علوم زیستی ورزشی ـ بهار ۱۳۹۵
دورهٔ۸، شمارهٔ ۱، ص : ۶۵ – ۷۵
تاریخ دریافت : ۱۹ / ۰۹ / ۹۲
تاریخ پذیرش : ۲۰ / ۰۷ / ۹۳

تأثیر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی [*۱]– رضا قراخانلو [۲]- حمید رجبی [۳]

۱. استادیار فیزیولوژی ورزش گروه تربیت بدنی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران ۲. دانشیار، گروه تربیت بدنی، دانشکدهٔ علوم انسانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۳. دانشیار، دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران

چکیده

miR-1 در بسیاری از فرایندهای سلولی از جمله هایپرتروفی بافت عضلانی (اسکلتی و قلبی) درگیر است. فعالیت‌های استقامتی نیز موجب هایپرتروفی قلب می‌شود، بنابراین هدف این مطالعه بررسی اثر فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 قلب است. بدین منظور ۱۴ رت در شرایط کنترل‌شده (دما، چرخهٔ روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری شدند و بعد از آشناسازی با پروتکل تمرینی به‌صورت تصادفی در دو گروه کنترل و تجربی قرار گرفتند. گروه تجربی یک برنامهٔ (۱۴ هفته‌ای) استقامتی را روی تردمیل اجرا کرد. در ادامه ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسهٔ تمرینی بی‌هوش و تشریح شدند، سپس قلب و بطن چپ آنها خارج و با استفاده از روش Real time-PCR میزان بیان miR-1 قلب آنها اندازه‌گیری شد. در پایان با استفاده از آزمون آماری t اطلاعات به‌دست‌آمده ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین بیان miR-1 قلب گروه کنترل و تجربی وجود ندارد (P=.۱۹۱). فعالیت استقامتی بر بیان miR-1 قلب تأثیر معناداری نداشت، احتمال دارد تغییرات miR-1 هرچند کم، در سطح پروتئین ژن‌های هدف آن مشخص شود.

واژه‌های کلیدی

بطن چپ، فعالیت استقامتی، قلب، miR-1.

[*] نویسندهٔ مسئول : تلفن : ۰۹۳۸۹۲۰۵۳۶۶ Email :Fathi.m@lu.ac.ir

مقدمه

در پاسخ به محرک‌های گوناگون بافت عضلانی دچار تجدید ساختار می‌شود (۲۰)، بافت قلب از این قاعده مستثنا نیست. از جمله محرک‌های تأثیرگذار بر بافت قلب، تحرک و بی‌تحرکی است که در پاسخ به این عوامل، قلب به‌ترتیب دچار هایپرتروفی و آتروفی می‌شود (۸، ۴). نکتهٔ جالب‌تر اینکه پاسخ قلب به نوع تحرک نیز اختصاصی است، که نشان‌دهندهٔ دقت و ظرافت پاسخ‌های سلولی-مولکولی به فعالیت‌های بدنی است که در حقیقت ساختار قلب را با مسئولیت‌های عملکردی آن هماهنگ می‌کند. درحالی‌که فعالیت‌های مقاومتی به افزایش ضخامت دیواره‌های قلب بدون تأثیر شایان توجهی در حجم‌های داخلی آن در مدل‌های انسانی و حیوانی منجر می‌شود، فعالیت‌های استقامتی اغلب موجب افزایش حجم‌های داخلی و همچنین افزایش دیواره‌های قلب می‌شود، هرچند این افزایش دیواره‌ها به اندازه‌ای نیست که در فعالیت‌های مقاومتی رخ می‌دهد (۲۹، ۱۹). اما این موضوع نشان می‌دهد که پاسخ و سازگاری قلب به محرک‌های گوناگون بسیار کارامد است.

در سال‌های اخیر RNAهای غیرکدی به نام microRNAها (miRs) کشف و مشخص شده است که بیان ژن را در سطح پس رونویسی تنظیم می‌کنند (۲۸، ۱)، به همین دلیل این عناصر پاسخ‌های بافتی را به طور دقیق[1] کنترل می‌کنند (۱۳). همچنین این عناصر در بسیاری از فرآیندهای سلولی درگیرند (۲۸). برخی از miRs تنها در بافت عضلانی بیان می‌شود، به همین دلیل آنها را myomiR می‌نامند (۲۸). از جملهٔ این myomiR می‌توان به miR-1 اشاره کرد که در شماری از فرآیندهای عضلانی درگیر است (۲۸)؛ مشخص شده است در عضلهٔ قلب همراه با miR-133 در تکثیر و تمایز سلول‌ها در دوران جنینی قلب نقش دارد (۱۰). miR-1 با تنظیم فعالیت HDAC4 (فاکتوری که موجب فشردگی کروماتین می‌شود) (۱۰)، Hand2 (فاکتور رونویسی که برای رشد قلب ضروری است) (۳۲) وIrx5 (تنظیم‌کنندهٔ ریلاریزاسیون قلب) (۳) به‌ترتیب تمایز سلول‌های قلب، رشد بطنی و هدایت‌پذیری قلب را تعدیل می‌کند (۲۸).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت‌های بدنی (استقامتی و مقاومتی) بر بیان miRs و myomiRs حداقل در عضلات اسکلتی اثر می‌گذارد. برای مثال مک‌کارتی[2] و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که

1. Fine tuning
2. McCarthy

miR-1 و miR-133 در پاسخ به یک دوره اضافه‌بار عملکردی[1] در عضلات نعلی و پلانتاریس کاهش می‌یابد، درحالی‌که miR-206 به‌طور معناداری افزایش می‌یابد (۱۵). در پژوهشی دیگر گزارش شد که یک جلسه تمرین استقامتی موجب افزایش بیان معنادار miR-1 و miR-108 عضلات تمرین‌کرده می‌شود (۲۲). در پژوهش‌های نیلسن[2] (۲۰۱۰)، مک‌کارتی (۲۰۰۷)، درآموند[3] (۲۰۰۸)، دیویدسن (۲۰۱۱) (۱۷، ۱۵، ۶، ۵) و قراخانلو (منتشرنشده) تأثیرپذیری miRs از فعالیت بدنی تأیید شده است. اما در بافت عضلهٔ قلب تنها پژوهش سوسی[4] (۲۰۱۱) نشان داد موش‌هایی که ۲ نوع پروتکل تمرین استقامتی کم‌شدت (۱۰ هفته شنا، ۵ روز در هفته به مدت یک ساعت) و کم‌شدت بلندمدت (همان پروتکل کم‌شدت تا هفتهٔ هشتم، از هفتهٔ نهم به بعد دو جلسه در روز و از هفتهٔ دهم به بعد ۳ جلسه در روز تمرین کردند) را اجرا کردند، میزان بیان miR-1 و miR-133 در عضلهٔ قلب در اثر هر دو پروتکل تمرین، کاهش یافت. هرچند تفاوت معناداری در بیان miR-1 و133- در زمان‌های متفاوت تمرینی مشاهده نشد (۲۵). با توجه به تأثیر فعالیت‌های استقامتی بر بافت قلب و نقش miR-1 بر تجدید ساختار آن، هدف این پژوهش بررسی تأثیر ۱۴ هفته تمرینات استقامتی (دویدن روی تردمیل) بر بیان miR-1 عضلهٔ قلب است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی را بر بیان ژن miR-1 عضلهٔ قلب به روش تجربی ارزیابی کرد. بدین منظور ۲۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (۲۰±۱۱۳گرم) از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همهٔ آنها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخهٔ روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما ۳±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد) به‌صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در این مدت رت‌ها در چهار قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن رت‌ها عبارت بود از ۲۴±۲۳۱ گرم. سپس دورهٔ آشناسازی رت‌ها با فعالیت استقامتی (دویدن روی تردمیل با سرعت ۹متر در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و ۴ روز در هفته) آغاز شد که این دوره ۱۰ روز (۵ جلسه) به طول انجامید. در پایان جلسات آشناسازی، رت‌ها به صورت تصادفی به دو گروه (۱۰سر به عنوان گروه کنترل و ۱۰سر دیگر به عنوان

1. Functional overload
2. Nielsen
3. Drummond
4. soci

گروه تمرینی) تقسیم شدند. از گروه تمرینی سه سر نتوانستند پروتکل را به پایان برسانند. از آنجا که در روش Real time (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشد، با حذف سه سر از گروه کنترل (به‌طور تصادفی) تعداد نهایی به ۱۴ سر(۷ سر شاهد و ۷ سر تجربی) کاهش یافت.

پروتکل تمرینی

با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل فعالیت استقامتی برای رت طراحی شد(۲۶، ۱۱)، به‌طوری‌که به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از فعالیت استقامتی منجر 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 تعبیه شده بود. هر جلسه با یک بخش ۵ دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای گرم کردن شروع می‌شد. در جلسهٔ اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود. به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش یافت (در هفته ۳-۱ هر روز ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد)، به‌طوری‌که در پایان روز ۲۳ مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید که با احتساب ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن، 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، به‌طوری‌که در پایان هفتهٔ ششم سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. در نهایت در هفته‌های ۷ تا ۱۰ به‌تدریج ۵ درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) نیز 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 هفتهٔ ۱۴ حفظ شد. پروتکل بین ساعات ۵ تا ۷ بعدازظهر هر روز اعمال می‌شد. در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسهٔ تمرینی رت‌ها با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به‌طوری‌که رت به تحریک اعمال‌شده پاسخ ندهد)، قلب رت‌ها در شرایط استریل خارج و بطن چپ آنها توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت مورد نظر (بطن چپ) بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب متناسب با بافت، رت و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از تشریح و تا شروع هموژن بافت‌ها، همهٔ آنها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

استخراج RNA از بافت

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن‌شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر تریزول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژ کردن) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد 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 درجهٔ سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ (شرکت eppendorff) شدند. سپس مایع رویی به‌دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد (از این مرحله به بعد با سرسمپلر فیلتردار کار شد). سپس ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملایم در دمای ۲۰- باقی ماندند (overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله رسوب سفیدرنگی در ته بیشتر 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 به‌دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی‌ماندهٔ اتانول تبخیر و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به‌آرامی 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. تمام مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل‌شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام می‌شد. غیر از مراحلی که نیاز بود، میکروتیوب‌های حاوی مواد سانتریفیوژ یا ورتکس شوند. در طی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می‌شد و به محض نیاز به تعویض دستکش‌ها تعویض می‌شد. کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج شده و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها براساس زمان‌بندی‌های گروه کالیبره شده بودند.

سنتز cDNA

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Exiqon با Cat # 203300 استفاده شد و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

ارزیابی بیان miR-1

برای ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت Applied Biosystem استفاده شد. SYBR Green master mix استفاده‌شده در این مرحله متعلق به شرکت Exiqon با Cat # 203450 بود. براساس دستورالعمل کیت برای یک نمونهٔ ۱۰ لاندای ترکیبی از master mix (۵ لاندا) پرایمر (۱ لاندا) و ۴ لاندا cDNA رقیق‌شده (۱ به ۸۰) در نظر گرفته شد و میزان بیان miR-1 با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run یک نمونه به‌عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت Applied Biosystem نباید CT[1] آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (U6)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و miR-1 همزمان (در یک Run واحد) ارزیابی شد. نمونه‌ها به‌صورت دوتایی (duplicate) ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه میانگین آنها محاسبه شد. شایان ذکر است در برخی موارد نیاز بود که test تکرار شود که در صورت نیاز تست تکرار می‌شد. درصورتی‌که CT پرتی مشاهده می‌شد، همراه با نمونهٔ کنترل آن از تحقیق حذف می‌شدند. بعد از انتقال اطلاعات به نرم‌افزار Excel براساس فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ میزان بیان miR-1 محاسبه شد (۱۴). مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده در جدول ۱ آمده است. پرایمرهای miR-1 و رفرنس آن (Housekeeping) U6 از شرکت Exiqon تهیه شد.

توالی miR-1 عبارت است از: UGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAU

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

miR-1	205104 rno-miR-1, LNA™ PCR primer set, UniRT .miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR, microRNA primer set.
U6	203907, U6 snRNA (hsa, mmu, rno) PCR primer set, UniRT. miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR, reference gene primer set. NCBI Symbol U6snRNA, NCBI Accesion: x59362

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده از دستگاه Real Time PCR که به‌صورت CT (میانگین CT برای هر نمونه) بودند (۳۱، ۳۰، ۲۴). با استفاده از نرم‌افزار Excel به $\Delta\Delta ct$ تبدیل شدند، سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ اعداد نهایی به‌دست آمد (۱۸). با انتقال این اعداد به نرم‌افزار SPSS، ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با

1. Cycle threshold

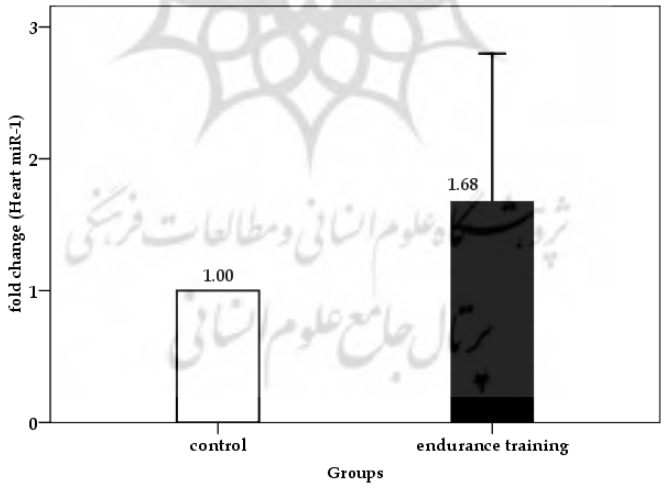
استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی و مشخص شد که داده‌ها توزیع طبیعی دارند. بعد از تعیین نرمال بودن، برای تعیین اختلاف میانگین‌ها از آزمون t تک‌نمونه‌ای[1] (به این دلیل که در روش real time همیشه میزان بیان ژن در گروه کنترل بعد از تفاضل ژن رفرنس با ژن هدف تبدیل به عدد یک می‌شود) استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون t (t=۱/۴۷) نشان داد که میانگین بیان miR-1 قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی ۱/۶۸ برابر افزایش می‌یابد (شکل ۱)، اما این افزایش معنادار نبود (P=۰/۱۹۱).

جدول ۲. نتایج آزمون t، مقایسهٔ میانگین گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در عضلهٔ قلب

آماره / miRs	Test Value = 1					
	مقدار T	درجهٔ آزادی	معناداری (دوطرفه)	تفاوت میانگین	دامنهٔ اطمینان تفاوت ها در سطح ۹۵٪	
					دامنهٔ‌پایین	دامنهٔ بالا
miR-1	۱/۴۷۳	۶	۰/۱۹۱	۰/۶۷۵۷۷	-۰/۴۴۶۷	۱/۷۹۸۳



شکل ۱. تأثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان miR-1 عضلهٔ قلب در گروه کنترل و تجربی

1. t One Sample Test

بحث و نتیجه‌گیری

برای اولین بار بود که سازگاری ایجادشده در بیان miR-1 قلب در پی ۱۴ هفته دویدن روی تردمیل در رت‌ها مطالعه می‌شد که مشخص شد ۱۴ هفته دویدن با شدت بالا تأثیر معناداری بر بیان miR-1 قلب ندارد و تنها یک پژوهش سازگاری ایجادشده در بیان miR-1 قلب در اثر فعالیت‌های بدنی را بررسی کرده بود (۲۵) که نتایج آن نشان داد تمرینات استقامتی بلندمدت (۱۰ هفته شنا، ۵ روز در هفته) با شدت متوسط و بالا موجب کاهش بیان miR-1 در بافت عضلهٔ قلب می‌شود (۲۵). شاید تناقض دیده شده به شدت فعالیت برگردد، زیرا در پژوهش یادشده پروتکل تمرین استقامتی «کم شدت و طولانی»[1] در نظر گرفته شده بود، اما در این پژوهش شدت تمرین بالا بود. هرچند این تنها پژوهشی است که پاسخ بافت قلب به فعالیت‌های استقامتی را بررسی کرد، که شدت و مدت پروتکل تمرینی پژوهش ذکرشده با این تحقیق متفاوت بود.

در تحقیق روی رت‌ها مشخص شد که بعد از اضافه بار فشاری (القاکنندهٔ هایپرتروفی نوع پاتولوژیکی) کاهش miR-1 یکی از سریع‌ترین تغییراتی است که حتی قبل از افزایش تودهٔ قلب رخ می‌دهد (۲۳)، ضمن اینکه بیان miR-1 در بطن هایپرتروفی‌شدهٔ افراد بیمار نیز کاهش می‌یابد (۹). از طرف دیگر مشخص شده که در نارسایی قلبی بیان miR-1 متفاوت است. درحالی‌که برخی پژوهشگران مشاهده کرده‌اند که بیان miR-1 در ایسکمی و کاردیومیوپاتی گشادشده[2] کاهش می‌یابد (۹). برخی دیگر گزارش کرده‌اند که میزان بیان آن افزایش می‌یابد (۲۷). در این زمینه هان[3] (۲۰۱۱) نشان داد که بیان miR-1 در هایپرتروفی کاهش می‌یابد، اما زمانی‌که نارسایی قلب پیشرفته شود، به حالت اول یا بیشتر از آن بر می‌گردد (۷). بنابراین می‌توان گفت که بیان miR-1 با هایپرتروفی قلب در ارتباط است، اما اینکه آیا تمایزی در بیان miR-1 در انواع هایپرتروفی دیده می‌شود یا نه؟ مشخص نیست، زیرا هایپرتروفی که در اثر فعالیت‌های بدنی رخ می‌دهد با آنچه در اثر نارسایی‌های قلبی یا فشار خون رخ می‌دهد متفاوت است (۸). این تفاوت بیشتر در سطح عملکردی قلب مشخص می‌شود، هایپرتروفی نوع فیزیولوژیک موجب بهبود عملکرد قلب و نوع پاتولوژیک آن موجب کاهش کارایی قلب می‌شود (۳۳).

یکی از ژن‌های هدف miR-1 ژن هیستون داستیلاز-۴ (HDAC4)[4] است (۲۸) که موجب فشردگی

1. Low-intensity, high long duration
2. Dilated cardiomyopathy
3. Han
4. Histone Deacetylase 4

کرماتین می‌شود، بنابراین دسترسی RNA پلی‌مراز به DNA برای آغاز رونویسی به‌شدت محدود می‌شود (۱۲)، در پایین‌دست HDAC4 فاکتور ۲ افزایش‌دهندهٔ میوسیت (MEF2)[1] قرار دارد (۱۶) که در حقیقت القاکنندهٔ تارهای نوع کند است (۲۱). HDAC4 سرکوب‌کنندهٔ MEF2 است(۱۶). بنابراین اگر فعالیت‌های استقامتی به کاهش بیان miR-1 منجر شود، بیان HDAC4 افزایش می‌یابد و MEF2 سرکوب می‌شود، نتیجهٔ نهایی کاهش بیان زنجیرهٔ سنگین نوع بتا MHCβ[2] یا تارهای نوع کند است که در حقیقت به افزایش کارایی قلب منجر می‌شود. فارغ از فرایندهای پس‌ترجمه‌ای انتظار این است که بیان miR-1 در اثر فعالیت‌های استقامتی که به کارایی قلب منجر می‌شود، کاهش یابد. البته پژوهشی نیاز است تا برایند این تغییرات را در سطح پس‌رونویسی بررسی کند، زیرا در این حالت می‌توان دیدگاه جامع‌تری نسبت به این موضوع پیدا کرد. اگر پیشنهاد هان مبنی بر تغییرات miR-1 را در نظر بگیریم، افزایش miR-1 در این تحقیق ممکن است ناشی از شدت بالای تمرینات استقامتی بوده باشد. مهم‌ترین محدودیت این تحقیق این بود که ما نتوانستیم میزان بیان پروتئین‌هایی را که تحت تأثیر miR-1 هستند، ارزیابی کنیم، زیرا با ارزیابی این پروتئین‌ها می‌توان دورنمای بهتری از عملکرد miR-1 به دست آورد.

به‌طور خلاصه نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت‌های استقامتی تأثیر معناداری بر بیان miR-1 ندارد. از آنجا که عمده تأثیرات miRs پس از رونویسی مشخص می‌شود، احتمال دارد تغییرات miR-1 هرچند کم، در سطح پروتئین ژن‌های هدف آن مشخص شود، بنابراین پیشنهاد می‌شود که سطوح پروتئینی ژن‌های هدف miR را در اثر فعالیت‌های استقامتی اندازه‌گیری کند.

منابع و مآخذ

1. Callis, T.E. and D.Z. Wang. (2008). Taking microRNAs to heart. Trends Mol Med, 14(6): p. 254-60.
2. Chen, J.F., et al. (2006). The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. Nature Genetics, 38(2): p. 228-233.
3. Costantini, D.L., et al. (2005). The homeodomain transcription factor Irx5 establishes the mouse cardiac ventricular repolarization gradient. Cell, 123(2): p. 347-58.
4. Czubryt, M.P. and E.N. Olson. (2004). Balancing contractility and energy production: the role of myocyte enhancer factor 2 (MEF2) in cardiac hypertrophy. Recent Prog Horm Res. 59: p. 105-24.

1. Myocyte Enhancer Factor 2
2. Myosin Heavy Chain-Beta

5. Davidsen, P.K., et al. (2011). High responders to resistance exercise training demonstrate differential regulation of skeletal muscle microRNA expression. Journal of Applied Physiology. 110(2): p. 309-317.
6. Drummond, M.J., et al. (2008). Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids. Am J Physiol Endocrinol Metab. 295(6): p. E1333-40.
7. Han, M., J. Toli, and M. Abdellatif. (2011). MicroRNAs in the cardiovascular system. Curr Opin Cardiol. 26(3): p. 181-9.
8. Hill, J.A. and E.N. Olson. (2008). Cardiac plasticity. N Engl J Med. 358(13): p. 1370-80.
9. Ikeda, S., et al. (2007). Altered microRNA expression in human heart disease. Physiol Genomics. 31(3): p. 367-73.
10. Ivey, K.N., et al. (2008). MicroRNA regulation of cell lineages in mouse and human embryonic stem cells. Cell Stem Cell. 2(3): p. 219-29.
11. Jin, H., et al. (2000). Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 279(6): p. H2994-3002.
12. Kehat, I., et al. (2011). Modulation of chromatin position and gene expression by HDAC4 interaction with nucleoporins. J Cell Biol. 193(1): p. 21-9.
13. Lee, C.T., T. Risom, and W.M. Strauss. (2007). Evolutionary conservation of microRNA regulatory circuits: an examination of microRNA gene complexity and conserved microRNA-target interactions through metazoan phylogeny. DNA Cell Biol. 26(4): p. 209-18.
14. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔct Method. Methods. 25(4): p. 402-8.
15. McCarthy, J.J. and K.A. Esser. (2007). MicroRNA-1 and microRNA-133a expression are decreased during skeletal muscle hypertrophy. Journal of Applied Physiology. 102(1): p. 306-313.
16. Miska, E.A., et al. (1999). HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor. EMBO J. 18(18): p. 5099-107.
17. Nielsen, S., et al. (2010). Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle. J Physiol. 588(Pt 20): p. 4029-37.
18. Pfaffl, M.W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 29(9): p. e45.
19. Pluim, B.M., et al. (2000). The athlete's heart: a meta-analysis of cardiac structure and function. Circulation. 101(3): p. 336-344.
20. Potthoff, M.J., E.N. Olson, and R. Bassel-Duby. (2007). Skeletal muscle remodeling. Current Opinion in Rheumatology. 19: p. 542-549.
21. Potthoff, M.J., et al. (2007). Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. J Clin Invest. 117(9): p. 2459-67.
22. Safdar, A., et al. (2009). miRNA in the Regulation of Skeletal Muscle Adaptation to Acute Endurance Exercise in C57Bl/6J Male Mice. PLoS One. 4(5): p. e5610.
23. Sayed, D., et al. (2007). MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac

hypertrophy. Circ Res. 100(3): p. 416-24.
24. Schmittgen, T.D. and K.J. Livak. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nature Protocols. 3(6): p. 1101-1108.
25. Soci, U.P., et al. (2011).MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. Physiol Genomics. 43(11): p. 665-73.
26. Sun, L., et al. (2010).Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci. 86(1-2): p. 39-44.
27. Thum, T., et al. (2007). MicroRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. Circulation. 116(3): p. 258-67.
28. van Rooij, E., N. Liu, and E.N. Olson. (2008). MicroRNAs flex their muscles. Trends in Genetics. 24(4): p. 159-166.
29. Weiner, R.B. and A.L. Baggish. (2012). Exercise-induced cardiac remodeling. Prog Cardiovasc Dis. 54(5): p. 380-6.
30. Wong, M.L. and J.F. Medrano. (2005). Real-time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques. 39(1): p. 75-85.
31. Yuan, J.S., et al. (2006). Statistical analysis of real-time PCR data. BMC Bioinformatics. 7: p. 85-97.
32. Zhao, Y., D. Srivastava, and E. Samal. (2005). Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. Nature. 436(7048): p. 214-220.
33. Zhua, S.S., et al. (2008). Left ventricular function in physiologic and pathologic hypertrophy in Sprague–Dawley rats. Science & Sports. 23 p. 299-305.

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی