تاثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن *hp-1β* بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی: استادیار، گروه تربیت بدنی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. Fathi.m@lu.ac.ir
* **سعید آبرون**: دانشیار، گروه هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (* نویسنده مسئول). abroun_s@yahoo.co.uk

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۷

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات اپی‌ژنتیک یکی از مهم‌ترین پیامدهای فعالیت بدنی است که فاکتور *Heterochromatin Protein 1β* یکی از فاکتورهای اصلی این روند محسوب می‌شود، هدف این تحقیق بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن *hp-1β* بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش کار: ۲۰ رت (۷/۳±۲۴۱ گرم) با ۸ هفته سن به‌صورت تصادفی به دو گروه کنترل (n=۱۰) و تجربی (n=۱۰) تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه استقامتی (به مدت ۱۴ هفته، ۶ روز در هفته با شدت پایانی ۳۰ متر در دقیقه) را روی تردمیل اجرا کرد، سپس با استفاده از روش m-mode و توزین به ترتیب ابعاد و وزن قلب اندازه‌گیری و ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی، بی‌هوش و تشریح شدند، در ادامه قلب خارج و با استفاده از روش Real time-PCR میزان بیان ژن *hp-1β* بطن چپ اندازه‌گیری شد. در پایان با استفاده از آزمون آماری t اطلاعات به‌دست‌آمده ارزیابی شدند.

یافته‌ها: شاخص‌های وزنی نشان داد که وزن قلب و بطن چپ جداشده گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل بود و بطن چپ رت‌ها گروه تجربی بزرگ‌تر از گروه کنترل بود، به این صورت که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن گروه تجربی (۰/۱۸±۲/۳) در مقایسه با گروه کنترل (۰/۱۲±۲/۰۴۹) از نظر آماری بیشتر بود. نسبت وزن بطن چپ به BSA در گروه تجربی (۰/۰۰۸±۰/۱۶۸) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۰/۰۰۶±۰/۱۵۳) بیشتر بود؛ که این یافته‌ها با افزایش ۴۹ برابری و معنی‌دار (p< ۰/۰۵) بیان ژن *hp-1β* در بافت بطن چپ گروه تمرین کرده همراه بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت استقامتی موجب افزایش ابعاد داخلی و همچنین وزن قلب به‌خصوص بطن چپ می‌شود که این تغییرات ساختاری با تغییرات ژنی *hp-1β* همراه بود یعنی هرگونه تغییر ساختاری بافت در اثر فعالیت استقامتی با تغییرات ژنی همراه است.

کلیدواژه‌ها: ژن *hp-1β*، استقامت بدنی، قلب، بطن چپ

مقدمه

کروماتین در دو شکل یوکروماتین و هتروکروماتین وجود دارد، یوکروماتین، شکل بازشده کروماتین است و در این حالت فاکتورهای رونویسی برای القای بیان ژن به DNA دسترسی دارند، اما در شکل فشرده آن یعنی هتروکروماتین، فشردگی کروماتین بسیار بالا است؛ بنابراین دسترسی فاکتورهای رونویسی به DNA بسیار محدود است (۱). پروتئینی که موجب این فشردگی می‌شود هتروکروماتین ۱ بتا (HP-1β) نام دارد که یوکروماتین را به هتروکروماتین تبدیل می‌کند و از این طریق دسترسی فاکتورهای رونویسی به DNA را محدود می‌کند (۲). میزان حضور HP-1β در هتروکروماتین‌ها بیشتر است (۳) همچنین علاوه بر نقش اپی‌ژنتیک این تنظیم‌کننده رونویسی، مشاهدات اخیر نشان داده است که ایزوفرم‌های این فاکتور رونویسی به تخریب کروموزومی نیز پاسخ می‌دهند (۴) و در محل آسیب DNA تجمع می‌یابند (۵). به این صورت که فسفوریلاسیون این فاکتور (در تیرونین ۱۵) در آغاز آسیب با سرکوب کازین کیناز II (casein kinase II) موجب کاهش جابجایی HP-1β در نقاط ترمیمی می‌شود و از این طریق حوادث پایین‌دست را کنترل می‌کند (۳).

تحقیقات متعدد نشان می‌دهد که فعالیت‌های بدنی (هوازی و غیر هوازی) بر بسیاری از فرآیندهای سلولی از جمله بیان ژن تأثیر می‌گذارند(۶, ۷) که عمدتاً این تأثیرات از طریق تغییرات اپی‌ژنتیک موجب افزایش یا کاهش بیان ژن می‌شوند (۸). شایع‌ترین تغییرات اپی‌ژنتیک القاءشده به‌وسیله فعالیت‌های بدنی تعدیل‌های هیستونی، مانند متیلاسیون و استیلاسیون DNA

است (۹) که این کار باعث فشرده‌شدن کروماتین و در نتیجه سرکوب بیان ژن می‌شود (۱۰). تمرینات استقامتی بخش از فعالیت‌های بدنی است که عضله قلب را با چالش بزرگی مواجه می‌کند به‌طوری‌که این عضله در رت‌ها گاهی تا ۴۰۰ ضربه در دقیقه منقبض می‌شود (۱۱) که تجدید ساختار و بیان پروتئین‌های مرتبط با آن را در پی دارد (۱۲). همچنین فعالیت‌های استقامتی میزان حضور رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد (۱۳) موضوعی که در بافت قلب نیز رخ می‌دهد (۱۴) و منجر به آسیب به DNA می‌شود (۱۵، ۱۶). فاکتور HP-1β در این دو فرآیند یعنی عواملی که تحت تأثیر فعالیت بدنی هستند نقش دارد (۳، ۵) با توجه به اینکه فعالیت بدنی محرک قوی برای بافت قلب است و در اثر آن این بافت به‌خصوص در ناحیه بطن چپ متحمل تجدید ساختار گسترده‌ای می‌شود (۱۰، ۱۴) فرض این مطالعه بر این بود که میزان بیان این ژن در پاسخ به فعالیت‌های بدنی در قلب کمتر شود تا از این طریق میزان بیان ژن‌های مرتبط با تجدید ساختار افزایش یابد. با توجه به تأثیر فعالیت‌های بدنی بر قلب و همچنین نقش این ژن و عدم پژوهشی در مورد این ژن، به نظر می‌رسد انجام پژوهشی که واکنش این فاکتور را به فعالیت‌های استقامتی (القاکننده رادیکال‌های آزاد و فرآیند اپی‌ژنتیک) ارزیابی کند ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف این پژوهش بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن *hp-1β* بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش کار

پژوهش حاضر اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی را بر بیان ژن *hp-1β* عضله قلب در ناحیه بطن چپ را به روش تجربی ارزیابی کرد. بدین منظور ۲۰ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (۲۰±۱۱۳ گرم) از انستیتو پاستور تهیه شد. برای همه آن‌ها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد) به‌صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در این مدت آن‌ها در ۴ قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، وزن آن‌ها به ۲۴±۲۳۱ گرم رسید. سپس یک دوره آشناسازی (۱۰ روزه-۵ جلسه) با تمرینات استقامتی (دویدن روی تردمیل) آغاز شد. در پایان جلسات آشناسازی، به‌صورت تصادفی به ۲ گروه (۱۰ سر به‌عنوان گروه شاهد و ۱۰ سر دیگر به‌عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. از گروه تمرینی ۳ سر نتوانست پروتکل را به پایان برساند. ازآنجایی‌که در روش Real time (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشند، با حذف سه سر از گروه کنترل (به‌طور تصادفی) تعداد نهایی آن‌ها به ۱۴ سر (۷ سر شاهد و ۷ سر تجربی) کاهش یافت.

پروتکل تمرینی: با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل تمرین استقامتی طراحی شد (۱۷، ۱۸) به‌طوری‌که منجر به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از تمرینات استقامتی 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 گرم‌کردن شروع می‌شد. در جلسه اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود. به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل (در هفته ۱-۳ هر روز ۲ دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد) افزایش یافت، به‌طوری‌که در پایان روز ۲۳ مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید که با احتساب ۵ دقیقه گرم‌کردن و ۵ دقیقه سردکردن، مدت زمان کلی ۶۰ دقیقه بود. شدت تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه شروع شد. سپس هر هفته ۲ متر بر دقیقه به‌سرعت اضافه شد به‌طوری‌که در پایان هفته ششم سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. در نهایت در طی هفته‌های ۷ تا ۱۰ به تدریج ۵ درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) نیز اضافه شد. این پروتکل [۶۰ دقیقه دویدن (شامل ۵ دقیقه گرم‌کردن 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 سردکردن)] تا پایان هفته ۱۴ حفظ شد. پروتکل بین ساعات ۵ تا ۷ بعدازظهر هر روز اعمال می‌شد.

در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه 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 به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، قلب آن‌ها تحت شرایط استریل خارج شد 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 اتمام تشریح و تا شروع هموژن بافت‌ها، همه آن‌ها در دمای ۸۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن شدند.

برای اطمینان از تأثیر فعالیت‌های استقامتی بر بافت قلب تغییرات قلب با استفاده از روش m-mode و توزین قلب، اندازه‌گیری شد، علاوه بر این، پژوهش‌های متعددی برای ارزیابی میزان هایپرتروفی قلب، از ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن کل قلب، وزن بدن (۱۱) و سطح رویه بدن (BSA) استفاده کرده‌اند (۱۹)؛ بنابراین برای تائید میزان هایپرتروفی، در این پژوهش از دو شاخص برای نسبی‌کردن وزن بطن چپ (نرمالایز) استفاده شده است. برای این کار، در حالت بی‌هوشی، وزن و طول بدن حیوان (از دهان تا ابتدای دم) برای محاسبه BSA اندازه‌گیری شد (۲۰)، سپس متخصص تشریح قلب حیوان را خارج و بطن چپ آن را جدا کرد که هر دوی آن‌ها (قلب و بطن) به‌طور جداگانه با دقتی تا ۴ رقم اعشار با ترازوی دیجیتال (A&D ساخت کشور ژاپن) وزن شدند. BSA رت‌ها با استفاده از فرمول زیر برآورد شد. برای محاسبات مورد نظر از برنامه Excel استفاده شد (۲۰).

$$BSA=6.67\times W^{0.7}\times[0.34/(\sqrt[3]{W/L})].$$

L ؛ طول بدن (سانتی‌متر)

W؛ وزن بدن (گرم)

ملاحظات اخلاقی: مجوز این پژوهش توسط کمیته اخلاق دفتر حمایت از طرح‌های پژوهشی دفتر ریاست جمهور صادر شد (شماره طرح ۹۰۰۰۷۰۱۴). در زمان ارائه برنامه تمرینی، رت‌هایی که نمی‌توانستند دوره تمرینی را ادامه دهند کنار گذاشته شدند. در هنگام کشتن رت‌ها، مقدار مناسبی از کتامین و زایلازین تزریق شد به‌طوری‌که رت‌ها کاملاً بی‌هوش شدند و به تحریک‌ها پاسخ ندهند و سپس تشریح شدند.

استخراج RNA از بافت: برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی‌لیتر ترایزول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط‌کردن کامل (پیپتاژکردن) 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 درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (شرکت eppendorff) شدند. سپس مایع رویی به دقت 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 هم‌زدن ملایم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد باقی ماندند (overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه مجددا سانتریفیوژ شدند. با سمپلر (شرکت eppendorff) مایع رویی با دقت خارج شد و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان‌دادن مختصر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت ۷۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و ۱۰ دقیقه فرصت داده شد تا باقی‌مانده اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله ۵۰ لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

name		Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F	AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_017008.4	74
	R	CACGACATACTCAGCACCAG		
hp-1β	F	ACTCCCTGGGACCGCCTGAC	XM_001081346.3	94
	R	TGTGAAGGGTGACACTGCTCGT		

نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت eppendorff) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود. غیر از مراحلی که نیاز بود میکروتیوب‌های حاوی مواد سانتریفیوژ و یا ورتکس شوند، تمام مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل‌شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام می‌شد. در طی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می‌شد و به محض نیاز به تعویض، دستکش‌ها تعویض می‌شدند. کیت‌ها دقیقا قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج می‌شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند.

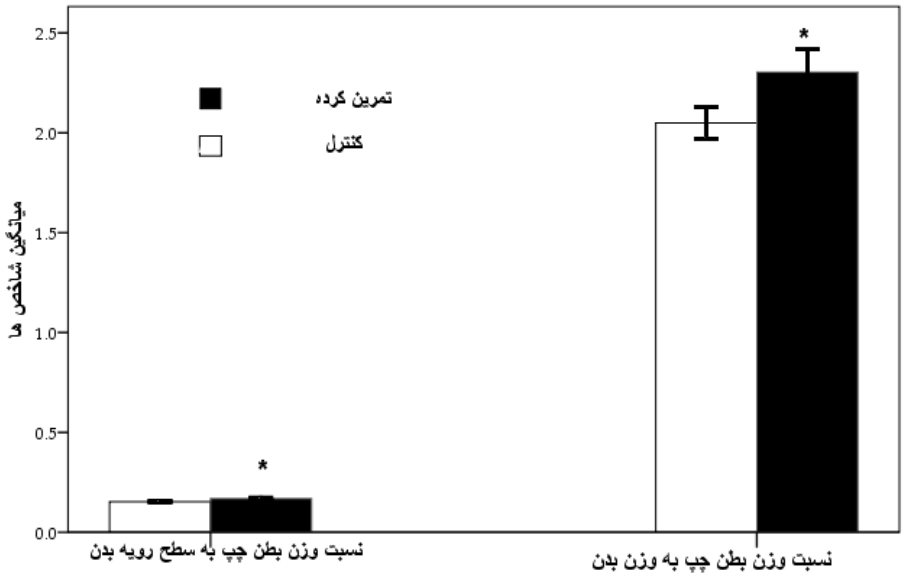
سنتز cDNA: برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت Thermo Scientific با Cat # K1621 استفاده شد؛ و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

ارزیابی بیان ژن: قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن، طبق دستورالعمل تکنیک Real Time PCR نیاز بود که میزان Efficiency ژن رفرنس (*gapdh*) و ژن هدف (*hp-1β*) بررسی شود که این کار صورت گرفت، میزان کارآیی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی ۱ بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت Applied Biosystem استفاده شد. SYBR green master mix استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارآیی ژن رفرنس و هدف، میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی به‌صورت دوتایی ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دو نمونه برای هر نمونه میانگین آن‌ها محاسبه شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم‌افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ میزان بیان ژن *hp-1β* محاسبه شد (۲۱). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آمده است. ژن رفرنس در این تحقیق ژن *gapdh* بود (۲۲).

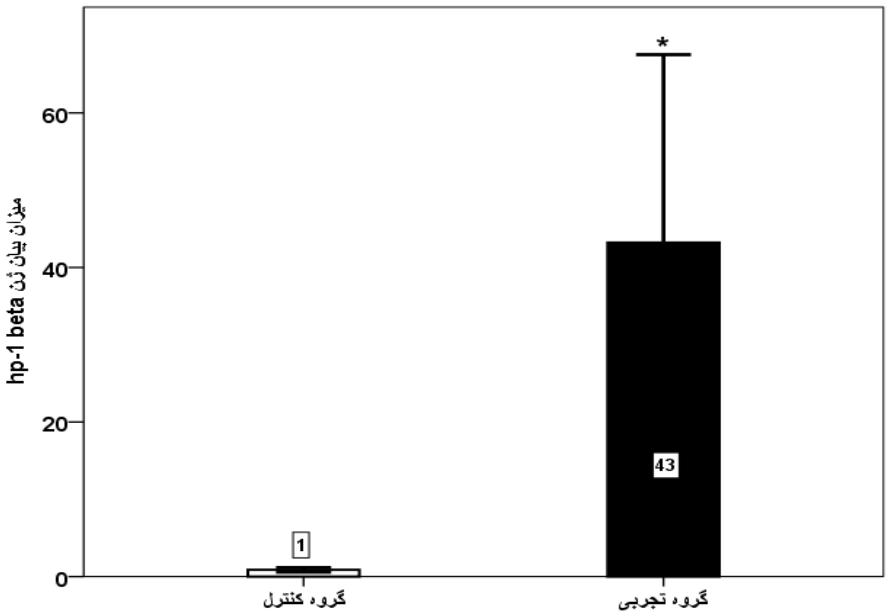
داده‌های به دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به‌صورت Cycle threshold (میانگین CT برای هر نمونه) بودند (۲۳-۲۵)، با استفاده از نرم‌افزار Excel به ΔΔct تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ اعداد نهایی به دست آمد (۲۶). با انتقال این اعداد به نرم‌افزار SPSS، ابتدا نرمال‌بودن توزیع داده‌ها (پراکندگی میزان بیان ژن hp-1β) با استفاده از آزمون Shapiro-Wilks ارزیابی شد و مشخص شد که داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند. همچنین نتایج Levene's test نشان داد که واریانس داده همگن می باشند. بعد از تعیین نرمال‌بودن و عدم اختلاف واریانس ها، برای تعیین اختلاف میانگین‌های دو گروه مستقل از t -test استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد، در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی، هایپرتروفی در بطن چپ رخ می‌دهد که این هایپرتروفی توسط ارزیابی نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن تائید شد که نمودار آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. شاخص‌های وزنی نشان داد که وزن قلب و بطن چپ جدا شده گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل بود. این شاخص‌ها نشان می‌دهد که بطن چپ رت‌ها گروه تجربی بزرگتر از گروه کنترل بود، به این صورت که نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن گروه تجربی (۲/۳±۰/۱۸) در مقایسه با گروه کنترل (۲/۰۴۹±۰/۱۲) بیشتر بوده و از نظر آماری معنی‌دار شد و نسبت وزن بطن چپ به BSA در گروه تجربی (۰/۱۶۸±۰/۰۰۸) در مقایسه با گروه



شکل ۱- نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن و سطح رویه بدن در گروه تمرین کرده و کنترل
* = معنی داری در سطح p≤ ۰/۰۳



شکل ۲- تاثیر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن *hp-1β* عضله قلب در گروه کنترل و تجربی.
* = تفاوت گروه‌ها (تجربی و کنترل) در سطح p≤ ۰/۰۰۳

کنترل (۰/۰۰۶±۰/۱۵۳) بیشتر بوده و از نظر آماری معنی‌دار شد.

همچنین نتایج آزمون t نشان داد که میانگین بیان ژن *hp-1β* قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته تمرین استقامتی افزایش (۲۳/۶ ± ۴۴/۶) یافت و این افزایش در سطح p≤ ۰/۰۰۳ معنی‌دار بود (شکل ۲).

بحث و نتیجه گیری

نتایج این پژوهش برای اولین بار نشان داد که فعالیت‌های استقامتی موجب افزایش معنی‌داری بیان ژن *hP-1β* در بطن چپ رت‌هایی می‌شود که ۱۴ هفته تمرین استقامتی داشتند. ضمنا مشخص شد که فعالیت‌های استقامتی موجب افزایش وزن قلب به‌خصوص در بطن چپ می‌شود. تحقیقات در مورد این ژن هنوز در ابتدای راه است به‌خصوص

که هنوز هیچ تحقیقی با رویکرد فعالیت بدنی این ژن را مورد بررسی قرار نداده است، بنابراین بحثی که در ادامه می‌شود اساسا با تکیه بر پژوهش‌هایی است که به شناسایی و عملکرد این ژن پرداخته‌اند. این تنظیم‌کننده سه زیر واحد دارد، در این تحقیق نوع beta آن بررسی شده است زیرا این ایزوفرم در فشردگی و در نتیجه سرکوب بیان ژن نقش مهمی دارد (۳). نقش محوری این فاکتور در تنظیم ژنوم است (۲۷) و همانند *HDACs* کلاس II (حساس به کلسیم) عمل (۲۸) و در سرکوب *MEF2* (فعال کننده بیان ژن‌های کندانقباض عضله) مشارکت می‌کند. انتظار می‌رود اثر سرکوب کنندگی *myomiRs* بر بیان *hP-1β*، اثر سرکوب‌کنندگی *HDAC* کلاس II بر *MEF2* را کاهش دهد و موجب بهبود بیان ژن‌های عضلانی نوع کند شود (۲۹). در این تحقیق دیده شد میزان بیان ژن hP-1β به‌طور معنی‌داری در پی فعالیت‌های استقامتی در بطن چپ افزایش می‌یابد. این یافته برخلاف فرضیه ما بود که انتظار داشتیم بیان آن در اثر فعالیت استقامتی افزایش یابد که فرصتی باشد برای دسترسی فاکتورهای رونویسی به DNA و افزایش بیان ژن‌های مرتبط با تجدید ساختار بطن چپ. دلایل احتمالی که می‌تواند میزان افزایش را توجیه کند به این شرح می‌باشد. ۱- فعالیت‌های بدنی باعث افزایش بیان رادیکال‌های آزاد می‌شود (۱۱) و در نتیجه آسیب شود که پیامد آن تجمع این فاکتور در محل آسیب است (۵) شاید نیاز به این فاکتور منجر به افزایش بیان این ژن شود و این موضوع یکی از دلایل افزایش بیان ژن hp-*1β* در این تحقیق باشد. دلیل دیگر افزایش این ژن این است که احتمالا فعالیت استقامتی با افزایش این فاکتور موجب فشردگی کروماتین شود و از بیان ژن‌هایی مانند *MEF2* که افزایش دهنده رونویسی *βMHC* است، جلوگیری کند (۹)؛ بنابراین با کاهش میزان بیان *βMHC* انتظار می‌رود عملکرد انقباضی قلب در اثر فعالیت‌های استقامتی بهبود یابد (۳۱)، بهبود عملکرد انقباضی قلب و کاهش همزمان میزان بیان *βMHC* و افزایش نوع *αMHC* ناشی از فعالیت‌های ورزشی موضوعاتی هستند که توسط پژوهش‌های متعدد تائید شده‌اند (۳۰-۳۲). در نهایت روشن است که افزایش بیان یک ژن لزوما به معنی افزایش بیان پروتئینی که توسط آن ژن کدگذاری می‌شود (فاکتور عملکردی اصلی آن) نخواهد بود، زیرا این موضوع دستخوش تغییرات پس رونویسی می‌شود (۲۸، ۱۵). ما در این پژوهش نتوانستیم میزان بیان پروتئینی *hP-1β* را اندازه‌گیری کنیم بنابراین در تفسیر یافته‌ها به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

به نظر می‌رسد فعالیت استقامتی با افزایش *hp-1β* که فاکتور مهمی در تعدیلات پس‌رونویس است، زمینه را برای تجدید ساختار مناسب قلب فراهم می‌کند که نیازهای بافت فعال در حین فعالیت بدنی تامین شود. در پایان پژوهشی پیشنهاد می‌شود که میزان تغییرات پروتئین *hP-1β* در اثر فعالیت‌های استقامتی را اندازه گیری کند.

منابع

1. Elgin SC. Heterochromatin and gene regulation in Drosophila. Curr Opin Genet Dev. 1996; 6(2):193-202.
2. Lomberk G, Wallrath L, Urrutia R. The Heterochromatin Protein 1 family. Genome Biol. 2006;7(7):228.
3. Kwon SH, Workman JL. The changing faces of HP1: From heterochromatin formation and gene silencing to euchromatic gene expression: HP1 acts as a positive regulator of transcription. Bioessays. 2011;33(4):280-9.
4. Ayoub N, Jeyasekharan AD, Bernal JA, Venkitaraman AR. HP1-beta mobilization promotes chromatin changes that initiate the DNA damage response. Nature. 2008;453(7195):682-6.
5. Luijsterburg MS, Dinant C, Lans H, Stap J, Wiernasz E, Lagerwerf S, et al. Heterochromatin protein 1 is recruited to various types of DNA damage. J Cell Biol. 2009;185(4):577-86.
6. Fathi M, Gharakhanlou R, Solimani M, Rajabi H, Rezaei R. The effect of resistance exercise on myoD expression in slow and fast muscles of wistar rats. journal of sport bioscienses. 2015;6(4):435-49.
7. Fathi M, Gharakhanluo R, Solimani M, Rajabi H, Rezai R. The study of timing series response of microRNA-1 expression to resistance exercise in slow and fast muscles of Wistar male rats. Journal of Sport in Biomotor Sciences (Persian). 2013;9(1):5-15.
8. Denham J, Marques FZ, O'Brien BJ, Charchar FJ. Exercise: putting action into our epigenome.

Sports Med. 2014;44(2):189-209.
9. Eccleston A, Cesari F, Skipper M. Transcription and epigenetics. Nature. 2013;502(7472):461.
10. Feng J, Fouse S, Fan G. Epigenetic regulation of neural gene expression and neuronal function. Pediatr Res. 2007;61(5 Pt 2):58R-63R.
11. Zhua SS, Mab JZ, Yong YH, Niu J, Zhang JN. Left ventricular function in physiologic and pathologic hypertrophy in Sprague–Dawley rats. Science & Sports. 2008;23 299-305.
12. Weiner RB, Baggish AL. Exercise-induced cardiac remodeling. Progress in cardiovascular diseases. 2012;54(5):380-6.
13. Schneider CD, de Oliveira AR. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. Rev Bras Med Esporte. 2004;10:314-8.
14. Mimić-Oka J, Simić DV, Simić TP. Free Radicals in Cardiovascular Diseases. Facta Universitatis. 1999;6(1):11 - 22.
15. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. Proc Nutr Soc. 1987;46(1):1-12.
16. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. Biochem J. 1984;222(1):1-15.
17. Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2000; 279(6):2994-3002.
18. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci. 2010;86(1-2):39-44.
19. Seo JS, Lee SY, Won KJ, Kim DJ, Sohn DS, Yang KM, et al. Relationship between normal heart size and body indices in Korean. J Korean Med Sci 2000;15(6):641–6.
20. Farriol M, Rossell J, Schwar S. Body surface area in Sprague-Dawley rats. J Anim Physiol Anim Nutr. 1997; 77 (0931-2439):61-5.
21. Tang H, Macpherson P, Marvin M, Meadows E, Klein WH, Yang XJ, et al. A histone deacetylase 4/myogenin positive feedback loop coordinates denervation-dependent gene induction and suppression. Mol Biol Cell. 2009;20(4):1120-31.
22. Silver N, Cotroneo E, Proctor G, Osailan S, Paterson KL, Carpenter GH. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in the adult rat submandibular gland under normal, inflamed, atrophic and regenerative states. BMC Mol Biol. 2008;9:64.
23. Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart CN, Jr. Statistical analysis of real-time PCR data. BMC Bioinformatics. 2006;7:85.
24. Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques. 2005;39(1):75-
85.
25. Gunning P, O'neill G, Hardeman E. Tropomyosin-based regulation of the actin cytoskeleton in time and space. Physiological reviews. 2008;88(1):1-35.
26. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 2001;29(9):45.
27. Crayton HJ, Rossman HS. Managing the symptoms of multiple sclerosis: a multimodal approach. Clinical therapeutics. 2006;28(4):445-60.
28. Zhang CL, McKinsey TA, Olson EN. Association of Class II Histone Deacetylases with Heterochromatin Protein 1: Potential Role for Histone Methylation in Control of Muscle Differentiation. Molecular and Cellular Biology. 2002;22(20):7302-12.
29. van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance. Dev Cell. 2009;17(5):662-73.
30. White FC, McKirnan MD, Breisch EA, Guth BD, Liu YM, Bloor CM. Adaptation of the left ventricle to exercise-induced hypertrophy. J Appl Physiol. 1987;62(3):1097-110.
31. Scharhag J, Schneider G, Urhausen A, Rochette V, Kramann B, Kindermann W. Athlete's heart: right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging. J Am Coll Cardiol. 2002;40(10):1856-63.
32. Wan W, Xu X, Zhao W, Garza MA, Zhang JQ. Exercise training induced myosin heavy chain isoform alteration in the infarcted heart. Appl Physiol Nutr Metab. 2014;39(2):226-32.

The effect of endurance training on left ventricle *hp-1β* gene expression in Wistar male rat

Mohammaf Fathi, Assistant Professor, Physical Education Department, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Fathi.m@lu.ac.ir
***Saeid Abroun**, Associate Professor, Hematology Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (*Corresponding author). abroun_s@yahoo.co.uk

Abstract

Background: Epigenetic changes is one of the most important outcomes of Physical activity results, and Heterochromatin Protein 1β is one of main factors of this processes. The aim of this study was to investigate the effect of endurance training on left ventricle *hp-1β* gene expression in Wistar male rats.

Methods: 20 rats (241±7.3 g) 8 weeks of age randomly assigned to control (n=10) and experimental (n=10) groups. The experimental group performed a 14-week treadmill running program (6 days per week, with 30 m/min speed), then heart dimensions and weight were determined using m-mode and weighing, respectively. They were anesthetized and sacrificed 48 hours after. The heart was extracted and then Real time-PCR method was used to determine *hp-1β* gene expression level of in the left ventricle. Finally the data obtained were evaluated using t-test.

Results: weighted indexes showed that the weight of isolated left ventricle and heart in experimental group more than control group, and also left ventricle of experimental group was bigger than control group, as the left ventricle-to-body weight ratio of experimental group (2.3±0.18) was significantly more than control group (2.049±.12). Also the left ventricle-to-BSA ratio of experimental group (0.168±0.008) was significantly more than control group (0.153±0.006), these finding was coincided with significantly ($p<0.05$) increase of hp-1 gene expression (49 fold) in left ventricle of experimental group.

Conclusion: The results of this study showed that endurance activity induce increase in heart internal dimension and also weight of it especially in left ventricle that this structural changes was coincided with *hp-1beta* gene expression change. This means each tissue remodeling was accompanied with gene change.

Keywords: *hp-1β*, Physical Endurance, Heart, Left ventricle