Original Article

Effect of moderate intensity exercise on HDAC4 and CaMKII genes expression in myocardium of male rats

Khajehlandi M[1], Bolboli L[1*], Siahkuhian M[1], Rami M[2], Tabandeh M[3]

1- Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. Iran.
2- Department of Sport Physiology, Faculty of Sport Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.
3- Department of Basic Sciences, Biochemistry and Molecular Biology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. Iran.

Received: 2020/02/17 | Accepted: 2020/08/5

Abstract:

Background: Histone Dacetylases-4 (HDAC4) is phosphorylated by calcium-calmodulin-dependent kinase (CaMKII) that plays an important role in cardiac tissue hypertrophy. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of moderate intensity exercise on HDAC4 and CaMKII genes expression in myocardial Wistar male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 19 adult male rats with 10 weeks of age and weighing of (243±8.2 g) were divided into 2 groups (endurance training=9) and (control=10) based on weight matching. Training program consisted of 6 weeks of endurance training, 5 days per week and moderate intensity. 24 hours after the last training session, cardiac tissue samples were extracted to measure the expression levels of HDAC4 and CaMKII by in vitro Real Time PCR. Data were analyzed using SPSS software version 23 and independent t-test was used.

Results: The results showed that the expression of both HDAC4 and CaMKII genes in the exercise group was lower than the control group, significantly (P<0.001).

Conclusion: According to the results of the present study, it seems that moderate intensity endurance training can change some factors related to cardiac hypertrophy tissue of rats and can be effective in preventing cardiovascular disease.

Keywords: Moderate intensity endurance training, HDAC4, CaMKII, Myocard**,** Male rats

***Corresponding Author:**
Email: l_bolboli@uma.ac.ir
Tel: 0098 914 351 2590
Fax: 0098 453 352 0456

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2020; Vol. 24, No 4, Pages 357-365

Please cite this article as: Khajehlandi M, Bolboli L, Siahkuhian M, Rami M, Tabandeh M. Effect of moderate intensity exercise on HDAC4 and CaMKII genes expression in myocardium of male rats. ***Feyz*** 2020; 24(4): 357-65.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

اثر فعالیت ورزشی با شدت متوسط بر میزان بیان ژن HDAC4 و CaMKII در میوکارد رت‌های نر

مژده خواجه‌لندی [۱]، لطفعلی بلبلی [۲*]، معرفت سیاهکوهیان [۳]، محمد رمی [۴]، محمدرضا تابنده [۵]

خلاصه:

سابقه و هدف: هیستون داستیلازها-۴ (HDAC4) که فسفوریله شدن آن‌ها به‌وسیله کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین (CaMKII) صورت می‌گیرد، نقش مهمی در رشد و نمو بافت قلب دارد. از این‌رو هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر فعالیت ورزشی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HDAC4 و CaMKII در میوکارد رت‌های نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۱۹ سر موش صحرایی نر بالغ با ۱۰ هفته سن و وزن ۸/۲±۲۴۳ گرم براساس همسان‌سازی وزن به ۲ گروه (تمرین استقامتی=۹) و (کنترل=۱۰) تقسیم شدند. برنامه تمرینی شامل ۶ هفته تمرین استقامتی، ۵ روز در هفته با شدت متوسط بود. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه‌های بافت قلب برای اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌های HDAC4 و CaMKII با استفاده از روش آزمایشگاهی Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۳ و با استفاده از آزمون تی مستقل انجام شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد میزان بیان هر دو ژن HDAC4 و CaMKII در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بوده است ($P<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، به‌نظر می‌رسد که تمرین استقامتی با شدت متوسط می‌تواند برخی از فاکتورهای مرتبط با هایپرتروفی بافت قلب رت‌ها را تغییر دهد و همچنین می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های قلبی - عروقی مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: تمرین استقامتی با شدت متوسط، HDAC4، CaMKII، میوکارد، رت‌های نر

دو ماه‌نامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۹، صفحات ۳۶۵-۳۵۷

مقدمه

لازمه یک زندگی سالم، داشتن سیستم قلبی - عروقی کارآمد است. زندگی ماشینی امروز، کم‌تحرکی و تغذیه نامناسب خطرهای بی‌شماری برای قلب به دنبال دارند.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. دانشیار، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳. استاد، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴. استادیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵. دانشیار، گروه علوم پایه، بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* **نشانی نویسنده مسؤول:**
اردبیل، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی

تلفن: ۰۹۱۴۳۵۱۲۵۹۰ **دورنویس:** ۰۴۵۳۳۵۲۰۴۵۶

پست الکترونیک: l_bolboli@uma.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۲۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۹/۵/۱۵

بافت قلب در پاسخ به استرس‌های مطلوب واردشده، ازجمله فعالیت‌ها و تمرینات ورزشی توانایی سازگاری دارد [۱] که این نوع سازگاری و تجدید ساختار در عضله قلبی به نوع تمرین ورزشی، شدت، مدت، حجم و طول دوره تمرینی بستگی دارد [۲]؛ به‌طوری که مشخص شده است، فعالیت‌های ورزشی هوازی با اعمال پیش‌بار حجمی بر عضله قلب، از الگوی هایپرتروفی برون‌گرا پیروی می‌کنند و موجب ارتقای بافت قلب و به تبع آن بهبود عملکرد قلب می‌شوند [۳]. مطالعات اپیدمیولوژیکی از این فرضیه حمایت می‌کند که فعالیت بدنی اگر به اندازه، با برنامه و منظم باشد، عاملی مهم برای تقویت قلب است [۴]، اما ابهامات بسیاری در مورد چگونگی ایجاد این تغییرات و طریقه دستیابی به عملکرد بهتر وجود دارد. تغییرات ژنی و تجدید ساختار قلب از مهم‌ترین سازگاری‌های تمرینات استقامتی است که از طریق فرآیندی به نام اپی‌ژنتیک (Epigenetic) صورت می‌گیرد و شامل داستیلاسیون (Deacetylation) و استیالسیون (Acetylation) می‌باشد [۶،۵]، که به‌ترتیب موجب تراکم و عدم تراکم کروماتین می‌شوند. این اعمال توسط پروتئین‌های خانواده هیستون داستیلازها (HDACs) و استیل ترانسفرازها (HATs) و بیشتر فاکتورهایی که به بیان ژن زنجیره سنگین میوزین (MHC) قلب را کنترل می‌کنند، صورت می‌گیرد و با HAT و HDACs در ارتباط هستند [۸،۷].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

هیستون داستیلاز ۴ (HDAC4: Histone Dacetylases 4) ازجمله عوامل تأثیرگذار بر تغییرات ژنی ناشی از ورزش محسوب می‌شود که نقش سرکوب‌کنندگی بیان ژن را برعهده دارد [۹]. کروماتینی که در حالت متراکم‌تری قرار دارد، فعالیت رونویسی ندارد و با متراکم شدن در داخل DNA کروماتین، رونویسی ژن به‌شدت سرکوب می‌شود [۱۰]. در ایجاد فشردگی ساختار کروماتین، فاکتور HDAC4 نقش اصلی را بازی می‌کند. پروتئین HDAC4 عمدتاً در هسته و سیتوپلاسم سلول قرار دارد و چون عملکرد آن‌ها برای میوژنیک عضلات اسکلتی قلبی بسیار حیاتی است، به‌طوری که تنظیم نامناسب فعالیت HDAC4 با هایپرتروفی قلبی و مرگ ناگهانی همراه است [۱۱]. HDAC4 از طریق دو ناحیه مستقل، رونویسی را سرکوب می‌کند: یکی از طریق ناحیه‌ای که متشکل از قسمت ۲۰۸ در پایانه N خود است و دیگری ناحیه‌ای که در قسمت داستیلاز قرار دارد [۱۲]. رونویسی از طریق دو تا دومن مستقل HDAC4 سرکوب می‌شود، نخست دومنی که متشکل است از قسمت ۲۰۸ در پایانه N و دوم دومنی که در قسمت داستیلاز قرار دارد. HDAC4 از طریق ناحیه‌ای کوچک در پایانه N خود با ایزوفرم C، فاکتور افزایش‌دهنده میوسیت (MEF2C) در تعامل است [۱۳] و موجب سرکوب آن می شود [۱۴] و بدین‌ترتیب مانع هایپرتروفی قلب می‌گردد. برخلاف هیستون داستیلازهای دیگر، HDAC4 دارای یک جایگاه اتصالی برای CaMKII است که از این طریق سیگنال‌های وابسته به کلسیم، قادر است رشد قلب را تنظیم کند [۱۵]. به این‌صورت که فسفوریله شدن HDAC4 به‌وسیله CaMKII موجب می شود که به درون سیتوپلاسم رانده شود و به این طریق فرصتی برای فعالیت MEF2C و رشد هایپرتروفیک قلب ایجاد کند [۱۶]. بنابراین CaMKII تحت شرایط فیزیولوژیک به عملکرد طبیعی قلب کمک می‌کند [۱۵]. آنزیم CaMKII در نوسان با چندین پروتئین کلیدی دخیل در تنظیم حاد هموستاز کلسیم ازجمله گیرنده های ریانودین (RyR)، کانال‌های کلسیمی Ca-ATPase شبکه سارکوپلاسمی، فسفولامبان و کانال‌های کلسیمی نوع L در میوسیت‌های بطنی نقش دارند [۱۷]. تغییر در عملکرد CaMKII می‌تواند از طریق پیشبرد مکانیسم‌های منجر به هایپرتروفی، اختلال در عملکرد پروتئین‌های دخیل در جابه‌جایی کلسیم و یا آپوپتوزیس به ایجاد و پیشرفت نارسایی قلبی کمک کند [۱۸]. یافته‌های حاصل از پژوهش ها نشان می‌دهد که ژن های زیادی در غیاب ژن HDAC4 در قلب افزایش می‌یابند؛ ازجمله: ژن‌های میوفیلامنت‌ها، ژن هایی که در انقباض قلب نقش دارند و ژن های تنظیم‌کننده هموستاز یون کلسیم. بر این اساس می‌توان بیان نمود که HDAC4، گروه‌هایی از ژن‌های ویژه را که با عملکرد و هایپرتروفی قلب مرتبط هستند، سرکوب می‌کند [۱۹،۲۰]. در پژوهش های مختلفی به بررسی میزان HDAC4، متعاقب تمرین‌های استقامتی پرداخته و نتایج متناقضی دیده شده است؛ به‌طوری که در تحقیق پیرکی و همکاران مشخص گردید که ۱۰ هفته شنای وامانده‌ساز باعث افزایش HDAC4 در بطن چپ موش های صحرایی نر گردیده است [۲۱]. همچنین فتحی و همکاران در مطالعه خود افزایش معنی‌دار ژن HDAC4 را در بطن چپ موش‌های نری که ۱۴ هفته تمرین استقامتی داشتند، مشاهده کردند [۲۲]. این در حالی است که در مطالعه Medeiros و همکاران کاهش معنی‌دار HDAC4 پس از تمرین استقامتی مشاهده شد [۲۳]. اثر تمرین ورزشی بر میزان تغییرات CaMKII به‌ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. Rose و همکاران، افزایش کوتاه‌مدت CaMKII را در عضلات اسکلتی پس از تمرین ورزشی گزارش نمودند [۲۴]. Kemi و همکاران با بلاک نمودن CaMKII، کاهش تراکم فسفولمبان فسفریله را پس از تمرین نشان دادند [۲۵]. بنابراین از یک‌سو مشاهدات در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر تغییرات آنزیم CaMKII بسیار اندک می‌باشد و نیز مجهولات بسیاری وجود دارد و از سوی دیگر تحقیقات در زمینه HDAC4 با نتایج ضد و نقیضی همراه می‌باشد. به‌نظر می‌رسد تاکنون در پژوهشی بیان ژن CaMKII در بافت قلب پس از انجام یک دوره تمرین استقامتی بررسی نشده است، در نتیجه پیگیری تغییرات آن به دنبال HDAC4 در عضله قلبی با توجه به نقش مهمی که در پروسه هایپرتروفی قلب دارد، ایده‌آل می‌باشد. حال، پرسشی که مطرح می‌شود این است که آیا فعالیت‌های استقامتی که موجب هایپرتروفی قلب می‌شود، بر بیان ژن‌های HDAC4 و CaMKII که در هایپرتروفی قلب نقش مؤثری دارند، تأثیر می‌گذارد؟ به این ترتیب، هدف از مطالعه اخیر، بررسی اثر ۶ هفته فعالیت ورزشی با شدت متوسط بر بیان ژن‌های HDAC4 و CaMKII در میوکارد موش‌های نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها

پژوهش حاضر از نوع بنیادی به روش تجربی و شیوه آزمایشگاهی با طرح پس‌آزمون بود. این پژوهش با رعایت کلیه اصول آیین‌نامه اخلاق در پژوهش مصوب وزارت بهداشت و درمان انجام شده و در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با شماره IR.ARUMS.REC.1398.251 در سال ۱۳۹۸ به تصویب رسیده است. در تحقیق حاضر، تعداد ۱۹

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با ۱۰ هفته سن و وزن ۸±۲۴۳/۲ گرم به‌عنوان نمونه خریداری و به مرکز پژوهش منتقل شدند. دو هفته جهت سازگاری با محیط و رسیدن به دامنه وزنی مطلوب در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات در دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۲۵ تا ۳۰ درصد و چرخه تاریکی به روشنایی ۱۲:۱۲ ساعته (از ۷ صبح تا ۷ شب) نگهداری شدند. غذای مصرفی از شرکت خوراک دام پارس تهیه شد و آب آشامیدنی به‌صورت آزادانه در اختیار رت‌ها قرار گرفت. پس از انتقال به آزمایشگاه و آشنایی با فعالیت ورزشی روی تردمیل مخصوص جوندگان، موش‌ها براساس همسان سازی وزن به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه سالم تمرین (HT): این گروه شامل ۹ سر موش صحرایی نر سالم بود که در برنامه تمرینی نوار گردان شرکت کردند و گروه سالم کنترل (HC): این گروه شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر سالم بود که هیچ‌گونه فعالیت ورزشی روی آن‌ها انجام نگرفت.

پروتکل ورزشی

در پژوهش حاضر از تمرین استقامتی روی نوار گردان با شدت متوسط استفاده شد؛ بدین‌صورت که گروه ورزشی با رعایت اصل اضافه‌بار در معرض تمرین روی نوار گردان (تردمیل حیوانی مدل آذرخش، شرکت مهند سی پیشرو اندیشه صنعت، ایران) به تعداد ۵ جلسه در هفته و به‌مدت ۶ هفته قرار گرفت. سرعت و مدت تمرین نوار گردان به‌تدریج افزایش یافت: از ۱۰ متر در دقیقه برای ۱۰ دقیقه در هفته اوّل، ۱۰ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته دوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۲۰ دقیقه در هفته سوم، ۱۵ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته چهارم، به ۱۸-۱۷ متر در دقیقه برای ۳۰ دقیقه در هفته پنجم افزایش یافت [۲۶]. جهت رسیدن به سازگاری‌های به‌دست‌آمده در حالت یکنواخت، تمامی متغیرهای تمرینی در هفته پایانی (هفته ششم) ثابت نگه داشته شدند. جهت رعایت نکات اخلاقی برای وادار کردن به دویدن از شوک الکتریکی استفاده نشد و به‌جای آن میله پلاستیکی به‌کاررفت.

جدول شماره ۱- پروتکل تمرینی در طول ۶ هفته

	هفته اوّل	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم
مدت تمرین (دقیقه)	۱۰	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰
سرعت نوار گردان (متر بر دقیقه)	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۱۸-۱۷	۱۸-۱۷
شیب (درجه)	۰	۰	۰	۰	۰	۰
تکرار (روز در هفته)	۵	۵	۵	۵	۵	۵

آنالیز کمّی بیان ژن

۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، موش‌های صحرایی توسط تزریق درون‌صفاقی ترکیبی از ۷۵mg/kg-1 کتامین و ۵mg/kg-1 زایلازین بیهوش شدند و بافت قلب تحت شرایط استریل، توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت‌های قلب تا قبل از انجام بررسی‌های آزمایشگاهی در دمای ۷۰- نگهداری شدند. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری TRIZOL و مطابق با روش ارائه‌شده توسط شرکت انجام شد. به‌منظور حذف DNA، تمام نمونه‌های RNA به‌مدت ۱ ساعت با آنزیم Dnase و مطابق روش ارائه‌شده توسط شرکت تیمار شدند. غلظت و میزان خلوص نمونه‌های RNA پس از قرائت جذب آن‌ها در طول موج ۲۶۰ nm و نیز محاسبه نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ با استفاده از اسپکتروفوتومتر بیوفتومتر (اپندورف، آلمان) تعیین گردید. نمونه‌هایی که نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ آن‌ها بیش از ۱/۸ بود، جهت سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفتند. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری AmpliSence صورت پذیرفت. پرایمرهای تصادفی، هگزامر شد و در واکنش‌هایی با حجم ۲۰ µL مطابق دستورالعمل شرکت مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور تأیید بیان ژن‌های مورد بررسی، ابتدا واکنش روی بافت‌های انتخابی انجام گردید و سپس برای بررسی مقایسه‌ای بیان ژن‌ها از آزمون PCR در زمان حقیقی استفاده شد. همچنین برای طراحی پروب و پرایمر، نرم‌افزار Beacon designer TM7/01 به کار گرفته شد. واکنش‌های PCR با استفاده از آنزیم Taq polymerase در واکنش‌هایی با حجم ۲۵ µL انجام شد. نمونه cDNA بافت قلب به‌عنوان کنترل مثبت و یک نمونه واکنش فاقد cDNA به‌عنوان کنترل منفی در هر واکنش PCR در نظر گرفته شد. برای مشاهده محصول PCR از ژل آگاروز دو درصد تهیه شده در محلول بافر TAE استفاده شد. برای ارزیابی تغییرات بیان ژن‌ها، روش مقایسه‌ای $2^{-\Delta\Delta Ct}$ و دستگاه Mini Option Tm محصول شرکت بیوراد و کیت تجاری qPCR Probe Master Bioneer به‌کار گرفته شد. مقادیر مقایسه‌ای بیان ژن‌های موردنظر در مقایسه با بیان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

GAPDH در هر بافت توسط نرم‌افزار ژن، ارزیابی و براساس رابطه $2^{-\Delta\Delta Ct}$ گزارش گردید.

جدول شماره ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

Genes	Forward	Reverse	Accession No.
GAPDH	AGTTCAACGGCACAGTCAAG	TACTCAGCACCAGCATCACC	XM_017593963.1
HDAC4	CTCTGCCAAATGTTTCGGGT	CAAGCTCATTTCCCAGCAGA	NM_053449
CaMKII	AGTGACACCTGAAGCCAAAG	GTCAAGATGGCACCCTTCAA	NM_012519

ارزیابی هایپرتروفی بطن چپ

برای دستیابی به میزان هایپرتروفی قلب از ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن استفاده گردید. بدین منظور دو شاخص برای نسبی کردن وزن بطن چپ (نرمال کردن) و تأیید کردن هایپرتروفی به‌کار رفت. در حالت بیهوشی، وزن و طول بدن حیوان (از دهان تا ابتدای دم)، برای محاسبه سطح رویه بدن (Body Surface Area) BSA اندازه‌گیری شد. طول استخوان درشت‌نی توسط کولیس اندازه‌گیری شد. سپس قلب حیوان از شکاف ناحیه سینه، خارج و پس از اندازه‌گیری وزن قلب، بطن چپ نیز به دقت جدا شد و هر دوی آن‌ها به‌طور جداگانه توسط ترازوی مدل GR202 ساخت کشور ژاپن وزن شدند. BSA موش‌ها با استفاده از فرمول زیر و برنامه Excel برآورد شد.

L= طول بدن (سانتی‌متر) W= وزن بدن (گرم)

$$BSA=6.67\times W^{0.7}\ [0.34(/\sqrt{\frac{W}{L}}])$$

آنالیز آماری

برای گزارش داده‌ها از میانگین ± انحراف استاندارد استفاده شد. پس از توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس، به‌ترتیب از آزمون شاپیرو ویلک، آزمون لوین ($P\geq$۰/۰۵) و آزمون آنالیز t مستقل با شاخص معنی‌داری $P<$۰/۰۵ برای بررسی تفاوت بین دو گروه تمرین و کنترل استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت.

نتایج

نتایج جدول شماره ۳ نشان می‌دهد که وزن بدن گروه تمرین (۲۶۹/۲۷±۳۸/۱۵)، کمتر از گروه کنترل ۲۷۵/۷۵±۲۶/۱۸ می‌باشد؛ اما این اختلاف، معنی‌دار نیست (P=۰/۷۱۸) که می‌توان نتیجه گرفت دو گروه از لحاظ وزن بدن همسان هستند. همچنین وزن بطن چپ جداشده در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (P=۰/۰۰۲). علاوه بر این، نسبت وزن بطن چپ به BSA و نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن در گروه تمرین، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل شده است ($P<$۰/۰۵).

جدول شماره ۳- بررسی میزان شاخص‌های ارزیابی‌کننده هایپرتروفی بطن چپ در دو گروه

شاخص	گروه تمرین	کنترل	$P^{\#}$
وزن بدن (گرم)	۲۶۹/۲۷±۳۸/۱۵	۲۷۵/۲۶±۷۵/۱۸	۰/۷۱۸
وزن قلب (میلی‌گرم)	۹۹۸/۶۷±۴۹/۵۶	۸۷۹/۵۶±۶۸/۷۴	۰/۸۹۳
وزن بطن چپ (میلی‌گرم)	۶۹۰/۵۸±۲۶/۳۸	۶۱۰/۴۴±۴۳/۶۸	۰/۰۰۲
BSA (سانتی‌متر)	۳۸۷/۲۳±۳۳/۳۱	۳۹۲/۲۰±۱۴/۱۷	۰/۸۹۰
نسبت وزن بطن چپ به BSA (میلی‌گرم/سانتی‌متر)	۲/۰±۲۱/۱۱	۲/۰±۱۹/۲۱	۰/۰۳۰
نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن (میلی‌گرم/گرم)	۱/۰±۷۶/۱۹	۱/۰±۵۵/۲۰	۰#/۰۲۸

Independent t-test

بیان ژن‌ها

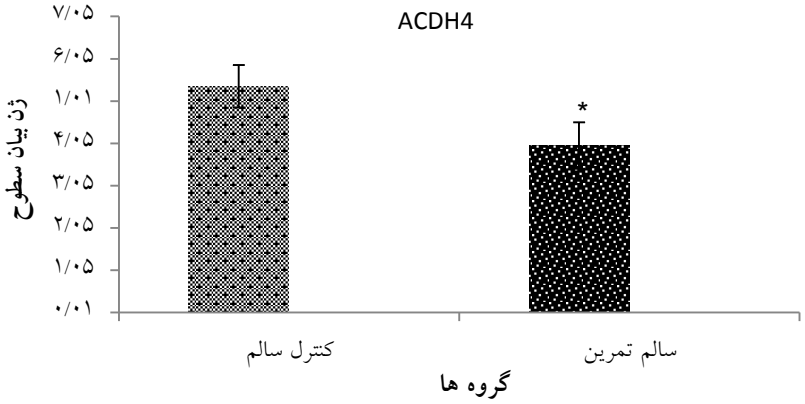
نتایج جدول شماره ۴ نشان می‌دهد میزان بیان هر دو ژن HDAC4 و CaMKII در گروه تمرین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بوده است ($P<$۰/۰۰۱). نمودارهای شماره ۱ و ۲ این اختلاف‌ها را با وضوح بیشتری نشان می‌دهند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

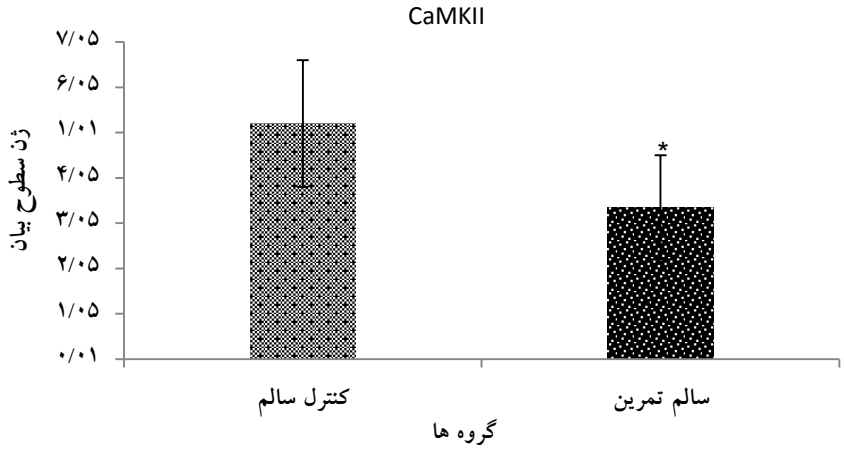
جدول شماره ۴- بررسی مقایسه میزان بیان ژن‌های HDAC4 و CaMKII بین دو گروه

گروه / ژن	تمرین	کنترل	t	$P^{\#}$
HDAC4	۰/۰±۷۹/۱۱	۱/۰±۰۷/۱۰	۱۱/۷۹	۰/۰۰۰
CaMKII	۰/۰±۶۷/۲۳	۱/۰±۰۴/۲۸	۱۰/۹۷	۰/۰۰۰

Independent t-test



نمودار شماره ۱- میزان بیان ژن ACDH4 در دو گروه تمرین و کنترل



نمودار شماره ۲- میزان بیان ژن CaMKII در دو گروه تمرین و کنترل

بحث

تمرینات ورزشی منظم، می‌توانند موجب ایجاد سازوکارهای مفیدی در عملکرد قلب شود و در آماده‌سازی سلول‌ها برای مقابله با مرگ‌ومیر ناشی از بیماری‌های قلبی نقش داشته باشد که از جمله این تمرینات، تمرین استقامتی است. بنابر نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر ۶ هفته تمرین استقامتی، موجب هایپرتروفی قلب در حیوانات گردیده است که با نتایج Alessio و همکاران [۲۷]، Medeiros و همکاران [۲۳] و DaSilva و همکاران [۲۸] همسو است. در تحقیق Alessio و همکاران که به بررسی تأثیر فعالیت‌های ورزشی بر هایپرتروفی قلب موش‌های نر پرداخته بودند، این نتیجه به‌دست آمد که اثر تمرینات ورزشی بر هایپرتروفی بطن چپ در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بوده است. Medeiros و همکاران نیز افزایش ۱۳ درصدی در وزن بطن چپ را پس از یک دوره تمرینات استقامتی مشاهده کردند. در این راستا نتایج مطالعه DaSilva و همکاران نیز افزایش ۳۰ درصدی در وزن بطن را پس از اعمال ۱۰ هفته تمرین تداومی با وزنه نشان داد. این‌گونه به‌نظر می‌رسد که فعالیت‌های ورزشی موجب هایپرتروفی قلب شده است. شایع‌ترین تغییرات اپی‌ژنتیک القاشده به‌وسیله فعالیت‌های بدنی، تعدیل‌های هیستونی، مانند متیلاسیون و استیلاسیون

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

DNA است. در بخش سلولی مولکولی مشاهده گردید که تمرین استقامتی با عث کاهش معنی‌دار بیان ژن های HDAC4 و CaMKII شده است. از جمله دلایل کاهش بیان CaMKII می‌تواند در تعامل با HDAC4 باشد که در اثر سازگاری با فعالیت هوازی، مقادیر بیان ژن HDAC4 کم می شود و نیاز به فسفوریله شدن آن توسط CaMKII نیز کاهش می‌یابد. بنابراین نیاز به بیان بالای CaMKII کاهش می‌یابد. نتیجه تغییرات بیان ژن HDAC4 در پژوهش حاضر با نتیجه تحقیق Medeiros [۲۳] همسو و با نتایج پژوهش فتحی و همکاران [۲۲] ناهمسو بود. نتایج مطالعه فتحی و همکاران نشان داد که پس از اجرای ۱۴ هفته تمرین دویدن استقامتی موش‌های صحرایی، بیان ژن HDAC در بطن چپ موش‌های نر افزایش پیدا کرده است. این در حالی است که نتایج مطالعه Medeiros بیان می‌دارد که اجرای تمرین شنای استقامتی به افزایش حجم و اندازه دیواره بطن چپ قلب موش‌های نر منجر می‌شود که با کاهش HDAC4 ارتباط دارد. از جمله دلایل افزایش بیان ژن HDAC4 در تحقیق فتحی و همکاران می‌توان این مورد را بیان نمود که رشد هایپرتروفیک قلب با فعال‌سازی مسیرهای AKT و PI3K در ارتباط است [۲۹] و یون کلسیم در فعال سازی این مسیرهای سیگنالینگ نقش دارد [۳۰]. احتمال دارد که فعالیت استقامتی موجب ریزش کلسیم به درون سلول‌های قلب شود و در نتیجه با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ موجب افزایش بیان ژن مذکور گردد. اما در سطح رونویسی عنوان شده است که جایگاه اتصالی برای فاکتورهای رونویسی SP1 وSP3 در پروموتور ژن وجود دارد، به این معنا که فعالیت این فاکتورهای رونویسی، موجب افزایش بیان این ژن و سرکوب آن‌ها موجب کاهش بیان ژن HDAC4 می‌شود [۳۱]. از جمله دلایل کاهش بیان ژن HDAC4 پس از ۶ هفته تمرین در پژوهش حاضر می‌توان به تغییرات فشار اکسایشی اشاره نمود؛ چنان‌چه از یک‌سو بیان شده است که تمرین استقامتی با شدت متوسط باعث کاهش فشار اکسایشی می‌گردد [۳۲]؛ از سوی دیگر رابطه مستقیمی بین HDAC4 و استرس اکسایشی وجود دارد. پس کاهش بیان این فاکتور و تعدیل شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی متعاقب سازگاری با تمرین استقامتی با شدت متوسط احتمالاً از جمله دلایل دیگر توجیه نحوه بیان ژن این فاکتور است. بنابراین از آن‌جایی که بیان ژن‌های زیادی توسط HDAC کنترل می شود که در هایپرتروفی قلب نقش دارند، با کاهش بیان این ژن فرصت برای اعمال فعالیت ژن‌های تحت کنترل HDAC بیشتر می‌شود و بدین‌ترتیب با در نظر گرفتن وضعیت ایده‌آل سایر فاکتورها شرایط برای هایپرتروفی قلب مهیا می‌گردد. ازجمله فاکتورهایی که می‌توان در پروسه هایپرتروفی قلبی به آن اشاره نمود، AMPK است [۳۳]. چنان‌چه مشخص شده است که بسیاری از فرآیندهای قلبی مانند تنظیم عملکرد میتوکندریایی و خصوصیات الکتروفیزیولوژی قلب را تنظیم می‌کند [۳۴] که میزان فعالیت آن در فعالیت‌های استقامتی افزایش می‌یابد [۳۵]. در تحقیق حاضر مشاهده گردید که پس از ۶ هفته تمرین استقامتی میزان بیان ژن CaMKII در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری پیدا کرد. تغییر در عملکرد CaMKII می‌تواند از طریق پیشبرد مکانیسم‌های منجر به هایپرتروفی، اختلال در عملکرد پروتئین های دخیل در جابه جایی کلسیم و یا آپوپتوزیس، به ایجاد و پیشرفت نارسایی قلبی کمک کند [۳۶]. در طول دو دهه اخیر شواهدی در زمینه نقش پاتولوژیک آنزیم CaMKII ارائه و گزارش شده است که نشان می‌دهد فعالیت CaMKII در میوکاردیوم تحت شرایطی همچون هایپرتروفی، انفارکتوس و استرس اکسیداتیو افزایش می‌یابد [۳۹-۳۷]. به‌علاوه افزایش سه برابری فعالیت CaMKII و افزایش دو برابری بیان ژن این آنزیم در افراد دارای نارسایی قلبی همراه با کاردیومیوپاتی گشادشده گزارش شده است [۴۰]. از جمله مواردی که برای توجیه کاهش بیان این آنزیم در تحقیق حاضر می‌توان بیان نمود، افزایش بیان زیرواحدهای AMPK می‌باشد؛ به‌طوری که با افزایش بیان آن در تمرینات استقامتی، فسفوریله شدن HDAC4 و خروج آن از هسته سیتوپلاسم دیده می شود [۴۱]. بدین ترتیب نیاز به وجود CaMKII برای خروج HDAC4 کاهش می‌یابد. هرچند ارتباط این دو در قلب به‌خوبی مشخص نشده است، اما امکان دارد فاکتور رونویسی در قلب با HDAC4 و ژن سرکوب‌کننده رونویسی ژن AMPK در ارتباط باشد که نیاز به بررسی‌های سلولی مولکولی بیشتر در این زمینه را ایجاد می‌کند. از دیگر احتمالات ممکن در روند تأثیر بیان ژن CaMKII می‌توان به کاهش استرس اکسیداتیو متعاقب تمرین هوازی طولانی مدت اشاره نمود؛ چراکه بنابر بسیاری از مطالعات کاهش استرس متعاقب فعالیت بدنی به اثبات رسیده است [۴۳،۴۲]. بنابراین از آن‌جایی‌که بین استرس اکسیداتیو و آنزیم CaMKII ارتباط مستقیمی وجود دارد، احتمالاً با کاهش استرس اکسیداتیو پس از ۶ هفته تمرین استقامتی بیان ژن این آنزیم کاهش می‌یابد [۴۴]. نقاط قوت تحقیق حاضر، قابل کنترل بودن زمان تمرینات، در دسترس بودن وسایل و امکانات موردنیاز و کنترل تغذیه حیوانات است و محدودیت‌های تحقیق حاضر، عدم اندازه‌گیری شاخص‌های ساختاری قلب، قبل از انجام پروتکل تمرینی، سایر فاکتورهای مرتبط با هایپرتروفی بافت قلب و میزان پروتئین آن‌ها بود که امید است در پژوهش‌های آتی در زمینه تغییرات پس از رونویسی این ژن‌ها تحقیقاتی صورت پذیرد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

نتیجه‌گیری

می‌توان نتیجه گرفت که ۶ هفته تمرین اســـتقامتی موجب هایپرتروفی قلب حیوانات شـــده اســـت که این هایپرتروفی توســـط ارزیابی ن سبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن تأیید شـــد. علاوه بر این با بیان متعارف CaMKII و کاهش بیان ژن HDAC4 در اثر یک دوره تمرین استقامتی با شدت متوسط زمینه برای فعالیت فاکتور های مرتبط با هایپرتروفی مهیا می‌گردد و هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب به‌دنبال فعالیت ورزشی دیده می‌شود. از این‌رو انجام تمرین ا ستقامتی را می‌توان به‌عنوان یک ا ستراتژی مهم در را ستای بهبود ساختار و عملکرد قلب تو صیه نمود و این روش به‌عنوان یک روش مداخله‌ای تأثیرگذار جهت سلامت و بقای قلب می‌تواند مورد توجه بیشتر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از رســـاله دکتری در رشـــته فیزیولوژی ورزش و گرایش قلب، عروق و تنفس مصوب سال ۱۳۹۸ دانشکده علوم تربیتی و روان‌شـــناســـی دانشـــگاه محقق اردبیلی می‌باشـــد. صمیمانه از تمام ک سانی که در انجام پژوهش ما را یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References:

[1] Seo DY, Kwak HB, Kim AH, Park SH, Heo JW, Kim HK, et al. Cardiac adaptation to exercise training in health and disease. ***Pflug Arch Eur J PHY*** 2020; 472(2): 155-68.

[2] Basavarajaiah S, Boraita A, Whyte G, Wilson M, Carby L, Shah A, et al. Ethnic differences in left ventricular remodeling in highly trained athletes relevance to differentiating physiologic left ventricular hypertrophy from hypertrophic cardiomyopathy. ***J Am Coll Cardiol*** 2008; 51(23): 2256-62.

[3] Henriksen E, Sundstedt M, Hedberg P. Left ventricular end-diastolic geometrical adjustments during exercise in endurance athletes. ***Clin Physiol Funct Imaging*** 2008; 28(2): 76-80.

[4] Anderson E, Durstine JL. Physical activity, exercise, and chronic diseases: A brief review. ***Sports Medicine Health Science*** 2019; 1(1): 3-10.

[5] Ntanasis-Stathopoulos J, Tzanninis JG, Philippou A, Koutsilieris M. Epigenetic regulation on gene expression induced by physical exercise. ***J Musculoskelet Neuronal Interact*** 2013; 13(2): 133-46.

[6] Liu Y, Randall WR, Schneider MF. Activity-dependent and independent nuclear fluxes of HDAC6 mediated by different kinases in adult skeletal muscle. ***J Cell Biol*** 2005; 146:661-71.

[7] McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN. Signaling chromatin to make muscle. ***CURR OPIN CELL BIOL*** 2002; 14(6): 763-72.

[8] Jaenisch, Wolffe, Bird, Fedoroff, Horz, Finnegan, Laird, Flavell, Wilkins, Allshire, Kooter. DNA methylation, nucleosomes and the inheritance of chromatin structure and function-Discussion. 1995: 35-45.

[9] Miska EA, Karlsson C, Langley E, Nielsen SJ, Pines J, Kouzarides T. HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor. ***EMBO J*** 1999; 18(18): 5099-107.

[10] Kehat I, Accornero F, Aronow BJ, Molkentin JD. Modulation of chromatin position and gene expression by HDAC4 interaction with nucleoporins. ***J Cell Biol*** 2011; 193(1): 21-9.

[11] Dressel U, Bailey PJ, Wang SM, Downes M, Evans RM, Muscat GE. A dynamic role for HDAC7 in MEF2-mediated muscle differentiation. ***J*** BIOL ***CHEM*** 2001; 276(20):17007-13.

[12] Rose AJ, Frosig C, Kiens B, Wojtaszewski JFP, 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(2): 785-95.

[13] Feng J, Fouse S, Fan G. Epigenetic regulation of neural gene expression and neuronal function. ***Pediatr Res*** 2007; 61(5): 58-63.

[14] Wang AH, Bertos NR, Vezmar M, Pelletier N, Crosato M, Heng HH, et al. HDAC4, a human histone deacetylase related to yeast HDA1, is a transcriptional corepressor***. Mol Cell Biol*** 1999; 19 (11): 7816-27.

[15] Backs J, Song K, Bezprozvannaya S, Chang S, Olson EN. CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy. ***J Clin Invest*** 2006; 116 (7): 1853-64.

[16] Zhang T, Maier LS, Dalton ND, Miyamoto S, Ross J, Bers DM, et al. The δ C isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure. ***Circulation Res*** 2003; 92: 912-9.

[17] Zhang T, Miyamoto S, Brown JH. Cardiomyocyte calcium and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II: friends or foes?. ***Recent Prog Horm Res*** 2004; 59: 141-68.

[18] Zhang T, Brown JH. Role of Ca2+/calmodulin dependent protein kinase II in cardiac hypertrophy and heart failure. ***Cardiovascular Res*** 2004; 63: 476-86.

[19] Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers. ***J Clin Invest*** 2007; 117(9): 2459-67.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]

[20] Rose AJ, Frosig C, Kiens B, Wojtaszewski JFP, 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(2): 785-95.
[21] Piraki P, Hematfar A, Behpour N, Samavati Sharifi MA. The Effect of 10 Weeks of Exhaustive Swimming on Gene Expression of Histone Deacetylase-4 and Myocyte Enhancer Factor-2c in Left Ventricle in Male Rats. ***Journal of sport Biosciences*** 2018; 10(2): 249-61. [in Persian]
[22] Fathi M, Gharakanlou R, Rezaei R. The Effect of 14-Week Endurance Training on Left Ventricle HDAC4 Gene Expression of Wistar Male Rat. ***J Sport Biomotor Sci*** 2013; 11(1): 5-15.
[23] Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Casarini DE, Negrao CE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. ***Braz J Med Biol Res*** 2004; 37(12): 1909-17.
[24] Rose AJ, Kiens B, Richter EA. Ca2+–calmodulin- dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise***. J Physiol*** 2006; 574(3): 889-903.
[25] Kemi OJ, Ellingsen Ø, Ceci M, Grimaldi S, Smith GL, Condorelli G, et al. Aerobic interval training enhances cardiomyocyte contractility and Ca 2+ cycling by phosphorylation of CaMKII and Thr-17 of phospholamban***. J Mol Cell Cardiol*** 2007; 43(3): 354-61
[26] Chae CH, Jung SL, An SH, Jung CK, Nam SN, Kim HT. Treadmill exercise suppresses muscle cell apoptosis by increasing nerve growth factor levels and stimulating p-phosphatidylinositol 3-kinase activation in the soleus of diabetic rats & quot. ***Physiol Biochem*** 2011; 67(2): 235-41.
[27] Alessio DL, Laura S, Gianni P, Stefano P, Giorgio G. The effect of exercise training on left ventricular function in young elite athletes. ***Cardiovasc Ultrasound*** 2011; 9: 27.
[28] Da Silva JND, Fernandes T, Soci UPR, Monteiro AWA, Phillips MI, De Oliveira EM. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA-126 expression and angiogenesis. ***Med Sci Sports Ex***erc 2012; 44(8): 1453-62.
[29] DeBosch B, Treskov I, Lupu TS, Weinheimer C, Kovacs A, Courtois M, et al. Akt1 is required for physiological cardiac growth. ***Circulation*** 2006; 113(17):2097-104.
[30] O'Neill BT, Kim J, Wende AR, Theobald HA, Tuinei J, Buchanan J, et al. A conserved role for phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt signaling in mitochondrial adaptations that accompany physiological cardiac hypertrophy. ***Cell Metab*** 2007; 6 (4):294-306.
[31] Liu F, Pore N, Kim M, Voong KR, Dowling M, Maity A, et al. Regulation of histone deacetylase 4 expression by the SP family of transcription factors. ***Mol Biol Cell*** 2006; 17(2): 585-97.
[32] Bolboli L, Khajehlandi M. A Comparison of the Effect of Endurance Training on the Activities of Glutathione Peroxidase and Superoxide Dismutase in the Cardiac Tissue of Healthy and Diabetic Rats. ***Yafte*** 2020; 21(4): 20-31. [in Persian]
[33] Zaha VG, Young LH. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. ***Circ Res*** 2012; 111(6): 800-14.
[34] Musi N, Hirshman MF, Arad M, Xing Y, Fujii N, Pomerleau J, et al. Functional role of AMP-activated protein kinase in the heart during exercise. ***FEBS Lett*** 2005; 579(10): 2045-50.
[35] Mihaylova MM, Vasquez DS, Ravnskjaer K, Denechaud PD, Yu RT, Alvarez JG, et al. Class IIa histone deacetylases are hormone-activated regulators of FOXO and mammalian glucose homeostasis. ***Cell*** 2011; 145 (4):607-21.
[36] Zhang T, Brown JH. Role of Ca2+/calmodulin dependent protein kinase II in cardiac hypertrophy and heart failure. ***Cardiovascular Res*** 2004; 63: 476-86.
[37] Anderson ME, Braun AP, Wu Y, Lu T, Wu Y, Schulman H, et al. KN-93, an inhibitor of multifunctional Ca++/calmodulin-dependent protein kinase, decreases early afterdepolarizations in rabbit heart. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1998; 287(3):996–1006.
[38] Wu Y, Roden DM, Anderson ME. Calmodulin kinase inhibition prevents development of the arrhythmogenic transient inward current. ***Circ Res*** 1999; 84(8): 906–12.
[39] Wu Y, MacMillan LB, McNeill RB, Colbran RJ, Anderson ME. CaM kinase augments cardiac Ltype Ca2+ current: a cellular mechanism for long Q-T arrhythmias. ***Am J Physiol*** 1999; 276(6 Pt 2): H2168-2178.
[40] Kirchhefer U, Schmitz W, Scholz H, Neumann J. Activity of cAMP-dependent protein kinase and Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase in failing and nonfailing human hearts. ***Cardiovasc Res*** 1999; 42(1): 254–61
[41] Kehat I, Accornero F, Aronow BJ, Molkentin JD. Modulation of chromatin position and gene expression by HDAC4 interaction with nucleoporins. ***J Cell*** Biol 2011; 193(1):21-9.
[42] Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemiareperfusion injury. ***Free Radic Biol Med*** 2008; 44: 193-201.
[43] Naderi R, Gisou M, Mohammadi M, Ghaznavi R, Ghyasi R, Vatankhah A. Voluntary Exercise Protects Heart from Oxidative Stress in Diabetic Rats. ***Adv Pharm Bull*** 2015; 5(2): 231-6.
[44] Anderson ME, Brown JH, Bers DM. CaMKII in myocardial hypertrophy and heart failure. ***J Mol Cell Cardiol*** 2011; 51(4): 468–73.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-03]