Sport. Physiol, 2024, 15(60): 107-120, Doi: 10.22089/spj.2024.16731.2311

Sport Physiology

Journal hompage: https://spj.ssrc.ac.ir

Original Article

The Effect of Eight Weeks of Endurance Training on Sca-1 Gene Expression in the Heart of Male Rats

M. Borjian Fard[1*]

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences and Health, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 22/06/2023, Revised: 05/12/2023, Accepted: 22/12/2023

Abstract

Objective: Physiological cardiac hypertrophy is mainly mediated by cardiomyocytes that are pre-existence. The aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of endurance exercise on the expression of the Stem cells antigen-1 (Sca-1) gene in cardiac hypertrophy of male Wistar rats. **Methods and materials**: In this experimental study, 16 adults male Wistar rats were divided into two groups: control (n= 8) and endurance training (n= 8). The endurance training group performed continuous treadmill running for 50 min, five days a week, at an intensity of 65-70% Vo_2max for eight weeks. The control group did not engage in any exercise during this time. After 48 hours following the last training session, the rats were dissected. The heart-to-body weight ratio and left ventricular wall thickness were measured to assess cardiac hypertrophy in the Wistar rats. The expression level of the Sca-1 gene in the heart was also measured using Real-time PCR. In the end, the collected data were evaluated using independent t-test at a significance level of 0.05. **Results** The results showed that both heart-to-body weight ratio (p=0.0001) and left ventricular wall thickness (p=0.002) were significantly higher in the endurance exercise group compared to the control group. Additionally, Sca-1 levels were significantly increased in the endurance exercise group compared to the control group (p=0.011). **Conclusions**: It appears that endurance exercise can have prominent effects on cardiac hypertrophy in male rats by regulating an increase in Sca-1 expression.

Keywords: Cardiac Stem Cells, Endurance Exercise, Cardiac Hypertrophy

* Corresponding Author: M. Borjian Fard, Tel: +98- 9132818824, Email: mbborjian@ut.ac.ir

How to Cite: Borjian Fard, M; (2024). The Effect of Eight Weeks of Endurance Training on Sca-1 Gene Expression in the Heart of Male Rats. *Sport Shysiology*, 15(59), 107-120. In Persian.

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Extended Abstract

Background and Purpose

Previously, the heart was believed to be an organ without the ability to regenerate itself. However, evidence suggests that the heart can regenerate through cardiomyocyte division and activation of stem cells (1, 2). Exercise acts as a stimulus for physiological cardiac hypertrophy, which is associated not only with hypertrophy of existing cardiomyocytes but also with the formation of new cardiomyocytes (3, 4).Cardiac stem cells, including Sca-1 cells, play a role in exercise-induced cardiac hypertrophy (5, 6). Sca-1 cells can differentiate into new cardiomyocytes through proliferation and differentiation, and they can also enhance protein synthesis in existing cardiomyocytes (7, 8). Studies have shown inconsistent results regarding the effect of exercise on Sca-1 gene expression in the heart. Some studies have shown that exercise activates Sca-1 cardiac stem cells, while others have not (6, 9, 10). Therefore, the aim of this study is to investigate the effect of eight weeks of aerobic exercise on Sca-1 gene expression in the heart of male rats.

Materials and Methods

In this experimental study, 16 adults male Wistar rats (8 weeks old, weighing 217±14 g) were divided into two groups: control (n= 8) and endurance training (n= 8). The endurance training group underwent continuous treadmill running for 50 minutes, five days a week, at an intensity of 65-70% VO2max for eight weeks. The control group did not engage in any exercise during this time. After 48 hours following the last training session, the rats were sacrificed. The animal's hearts were excised and weighed. Portions of the ventricular tissues were snap-frozen in liquid nitrogen and stored at − 80 °C for cellular and molecular testing. The heart-to-body weight ratio and left ventricular wall thickness were measured to assess cardiac hypertrophy in the Wistar rats. The expression level of the Sca-1 gene in the heart was also assessed using Real-time PCR. Finally, data were expressed as mean ± SEM and analyzed using the SPSS software (version 25). The collected data were evaluated using independent t-test at a significance level of 0.05.

Findings

The results showed that both heart-to-body weight ratio (p=0.0001) and left ventricular wall thickness (p=0.002) were significantly higher in the endurance exercise group compared to the control group. The significant increase in both the heart weight-to-body weight ratio and left ventricular wall thickness confirms the occurrence of hypertrophy in the left ventricle of the training group. Additionally, Sca-1 gene expression was significantly higher in the endurance training group compared to the control group (P = 0.011).

Conclusion

Aerobic exercise increases cardiac hypertrophy in male rats by upregulating Sca-1 gene expression. Possible mechanisms include the downregulation of C/EBPβ, the activation of CITED4, and the increase in NO and catecholamines (11, 12).

Message of the Article

Aerobic exercise appears to have a significant impact on cardiac hypertrophy in male rats by upregulating Sca-1 gene expression.

Ethical Considerations

Compliance with Ethical Guidelines

In this study, all ethical principles and guidelines for working with laboratory animals were followed according to the approved laws of the Ethics Committee in Medical Research. This study has an ethics code number 370299/141 from the Ethics Committee of Tehran University.

Acknowledgments

The authors would like to thank all those who cooperated in this study.

Conflict of Interest

The authors of this article have no conflict of interest in its publication.

References

1. Johnson J, Mohsin S, Houser SR. Cardiomyocyte proliferation as a source of new myocyte development in the adult heart. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(15):7764.
2. Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, Yang VK, Cai L, Wang M, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. Nature. 2013;493(7432):433-6.
3. Bostrom P, Mann N, Wu J, Quintero PA, Plovie ER, Panakova D, et al. C/EBPb Controls Exercise-Induced Cardiac Growth and Protects against Pathological Cardiac Remodeling. Cell. 2010;143:1072-83.
4. Vujic A, Lerchenmuller C, Wu TD, Guillermier C, Rabolli CP, Gonzalez E, et al. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. Nat Commun. 2018;9(1):1659.
5. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. Eur Heart J. 2014;35(39):2722-31.
6. Xiao J, Xu T, Li J, Lv D, Chen P, Zhou Q, et al. Exercise-induced physiological hypertrophy initiates activation of cardiac progenitor cells. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7(2):663-9.
7. Uchida S, De Gaspari P, Kostin S, Jenniches K, Kilic A, Izumiya Y, et al. Sca1-derived cells are a source of myocardial renewal in the murine adult heart. Stem cell reports. 2013;1(5):397-410.
8. Pagano F, Picchio V, Angelini F, Iaccarino A, Peruzzi M, Cavarretta E, et al. The biological mechanisms of action of cardiac progenitor cell therapy. Current Cardiology Reports. 2018;20:1-10.
9. Leite CF, Lopes CS, Alves AC, Fuzaro CS, Silva MV, Oliveira LF, et al. Endogenous resident c-Kit cardiac stem cells increase in mice with an exercise-induced, physiologically hypertrophied heart. Stem Cell Res. 2015;15(1):151-64.
10. Gaeini AA, Hemmatinafar M. Low-Intensity Interval Training Increased Gene Expression of Sca-1 in Rats with Myocardial Infarction. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 2017;25(113):67-78.
11. Lerchenmuller C, Rosenzweig A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. Drug Discov Today. 2014;19(7):1003-9.
12. Campa VM, Gutierrez-Lanza R, Cerignoli F, Diaz-Trelles R, Nelson B, Tsuji T, et al. Notch activates cell cycle reentry and progression in quiescent cardiomyocytes. J Cell Biol. 2008;183(1):129-41.

فیزیولوژی ورزشی، زمستان ۱۴۰۲، دوره ۱۵، شماره ۶۰، صص ۱۲۰-۱۰۷. Doi: 10.22089/spj.2024.16731.2311

فیزیولوژی ورزشی

Journal hompage: https://spj.ssrc.ac.ir

نوع مقاله: پژوهشی

تاثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر بیان ژن Sca-۱ در قلب موش‌های صحرایی نر

محبوبه برجیان فرد[۱*]

۱. استادیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۱ ، تاریخ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۹/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

چکیده

اهداف: هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب به طور عمده به واسطه کاردیومیوسیت‌هایی است که از پیش وجود داشته‌اند. اما شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند فعالیت ورزشی سلول‌های بنیادی قلب را نیز فعال می‌کند. ژن Sca-۱ (Stem cells antigen-۱) یکی از نشانگرهای سلول‌های بنیادی قلبی است و هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بر بیان Sca-۱ در هایپرتروفی قلبی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار است. مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۱۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در دو گروه کنترل (n = ۸) و تمرین استقامتی (n = ۸) تقسیم بندی شدند. گروه تمرین به مدت هشت هفته و ۵ روز در هفته تمرین شامل ۵۰ دقیقه دویدن بر تردمیل با شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد Vo_2max را به طور مداوم انجام دادند.گروه کنترل در این مدت هیچ گونه تمرینی نداشت. در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی موشهای صحرایی تشریح شدند. نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت دیواره بطن چپ به منظور بررسی هایپرتروفی قلب موشهای صحرایی اندازه‌گیری شد. میزان بیان ژن Sca-۱ قلب نیز با روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد در پایان، داده‌های جمع آوری شده توسط آزمون آماری t مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ارزیابی شدند. یافته‌ها: نسبت وزن قلب به وزن بدن (P=۰/۰۰۰۱) و ضخامت دیواره بطن چپ (P =۰/۰۰۲) در گروه تمرین استقامتی به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود. همچنین مقادیر Sca-۱ در گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P =۰/۰۱۱). نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند با تنظیم افزایشی بیان Sca-۱ اثرات برجسته‌ای بر هایپرتروفی قلب موش های صحرایی نر داشته باشد.

واژگان کلیدی: سلول‌های بنیادی قلبی، فعالیت ورزشی هوازی، هایپرتروفی قلبی.

* Corresponding Author: M. Borjian Fard, Tel: +98- 9132818824, Email: mbborjian@ut.ac.ir

How to Cite: Borjian Fard, M; (2024). The Effect of Eight Weeks of Endurance Training on Sca-1 Gene Expression in the Heart of Male Rats. *Sport Shysiology*, 15(59), 107-120. In Persian.

Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

تا چندین دهه تصور می‌شد قلب یک ارگان پس میتوزی است و ظرفیت بازسازی مجدد را ندارد. با این حال، شواهد رو به رشد نشان می‌دهند قلب بزرگسالان توانایی رشد و ظرفیت نوزایی دارد که با تقسیم کاردیومیوسیت‌ها و فعال‌سازی سلول‌های بنیادی و پروژنیتوری حمایت می‌شود (۱, ۲). پژوهشگران نشان دادند کاردیومیوسیت‌ها در طول زندگی با ظرفیتی معادل حدود یک درصد در سن بیست و پنج سالگی و حدود چهل و پنج درصد در سن هفتاد و پنج سالگی در انسان تجدید می‌شوند. به عبارت دیگر، نیمی از کاردیومیوسیت‌ها در طول یک عمر نرمال انسان جایگزین می‌شوند (۳). این توانایی تقسیم کاردیومیوسیت‌ها، به وجود یک محرک القایی وابسته است (۴).

پاسخ قلب به محرک‌های فیزیولوژیکی مانند فعالیت ورزشی، به عنوان هایپرتروفی فیزیولوژیک شناخته می‌شود (۵). هایپرتروفی فیزیولوژیک، برخلاف هایپرتروفی پاتولوژیک که در نهایت در برابر بیماری‌های قلبی عروقی مانند نارسایی قلبی و آریتمی ایجاد می‌شود، یک پاسخ سودمند تطبیقی است (۶).

هایپرتروفی فیزیولوژیک علاوه بر هایپرتروفی کاردیومیوسیت‌های موجود پیشین با تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید در داخل بدن نیز همراه است (۷). لذا به نظر می‌رسد قلب از توانایی قابل توجهی برای رشد، بازسازی و جایگزینی کاردیومیوسیت‌ها در طول زندگی برخوردار است که این امر تحت تاثیر محرک‌های فیزیولوژیکی مانند فعالیت ورزشی و از طریق فرآیندهای مختلفی از جمله تقسیم کاردیومیوسیت‌ها و فعال سازی سلول‌های بنیادی و پروژنیتوری صورت می‌گیرد.همانطور که گفته شد، فعالیت ورزشی یک محرک فیزیولوژیک برای هایپرتروفی و هایپرپلازیای کاردیومیوسیت‌ها است (۴). ووجیس[1] و همکارانش در سال ۲۰۱۸ گزارش کردند هشت هفته تمرین ورزشی (ورزش اختیاری) کاردیومیوژنز را در قلب موش‌های سالم و بیمار افزایش می‌دهد و تایید کردند تولید کاردیومیوسیت‌های جدید یکی از فواید فعالیت ورزشی خواهد بود (۸). وارینگ[2] و همکارانش در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند شاخص‌های آناتومیکی قلب و تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید به طور معنی‌داری در موش‌های صحرایی که به مدت چهار هفته با دو شدت کم و زیاد (به ترتیب ۵۵ تا ۶۰ درصد VO_2max و ۸۵ تا ۹۰ درصد VO_2max) تمرین کردند نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشت و این تغییرات در گروه تمرینی با شدت بالا، بارزتر بود. آن‌ها همچنین افزایش معنی‌دار سلول‌های بنیادی قلبی c-kit پس از تمرینات ورزشی (به ویژه شدید) را نشان دادند و در کل بیان کردند فعالیت ورزشی تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی قلب در موش‌های صحرایی سالم را افزایش می‌دهد (۹).

شیائو[3] و همکارانش در سال ۲۰۱۴، شکل‌گیری کاردیومیوسیت‌های جدید از سلول‌های بنیادی قلب را در هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب موش‌ها بعد از ۲۱ روز به تمرین شنا بررسی کردند و نشان دادند فعالیت ورزشی با فعال‌سازی سلول‌های بنیادی پیش ساز قلب، هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب را باعث می‌شود (۱۰). لیته[4] و همکارانش نیز در سال ۲۰۱۵ نشان دادند تعداد سلول‌های بنیادی ساکن در قلب (c-kit) موش‌هایی که چهار هفته شنا کرده بودند به میزان قابل توجهی افزایش یافته است و این افزایش با هایپرتروفی فیزیولوژیایی قلب به دنبال فعالیت ورزشی همراه بود (۱۱). لذا بر اساس مطالعات مذکور،

1. Vujic
2. Waring
3. Xiao
4. Leite

فعالیت ورزشی سلول‌های بنیادی قلب را فعال می‌کند و این سلول‌ها با تکثیر و تمایز خود در هایپرتروفی قلبی ناشی از فعالیت ورزشی نقش خواهند داشت. سلول‌های بنیادی قلب عبارتند از سلول‌های استرومای c-Kit+، Sca-۱+ و سلول‌های بنیادی قلبی مشتق از عضلات قلب، که به عنوان سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از قلب شناخته می‌شوند(۱۲).-Stem cells antigen ۱ (Sca-۱)، عضوی از خانواده‌ی لنفوسیت-۶ (Lymphocyte-۶) است. Sca-۱ در ابتدا به عنوان یکی از نشانگرهای سلول‌های بنیادی شناخته می‌شد سپس نشان داده شد سلول‌های بنیادی مشتق از میوکارد نیز Sca-۱ را بیان می‌کند و نقش مهمی در تمایز سلول‌های بنیادی قلبی به کاردیومیوسیت‌های بالغ (نوزایی) ایفا می‌کند(۱۳). سلول‌های بنیادی قلبی Sca-۱ به عنوان منبع تجدید میوکارد در قلب موش‌های بالغ شناخته شده‌اند(۱۴). به نظر می‌رسد، Sca-1 می‌تواند به طور مستقیم با فعال کردن و تمایز سلول‌های بنیادی قلب به کاردیومیوسیت‌های جدید و همچنین افزایش سنتز پروتئین در کاردیومیوسیت‌های موجود و یا به طور غیر مستقیم با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با هایپرتروفی قلب در هایپرتروفی قلب نقش داشته باشد(۱۴, ۱۵).

در مطالعه شیائو و همکارانش (۲۰۱۴)، شواهدی مبنی بر فعال شدن سلول‌های بنیادی قلبی مثبت Sca-۱ با تمرین شنا نشان داده شد(۱۰). از سویی لیته و همکارانش (۲۰۱۵) در پژوهش خود به بررسی چهار هفته تمرین شنا در موش‌های نه تا دوازده هفته‌ای پرداختند، که این پروتکل تمرینی، شامل پنج جلسه در هفته و هر روز به مدت ۹۰ دقیقه بود. نتایج تاثیر معناداری را در تعداد سلول‌های بنیادی قلبی Sca-۱ در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل نشان نداد(۱۱). گائینی و همکارانش (۲۰۱۷)، نیز تاثیر شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی تناوبی (شدت کم: ۵۵-۶۰ درصد VO_2max، شدت متوسط: ۷۰-۶۵ درصد VO_2max و شدت زیاد: ۹۰-۸۵ درصد VO_2max) بر بیان ژن Sca-۱ در موش‌های صحرایی نر مبتلا به انفارکتوس میوکارد را بررسی کردند و بیان کردند مقادیر Sca-۱ پس از شش هفته فعالیت ورزشی تنها در گروه فعالیت ورزشی با شدت کم افزایش معنی دار دارد و در گروه با شدت متوسط و زیاد چنین نتایجی مشاهده نشد (۱۶). لذا با وجود شواهدی مبنی بر نقش بالقوه Sca-۱ در هایپرتروفی قلب ناشی از فعالیت ورزشی، نتایج مطالعات مختلف در این زمینه متناقض است. برخی مطالعات (۱۰) نشان دادند تمرین ورزشی می‌تواند سلول‌های بنیادی قلبی مثبت Sca-۱ را فعال کند، در حالی که مطالعات دیگر (۱۱)چنین یافته‌ای را نشان نداده‌اند. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که اثرات Sca-۱ بر هایپرتروفی قلب در رت‌های مبتلا به انفارکتوس میوکارد ممکن است به شدت فعالیت ورزشی بستگی داشته باشد (۱۶). لذا برای درک کامل نقش Sca-۱ در هایپرتروفی قلب ناشی از فعالیت ورزشی، تحقیقات بیشتر برای بررسی اثرات Sca-۱ در انواع مختلف فعالیت ورزشی و در افراد با سطوح مختلف تناسب اندام و سلامت کلی مورد نیاز است. بنابراین با توجه به این که دانش در زمینه هایپرتروفی فیزیولوژیکی قلب با سازوکار بیان ژن Sca-۱ در قلب سالم به دنبال انجام تمرینات ورزشی، اندک و نتایج متناقض است. هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بر بیان ژن Sca-۱ قلب موش‌های صحرایی نر است.

روش پژوهش

در پژوهش حاضر که از نوع پژوهش های تجربی است ۱۶ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار (با سن ۸ هفته و میانگین وزن ۱۴±۲۱۷ گرم) از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. حیوانات به طور تصادفی در دو گروه مساوی هشت تایی شامل گروه‌های کنترل و تمرین استقامتی قرار گرفتند. کلیه نمونه‌ها تحت شرایط کنترل شده یکسان آزمایشگاهی در دمای ۳ ±

۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد و بدون هیچ گونه محدودیت غذایی و آب در قفس‌های پلی اتیلن حیوان‌خانه دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه تهران نگهداری شدند. موش‌های صحرایی پس از انتقال به آزمایشگاه حیوانات به منظور سازگاری با شرایط جدید و کاهش استرس، به مدت یک هفته در محیط جدید نگه داری شدند.

تمرین ورزشی

پس از یک هفته آشناسازی موش‌های صحرایی با پروتکل ورزشی، حداکثر اکسیژن مصرفی موش‌های صحرایی در گروه تمرین استقامتی با پروتکل غیر مستقیم اندازه گیری شد(۱۷)، سپس موش‌های صحرایی طبق پروتکل تمرینی که با توجه به پژوهش کمی و همکارانش(۲۰۰۵) و لمیتسو و همکارانش (۲۰۰۵) طراحی شد به مدت هشت هفته و به صورت پنج جلسه در هفته به انجام تمرینات دویدن روی تردمیل (شش لاین، مارک دانش‌سالار ایرانیان، ساخت کشور ایران) پرداختند. گروه تمرین استقامتی بعد از پنج تا ده دقیقه گرم کردن (شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max)، ۵۰ دقیقه (شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد VO_2max) به طور مداوم به تمرین پرداختند و در انتها نیز ۵ دقیقه (شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد VO_2max) سرد کردند(۱۸, ۱۹). شدت تمرینات به صورت هفتگی تنظیم شد(۱۸). موش‌های گروه تمرین با استفاده از یک شوک الکتریکی ضعیف (با شدت نیم میل آمپر) که در حیوان ایجاد استرس زیادی نمیکند به ادامه دویدن تشویق شدند. گروه کنترل هیچ گونه تمرینی در این زمان نداشت.

ارزیابی هایپرتروفی قلبی

در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی موش‌های صحرایی با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. به منظور سنجش میزان هایپرتروفی قلب از ارزیابی نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت دیواره بطن چپ استفاده شد (۲۰). برای این کار در حالت بیهوشی وزن هر موش صحرایی به گرم (با ترازو مدل GF6100 ساخت شرکت AND ژاپن) اندازه گیری شد. سپس قلب حیوان از شکاف ناحیه سینه خارج و وزن شد. بافت قلب بلافاصله در تانک ازت قرار داده شد و به فریزر ۸۰- درجه منتقل گردید. به منظور ارزیابی ضخامت دیواره بطن چپ، پس از تثبیت، آبگیری توسط اتانول، شفاف سازی و قالب گیری بافت قلب، به کمک میکروتوم مقاطع بافتی به ضخامت پنج میکرون تهیه شد. سپس این مقاطع بافتی با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند تا برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده گردند. نتایج به دست آمده در این قسمت به کمک نرم افزار ImageJ به صورت کمی ارائه شدند (۲۱).

ارزیابی بیان ژن Sca-۱

برای تعیین میزان بیان ژن Sca-۱ از روش Real-Time PCR استفاده شد. در آغاز، طراحی آغازگرها بر اساس اطلاعات موجود در بانک ژنی NCBI و با همکاری شرکت پیشگام (ایران) انجام شد. سپس با استفاده از پروتکل شرکت سازنده (کیاژن، آلمان)، RNA از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل گردید. در مرحله بعد، با روش PCR و با استفاده از پروتکل شرکت سازنده (Fermentas, USA)، cDNA تکثیر و برای بررسی بیان ژن‌های مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت. همچنین ژن Gapdh (Glyceraldehyde-۳-phosphate dehydrogenase) به عنوان ژن معیار استفاده شد. برای Real-Time PCR، برنامه دمایی

خاصی استفاده شد. در ابتدا صفحه حامل نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا گرم شود. سپس سیکل‌های گرمایی شامل ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد و یک دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد (با تکرار ۴۰ چرخه) انجام شد. برای بررسی صحت داده‌ها، نمودار ذوب رسم شد و با استفاده از نمودار استاندارد، شرایط آزمایش بهینه سازی شد. محاسبات بیان داده‌ها بر اساس نسبت بین بیان ژن Sca-۱ و ژن معیار (Gapdh) صورت پذیرفت. میزان بیان ژن‌های مرجع نیز با روش $2^{-(delta\ delta\ CT)}$ اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها، از نرم افزار آماری SPSS برای پردازش اطلاعات استفاده شد و کلیه نتایج به صورت (Mean±SEM) بیان شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغییرهای پژوهش با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، از آزمون آماری t مستقل در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

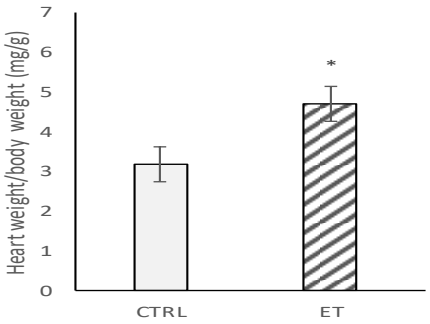
یافته‌ها

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، هایپرتروفی قلب در گروه تمرینی اتفاق افتاده است و میانگین شاخص‌های وزن قلب، وزن پایانی بدن و نسبت وزن قلب به وزن بدن گروه‌های مختلف در **Error! Reference source not found.** قابل مشاهده است. میانگین وزن گروه کنترل از گروه تمرینی پس از هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بیشتر بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود (P ۰/۱ =). شاخص وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن به طور معنی‌داری در گروه تمرین استقامتی بیشتر از گروه کنترل (به ترتیب P =۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۰۰۱) بود (شکل ۱). رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین افزایش معنادار ضخامت دیواره بطن چپ موش‌های صحرایی گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد (P =۰/۰۰۲) (شکل ۲). افزایش معنادار دو شاخص نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت دیواره بطن چپ وقوع هایپرتروفی در بطن چپ گروه تمرین را تایید می‌کند. میزان بیان ژن Sca-۱ در گروه تمرین استقامتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری داشت (P =۰/۰۱۱) (شکل ۳).

جدول ۱- مقادیر میانگین و انحراف استاندارد وزن پایانی بدن، وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه‌های مورد مطالعه

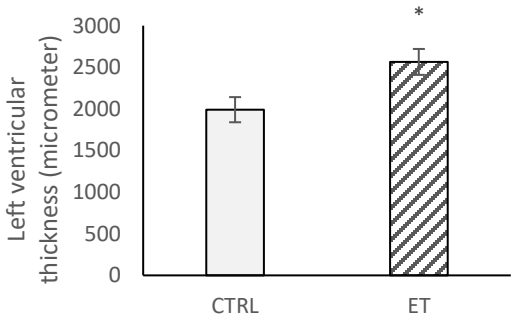
Table 1- Mean values and standard deviation of final body weight, heart weight and the ratio f heart weight to body weight in the studied groups

گروه‌های آزمودنی (میانگین و انحراف معیار) subject	وزن بدن (گرم) Body weight (g)	وزن قلب (گرم) Heart weight (g)	وزن قلب/وزن بدن eart weight / body weight (mg/g)
کنترل control	320±23	1.01 ± 0.11	3.17 ± 0.44
تمرین استقامتی Endurance training	285±31	1.33 ± 0.11	4.71 ± 0.43



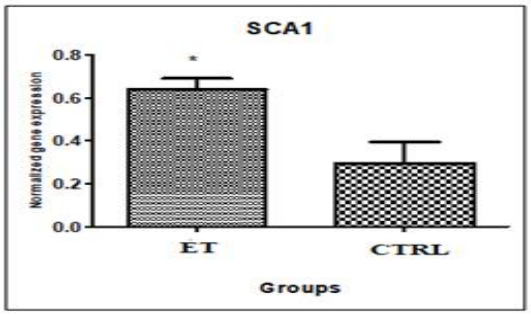
شکل ۱- تغییرات نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه‌های مورد مطالعه. (*: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. ET:گروه تمرین استقامتی. CTRL: گروه کنترل)

Figure 1- Changes in the ratio of heart weight to body weight in the studied groups. (*: indicates a significant difference compared to the control group. ET: endurance training group. CTRL: control group)



شکل ۲- تغییرات ضخامت دیواره بطن چپ در گروه‌های مورد مطالعه. (*: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. ET: گروه تمرین استقامتی. CTRL: گروه کنترل.)

Figure 2- Changes in left ventricular wall thickness in the studied groups. (*: indicates a significant difference compared to the control group. ET: endurance training group. CTRL: control group.)



شکل ۳- تغییرات میزان mRNA Sca-1 قلب در گروه‌های مورد مطالعه. (*: نشان دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل. ET:گروه تمرین استقامتی. CTRL: گروه کنترل.)

Figure 3- Changes in heart Sca-1 mRNA levels in the studied groups. (*: indicates a significant difference compared to the control group. ET: endurance training group. CTRL: control group.)

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، تأثیر هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بر هایپرتروفی قلبی موش‌های صحرایی نر بالغ بررسی شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، میانگین وزن گروه کنترل از گروه تمرینی پس از هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی بیشتر بود، اما این تفاوت مهم نبود. شاخص وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه تمرین استقامتی، بیشتر از گروه کنترل بود. ضخامت دیواره بطن چپ در موش‌های صحرایی گروه تمرین استقامتی نیز به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود که این یافته‌ها حاکی از هایپرتروفی فیزیولوژیک قلب در موش‌های صحرایی گروه تمرین استقامتی است. این یافته‌ها با نتایج دسوزا[1] و همکارانش (۲۰۱۴) (۲۲)، لیو[2] همکارانش (۲۰۱۵) (۲۳)، ژیائو[3] و همکارانش (۲۰۱۶) (۲۴)، لوخی[4] و همکارانش (۲۰۱۷) (۲۵) و برجیان و همکارانش (۲۰۱۹) (۲۶) همخوانی دارد. دسوزا و همکارانش (۲۰۱۴) اثر سه نوع تمرین هوازی، مقاومتی و ترکیبی (مقاومتی-هوازی) را روی میوکارد بطن چپ موش‌های صحرایی بررسی کردند. آنها نشان دادند هشت هفته تمرین باعث افزایش ۶ درصدی ضخامت بطن چپ در گروه هوازی شده است (۲۲). لیو و همکارانش (۲۰۱۵) اثر سه هفته تمرین شنا و دویدن اختیاری روی نوار گردان را بر رشد قلبی ناشی از فعالیت ورزشی در موش‌های C۵۷ بررسی کردند. آنها نشان دادند هر دو مدل تمرین هوازی با افزایش نسبت وزن قلب به وزن بدن همراه بود. میزان افزایش نسبت وزن قلب به وزن بدن در هر دو گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل ۲۱ درصد گزارش شد (۲۳). ژیائو و همکاران (۲۰۱۶) نیز پس از چهار هفته تمرین شنا در موش‌های C۵۷، با ارزیابی نسبت وزن قلب به وزن بدن، هایپرتروفی قلبی ناشی از تمرین ورزشی را در این نمونه ها تایید کردند (۲۴). لوخی و همکاران (۲۰۱۷) اثرات ۲۱ روز دویدن اختیاری روی نوار گردان را بر هایپرتروفی قلبی موش‌های ماده بررسی کردند. آنها گزارش کردند نسبت وزن قلب به وزن بدن موش‌هایی که فعالیت ورزشی انجام داده بودند افزایش معناداری داشت و وقوع هایپرتوفی قلبی در این موش‌ها را تایید کردند (۲۵). برجیان و همکاران (۲۰۱۹) نیز با ارزیابی نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت بطن چپ، وقوع هایپرتروفی قلبی به دنبال تمرینات هوازی را در موش‌های صحرایی نر تایید کردند (۲۶).

نتایج پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار Sca-۱ به دنبال هشت هفته فعالیت ورزشی هوازی را نیز نشان داد. در پژوهش حاضر نشان داده شد که به طور کلی، فعالیت ورزشی نوزایی قلبی (Sca-۱) را در موش‌های صحرایی افزایش می‌دهد. بستروم[5] و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که فعالیت ورزشی استقامتی، از طریق تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی قلبی به کاردیومیوسیت‌های بالغ منجر می‌شود که به نظر می‌رسد علت اصلی هایپرتروفی و تکثیر میوسیت‌ها باشد (۴). شیائو و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند مقادیر Sca-۱ در موش‌هایی که به مدت ۲۱ روز تمرین شنا انجام دادند به صورت معناداری افزایش یافت و فعالیت ورزشی از طریق فعال‌سازی سلول‌های بنیادی قلب باعث رشد فیزیولوژیک قلب شد (۱۰). در مطالعه‌ی حاضر نیز مقادیر بیان ژن Sca-۱ در گروه تمرینی افزایش یافت که همسو با نتایج شیائو و همکاران است. از سوی دیگر، لیته و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهش خود به بررسی چهار هفته تمرین در موش‌های نه تا دوازده هفته‌ای پرداختند، که این پروتکل تمرینی، شامل پنج جلسه در هفته و هر روز به مدت ۹۰ دقیقه بود. نتایج تاثیر معناداری را در تعداد سلول‌های بنیادی قلبی

1. De Souza
2. Liu
3. Xiao
4. Luckey
5. Bostrom

Sca-۱ در گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل نشان نداد(۱۱). چنین تناقضی ممکن است روش های مختلف و یا نمونه های بافتی مختلف مورد استفاده را منعکس کند. در حالی که لیته و همکاران سلول‌های Sca-۱ را در بخش‌های رأس قلب با استفاده از میکروسکوپ ایمونوفلورسانس بررسی کردند، در مطالعه حاضر اندازه‌گیری‌ها با توجه به تعداد مطلق Sca-۱ انجام شد (سلول‌ها از کسر سلولی تخلیه شده از میوسیت کل قلب به دست آمد).

فعالیت ورزشی نه تنها عوامل خطر قلبی ـ عروقی را کاهش می‌دهد، بلکه می‌تواند مستقیماً بر ساختار سلولی ـ مولکولی قلب سالم نیز مؤثر باشد (۲۷). شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند تمرینات ورزشی سلول‌های بنیادی قلب را فعال کرده و شکل‌گیری کاردیومیوسیت‌های جدید را تحریک می‌کند (۴, ۱۱, ۲۸, ۲۹). درباره مکانیسم‌هایی که به فعال‌سازی سلول‌های بنیادی قلب منجر می‌شوند، به نظر می‌رسد کاهش عامل رونویسی C/EBPβ در قلب موش‌های تمرین کرده، عامل اصلی هایپرتروفی و تکثیر کاردیومیوسیت‌ها باشد (۳۰). همچنین، فعالیت ورزشی با القای پاسخ‌های اندوکراین و پاراکراین در میوسیت‌ها و فعال‌سازی مسیر پیام رسان IGF1-PI3K-AKT/PKB همراه است که به کاهش بیان عوامل رونویسی C/EBPβ و افزایش بیان عامل رونویسی CITED4 می‌انجامد. فعال‌سازی CITED4 منجر به تکثیر و تمایز سلول‌های بنیادی قلب به کاردیومیوسیت‌های بالغ می‌شود(۳۱). مطالعات نشان می‌دهند نیتریک اکساید نیز باعث افزایش فاکتورهای رونویسی قلب و فعال‌سازی سلول‌های بنیادی Sca-۱ می‌شود (۳۲) و از سویی در پاسخ به فعالیت ورزشی، میزان کاتکولامین‌ها موجود در خون افزایش می‌یابد سپس این هورمون‌ها روی گیرنده‌های بتا آدرنرژیک ۳ عمل می‌کنند و با فسفوریلاسیون نیتریک اکساید سنتتاز (eNOS) فعالیت آن را افزایش می‌دهند، به دنبال فعال شدن eNOS، دسترسی زیستی نیتریک اکساید افزایش می‌یابد(۳۰).

لذا به نظر می‌رسد سازوکارهای احتمالی افزایش ظرفیت نوزایی و بیان ژن Sca-۱ در این مطالعه، بیش تنظیمی عوامل رشدی و کاتکولامین‌ها و فعال شدن مسیرهای پائین دست آن‌ها توسط فعالیت ورزشی در موش‌های صحرایی باشد، که سرانجام باعث می‌شود Sca-۱ از طریق برخی سازوکارهای فیزیولوژیکی پیچیده، از جمله فعال‌سازیCSCs ، افزایش تمایز کاردیومیوسیت، کاهش آپوپتوز کاردیومیوسیت، افزایش سنتز پروتئین، و تنظیم بیان ژن‌ها توسط فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها، NO و تغییرات اپی ژنتیکی، به هایپرتروفی قلب ناشی از فعالیت ورزشی کمک کند(۱۵). در پژوهش حاضر، به دلیل محدودیت‌های مالی امکان سنجش Sca-۱ در سطح پروتئینی وجود نداشت و عدم بررسی تغییرات بیان ژنی و پروتئینی مسیر پیام رسان بالادست Sca-۱ (IGF-1-PI3K-AKT/PKB و NO) به منظور بحث و نتیجه‌گیری دقیق‌تر نیز از نقاط ضعف و محدودیت‌های آن است. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به بررسی بیان ژن sca-۱ در سطح پروتئینی و نیز بررسی مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با sca-۱ در پاسخ به تمرینات ورزشی پرداخته شود. به‌طور خلاصه، به نظر می‌رسد یکی از عوامل دخیل در هایپرتروفی قلبی ناشی از تمرینات ورزشی افزایش بیان عامل رونویسی تنظیم‌کننده نوزایی قلبی Sca-۱ است و فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند با تنظیم افزایشی بیان Sca-۱ اثرات برجسته‌ای بر هایپرتروفی قلب در موش های صحرایی نر داشته باشد.

پیام مقاله

به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی هوازی می‌تواند با تنظیم افزایشی بیان Sca-۱ اثرات برجسته‌ای بر هایپرتروفی قلب در موش‌های صحرایی نر داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه کلیه اصول و موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شده است و پژوهش حاضر دارای کد اخلاق به شماره ۱۴۱/۳۷۰۲۹۹ از کمیته اخلاق دانشگاه تهران است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از تمام کسانی که در انجام این مطالعه همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

References

1. Johnson J, Mohsin S, Houser SR. Cardiomyocyte proliferation as a source of new myocyte development in the adult heart. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(15):7764.
2. Senyo SE, Steinhauser ML, Pizzimenti CL, Yang VK, Cai L, Wang M, et al. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. Nature. 2013;493(7432):433-6.
3. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabe-Heider F, Walsh S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. Science. 2009;324(5923):98-102.
4. Bostrom P, Mann N, Wu J, Quintero PA, Plovie ER, Panakova D, et al. C/EBPb Controls Exercise-Induced Cardiac Growth and Protects against Pathological Cardiac Remodeling. Cell. 2010;143:1072-83.
5. Seo DY, Kwak HB, Kim AH, Park SH, Heo JW, Kim HK, et al. Cardiac adaptation to exercise training in health and disease. Pflugers Arch. 2020;472(2):155-68.
6. Nakamura M, Sadoshima J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. Nat Rev Cardiol. 2018;15(7):387-407.
7. Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. Heart. 2012;98(1):5-10.
8. Vujic A, Lerchenmuller C, Wu TD, Guillermier C, Rabolli CP, Gonzalez E, et al. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. Nat Commun. 2018;9(1):1659.
9. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. Eur Heart J. 2014;35(39):2722-31.
10. Xiao J, Xu T, Li J, Lv D, Chen P, Zhou Q, et al. Exercise-induced physiological hypertrophy initiates activation of cardiac progenitor cells. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7(2):663-9.
11. Leite CF, Lopes CS, Alves AC, Fuzaro CS, Silva MV, Oliveira LF, et al. Endogenous resident c-Kit cardiac stem cells increase in mice with an exercise-induced, physiologically hypertrophied heart. Stem Cell Res. 2015;15(1):151.٦٤-
12. Barile L, Chimenti I, Gaetani R, Forte E, Miraldi F, Frati G, et al. Cardiac stem cells: isolation, expansion and experimental use for myocardial regeneration. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2007;4 Suppl 1:S9-S14.
13. Wang X, Hu Q, Nakamura Y, Lee J, Zhang G, From AH, et al. The role of the sca-1+/CD31- cardiac progenitor cell population in postinfarction left ventricular remodeling. Stem Cells. 2006;24(7):1779-88.
14. Uchida S, De Gaspari P, Kostin S, Jenniches K, Kilic A, Izumiya Y, et al. Sca1-derived cells are a source of myocardial renewal in the murine adult heart. Stem Cell Reports. 2013;1(5):397-410.
15. Pagano F, Picchio V, Angelini F, Iaccarino A, Peruzzi M, Cavarretta E, et al. The biological mechanisms of action of cardiac progenitor cell therapy. Current Cardiology Reports. 2018;20:1-10.

16. Gaeini AA, Hemmatinafar M. Low-Intensity Interval Training Increased Gene Expression of Sca-1 in Rats with Myocardial Infarction. Journal of Advances in Medical and Biomedical Research. 2017;25(11-٦٧:(٣ .٧٨
17. Hoydal MA, Wisloff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14(6):753-60.
18. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisloff U, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. Cardiovasc Res. 2005;67(1):161-72.
19. Iemitsu M, Maeda S, Miyauchi T, Matsuda M, Tanaka H. Gene expression profiling of exercise-induced cardiac hypertrophy in rats. Acta Physiologica Scandinavica. 2005;185(4):259-70.
20. Woodiwiss AJ, Norton GR. Exercise-induced cardiac hypertrophy is associated with an increased myocardial compliance. J Appl Physiol (1985). 1995;78(4):1303-11.
21. Schipke J, Brandenberger C, Rajces A, Manninger M, Alogna A, Post H, et al. Assessment of cardiac fibrosis: a morphometric method comparison for collagen quantification. Journal of Applied Physiology. 2017;122.٣٠-١٠١٩:(٤)
22. De Souza MR, Pimenta L, Pithon-Curi TC, Bucci M, Fontinele RG, De Souza RR. Effects of aerobic training, resistance training, or combined resistance-aerobic training on the left ventricular myocardium in a rat model. Microsc Res Tech. 201.٣٤-٧٢٧:(٩)٧٧;٤
23. Liu X, Xiao J, Zhu H, Wei X, Platt C, Damilano F, et al. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. Cell Metab. 2015;21(4):584-95.
24. Xiao J, Chen P, Qu Y, Yu P, Yao J, Wang H, et al. Telocytes in exercise-induced cardiac growth. J Cell Mol Med. 2016;20(5):973-9.
25. Luckey SW, Haines CD, Konhilas JP, Luczak ED, Messmer-Kratzsch A, Leinwand LA. Cyclin D2 is a critical mediator of exercise-induced cardiac hypertrophy .Exp Biol Med (Maywood). 2017;242(18):1820-30.
26. Borjian Fard M, Choobineh S, Soori R, Mazaheri Z. Investigating role of the JAK/STAT pathway in cardiac hypertrophy induced by the interval and continuous trainings in adult male rats. Pathobiology Research. 2019;22(4):173-80.
27. Moreira JBN, Wohlwend M, Wisloff U. Exercise and cardiac health: physiological and molecular insights. Nat Metab. 2020;2(9):829-39.
28. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. European heart journal. 2014;35(39):2722-31.
29. Naderi N, Hemmatinafar M, Gaeini AA, Bahramian A, Ghardashi-Afousi A, Kordi MR ,et al. High-intensity interval training increase GATA4, CITED4 and c-Kit and decreases C/EBPβ in rats after myocardial infarction. Life sciences. 2019;221:319-26.
30. Lerchenmuller C, Rosenzweig A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. Drug Discov Today. 2014;19(7):1003-9.
31. Campa VM, Gutierrez-Lanza R, Cerignoli F, Diaz-Trelles R, Nelson B, Tsuji T, et al. Notch activates cell cycle reentry and progression in quiescent cardiomyocytes. J Cell Biol. 2008;183(1):129-41.
32. Marino F, Scalise M ,Cianflone E, Salerno L, Cappetta D, Salerno N, et al. Physical exercise and cardiac repair: the potential role of nitric oxide in boosting stem cell regenerative biology. Antioxidants. 2021;10(7):1002.