

ORIGINAL RESEARCH

The Study of the Effect of A Long Term Endurance Activity on Cardiac Structure and Expression of Mir-133 in Rats

Razyeh Rezaei ¹, Mohammad Fathi ^{2*}

1. Department of Sport Physiology, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Humanity Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: 19 February 2019

Accepted: 15 May 2019

Published online: 18 August 2019

Keywords

Endurance training

Left ventricle

miR-133

* Corresponding Author:

Mohammad Fathi; P.O. Box 68151-44316.,
Faculty of Humanity Sciences, Lorestan
University, 5th Kilometer, Tehran Road,
Khoramabad, Iran.

Fax: +98 66 3312 0401

Email: fathi.m@lu.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aim: Endurance training causes cardiac remodeling, one of the factors that adjusting expression of more genes of heart is miR-133. The aim of this study was to evaluate the effect of endurance training on miR-133 expression in wistar rats' heart.

Materials and Methods: In this experimental study, 14 rats were housed under controlled conditions for 4 weeks, after familiarization they were randomly assigned to control (7 rats) and experimental (7 rats) groups. The experimental group performed 14 weeks, 6 session per week an endurance training program (that gradually reached to 60 min and 30 m/min) on treadmill. 48 hours after the end of the last session, all animals were anesthetized and sacrificed. Then, the their heart were removed and after tissue homogenization of left ventricle, and RNA extraction, and cDNA synthesis, the expression level of left ventricle miR-133 were measured by using Real-Time PCR. The rate of miR-133 expression was evaluated by using t-test at $p \leq 0.05$ level.

Ethical Considerations: This study was approved in Research Ethics Committee of Lorestan University with the code 1396345.52

Findings: After 14 weeks endurance training, the expression of heart miR-133 in experimental group was significantly increased ($p=0.007$) than control group which coincided with increase of the rate of left ventricular mass to weight body ($p=0.012$).

Conclusion: Regarded to structural changes of heart, it seems the part of heart adaptation to endurance exercise caused by increase in miR-133 expression.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan and
read this article online:



Fathi M., Rezaei R. The Study of the Effect of A Long Term Endurance Activity on Cardiac Structure and Expression of Mir-133 in Rats. J Arak Uni Med Sci. 2019; 22(3): 59-68.



JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و دو، شماره سه، مرداد و شهریور ۱۳۹۸

journal homepage: <http://jams.arakmu.ac.ir>



مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

مقاله پژوهشی

بررسی اثر یک دوره فعالیت استقامتی بلند مدت بر ساختار قلب و بیان miR-133 در موش‌های

صحرائی

راضیه رضایی^۱، محمد فتحی^{۲*}

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

زمینه و هدف: فعالیت استقامتی موجب تجدید ساختار قلب می‌شود، یکی از عواملی که بیان بسیاری از ژن‌های قلب را تنظیم می‌کند، miR-133 است. هدف این پژوهش بررسی تاثیر تمرین استقامتی بر بیان miR-133 قلب در موش‌های صحرائی نژاد ویستار بود.

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۲/۲۵

تاریخ انتشار: ۹۸/۰۵/۲۷

واژگان کلیدی

بطن چپ

تمرین استقامتی

miR-133

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۱۴ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به مدت ۴ هفته در شرایط کنترل شده، نگهداری شدند. بعد از آشناسازی به‌طور تصادفی به دو گروه شاهد (۷ سر) و تجربی (۷ سر) تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه تمرینی ۱۴ هفته‌ای، هفته‌ای ۶ جلسه (که به تدریج به ۶۰ دقیقه و ۳۰ متر بر دقیقه رسید) را روی نوار گردان اجرا نمودند. ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه، بی‌هوش و تشریح شدند. سپس قلب آن‌ها خارج شده و بعد از هموژن بافت بطن چپ و استخراج RNA و سنتز cDNA با استفاده از روش Real-Time PCR، میزان بیان miR-133 بطن چپ اندازه‌گیری شد. با استفاده از آزمون آماری تی، میزان بیان miR-133 در سطح ۰/۰۵ ارزیابی شد.

ملاحظات اخلاقی: این پژوهش تجربی با کد اخلاق ۱۳۹۶۳۴۵/۵۲ در معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تایید شد.

یافته‌ها: پس از ۱۴ هفته تمرین استقامتی، میزان بیان miR-133 قلب در گروه تمرینی به‌طور معنی‌داری ($P=0/007$) نسبت به گروه شاهد افزایش یافت که با افزایش معنی‌دار نسبت توده حجم بطن چپ به وزن بدن همراه بود ($P=0/012$).

نتیجه‌گیری: با توجه به تغییرات ساختاری قلب، می‌توان گفت که احتمالاً بخشی از سازگاری قلب به تمرین استقامتی ناشی از افزایش بیان miR-133 باشد.

* نویسنده مسئول:

محمد فتحی

آدرس پستی: ایران، خرم آباد، کیلومتر ۵ جاده

تهران، دانشگاه لرستان، دانشکده علوم انسانی، کد

پستی ۶۸۱۵۱-۴۴۳۱۶

نمابر: +98 66 3312 0401

E-mail: fathi.m@lu.ac.ir

۱. مقدمه

فعالیت ورزشی موجب تجدید ساختار فیزیولوژیکی قلب می‌شود (۱) این تجدید ساختار وابسته به نوع تمرین، توسط فاکتورهای متعدد و مسیرهای پیام‌رسانی متفاوتی انجام می‌شود (۲، ۳) و مستلزم تغییر در فعال‌سازی بیان بسیاری از ژن‌هایی است که در ساختار و عملکرد قلب نقش دارند (۴). از جمله عوامل موثر در تغییر بیان ژن‌ها، microRNAs (miRs) هستند (۵، ۶). miRNAs های کوتاه تک‌رشته‌ای اند که بیان ژن‌های هدف خود را به وسیله اتصال به ناحیه ۳ پریم غیرترجمه‌ای mRNA ژن هدف کاهش می‌دهند و از ترجمه آن‌ها جلوگیری می‌کنند (۷). تحقیقات نشان داده که برخی از miRs به‌طور ویژه در بافت‌های خاصی بیان می‌شوند (۸). از جمله این miRs می‌توان به miR-133 اشاره کرد که صرفاً در بافت عضلانی بیان می‌شود و به همین دلیل آن‌ها را مایومی‌ر (myomiR) می‌نامند و فرآیندهای گوناگون عضله مانند تکثیر، تمایز، تعیین نوع تار، انقباض پذیری، هایپرتروفی، آتروفی و پاسخ‌دهی به استرس را از طریق تنظیم بیان ژن‌های کلیدی کنترل‌کننده عضله تنظیم می‌کنند (۹، ۱۰)، بنابراین به نظر می‌رسد وسیله‌ای برای ایجاد تعادل بین فرآیندهای رشد و تمایز میوبلاست و تنظیم چرخه رشد و نمو عضلات باشند (۱۱). بیماری‌های قلبی از عوامل اصلی مرگ و میر در قرن حاضر هستند و پژوهش‌های زیادی در ارتباط با شناسایی، پیش‌گیری، کنترل و درمان این بیماری‌ها صورت گرفته است (۱۱).

کشف myomiRs به خصوص miR-133 در سال‌های اخیر موجب شده بخشی از پژوهش‌های مرتبط با قلب و سلامتی آن، در این حوزه متمرکز شود. miR-133 به وسیله عوامل رونویسی Myocyte enhancer (SRF (Serum Response Factor)، MEF2 (factor2 Myogenic differentiation) و myoD تنظیم می‌شوند (۱۲) و دارای ۲۲ نوکلئوتید است که در تکثیر و تمایز سلول‌های عضلانی در بافت عضله نقش دارد (۱۳). miR-133 موجب افزایش تکثیر میوبلاست‌ها می‌شود که این کار را از طریق سرکوب SRF (فاکتور موردنیاز برای تکثیر سلولی) انجام می‌دهد (۱۳، ۱۴). هم‌چنین miR-133 در

آپوپتوزیس، دستگاه خود هدایتی قلبی، میوزن، هایپرتروفی و رشد عضله اسکلتی و قلبی نقش دارد (۱۵). میزان بیان miR-133 در مدت هایپرتروفی قلبی کاهش می‌یابد (۱۶) و مشخص شده این کاهش در تجدید ساختار قلب و برنامه هایپرتروفی قلبی نقش دارد و حذف آن در موش منجر به ناهنجاری شدید از قبیل نقص در دیواره بطن و دهلیز راست در اثر کاردیومیوپاتی و فیبروز مفرط می‌شود (۲).

به نظر می‌رسد که تحریکات خارج سلولی از طریق مسیرهای پیام‌رسانی موجب فعال کردن فاکتورهای رونویسی MEF2 و myoD می‌شود که آن‌ها نیز باعث القای رونویسی miR-133 می‌شوند، سپس این miR پروتئین SRF را مهار می‌کند (۱۷). تحریکات خارج سلولی ممکن است آسیب یا فعالیت‌های انقباضی باشد، فعالیت‌های انقباضی در قالب تمرینات استقامتی و مقاومتی موجب تحریک تغییرات ساختاری و عملکردی (۱۸) به‌صورت هایپرتروفی و یا تغییر در میزان آنزیم‌های درگیر در تولید انرژی می‌شود (۱۹).

تحقیقاتی در مورد miR-133 صورت گرفته (۲)، اما پژوهش در مورد پاسخ این عامل در قلب به فعالیت بدنی که وضعیت ساختاری خود قلب مورد توجه قرار گیرد بسیار کم است. بنابراین سوال اصلی این مطالعه این است که آیا فعالیت‌های استقامتی بلندمدت که پروتئین‌های ساختاری و آنزیمی قلب را تحت تاثیر قرار می‌دهد بر بیان miR-133 تاثیر دارد؟ بنابراین هدف این پژوهش بررسی تاثیر یک دوره فعالیت استقامتی بلندمدت بر بیان miR-133 قلب در موش صحرایی نژاد نر ویستار بود.

۲. مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی که با کد اخلاق در معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان (۱۳۹۶۳۴۵/۵۲) ثبت شد ۲۰ موش صحرایی نر نابالغ نژاد ویستار (با ۵ هفته سن) از انستیتو پاستور خریداری شد. موش‌ها برای رسیدن به سن بلوغ و سازگاری با محیط جدید به مدت ۴ هفته در محیط آزمایشگاه با شرایط خاص (میانگین دما 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، دسترسی آزاد به آب و

غذا و شرایط چرخه تاریکی و روشنایی (۱۲:۱۲ ساعت) در ۵ قفس یکسان (۴ سر در هر قفس) نگهداری شدند. بعد از بلوغ وزن آن‌ها به 24 ± 223 گرم رسید. سپس برای آشنایی با فعالیت ورزشی و دویدن روی نوارگردان یک دوره آشناسازی (۵ جلسه با سرعت ۹ متر در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه در هر جلسه) برای همه آن‌ها در نظر گرفته شد، سپس به‌طور تصادفی به دو گروه تجربی (۱۰ سر) و شاهد (۱۰ سر) تقسیم شدند. قابل ذکر است تعداد ۳ سر از موش‌های گروه تجربی نتوانستند پروتکل تمرینی را به پایان برسانند، از این رو همراه با ۳ سر از موش‌های گروه شاهد (به‌طور تصادفی) از مطالعه خارج شدند. بنابراین تعداد نهایی آن‌ها برای هر گروه به ۷ سر رسید. بر اساس مطالعات (۲۰) یک پروتکل فعالیت استقامتی شامل ۱۴ هفته، هفته‌ای ۶ روز دویدن روی نوارگردان به عنوان پروتکل پژوهش در نظر گرفته شد. هر جلسه با یک بخش ۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ متر در دقیقه با هدف گرم کردن شروع می‌شد. در جلسه اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود، اما به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش یافت (در هفته اول تا سوم، هر روز ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه شد)؛ به‌طوری‌که در پایان روز بیستم، مدت زمان بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید و با در نظر گرفتن ۵ دقیقه برای گرم کردن و ۵ دقیقه نیز برای سرد کردن، مدت زمان کل تمرین به ۶۰ دقیقه رسید. تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه شروع شد و هر هفته ۲ متر بر دقیقه به سرعت اضافه گردید؛ به‌طوری‌که

در پایان هفته ششم به ۳۰ متر در دقیقه رسید. نهایتاً در هفته‌های هفتم تا دهم به‌تدریج ۵ درجه بر شیب نوارگردان (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) اضافه شد. این پروتکل [۶۰ دقیقه دویدن (شامل ۵ دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، ۵۰ دقیقه دویدن با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، با شیب ۵ درجه به‌عنوان بخش اصلی پروتکل و در نهایت ۵ دقیقه دویدن با سرعت ۹ متر در دقیقه به‌عنوان بخش سرد کردن)] تا پایان هفته چهاردهم حفظ شد. پروتکل بین ساعات ۵ تا ۷ بعدازظهر اجرا می‌شد. ۴۸ ساعت (برای اجتناب از تاثیر جلسه پایانی) 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 قلب تحت شرایط استریل خارج و بطن چپ نیز جدا شد که هر دو (قلب و بطن) به‌طور جداگانه با دقتی تا ۴ رقم اعشار با ترازوی دقیق (A&D ژاپن) اندازه‌گیری شدند. در حالت بی‌هوشی وزن پایانی موش‌ها نیز اندازه‌گیری شد. بعد از اندازه‌گیری وزن بطن چپ و قلب، این بافت‌ها بلافاصله در میکروتیوب جاسازی شده و وارد تانک نیتروژن مایع شدند. پس از پایان این مراحل، میکروتیوب‌ها به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. ارزیابی بیان miR-133 با استفاده از روش Real-Time PCR صورت گرفت که در شکل ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

miR-133	205320 rno-miR-133a, LNA TM PCR primer set, UniRT. miRCURY LNA TM Universal RT microRNA PCR, microRNA primer set.
U6	203907U6 snRNA (hsa, mmu, rno) PCR primer set, UniRT. miRCURY LNA TM Universal RT microRNA PCR, reference gene primer set. NCBI Symbol U6snRNA, NCBI Accession: x59362

آلمان) و نسبت طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد. غلظت‌های به دست آمده در دامنه ۱/۶ تا ۱/۸ قرار داشتند. برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon دانمارک با کت نامبر (۲۰۳۳۰۰) cat# 203300 استفاده شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گردید.

برای استخراج RNA از بافت‌های هموزن شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول (شرکت کپازن) اضافه شد و ادامه کار طبق دستورالعمل استخراج RNA با استفاده از تریزول انجام شد. غلظت RNA با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (شرکت Eppendorff

از آن جا که اندازه قلب و بطن چپ با اندازه بدن در ارتباط است، برای نرمالیز کردن هایپرتروفی و اندازه قلب و بطن چپ، از نسبت تغییرات وزن قلب و بطن چپ به وزن بدن استفاده می‌کنند (۲۱). برای ارزیابی تغییرات ساختاری توده قلب در اثر فعالیت استقامتی، نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و وزن قلب به وزن بدن به طور دقیق محاسبه شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار اکسل با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ ، میزان بیان miR-133 محاسبه گردید (۲۲). از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ برای استخراج نتایج استفاده شد. ابتدا جهت نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده گردید که مشخص شد توزیع داده‌ها طبیعی می‌باشد. به منظور تعیین اختلاف میانگین بین گروه شاهد (شاخص عدد ۱ بود) و تجربی، از آزمون تی استفاده شد. در کلیه موارد، سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳. ملاحظات اخلاقی

این پژوهش تجربی با کد اخلاق ۱۳۹۶۳۴۵/۵۲ در معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تایید شد.

۴. یافته‌ها

نتایج این پژوهش در قالب آمار توصیفی (میانگین و انحراف معیار) و آمار استنباطی در جدول ۲ عرضه شده است. در شکل ۱ سیکل آستانه بیان miR-133 و رفرنس (U6) مشخص شده است. در نمودار ۱ و ۲ مشخص شد که تغییرات ساختاری در اثر فعالیت استقامتی در قلب و بطن چپ موش‌های صحرایی رخ داده است و نتایج آزمون تی هم نشان داد که نسبت وزن قلب به وزن بدن در موش‌های گروه تجربی به طور معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود ($p=0.005$). هم چنین مشخص شد که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن در موش‌های گروه تجربی به طور معنی داری بالاتر بود ($p=0.012$). همان طور که در نمودار ۳ و آزمون تی ($t=4.039$) مشخص شده است، ۱۴ هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی داری ($p=0.007$) در بیان miR-133 عضله قلب موش‌های گروه تجربی می‌شود. اما در

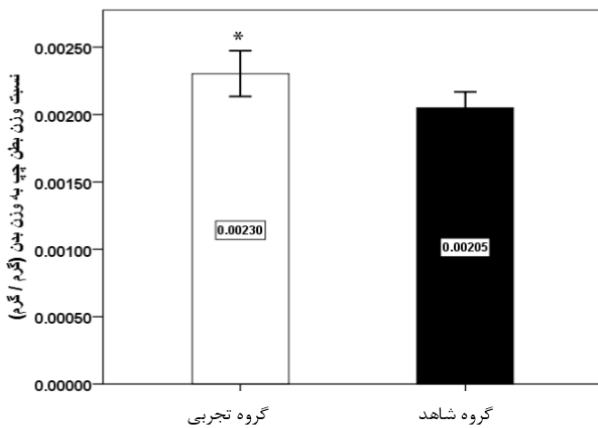
ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت Eppendorff آلمان بود.

برای سنتز cdNA از کیت سنتز cdNA برای miR متعلق به شرکت Exiqon دانمارک استفاده شد و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. به طور خلاصه چرخه دمایی در ترموسایکلر (شرکت Eppendorff آلمان) برای سنتز cdNA به صورت زیر بود که ابتدا به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد قرار گرفتند، در پایان دما به ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه رسید و واکنش غیرفعال شد و بعد از سرد شدن به دمای ۲۰- انتقال داده شدند. سایبرگرین مسترمیکس برای miR-133 با کت نامبر (۲۰۳۴۵۰) cat# 203450، پرایمرهای miR-133 (با توالی UUUGGUCCCCUUAACCAGCUG) و کنترل آن، یو سیکس (U6)، متعلق به شرکت Exiqon دانمارک بود. طبق دستورالعمل کیت، برای یک نمونه ۱۰ میکرولیتری، ترکیبی از مسترمیکس (۵ میکرولیتری)، پرایمر (۱ میکرولیتری) و cdNA (۴ میکرولیتری) رقیق شده استفاده شد. در هر RUN، یک نمونه به عنوان کنترل منفی (برای تعیین آلودگی مسترمیکس) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی U6، کنترل مثبت (گروه شاهد) و miR-133 همزمان در یک RUN ارزیابی شدند. مطابق دستورالعمل کیت سایبرگرین چرخه دمایی به صورت زیر بود: ابتدا دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه اعمال شد، سپس تا ۴۰ سیکل به طور متناوب، دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه اعمال گردید که مابین آن‌ها یک چرخه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ثانیه قرار داشت. قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک Real-Time PCR نیاز بود که میزان کارایی کنترل داخلی U6 و miR-133 بررسی شود، با ارزیابی ۵ رقت (از رقت ۱ به ۱ تا ۱۰۰۰۰) مشخص شد که میزان کارایی در بالاترین میزان خود یعنی ۱ است. بعد از تعیین کارایی، نمونه‌ها به صورت دوتایی ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن آستانه سیکل (CT، Cycle Threshold) دوتایی برای هر نمونه، میانگین آن‌ها محاسبه شد و با استفاده از Excel به $\Delta\Delta ct$ تبدیل شدند.

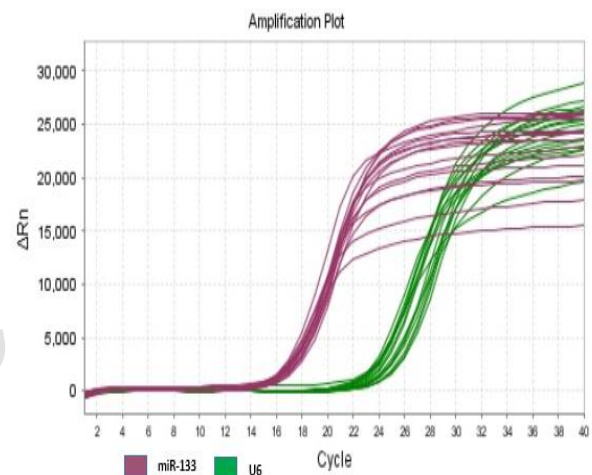
این پژوهش تغییر معنی‌داری در شاخص‌های وزن قلب، وزن بطن چپ، وزن پایانی و نسبت وزن بطن چپ به وزن قلب دو گروه تجربی و شاهد مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. آمار توصیفی برخی از شاخص‌های این پژوهش

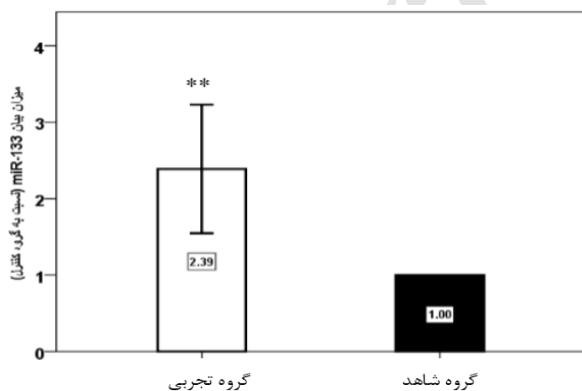
شاخص‌ها	گروه	میانگین	انحراف معیار	مقادیر t	p
وزن قلب (گرم)	تمرینی (n=7)	۱/۲۳۷	۰/۰۵۹۶	۲/۰۹	۰/۰۵۸
	کنترل (n=7)	۱/۱۴۷	۰/۰۹۶۳		
وزن بطن چپ (گرم)	تمرینی (n=7)	۰/۷۵۹۱	۰/۰۴۹	۰/۷۷۷	۰/۴۵۲
	کنترل (n=7)	۰/۷۳۹۶	۰/۰۴۴۷		
وزن نهایی موش‌ها	تمرینی (n=7)	۳۳۱/۲	۳۳/۴	-۲/۲۱	۰/۰۵۵
	کنترل (n=7)	۳۶۱/۳	۱۶/۸		
نسبت وزن بطن چپ به وزن قلب	تمرینی (n=7)	۰/۶۱۳۶	۰/۰۲۷	۱/۸۴	۰/۰۹۱
	کنترل (n=7)	۰/۶۴۶۵	۰/۰۳۸		



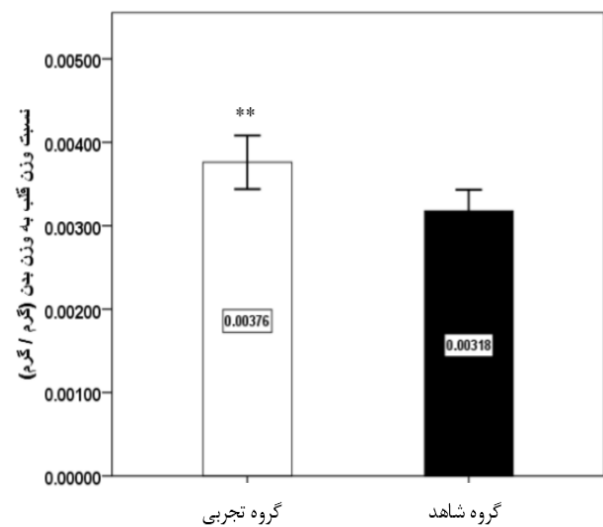
نمودار ۲. نسبت وزن بطن چپ به وزن نهایی بدن در موش‌های گروه شاهد و تجربی. ** تفاوت میانگین نسبت وزن قلب به وزن نهایی بدن در دو گروه در سطح $p=0/011$ معنی‌دار است.



شکل ۱. نمودار میزان بیان و سیکل آستانه miR-133 و رفرنس آن



نمودار ۳. تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان miR-133 (نرمال شده با U6) در عضله قلب گروه شاهد و تجربی. ** تفاوت میانگین بیان miR-133 در دو گروه در سطح $p \leq 0/001$ معنی‌دار است.



نمودار ۴. نسبت وزن قلب به وزن نهایی بدن در موش‌های گروه شاهد و تجربی. ** تفاوت میانگین نسبت وزن قلب به وزن نهایی بدن در دو گروه در سطح $p=0/005$ معنی‌دار است.



شکل ۲. نمایش محصول PCR (روی ژل آگاروز ۱/۸ درصد) miR-133 عضله قلب (با اندازه محصول ۱۰۲) و U6 (با اندازه محصول ۹۴) (از راست به چپ ۱، ۲، ۳) miR-133 گروه تجربی و miR-133 گروه کنترل).

۵. بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که ۱۴ هفته تمرین استقامتی، میزان بیان miR-133 قلب گروه تمرین کرده را به طور معنی داری افزایش می دهد. این افزایش با تغییرات ساختاری اندازه گیری شده قلب و بطن چپ (بعد از نرمال کردن آن ها با وزن بدن) همراه بود. به این معنی که وزن توده بطن چپ و توده کامل قلب به نسبت وزن بدن افزایش می یابد، یافته ای که هایپرتروفی قلب در اثر فعالیت استقامتی را تایید می کند.

miRs بیان ژن ها را از طریق جلوگیری از شروع ترجمه mRNA و یا افزایش تجزیه mRNA سرکوب می کنند (۷). تحقیقات نشان داده اند که بیان miRs با هایپرتروفی عضلات در ارتباطند (۲۳، ۲۴) و همچنین بیان کاردیومیوسیت ها را تنظیم می کند. در تحقیقی مشخص شد که میزان بیان miR-133 قلب موش های تمرین کرده استقامتی کاهش می یابد (۲) که با نتایج این پژوهش تناقض داشت. احتمالاً نوع تمرین موجب این تناقض است، زیرا در آن پژوهش موش ها درگیر تمرینات تناوبی با شدت های بالا بودند، در صورتی که در پژوهش حاضر نوع تمرین استقامتی بود و شدت آن کمتر بود.

بیان miR-133، افزایش اندازه کاردیومیوسیت ها و دیگر مارکرهای هایپرتروفی را مهار می کند (۲). از طرف دیگر، تنگ شدن سرخرگ آئورت موش ها (مدلی که موجب هایپرتروفی پاتولوژیکی قلب می شود)، موجب کاهش میزان بیان miR-133 می شود، اما این کاهش در هایپرتروفی نوع فیزیولوژی کمتر است. بیشتر گزارش ها نشان داده اند که بیان miR-133 در عضلات اسکلتی کاهش می یابد (۱۰). به عنوان مثال، موش هایی که دو نوع پروتکل تمرین استقامتی کم شدت (۱۰ هفته شنا، ۵ روز در هفته به مدت یک ساعت) و شدید

(همان پروتکل کم شدت تا هفته ۸، از هفته ۹ به بعد دو بار در روز و از هفته ۱۰ به بعد ۳ بار در روز تمرین کردند) را اجرا کردند، میزان بیان miR-133 در عضله قلب در اثر هر دو شدت تمرین، کاهش یافت. هرچند تفاوت معنی داری در بیان miR-133 در شدت های تمرین مشاهده نشد، اما کاهش در پروتکل کم شدت بیشتر بود (۲۵) که این موضوع را روشن می کند که بیان miR-133 به شدت و مدت تمرین وابسته است؛ به این معنی که در شدت ها و مدت های بالای تمرینی، میزان آن زیاد کاهش نمی یابد و یا کاهش آن معنی دار نیست (۲). هرچند تفاوت زیادی بین نوع عضلات اسکلتی و قلبی وجود دارد. البته برخی پژوهش ها در فعالیت های مقاومتی نشان دادند که بیان miR-133 در عضلات اسکلتی تحت تاثیر ۱۲ هفته تمرین مقاومتی (۵ روز در هفته) قرار نمی گیرند (۲۶). با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می رسد افزایش بیان miR-133 در ایجاد هایپرتروفی قلبی نوع فیزیولوژیکی لازم است و نباید نتایج به دست آمده در هایپرتروفی پاتولوژیک را با هایپرتروفی نوع فیزیولوژیک مقایسه کرد، زیرا مکانیزم های آن متفاوت است (۲۷). کاهش بیان miR-133 می تواند نشانه ای از تاثیر مثبت فعالیت های استقامتی بر قلب باشد، زیرا افزایش آن موجب سرکوب SRF می شود، فاکتوری که در موش های ترانس ژنیک (با افزایش بیان ژن SRF) با گسترش کاردیومیوپاتی، گشادی چهار حفره قلب و افزایش میزان رسوب کلاژن و همچنین فیبروز قلب همراه است. از طرف دیگر، حضور SRF برای سازمان دهی و تمایز سلول های قلب ضروری است (۲۸). بنابراین افزایش و یا کاهش بیش از حد این فاکتور در پاسخ به یک محرک موجب اختلال در بافت قلب می شود که این تنظیم بسیار دقیق توسط miR-133 صورت می گیرد (۱۱، ۲۸). هرچند در این تحقیق میزان SRF اندازه گیری نشد. یکی از یافته های مهم این پژوهش افزایش وزن بطن چپ و کل وزن قلب نسبت به بدن موش های صحرایی بود که نشان دهنده هایپرتروفی فیزیولوژیکی است. این یافته از این پژوهش با اکثر یافته ها در پژوهش های مشابه هم خوانی دارد (۲۹)، زیرا تجدید ساختار عضله قلب در پی چالش های متابولیکی که توسط

۷. تقدیر و تشکر

از همه کسانی که در اجرای این پژوهش همکاری داشتند قدردانی می‌شود. بخشی از هزینه این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان و بخش دیگر توسط نویسندگان تأمین گردید.

۸. سهم نویسندگان

نویسنده معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بود.

۹. تضاد منافع

بدین وسیله نویسنده تصریح می‌نماید که هیچ‌گونه تضاد منافی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

فعالیت استقامتی ایجاد می‌شود رخ می‌دهد (۳۰). از جمله محدودیت‌های تحقیق حاضر این بود که پروتئین‌های پایین‌دست miR-133 ارزیابی و بررسی نشدند؛ بنابراین پیشنهاد می‌شود ضمن بررسی مجدد سازگاری ایجادشده در قلب، پروتئین‌های هدف miR-133 نیز ارزیابی شود.

۶. نتیجه‌گیری

بر طبق نتایج این پژوهش می‌توان گفت که فعالیت‌های استقامتی بلندمدت که موجب تغییرات ساختاری قلب و بطن چپ می‌شود، موجب افزایش بیان miR-133 نیز می‌گردد و احتمالاً افزایش بیان miR-133 در تغییرات ساختاری ایجادشده در قلب و بطن چپ در اثر تمرین استقامتی سهیم است.

References

1. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol*. 2003; 65:45-79.
2. Care A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med*. 2007; 13(5):613-8.
3. Latronico MV, Elia L, Condorelli G, Catalucci D. Heart failure: targeting transcriptional and post-transcriptional control mechanisms of hypertrophy for treatment. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008; 40(9):1643-8.
4. Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. *N Engl J Med*. 2008;358(13):1370-80.
5. Silva D, Carneiro FD, Almeida KC, Fernandes-Santos C. Role of miRNAs on the Pathophysiology of Cardiovascular Diseases. *Arquivos brasileiros de cardiologia*. 2018; 111(5):738-46.
6. Zhou SS, Jin JP, Wang JQ, Zhang ZG, Freedman JH, Zheng Y, et al. miRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges. *Acta pharmacologica Sinica*. 2018; 39(7):1073-84.
7. Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, Biffo S. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World journal of biological chemistry*. 2017; 8(1):45-56.
8. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in endocrinology*. 2018; 9:402.
9. Siracusa J, Koulmann N, Banzet S. Circulating myomiRs: a new class of biomarkers to monitor skeletal muscle in physiology and medicine. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*. 2018; 9(1):20-7.
10. McCarthy JJ, Esser KA. MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. *Journal of Applied Physiology*. 2007; 102(1):306-13.
11. Li N, Zhou H, Tang Q. miR-133: A Suppressor of Cardiac Remodeling? *Frontiers in pharmacology*. 2018; 9:903.
12. 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.
13. Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu QL, Callis TE, Hammond SM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nature Genetics*. 2006; 38(2):228-33.
14. Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *Journal of cell science*. 2007; 120(Pt 17):3045-52.
15. Ekhteraei Tousi S, Mohammad Soltani B, Sadeghizadeh M, Hoseini S, Soleimani M. Hsa-miR-133b Expression Profile during Cardiac Progenitor Cell Differentiation and its Inhibitory Effect on SRF Expression. *Pathobiology Research*. 2013; 16(1):1-9.
16. Thum T, Bauersachs J. MicroRNAs in cardiac hypertrophy and failure. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 2009; 5(3-4):e279-e83.
17. Chen JF, Callis TE, Wang DZ. microRNAs and muscle disorders. *Journal of Cell Science*. 2008; 122(1):13-20.
18. Berry MJ, Sheilds KL, Adair NE. Comparison of Effects of Endurance and Strength Training Programs in Patients with COPD. *Copd*. 2018; 15(2):192-9.
19. Nystoriak MA, Bhatnagar A. Cardiovascular Effects and Benefits of Exercise. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2018; 5:135.
20. Xu X, Wan W, Powers AS, Li J, Ji LL, Lao S, et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. *J Mol Cell Cardiol*. 2008; 44(1):114-22.
21. FARRIOL M, ROSSELL J, SCHWAR S. Body surface area in Sprague-Dawley rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 1997; 77 (0931-2439):61-5.
22. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001; 29(9):e45.
23. Wang L, Lv Y, Li G, Xiao J. MicroRNAs in heart and circulation during physical exercise. *Journal of sport and health science*. 2018; 7(4):433-41.
24. Zhang S, Chen N. Regulatory Role of MicroRNAs in Muscle Atrophy during Exercise Intervention. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19(2).
25. 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.

26. Davidsen PK, Gallagher IJ, Hartman JW, Tarnopolsky MA, Dela F, Helge JW, et al. High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression. *Journal of Applied Physiology*. 2011; 110(2):309-17.
27. Czubryt MP, Olson EN. Balancing contractility and energy production: the role of myocyte enhancer factor 2 (MEF2) in cardiac hypertrophy. *Recent Prog Horm Res*. 2004; 59:105-24.
28. Nelson TJ, Balza R, Jr., Xiao Q, Misra RP. SRF-dependent gene expression in isolated cardiomyocytes: regulation of genes involved in cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 39(3):479-89.
29. Trachsel LD, Ryffel CP, De Marchi S, Seiler C, Brugger N, Eser P, et al. Exercise-induced cardiac remodeling in non-elite endurance athletes: Comparison of 2-tiered and 4-tiered classification of left ventricular hypertrophy. *PLoS One*. 2018; 13(2):e0193203.
30. Fulghum K, Hill BG. Metabolic Mechanisms of Exercise-Induced Cardiac Remodeling. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2018; 5:127.

Archive of SID