مجلـه‌ی علمی، پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشـکی زنجـان
دوره‌ی ۲۵، شماره‌ی ۱۱۳، بهمن و اسفند ۱۳۹۶، صفحات ۶۷ تا ۷۸

افزایش بیان ژن Sca-1 در رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد در اثر تمرین ورزشی تناوبی کم شدت

دکتر عباسعلی گائینی[۱]، دکتر محمد همتی نفر[۲]

نویسنده‌ی مسئول: گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روان شناسی، دانشگاه شیراز، شیراز m.hemmatinafar@shirazu.ac.ir

دریافت: ۹۵/۱۱/۱۳ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: *تمرین ورزشی اثرات مفیدی روی عضله‌ی قلبی دارد و می‌تواند به تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید منجر شود. از طرف دیگر، Sca-1 یکی از مهم‌ترین نشانگرهای سطحی سلول‌های بنیادی قلبی است که می‌تواند به تعمیر عضله‌ی قلبی به دنبال آنفارکتوس میوکارد (MI) منجر شود. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر شدت‌های گوناگون تمرین ورزشی بر بیان ژن Sca-1 در رت‌های مبتلا به MI بود.*

روش بررسی: *پژوهش حاضر از نوع بنیادی ـ کاربردی می‌باشد. به این منظور، ابتدا رت‌های نر نژاد ویستار تحت عمل جراحی بستن شریان کرونری LAD قرار گرفتند و سپس توسط اکوکاردیوگرافی ایجاد MI تایید شد. چهار هفته پس از جراحی، رت‌های مبتلا به MI به‌صورت تصادفی در گروه‌های تمرین ورزشی با شدت‌های کم (LIT)، متوسط (MIT)، زیاد (HIT) و انفارکتوس میوکارد بی‌تمرین (MI-SED) به‌اضافه گروه شم (Sham) قرار گرفتند و پروتکل‌های تمرین ورزشی را به مدت شش هفته اجرا کردند. داده‌ها با آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه و بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند.*

یافته‌ها: *نتایج نشان داد بین گروه‌ها در مقادیر کسر تزریقی، کسر کوتاه شدگی و mRNA Sca-1 تفاوت معناداری وجود دارد (P≤۰/۰۵). در گروه‌های تمرین ورزشی، مقادیر کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی نسبت به گروه MI-SED افزایش معناداری داشت. اما با وجود این، مقادیر آنها در مقایسه با گروه Sham به شکل معناداری کمتر می‌باشد (P≤۰/۰۵). همچنین، در مقادیر mRNA Sca-1، گروه LIT در مقایسه با گروه MI-SED افزایش معناداری داشت (P≤۰/۰۵).*

نتیجه‌گیری: *در مجموع، به نظر می‌رسد تمرین ورزشی تناوبی با شدت کم با بهبود عملکرد قلبی، تاثیر بارزتری بر بیان mRNA Sca-1 در رت‌های مبتلا به MI دارد.*

واژگان کلیدی: *انفارکتوس میوکارد، نارسایی قلبی، شدت تمرین ورزشی، ژن Sca-1*

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران
۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی ورزشی، استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشکده‌ی علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه شیراز، شیراز

مقدمه

بیماری‌های قلبی - عروقی (CVD) دلیل اصلی مرگ و میر در جوامع مدرن می‌باشند و یکی از شایع‌ترین CVDs، انفارکتوس میوکارد (MI) می‌باشد (۱). MI حاصل از بین رفتن حجم زیادی از کاردیومیوسیت‌ها و افزایش تکثیر فیبروبلاست می‌باشد که به اختلال در عملکرد قلبی منجر می‌شود (۲). بنابراین هرگونه تغییر در بهبود و افزایش طول عمر بیماران قلبی، می‌تواند تاثیر بزرگی بر ارتقای سلامت جامعه داشته باشد.

در دهه‌ی ۱۹۷۰، پژوهشگران گزارش کردند قلب انسان ارگانی پس میتوزی می‌باشد که تعداد کاردیومیوسیت‌های آن از زمان تولد تا پایان عمر تغییری نمی‌کند، همچنین قلب ارگانی با تمایز انتهایی می‌باشد و قادر به ساخت مجدد کاردیومیوسیت‌ها نیست (۵-۳). با این وجود، پژوهشگران نشان داده‌اند سلول‌های عضلانی قلب در مراحل انتهایی نارسایی قلبی و MI قادر به تکثیر و نوزایی هستند (۹-٦). در همین زمینه، مطالعه‌های اخیر وجود سلول‌های بنیادی قلبی (CSC) را در قلب بالغ گزارش کرده‌اند (۱۱و۱۰)، و مشارکت آنها در بهبود تغییر شکل بطن چپ پس از MI بررسی شده است (۷). این سلول‌ها عبارتند از: نشانگر سلول بنیادی (C-Kit)، و نشانگر آنتی ژن سلول بنیادی ۱ (Sca-1) (۱۱و۱۰). Sca-1 عضوی از خانواده‌ی لنفوسیت ـ ٦ (Ly-6) می‌باشد، که ابتدا به عنوان یکی از نشانگرهای سطح سلولی سول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک شناخته شد (۱۲). سپس نشان دادند سلول‌های بنیادی مشتق از میوکارد نیز Sca-1 را بیان می‌کنند و آن نقش مهمی در تمایز CSCs به کاردیومیوسیت‌های بالغ (نوزایی) حتی در گونه‌های مبتلا به MI ایفا می‌کند (۱۲). به رسمیت شناختن این موضوع که قلب پستانداران بالغ دارای جایگاهی برای سلول بنیادی است که می‌تواند کاردیومیوسیت‌ها و عروق کرونری را نوزایی کند، یک احتمال بی‌نظیر را در مورد بازسازی عضله قلب مرده پس از MI به ذهن متبادر می‌کند. پژوهشگران همواره به دنبال راهی هستند که بتواند با فعال‌سازی، تکثیر و تمایز CSCs، به افزایش ظرفیت نوزایی قلب منجر گردد. امروزه نشان داده‌اند تمرین ورزشی ابزار قدرتمندی جهت درمان بسیاری از بیماری‌های قلبی- عروقی است (۱۳و٦). تمرین ورزشی به رشد فیزیولوژیکی متعادل و برگشت‌پذیر قلب از طریق هیپرتروفی کاردیومیوسیت‌ها و همچنین تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید به همراه نئوآنژیوژنز منجر می‌شود (۱٤و۱۱). بر این اساس، شواهد رو به رشد نشان می‌دهند تمرین ورزشی به فعال سازی CSCs منجر می‌شود (۱۷-۱٤). تشریح سازوکارهایی که به فعال‌سازی CSCs از طریق فعالیت ورزشی منجر می‌شوند، می‌تواند به عنوان ابزار درمانی موثر و جدید با تکیه بر نوزایی قلبی، جهت درمان طیف وسیعی از بیماری‌های قلبی - عروقی استفاده شود. فعالیت ورزشی از طریق فعال سازی مسیر پیام‌رسانی عامل رشد شبه انسولینی- فسفواینوزیتید ۳ کیناز ـ پروتئین کیناز B (IGF-1–PI3K–AKT/PKB) به افزایش بیان مجموعه‌ی ژنی ورزشی (Mef2c، Sca-1، Gata4، Tbx5، Nkx2.5، TnT، Gata6 و ..) منجر می‌شود (۱۱). این مجموعه‌ی ژنی دارای نقش‌های شناخته شده‌ای در فعال‌سازی، تکثیر و تمایز CSCs به کاردیومیوسیت‌های بالغ (نوزایی قلبی) می‌باشند (۱۱).

به‌طورکلی، مطالعه‌ها نشان داده‌اند Sca-1 به‌عنوان یک نشانگر CSCs در تعمیر عضله قلبی پس از MI نقش مهمی دارد (۱۲). از طرفی گزارش شده است ظرفیت نوزایی قلبی (تغییرات Sca-1) به نوع فعالیت ورزشی بستگی ندارد و به احتمال زیاد به شدت و مدت فعالیت ورزشی وابسته می‌باشد (۱٤). باتوجه به مطالب اشاره شده در بالا، تاکنون مطالعه‌ای تغییرات Sca-1 را به دنبال شدت‌های گوناگون تمرین ورزشی در گونه‌های مبتلا به MI بررسی نکرده است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر شدت‌های گوناگون تمرین ورزشی بر بیان ژن Sca-1 در رت‌های مبتلا به MI بود.

روش بررسی

پـژوهش حاضـر بـا کـد RHC.AC.IR.REC.1393.28 توسط کمیته اخلاق مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی مورد تایید قرار گرفـت. از لحـاظ هـدف بنیادی- کاربردی می‌باشد که به‌صـورت تجربـی اجـرا شـد و براساس میزان نظارت و درجه کنتـرل، از نـوع پـژوهش‌هـای آزمایشگاهی است، که در آن تاثیر تمرین ورزشی با شدت کم بر ظرفیت نوزایی قلبی در رت‌های مبتلا به MI مورد بررسـی قرار گرفت.

حیوانات: در پژوهش حاضر تعداد ۵۵ سر رت نر نژاد ویستار ۱۰ هفته‌ای با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز انـستیتو پاسـتور ایـران خریـداری شـد. در مـدت اجـرای مـداخلات، رت‌هـا به‌صورت سه سـر در هـر قفـس بـا دسترسـی آزاد بـه آب و بسته‌های غذایی، و طبق چرخه‌ی ۱۲ ساعت خواب و بیداری در مرکز تحقیقـات تجربـی بیمارسـتان قلـب شـهید رجـایی نگه‌داری شدند. درجه حرارت اتاق، در محـدوده ۳۷ درجـه‌ی سانتی‌گراد حفظ می‌شد و تلاش گردیـد شـرایط نگهـداری و کـار بـا حیوانـات براسـاس توصـیه‌هـای قـوانین حمایـت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام گیرد.

عمل جراحی: در مطالعه‌ی حاضر برای ایجاد MI در رت‌ها از روش مداخله مستقیم استفاده شد که در آن شـریان کرونـری نزولی سمت چپ (LAD) رت‌ها توسط نخ بخیه مسدود شـد (۱۸). رت‌ها ابتدا به مدت یک هفته در مرکز تحقیقات تجربی بیمارستان قلب شهید رجایی در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس توسط داروی کتامین (۱۵۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم) و زایلازین (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شـده و موهـای قفسه سینه آنها به‌طور کامل اصلاح و در زیـر دسـتگاه تهویـه مصنوعی اینتوبه گردیدند. در ادامه از سمت چپ قفـسه سـینه آنها به میزان ٤ الی ٥ سانتی‌متر توسط تیـغ بیـستوری و سـایر ابزار جراحی برشی افقی انجام گرفـت تـا پـس از کنـار زدن قفسه سینه عضله قلب به‌صورت کامل قابل روئیـت باشـد. در این مرحله، LAD کاملا آشکار می‌شد و سپس توسط نخ بخیه به‌طور کامل مسدود گردید. پـس از انـسداد LAD بـه ترتیـب قفسه سینه، عضلات و پوست بخیه شدند (۱۹). رت جراحـی شده زیر دستگاه تنفس مصنوعی باقی می‌ماند تـا بـه‌صـورت طبیعی به‌هوش آمده و شروع به تنفس کند. در نهایـت رت‌هـا در قفسه مجزا قرار می‌گرفتند تا بعـد از گذشـت چهـار هفتـه تحت اکوکاردیوگرافی قرار گیرند (۱۹).

اکوکاردیوگرافی: پس از انجام جراحی و مسدود کردن LAD، رت‌ها در قفسه‌های مجزا به مدت چهـار هفتـه قـرار گرفتنـد. رت‌ها جهت انجام اکوکاردیوگرافی ابتدا طبق شرایط ذکر شده در بخـش جراحـی بـی‌هـوش شـدند و توسـط متخـصص اکوکاردیوگرافی در بخش رادیولوژی بیمارسـتان قلـب شـهید رجایی با استفاده از دستگاه اکوکـاردیوگرافی vivid7 سـاخت کشور آمریکا با پروپ ۱۲ مگاهرتزی در هفته چهـارم و دهـم پس از جراحی تحت اکوکاردیوگرافی قرار گرفتند. طـی ایـن فرایند شاخص‌های کسر تزریقی (EF) و کـسر کوتـاه‌شـدگی بطن چپ (FS) اندازه‌گیری شدند. سپس رت‌هایی کـه میـزان FS ≥ ۳۵ درصد داشتند و بـه MI مبـتلا شـده‌انـد بـرای ایـن مطالعه انتخاب شدند. کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی طبـق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (۲۱و۲۰).

$$EF = (LVDd^2 - LVDs^2)/LVDd^2,$$

$$FS = ((LVDd - LVDs)/LVDd)*100$$

(LVDd: قطر بطن چپ در پایان دیاستول، LVDs: قطر بطـن چپ در پایان سیستول)

پروتکـل‌هـای تمرینـی: در نهایـت، رت‌هـای زنـده مانـده‌ی مبتلا به MI، به‌صورت تصادفی بـه چهـار گـروه شـش‌تـایی تمرین ورزشی با شدت کم (LIT)، تمرین ورزشی با شـدت متوسط (MIT)، تمـرین ورزشـی بـا شـدت بـالا (HIT) و انفارکتوس میوکارد بـی‌تمـرین (MI-SED) تقـسیم شـدند. در این مطالعه، یک گروه کنترل تحت عنوان شم (Sham) به

تعداد شش رت مورد بررسی قرار گرفت که روی آنها عمل جرای بدون بستن LAD صورت گرفت و هیچ‌گونه مداخله تمرین ورزشی نداشتند. در هفته‌ی سوم و چهارم پس از جراحی رت‌ها با تردمیل توسط راه رفتن آرام روی آن آشنا شدند (با سرعت ۵ متر در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه و ۵ روز در هفته) (۱٤). در پایان هفته‌ی چهارم پس از جراحی VO_{2max} رت‌ها توسط آزمون فعالیت ورزشی بیشینه اندازه‌گیری شد (۲۲). سرعت دویدن هر رت روی تردمیل با توجه به VO_{2max} آن به‌صورت انفرادی محاسبه گردید. پس از آن رت‌ها به مدت دو روز استراحت کردند و در ادامه پروتکل‌های تمرینی زیر اجرا شدند. در زیر به جزئیات پروتکل‌های تمرین ورزشی استفاده شده در پژوهش حاضر اشاره شده است:

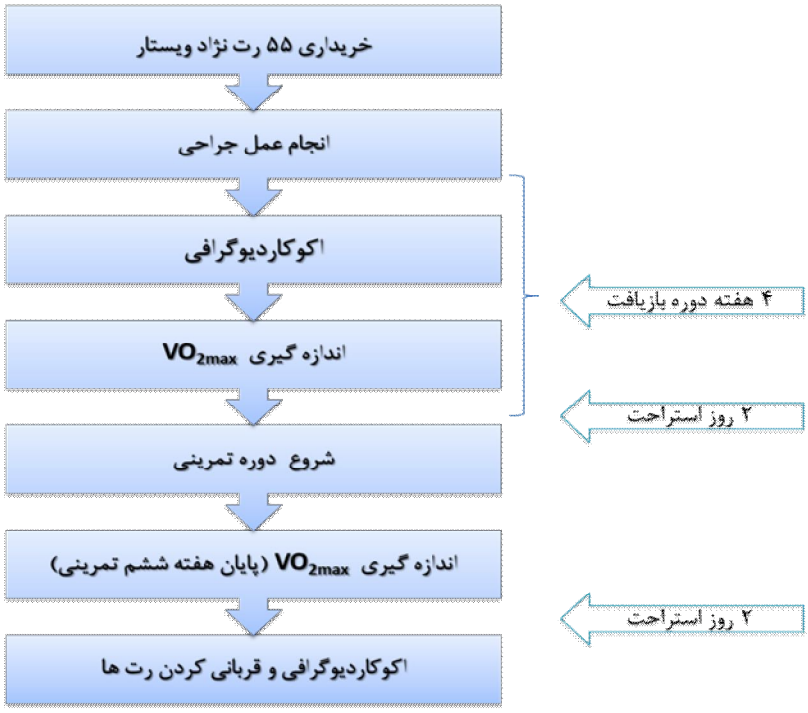
- **پروتکل تمرین ورزشی با شدت کم**: ٦۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل، هر تناوب شامل ٤ دقیقه دویدن با شدت ٦۰ - ٥٥ درصد VO_{2max} و ۲ دقیقه بازیافت فعال با شدت ٤٥ تا ٥۰ درصد VO_{2max}، ٥ روز در هفته و به مدت ٦ هفته (۱٤).

- **پروتکل تمرین ورزشی با شدت متوسط:** ٦۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل، هر تناوب شامل ٤ دقیقه دویدن با شدت ۷۰-٦٥ درصد VO_{2max} و ۲ دقیقه بازیافت فعال با شدت ٦۰ – ٥۰ درصد VO_{2max}، ٥ روز در هفته و به مدت ٦ هفته (۲۳).

- **پروتکل تمرین ورزشی با شدت بالا**: ٦۰ دقیقه دویدن تناوبی روی تردمیل. هر تناوب شامل ٤ دقیقه دویدن با شدت ۹۰-۸٥ درصد VO_{2max} و ۲ دقیقه ریکاوری فعال با شدت ٦۰ – ٥۰ درصد VO_{2max}، ٥ روز در هفته و به مدت ٦ هفته (۲۲).

در هر سه گروه تمرینی، رت‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین، به‌مدت ٥ دقیقه با سرعت ٥ متر در دقیقه، گرم کردند. در تمام گروه‌های تمرینی، سرعت دویدن به‌تدریج به میزان ۰/۰۲ متر در ثانیه در هر هفته افزایش یافت و شیب تردمیل در تمام طول دوره‌ی تمرینی صفر درجه بود (۲۲).دو روز پس از پایان دوره‌ی مداخله تمرین ورزشی رت‌ها در محل آزمایشگاه تحقیقات تجربی بیمارستان قلب شهید رجایی تشریح شدند. برای تشریح ابتدا رت‌ها با کتامین (۱٥۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند و سپس به پشت روی تخته تشریح خوابانده و دست و پاها کشیده و به‌حالت صلیبی بسته شد و در نهایت پس از شکافتن و کنار زدن قفسه سینه عضله‌ی قلب به‌طور کامل جدا گردید. در نهایت بطن چپ عضله قلب در میکروتیوب‌های جداگانه گذاشته شد و برای تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی به یخچال فریز ۸۰- منتقل گردید. طرح شماتیک مراحل اجرایی پژوهش حاضر در شکل ۱ نشان داده شده است.

واکنش Real Time PCR: در پژوهش حاضر برای بررسی بیان mRNA Sca-1 ژن‌های از روش Real Time PCR (دستگاه corrbet 6000 ساخت کشور استرالیا) استفاده شد. در این روش ابتدا RNA را از بافت بطن چپ رت‌های مورد مطالعه استخراج کرده (کیت استخراج RNA ساخت شرکت ترانس ژن، کشور چین، شماره کاتالوگ: ER101) و پس از سنتز cDNA (کیت سنتز cDNA ساخت شرکت ترانس ژن، کشور چین، شماره کاتالوگ:AT301) از سایبر میکس ریل تایم (ساخت شرکت ترانس ژن، کشور چین، شماره کاتالوگ:AQ131) برای اجرای روش RT-PCR توسط دستگاه corrbet 6000 استفاده شد. در پژوهش حاضر برای طبیعی‌سازی نتایج RT-PCR از ژن مرجع بتا اکتین و همچنین برای آنالیز کمی داده‌های Real Time PCR از روش دلتا دلتا سی تی ($\Delta\Delta ct$) استفاده گردید (۲٤). در جدول ۱، توالی مستقیم و معکوس پرایمرهای ژن‌های هدف و مرجع استفاده شده در این پژوهش نشان داده شده است.



شکل ۱: طرح شماتیک مراحل اجرای پژوهش

جدول ۱: توالی پرایمرهای ژن‌های هدف و مرجع

نام ژن	شماره دسترسی	توالی پرایمر مستقیم 5´-3´	دمای ذوب (c)	توالی پرایمر معکوس 5´-3´	دمای ذوب (c)	طول (bp)
Sca-1	NM_001128099.1	catctttctcctggccctact	۵۸	gaggactgagcccaggatgaa	۶۱	۳۵۵
B actin	XM_017012146.1	cggtcaggtcatcactatcgg	۶۰	Atgccacaggattccatаccca	۶۱	۹۰

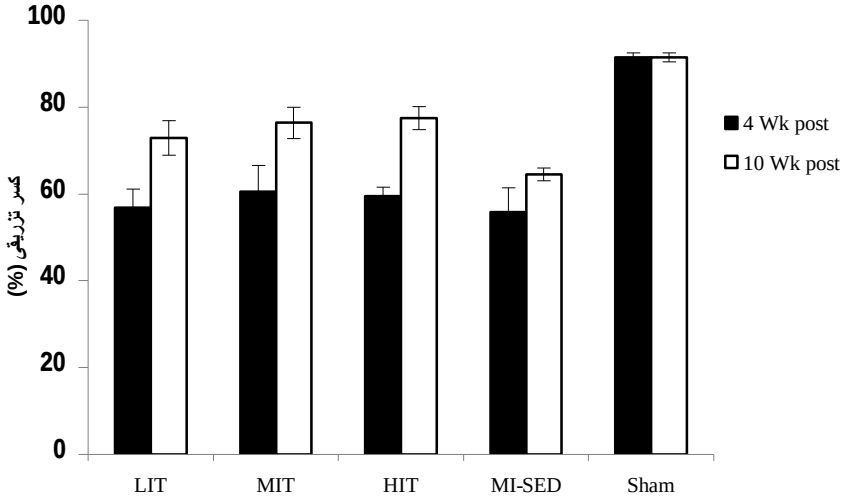
روش‌های آماری پژوهش

ابتدا از آمار توصیفی برای دسته‌بندی داده‌های خام و رسم جداول و نمودار استفاده شد. از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای تعیین طبیعی بودن داده‌ها استفاده شد و با توجه به اینکه نتایج این آزمون طبیعی بودن توزیع داده‌ها را نشان داد، از آزمون‌های آماری ANOVA یک طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی در سطح معناداری α=۰/۰۵ جهت تجزیه و تحلیل آزمون فرضیه‌ها استفاده شد. جهت انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده گردید.

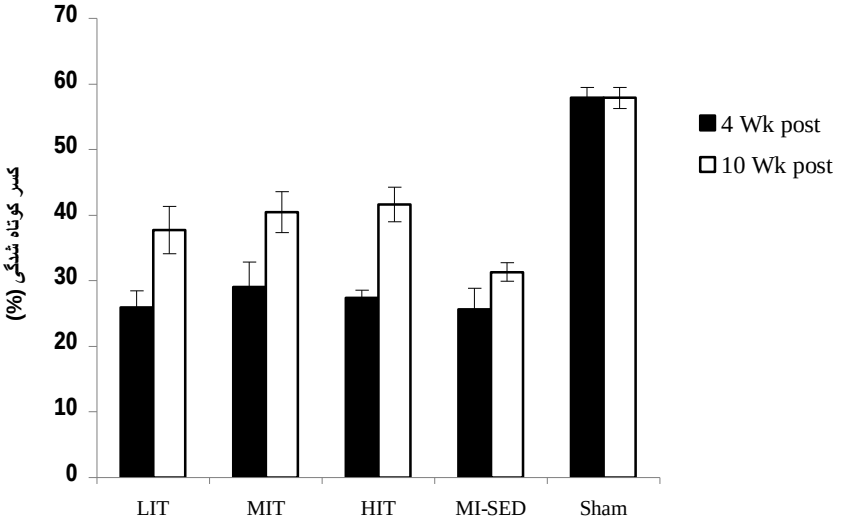
یافته‌ها

در شکل‌های ۲ و ۳، تغییرات مقادیر کسر تزریقی (EF) و کسر کوتاه‌شدگی (FS)، چهار و ده هفته پس از جراحی در گروه‌های مبتلا به MI و گروه Sham نشان داده شده است. نتایج آزمون ANOVA نشان داد در مقادیر کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی هردو چهار و ده هفته پس از جراحی بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معناداری داری وجود دارد. بنابراین نتایج آزمون تعقیبی بونفرونی نشان داد مقادیر کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی چهار هفته پس از جراحی در

گروه‌های مبتلا به MI در مقایسه با گـروه Sham بـه‌صـورت معناداری کم‌تر از می‌باشد (P≤۰/۰۵). در ادامه، نتـایج آزمـون تعقیبی بونفرونی نشان داد؛ ده هفته پس از جراحی در هر سـه گروه تمرین ورزشی مقادیر کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی (به جز گروه LIT) نسبت به گروه Sham افـزایش معنـاداری داشته‌اند، اما با وجود این، مقـادیر آنهـا در مقایـسه بـا گـروه Sham به شکل معناداری کمتر می‌باشد (P≤۰/۰۵).

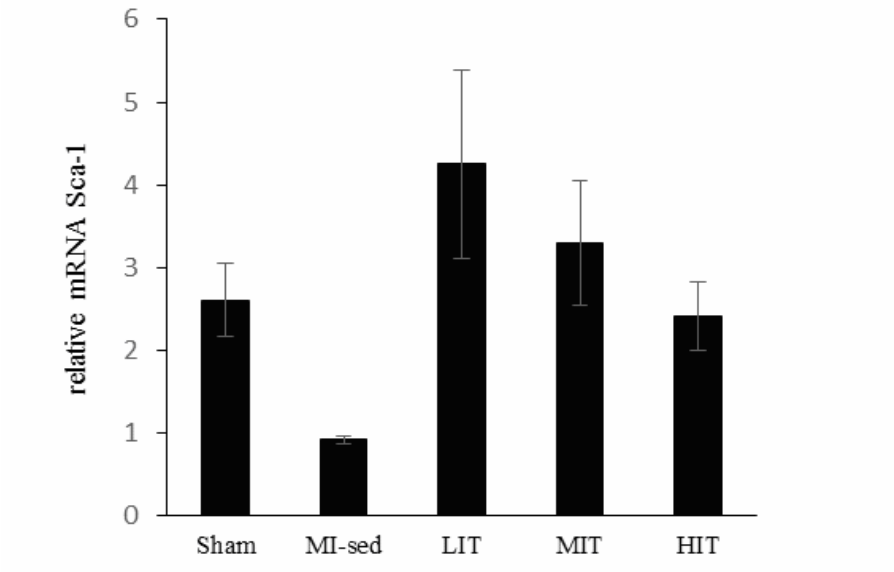


شکل ۲: تغییرات کسر تزریقی در گروه‌های مورد مطالعه چهار و ده هفته پس از ابتلا به MI. LIT: تمرین تناوبی با شدت کم، MIT: تمرین تناوبی با شدت متوسط، HIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، MI-SED: آنفارکتوس میوکارد بی تمرین، Sham: گروه شم



شکل ۳: تغییرات کسر کوتاه شدگی در گروه‌های مورد مطالعه چهار و ده هفته پس از ابتلا به MI. LIT: تمرین تناوبی با شدت کم، MIT: تمرین تناوبی با شدت متوسط، HIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، MI-SED: آنفارکتوس میوکارد بی تمرین، Sham: گروه شم

شکل ٤، بیان نسبی mRNA Sca-1 را در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. نتایج آزمون ANOVA نشان داد؛ بین گروه‌های مورد مطالعه در مقادیر mRNA Sca-1 تفاوت معناداری وجود دارد. همان‌طور که در شکل ٤ نشان داده شده است مقادیر mRNA Sca-1 در گروه LIT در مقایسه با سایر گروه‌ها به دنبال شش هفته تمرین ورزشی افزایش یافته است، اما این افزایش تنها در مقایسه با گروه MI-SED معنادار می‌باشد (P≤۰/۰ ٥).



شکل ٤: مقادیر mRNA Sca-1 در گروه‌های مورد مطالعه. LIT: تمرین تناوبی با شدت کم، MIT: تمرین تناوبی با شدت متوسط، HIT: تمرین تناوبی با شدت بالا، MI-SED: آنفارکتوس میوکارد بی تمرین، Sham: گروه شم

بحث

نتایج مطالعه‌های اخیر دیدگاه سنتی را مبنی بر این‌که رشد عضله‌ی قلبی بلافاصله پس از تولد و در سراسر زندگی تنها از راه هیپرتروفی میوسیت‌های موجود و بدون تشکیل میوسیت‌های جدید رخ می‌دهد را به چالش کشید (۲و۱). بنابراین این مطالعه‌ها نشان دادند سازگاری فیزیولوژیکی قلب بالغ با بارکاری ناشی از فعالیت ورزشی به سه بخش کلی تقسیم می‌شود: ۱) هیپرتروفی فیزیولوژیکی میوسیت‌های موجود که با افزایش تولید عوامل رشدی ویژه همراه هستند که این عوامل رشدی توسط حلقه‌های اتوکراینی و پاراکراینی به بقا و هیپروتروفی میوسیت‌ها و همچنین فعال‌سازی CSCs منجر می‌شوند. ۲) فعال شدن CSCs، که به افزایش تعداد و تمایز آنها به میوسیت‌ها و سلول‌های عروقی منجر می‌شود. ۳) انباشت سلول‌های جدید قلبی تحت عنوان میوسیت‌ها و سلول‌های عروقی جدید (۱۱). این تغییرات سلولی به‌شدت و مدت فعالیت ورزشی وابسته‌اند که با افزایش توده‌ی عضلانی انقباضی، عملکرد قلبی و کاهش تنش دیواره همراه است. با این وجود، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد به‌طور کلی تمرین ورزشی تناوبی با شدت کم شاخص‌های عملکردی قلب را در رت‌های مبتلا به MI بهبود می‌بخشد و به احتمال زیاد یکی از سازوکارهای اصلی این بهبود عملکرد، افزایش ظرفیت نوزایی عضله‌ی قلبی می‌باشد.

مطالعه‌های گذشته نشان داده‌اند تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید در رت‌های سالم با شدت فعالیت ورزشی همبستگی

مستقیمی دارد (۱٤). در همین زمینه، وارینگ و همکارانش (۲۰۱۲) نشان دادند ظرفیت هوازی، کسر تزریقی، کسر کوتاه‌گی و سایر شاخص‌های آناتومیکی قلب در رت‌های که به تمرین ورزشی با دو شدت پایین (۵۵ تا ٦۰ درصد VO_{2max}) بالا (۸۵ تا ۹۰ درصد VO_{2max}) پرداخته بودند به‌صورت معناداری افزایش یافت که این تغییرات در گروه با شدت بالا قابل توجه‌تر می‌باشد (۱٤). بر عکس، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد تمرین ورزشی با شدت کم کسر تزریقی و کسر کوتاه شدگی هردو را در رت‌های مبتلا به MI افزایش می‌دهد. همچنین، وارینگ و همکارانش (۲۰۱۲) نشان دادند در گروه‌های تمرین ورزشی با شدت بالا و پایین ـ هردو ـ تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید نسبت به گروه کنترل غیرفعال افزایش معناداری داشت و تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید با شدت و مدت تمرین ورزشی ارتباط مستقیمی دارد (۱٤). با این وجود، نتایج مطالعه‌ی حاضر درخصوص شاخص‌های سلول بنیادی قلبی (Sca-1) با نتایج مطالعه فوق مشابه نمی‌باشد، به این صورت که در مطالعه‌ی حاضر مقادیر mRNA Sca-1 در گروه LIT نسبت به‌گروه MI-SED پس از مداخله تمرین ورزشی افزایش معناداری داشته است. در مطالعه وارینگ از رت‌های سالم استفاده شد، اما در مطالعه حاضر از رت‌های مبتلا به MI، در توجیه این ناهمسویی می‌توان گفت به احتمال زیاد تمرین ورزشی با شدت پایین به ویژه در رت‌های مبتلا به MI مسیر پیام‌رسانی نوزایی قلبی را بهتر تحریک می‌کند. از طرف دیگر، پروتکل تمرین ورزشی در مطالعه وارینگ از نوع تداومی و به مدت ۳۰ دقیقه می‌باشد، اما در مطاله حاضر از پروتکل تمرین ورزشی تناوبی با مدت ٦۰ دقیقه استفاده شد، با توجه به این می‌توان گفت به احتمال زیاد مدت ٦۰ دقیقه تمرین ورزشی تناوبی با شدت کم نسبت به شدت‌های زیادتر، سازوکارهای نوزایی قلبی را در رت‌های مبتلا به MI بهتر تحریک می‌کنند (۱٦).

آثار مفید فعالیت ورزشی تنها کاهش عوامل خطر قلبی ـ عروقی سنتی نمی‌باشد، بلکه فعالیت ورزشی می‌تواند مستقیم بر ساختار سلولی ـ مولکولی و عملکرد قلبی موثر باشد (۱۳). در مطالعه ی حاضر مشخص شد، به‌طور کلی فعالیت ورزشی عملکرد و نوزایی قلبی (Sca-1) را در رت‌های مبتلا به MI افزایش می‌دهد. با وجود این، ساز وکارهای مولکولی دقیق این فرایند هنوز به طور کامل مشخص نشده است. در همین زمینه، بستروم و همکارانش (۲۰۱۰) گزارش کردند فعالیت ورزشی شنای استقامتی، به هیپرتروفی و نوزایی کاردیومیوسیت‌ها در موش‌ها منجر می‌شود (۱۱). در این مطالعه پژوهشگران نشان دادند تنظیم کاهشی عامل رونویسی C/EBPβ ـ در موش‌هایی که فعالیت ورزشی شنا انجام داده‌اند ـ علت اصلی هایپرتروفی و تکثیر میوسیت‌ها می‌باشد (۱۱). فعالیت ورزشی از طریق فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی IGF-1–PI3K–AKT/PKB با کاهش بیان عوامل رونویسی C/EBPb و افزایش بیان عامل رونویسی CITED4 همراه است. فعال‌سازی CITED4 به تکثیر و تمایز CSCs به کاردیومیوسیت‌های بالغ منجر می‌شود (۱۱). از طرف دیگر، C/EBP β توسط تعامل با عامل پاسخ سرمی(SRF) به تنظیم افزایشی مجموعه ژنی فعالیت ورزشی از جمله Gata4 و Tbx5 منجر می‌شود (۲۵). سرانجام افزایش بیان ژن‌های Gata4 و Tbx5 با افزایش فعال‌سازی، تکثیر و تمایز CSCs به کاردیومیوسیت‌های بالغ(ظرفیت نوزایی قلبی) همراه است (۲۵). شیائو و همکارانش (۲۰۱٤) نیز در تایید نتایج مطالعه ی بستروم و همکارانش (۲۰۱۰) نشان دادند در موش‌هایی که به مدت ۲۱ روز شنا کرده بودند مقادیر Gata4، C-kit و Sca-1 به‌صورت معناداری افزایش یافت و فعالیت ورزشی شنا به هیپرتروفی فیزیولوژیکی موش‌ها و فعال‌سازی CSCs منجر می‌شود (۱۷). از آن‌جایی که در مطالعه ی حاضر مقادیر mRNA Sca-1 در گروه‌هایی که مداخله تمرینی داشته‌اند افزایش یافت، به نظر می‌رسد سازوکار سلولی ـ مولکولی

اصلی درگیر در این فرایند فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی IGF-1–PI3K–AKT/PKB می‌باشد که در بالا به آن اشاره شده است.

این واقعیت که چند هفته فعالیت ورزشی می‌تواند به‌صورت قابل توجهی تعداد و توده میوسیت‌ها را افزایش دهد، نشان می‌دهد که این پدیده نه تنها یک کنجکاوی بالینی است، بلکه بخش مهمی از فیزیولوژی و هومئوستاز قلبی می‌باشد (۱٤). از آنجایی که بین تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید و مرگ کاردیومیوسیت‌ها در عضله‌ی قلبی هومئوستاز برقرار می‌باشد، انتظار می‌رود افزایش ناگهانی تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید در پاسخ به تمرین ورزشی، به دلیل افزایش مرگ سلولی کاردیومیوسیت‌ها بر اثر استرس تمرین ورزشی باشد. این می‌تواند به عنوان فرضی قلمداد شود که مرگ کاردیومیوسیت‌ها در پاسخ به تمرین ورزشی می‌تواند به‌عنوان یک محرک کلیدی نوزایی قلبی را افزایش دهد، اما وارینگ و همکارانش نشان دادند تمرین ورزشی بدون افزایش معنادار مرگ کاردیومیوسیت‌ها، تعداد آنها در رت‌های تمرین‌کرده افزایش می‌دهد (۱٤). از آن‌جایی که میوسیت‌ها ۸۰ درصد از توده عضله‌ی قلبی را تشکیل می‌دهند، افزایش بار کار و متعاقبا تنش دیواره ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند پاسخ‌های اندوکراینی و پاراکراینی را در میوسیت‌ها القا کند که با ترشح و بیش تنظیمی گروهی از عوامل رشدی (IGF-1 و TGF-β) همراه است (۲٦). این پاسخ، علاوه بر محافظت از میوسیت‌های در برابر آپوپتوز و تحریک هیپرتروفی آنها، همچنین می‌تواند به فعال شدن CSCs منجر شوند (۲٦). سپس، این نتایج به فرضیه‌ای ختم می‌شود که اگر مداخله‌ای بیان این عوامل رشدی را افزایش دهد می‌تواند از طریق افزایش نوزایی قلبی به بهبود آسیب و اختلال عضله قلبی منجر شود. در همین زمینه، نشان داده شده است تزریق درون کرونری دوز اندکی از IGF-1 و HGF در خوک‌های مبتلا به MI، به افزایش ترمیم قلبی از راه افزایش ظرفیت نوزایی قلبی منجر شده است (۲۷). بنابرین باتوجه به موارد بالا و نتایج پژوهش حاضر، به نظر می‌رسد یکی دیگر از سازوکارهای احتمالی افزایش ظرفیت نوزایی در این پژوهش، بیش تنظیمی عوامل رشدی توسط فعالیت ورزشی در رت‌های مبتلا به MI باشد که سرانجام به بهبود عملکرد قلبی آنها در مطالعه ی حاضر منجر شده است. به‌طور خلاصه، بیش بیانی عوامل رشدی (IGF-1) ـــ با فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی IGF-1–PI3K–AKT/PKB در پایین‌دست خود عوامل رونویسی تنظیم کننده نوزایی قلبی (Gata4، Tbx5 و Sca-1) را افزایش می‌دهد.

در مطالعه ی حاضر، به دلیل محدودیت‌های مالی امکان سنجش شاخص‌های نوزایی (Sca-1) در سطح پروتئینی وجود نداشت، و هم چنین بررسی تغییرات بیان ژنی و پروتئینی مسیر پیام رسانی بالا دست Sca-1 (IGF-1–PI3K–AKT/PKB) جهت بحث و نتیجه گیری دقیق‌تر می‌تواند در پژوهش‌های آینده مورد مطالعه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، به نظر می‌رسد تمرین ورزشی تناوبی با شدت کم با بهبود عملکرد قلبی بر بیان mRNA Sca-1 در رت‌های مبتلا به MI تاثیر بارزتری دارد. بنابراین، می‌توان از تمرین ورزشی تناوبی با شدت کم برای پیشگیری از هیپرتروفی پاتولوژیایی، افزایش عملکرد قلبی در افراد مبتلا به MI استفاده کرد.

References

1- Pagidipati NJ, Gaziano TA. Estimating deaths from cardiovascular disease: a review of global methodologies of mortality measurement. Circulation. 2013; 127: 749-56.

2- Figueiredo P, Coriolano H-JA, Duarte J. Cardiac regeneration and cellular therapy :is there a benefit of exercise? Int J Sport Med. 2014; 35: 181-90.

3- Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. Nature. 2002; 415: 240-3.

4- Mohl W, Gangl C, Jusić A, Aschacher T, De Jonge M, Rattay F. PICSO: from myocardial salvage to tissue regeneration. Cardiovascular Revascular Med. 2015; 16: 36-46.

5- Pasumarthi KB, Field LJ. Cardiomyocyte cell cycle regulation. Circulation Res. 2002; 90: 1044-54.

6- Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. Heart. 2011:2011-300639.

7- Lerchenmüller C, Rosenzweig A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. Drug discovery today. 2014; 19: 1003-9.

8- Rosenzweig A. Cardiac regeneration. Science. 2012; 338: 1549-50.

9- Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. Nature. 2013; 493: 433-6.

10- Nadal-Ginard B, Kajstura J, Anversa P, Leri A. A matter of life and death: cardiac myocyte apoptosis and regeneration. J Clin Invest. 2003; 111: 1457-9.

11- Boström P, Mann N, Wu J, et al. C/EBPβ controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. Cell. 2010; 143: 1072-83.

12- Wang X, Hu Q, Nakamura Y, et al. The role of the sca‐1+/CD31− cardiac progenitor cell population in postinfarction left ventricular remodeling. Stem cells. 2006; 24: 1779-88.

13- Mann N, Rosenzweig A. Can exercise teach us how to treat heart disease? Circulation. 2012; 126: 2625-35.

14- Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. European Heart J. 2012: ehs338.

15- Haykowsky M, Scott J, Esch B, et al. A meta-analysis of the effects of exercise training on left ventricular remodeling following myocardial infarction: start early and go longer for greatest exercise benefits on remodeling. Trials. 2011; 12: 1.

16- Leite CF, Lopes CS, Alves AC, et al. Endogenous resident c-Kit cardiac stem cells increase in mice with an exercise-induced, physiologically hypertrophied heart. Stem Cell Research. 2015; 15: 151-64.

17- Xiao J, Xu T, Li J, et al. Exercise-induced physiological hypertrophy initiates activation of cardiac progenitor cells. Int J Clin Experiment Pathol. 2014; 7: 663.

18- Fukuda S, Kaga S, Sasaki H, et al. Angiogenic signal triggered by ischemic stress induces myocardial repair in rat during chronic infarction. J Molec Cell Cardiol. 2004; 36: 547-59.

19- Samsamshariat SA, Samsamshariat ZA, Movahed MR. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. Cardiovasc Revascular Med. 2005; 6: 121-3.

20- Scheer P, Sverakova V, Doubek J, Janeckova K, Uhrikova I, Svoboda P. Basic values of M-mode echocardiographic parameters of the left ventricle in outbreed Wistar rats. Vet Med. 2012; 57: 42-52.

21- Scherrer-Crosbie M, Thibault HB. Echocardiography in translational research: of mice and men. J Am Soc Echocardiograph. 2008; 21: 92- 1083.

22- Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. Cardiovasc Res. 2013: cvt080.

23- Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovasc Res. 2005; 67: 161-72.

24- Peinnequin A, Mouret C, Birot O, et al. Rat pro-inflammatory cytokine and cytokine related mRNA quantification by real-time polymerase chain reaction using SYBR green. BMC immunology. 2004; 5: 1.

25- Ellison GM, Vicinanza C, Smith AJ, et al. Adult c-kit pos cardiac stem cells are necessary and sufficient for functional cardiac regeneration and repair. Cell. 2013; 154: 827-42.

26- Goumans M-J, de Boer TP, Smits AM, et al. TGF-β1 induces efficient differentiation of human cardiomyocyte progenitor cells into functional cardiomyocytes in vitro. Stem Cell Res. 2008; 1: 138-49.

27- Ellison GM, Torella D, Dellegrottaglie S, et al. Endogenous cardiac stem cell activation by insulin-like growth factor-1/hepatocyte growth factor intracoronary injection fosters survival and regeneration of the infarcted pig heart. *J Am College Cardiol*. 2011; 58: 977-86.

Low-Intensity Interval Training Increased Gene Expression of Sca-1 in Rats with Myocardial Infarction

Gaeini AA[1], Hemmatinafar M[2]

[2]Dept. of Exercise Physiology, University of Tehran, Tehran.

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

Corresponding Author: Gaeini AA, Dept.of Exercise Physiology, Shiraz University, Shiraz, Iran

E-mail: m.hemmatinafar@shirazu.ac.ir

Received: 1 Feb 2017 **Accepted:** 12 Mar 2017

Background and Objective: Exercise training (ET) has cardioprotective effects and can induce new cardiomyocyte formation in physiological cardiac remodeling. Sca-1 is one of the most important surface markers of cardiac stem cells, which repair heart muscle following myocardial infarction (MI). The purpose of this study was to investigate the effects of exercise training intensity on the gene expression of Sca1 in rats with MI.

Materials and Methods: Male Wistar rats underwent LAD coronary artery ligation surgery, the occurrence of MI was then confirmed by echocardiography. Four weeks after surgery, the rats with MI were divided randomly into groups including low-intensity training (LIT), moderate intensity training (MIT), high-intensity training (HIT), MI-Sedentary (MI-SED) and a sham group (Sham). Training groups performed exercise training protocols for 6 weeks. The rats were sacrificed after the exercise training interventions and the data obtained from their cardiac tissues were analyzed via one-way ANOVA and Bonferroni tests.

Results: Results showed that values of ejection fraction, fractional shortening and Sca-1 mRNA have a significant difference among all groups ($P<0.05$). Results demonstrated that ejection fraction and fractional shortening values in the exercise training groups increased significantly compared to the MI-SED group. However, their values were significantly lower compared to the Sham group. LIT significantly increased mRNA levels of Sca-1 compared with MI-SED.

Conclusion: It seems that low-intensity interval training improves cardiac function and is more effective on the mRNA levels of Sca-1 in rats with MI.

Key words: Myocardial infarction, Heart Failure, Exercise training intensity, Sca-1 gene