلـی‌آدنیلـه شـده، بـدون ورتکس کردن و بـه آرامـی ترکیـب در دسـتگاه ترموسـایکلر (Biorad) ۵ دقیقه در ۵۵C، ۱۵ دقیقه در ۲۵C، ۳۰ دقیقه در ٤۲C جهت ساخت cDNA به وسـیله ی آنـزیم Reverse Transcriptase و ۵ دقیقه در ۹۵°C جهت غیر فعال کـردن آنزیم RT انکوبه شدند.
Real time PCR (miRNA): در ایـن مرحلـه بـرای بررسی میزان افزایش بیان miR-۱۲٤ نسبت به نمونه‌ی کنترل بر اساس دستورالعمل کیت ۱ میکرولیتر از پرایمـر Forward miR-۱۲٤، ۱µl از cDNA و Master Mix حـاوی فلورسنت Eva green dye بـه نمونـه‌هـا اضـافه شـد و در دستگاه Real Time PCR (Corbett) بـا برنامـه‌ی ۹۵°C برای ۱۰ دقیقه، ۹۵°C برای ۱۰ ثانیه، ٦۰°C بـرای ۱۵ ثانیـه و ۷۲°C برای ۲۰ ثانیه PCR شد. واکـنش از مرحلـه‌ی دوم بـه بعد، برای ٤۰ سیکل تکرار شد. یک نمونه‌ی کنتـرل منفـی بـا عنوان NTC (No Template Control) نیز تهیه شد کـه شامل تمامی موارد فوق بـه غیـر از cDNA بـود. بـرای هـر نمونـه cDNA نیـز، یـک نمونـه کنتـرل مثبـت بـا پرایمـر snRNA ی (non-Coding Small Nuclear RNA) U٦ به عنوان کنترل داخلی، جهت آزمایش حـضور cDNA، تهیه شد.
Real-Time PCR(mRNA): سـاخت cDNA توسـط ترانسکریپتاز معکوس MMuLV و رندوم هگزامر بر اسـاس

www.SID.ir
Archive of SID

دستورالعمل کیت (Takara) انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده جهت qPCR در جدول ۱ موجود می‌باشند. RPL۲٦ (Ribosomal Protein Long ۲٦) به عنوان ژن خانه‌داری استفاده شد. PCR با استفاده از Mastermix حاوی فلورسن SYBER Green (Takara) گذاشته شد. برنامه‌ی PCR به این صورت اعمال شد؛ ۹۵ C برای ۱۰ دقیقه (واسرشته شدن)، ۹۵ C برای ۱۵ ثانیه (cycle circulating) و ٦۰C برای ٦۰ ثانیه (اتصال پرایمر/گسترش).

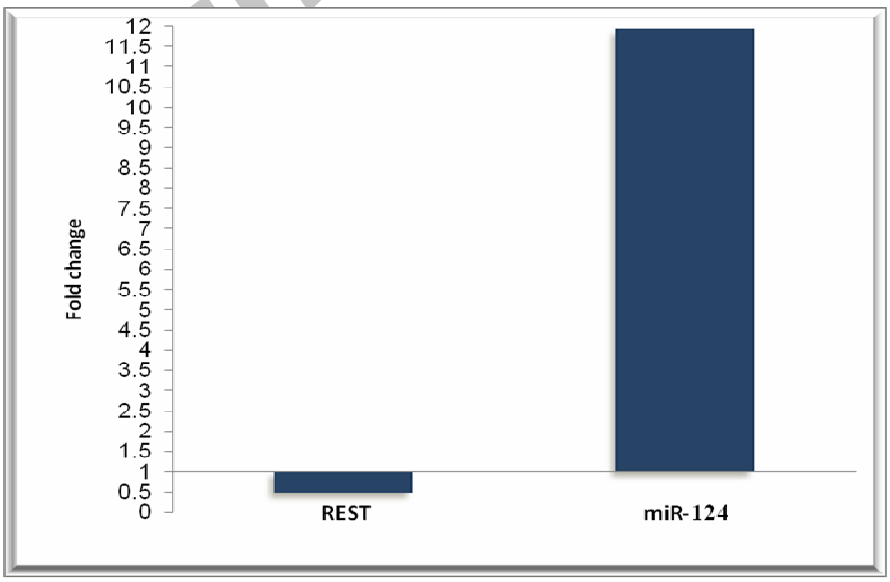
جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

نام	میزبان	توالی
rno-REST-F	Rat	TGG ACA CTG AGC AGA AGA CAG ACC GTG
rno-REST-R	Rat	TCA TCA ATT TCC TGA GAC TCG GCC AAA G
rno-RPL26-F	Rat	GAAGTTCAGGTTCGAGG
rno-RPL26-R	Rat	GGA CAG TTG TGC CGT TAG C
rno-U6-F	Rat	CAG CAC AAA AGG AAA CTC ACC

محاسبات: Ct های (Cycling Threashold) مربوط به واکنش‌ها، توسط نرم افزار Rotor-Gene ٦ استخراج و ثبت گردید. این مرحله سه بار جهت حصول اطمینان بیشتر تکرار شد و میانگین نتایج نهایی به عنوان اطلاعات خام جهت انجام مراحل آماری لحاظ گردید. تغییرات بیان miR-۱۲٤ و REST نسبت به گروه کنترل پس از نرمال شدن با ژن‌های خانه‌داری U٦ و RPL۲٦ با استفاده از روش ۲-ΔΔCt محاسبه شد (۱٦).

یافته‌ها

پردازش داده‌ها به کمک نرم افزار spss۱۹ و با استفاده از آزمون t مستقل نشان داد که؛ دویدن هوازی شدید با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه برای ۱٤ روز متوالی؛ منجر به افزایش بیان معنی‌دار ۱۱/۹ برابری miR-۱۲٤ و کاهش بیان معنی‌دار تا ۵۲ درصد در فاکتور رونویسی REST در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ، در گروه تمرین نسبت به کنترل شد. (Independent Samples t-Test, REST: t= ٦/۷۹, miR-۱۲٤: t=۱۱/۲۳, P≤۰/۰۵). این تفاوت‌های معنی‌دار در نمودار ۱ قابل مشاهده می‌باشد.



نمودار ۱: تغییرات بیان ژن‌های miR-۱۲٤ و REST (برابر تغییر به گروه کنترل)

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

در پژوهش حاضر نقش فعالیت بدنی بر میزان تغییرات در بیان miR-۱۲٤ در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که ۲ هفته (۱٤ جلسه) دویدن روی نوار گردان با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه منجر به افزایش بیان معنی‌دار miR-۱۲٤ تا ۱۱/۹ برابر و در مقابل کاهش در بیان REST تا ۵۲ درصد نسبت به گروه کنترل در شد. تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی تأثیر ورزش بر بیان microRNAs تاکنون در سایر سیستم‌های بدن، آن هم به‌صورت اندک از جمله عضله‌ی اسکلتی (۱۷و۱۰)، قلب و عروق (۱۸)، ایمونولوژی ورزش (۱۹) و همچنین در بهبود ضایعات نخاعی (۱۸) انجام شده است. با توجه به اهمیت خاص عضله‌ی اسکلتی در حیطه‌ی پژوهشی فیزیولوژی ورزش تاکنون پژوهش‌ها بیشتر در این زمینه بوده است. فاکتورهای رونویسی (TFs) و microRNAs بزرگ‌ترین خانواده‌های در تعامل با یکدیگر و مولکول‌های تنظیم کننده‌ی ژن هستند. گروه‌هایی از TFs و miRNAs به طرز دقیقی نوع سلول را مشخص می‌کنند. در حین بلوغ نورونی تنظیم منفی REST به miR-۱۲٤ اجازه می‌دهد تا به‌طور انتخابی رونویسی غیر نورونی را کاهش دهد، بنابراین نوعی ارتباط تنظیمی را برای عمل miRNAs وابسته به REST فراهم می‌آورد. بیان miR-۱۲٤ و تنظیم کاهشی REST نقش‌های کلیدی را در کاهش فراگیر و یکپارچه‌ی بیان ژن‌های غیر عصبی ایفا می‌کنند (۹). انفصال REST از جایگاه‌های RE-۱ بر روی miR-۱۲٤ منجر به از بین بردن تأثیر خاموش کنندگی REST بر miR-۱۲٤ شده، از این رو، منجر به القای بیان miR-۱۲٤ می‌شود. هر بار که miR-۱۲٤ القا می‌شود، می‌تواند هدف‌های ژنی غیر عصبی متعددی را تخریب کند. miR-۱۲٤ از زمانی که به‌عنوان مسوول، جهت جلوگیری از بیان ژن‌های غیر عصبی در سلول‌های عصبی شناخته شد، مورد توجه ویژه قرار گرفت و این در مقابل نقش REST به عنوان سرکوب‌گر ژن‌های عصبی در سلول‌های غیر عصبی قرار می‌گیرد. در مجموع می‌توان اینگونه بیان کرد که تنظیم کاهشی REST و به تبع آن تنظیم افزایشی miR-۱۲٤ یک انتقال سریع و زودگذر را در سلول‌های پروژنیتوری عصبی به سمت نورونی شدن فراهم می‌آورد (۲۰). از طرف دیگر، امروزه تحقیقات، وقوع نورون‌زایی ناشی از ورزش را در هیپوکمپ کاملا به اثبات رسانده‌اند. اودا و همکاران (۲۰۰٦) نشان دادند که دویدن بر روی نوار گردان با شدت ۲۲ متر بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در روز برای هفت روز پیاپی، منجر به تحریک تکثیر آستروسایت‌ها در ناحیه‌ی زیرگرانولی شد. به علاوه محققان در این پژوهش گزارش کردند؛ دویدن اجباری منجر به افزایش سلول‌های NeuN در ناحیه‌ی زیر گرانولی‌جوندگان می‌شود که به‌عنوان شاخصی جهت بلوغ نورونی قابل استناد است (۱٤). لو و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی با این عنوان که نورون‌زایی هیپوکمپال و بیان ژن در موش‌های صحرایی به شدت تمرین بستگی دارد، نشان دادند که یک هفته تمرین نوار گردان با شدت‌های پایین (۱۱ متر بر دقیقه) و متوسط (۱٤ متر بر دقیقه)، افزایش، در حالی که تمرین شدید (۲۲ متر بر دقیقه) کاهش در نورون‌زایی را در جیروس دندانه‌ای هیپوکمپ نشان دادند (۲۱). کیم و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی اثر همزمان سن و دویدن بر نورون‌زایی هیپوکمپی، نشان دادند که دویدن باعث بهبود کاهش وابسته به سن نورون‌زایی می‌شود (۲۲). همچنین تاکنون مطالعاتی در زمینه‌ی مکانیسم‌های اثرگذار در فرایند نورون‌زایی متاثر از ورزش انجام شده است. این مکانیسم‌ها را می‌توان به چهار بخش شامل عناوین؛ نقش نوروترنسمیترها در دویدن و نورون‌زایی (۲۳)، فاکتورهای رشدی و دویدن (۲٤)، رگ‌زایی و فاکتورهای رشدی عروق (۲۵) و پیری (۲۱) تقسیم نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

با توجه به شرح نقش و رابطه‌ی میان miR-۱۲٤ و REST این مطالعه با این فرض انجام شد که، تغییرات در بیان microRNAs مغزی ممکن است یکی دیگر از مکانیسم‌های درگیر در فرایند نورون‌زایی متاثر از ورزش باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش و تغییرات بیان چشمگیر این دو عامل کلیدی می‌توان بیان داشت که احتمالا تغییرات در بیان این دو عامل یکی از مکانیسم‌هایی است که سلول‌های بنیادی عصبی را در جهت متمایز شدن به نورون تحت تاثیر تحریک مثبت و in vivo ورزش پیش می‌برد. اشاره به این موضوع نیز حائز اهمیت است که به این دلیل که شدت برنامه‌ی تمرینی منتخب در این مطالعه نزدیک به مطالعه‌ی اودا و همکارانش (۲۰۰۹) در نظر گرفته شد، لذا نتایج مطالعه‌ی ما یافته‌ی تحقیق اودا و همکارنش مبنی بر وقوع نورون‌زایی در این شدت را تائید می‌کند. بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر و با توجه به ادبیات در دسترس تاکنون، به نظر می‌آید که تحقیقات بر عملکردهای سلولی و مولکولی ناشی از ورزش (شدت و مدت‌های متفاوت فعالیت ورزشی) بتواند در آینده منجر به استفاده از ورزش به عنوان یک درمان هدفمند و بدون عوارض شود.

References

1- Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals?. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8: 481-8.

2- Curtis MA, Penney EB, Pearson AG, et al. Increased cell proliferation and neurogenesis in theadult human Huntington's disease brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 9023-7.

3- Jin K, Peel AL, Mao XO, et al. Hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 343-7.

4- Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci.* 1999; 2: 266 -70.

5- Fabel K, Wolf S, Ehninger D, Babu H, Leal-Galiciaand P, Kempermann G. Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. *Frontiers in Neurogenesis.* 2009; 3: 50.

6- Brown J, Christiana M, Kuhn C, kempermann G, Van Peraag H, Winkler J. Enriched enviorment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *European J Neuroscience.* 2003; 17: 2042-6.

7- Kronenberg G, Bick-Sander A, Bunka E, Wolf C, Ehninger D, Kempermann G. Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. *Neurobiology of Aging.* 2006; 27: 1505-3.

8- Cheng L, Pastrana E, Tavazoie M, Doetsch D. miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche. *Nature Neuroscience.* 2009; 12: 399-408.

9- Liu G, Keeler B, Zhukareva V, Zhukareva J. Cycling exercise affects the expression of apoptosis-associated microRNAs after spinal cord injury in rats. *Experimental Neurology.* 2010; 226: 200-6.

10- McCarthy JJ, Esser KA. MicroRNA-1 and

Archive of SID

www.SID.ir

microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol.* 2007; 102: 306-13.

11- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA rargets. *Cell.* 2005; 120: 15-20.

12- Papagian nakopoulos T, Kosik K. MicroRNA-124: Micromanager of Neurogenesis. *Cell.* 2009; 4; 375-6.

13- Chen Z, Paquette A, Anderson D. NRSF/REST is required in vivo for repression of multiple neuronal target genes during embryogenesis. *Nat Genet.* 1998; 20: 136-42.

14- Otto SJ, McCorkle SR, Hover J, et al. A new binding motif for the transcriptional repressor REST uncovers large gene networks devoted to neuronal functions. *J Neurosci.* 2007; 27: 6729-39.

15- Uda M, Ishido M, Kami K, Masuhara M. Effects of chronic treadmill running on neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus of adult rat. *Brain Research.* 2006; 1104: 64-72.

16- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 CtΔΔ- method. *Methods.* 2001; 25: 402-8.

17- Condorelli G, Latronico MV, Dorn GW. MicroRNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? *Eur Heart J.* 2010; 31: 649-58.

18- Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J.* 2010; 31: 659-66.

19- Wessner B, Gryadunov-Masutti L, Tschan H, Bachl N, Roth E. Is there a role for microRNAs in exercise immunology? A synopsis of current literature and future developments. *Exerc Immunol Rev.* 2010; 16: 22-39.

20- Conaco C, Otto S, Han JJ, Mandel G. Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the UnitedStates of America. 2006; 103: 2422-2427.

21- Lou S, Liu J, Chang H, Chen P. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. *Brain research.* 2008; 1210: 48-55.

22- Kim YP, Kim H, Shin MS. Age-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Neuroscience Letters.* 2004; 355: 152-4.

23- Chaouloff, F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand.* 1989; 137: 1-13.

24- Gomez-Pinilla F, So V, Kesslak JP. Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth factor: Neural substrates for increased cognition associated with exercise. *Neuroscience.* 1998; 85: 53-61.

25- Fabel K, Fabel K, Tam B, et al. VEGF is necessary for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. *Eur J Neurosci.* 2003; 18: 2803-12.

Archive of SID

www.SID.ir

The Effect of Forced Short-term Aerobic Running on the Expression of MicroRNA-124 and RE1-Silencing Transcription Factor in the Hippocampus of Adult Male Rats

Mojtahedi Sh[1], Kordi MR[2], Soleimani M[3], Hosseini SE[4]

[1]Dept. of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran, Iran.

[2]Dept. of Hematology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

[3]Islamic Azad University, Sabzevar Branch, Sabzevar, Iran

Corresponding Author: Mojtahedi Sh, Dept. of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran, Iran.

Email: shmojtahedi@ut.ac.ir

Received: 29 Jan 2012 **Accepted:** 3 May 2012

Background and Objective: Transcription factors (TF) and microRNAs, are the largest families of transacting gene regulatory molecules in multicellular organisms. Our goal was to examine the effect of aerobic running on the expression of miR-124 and RE1-silencing TF in the hippocampus of adult male Wistar rats.

Materials and Methods: A total of twelve 8-week-old adult male Wistar rats with a mean body weight of 200-225 g were selected as subjects. Following 1 week of familiarization, the animals were randomly divided into two groups of test (n=6) and control (n=6). In the test group, animals were forced to run on a treadmill, at a speed of 25 m/min for 30 minutes per day, for 14 consecutive days. The animals were sacrificed 24 hours after the last exercise session, and the hippocampi were removed from both sides of the brain hemispheres. Changes in the expression of miR-124 and RE1-silencing TF were analyzed using the quantitative RT-PCR technique.

Results: Statistical analysis by independent sample t-test, showed that there was a significant difference between the exercise and control groups ($P \leq 0.05$), and while exercise significantly elevated the expression of miR-124, it reduced the expression of RE1-silencing TF.

Conclusion: Our findings show that forced aerobic running at a speed of 25 m/min could lead to positive changes in mechanisms involved in exercise-induced neurogenesis.

Keywords: Running, MiR-124, Gene expression, Hippocampus, Adult male rat.

Archive of SID

www.SID.ir