

## تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن Hand2 بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار

محمد فتحی<sup>۱</sup>، رضا قراخانلو<sup>۲</sup>

۱. استادیار دانشگاه لرستان

۲. دانشیار دانشگاه تربیت مدرس\*

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۳۰

### چکیده

هدف این پژوهش بررسی تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن Hand2 بطن چپ بود. بدین منظور ۱۴ رت (نر نژاد ویستار با  $113 \pm 20$  گرم و پنج هفته سن) تحت شرایط کنترل شده (دما، چرخه روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و بعد از آشناسازی با پروتکل تمرینی به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی یک برنامه استقامتی (۱۴ هفته‌ای) را روی تردمیل اجرا کرد و ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی بی‌هوش و تشریح شدند، سپس قلب و بطن چپ آن‌ها خارج و با استفاده از روش Real time-PCR میزان بیان ژن Hand2 بطن چپ آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان با استفاده از آزمون آماری t تک نمونه‌ای اطلاعات به دست آمده ارزیابی شد. نتایج نشان داد میانگین بیان ژن Hand2 بطن چپ گروه تجربی به طور معناداری ( $P=0.007$ ) بیشتر از گروه کنترل بود. بنابراین به نظر می‌رسد ژن Hand2 در نوع هایپر تروفی ایجاد شده تأثیرگذار باشد.

واژگان کلیدی: ژن Hand2، فعالیت استقامتی، بطن چپ

## مقدمه

فعالیت‌های بدنی از جمله نوع استقامتی بر بافت قلب تأثیر می‌گذارد و موجب بهبود عملکرد (۱) و هایپرتروفی نوع فیزیولوژیکی قلب می‌شود (۲). به نظر می‌رسد که این بهبود عملکرد ریشه در تجدید ساختار قلب دارد که مستلزم تغییر در بیان ژن بافت است (۳،۴). در قلب فاکتورهای رونویسی زیادی در اثر فعالیت‌های استقامتی دستخوش تغییر می‌شوند (۵) از جمله این فاکتورها، فاکتورهای رونویسی bHLH<sup>1</sup> می‌باشند (۶) که خانواده بزرگی از ژن‌هایی هستند که در بسیاری از اوکاریوت‌ها از مخمرها گرفته تا انسان بیان می‌شوند (۷) و در بسیاری از فرآیندهای رشد مانند تکثیر، تمایز و تنظیم ژن‌های ویژه بافت درگیرند. این خانواده بر اساس عملکرد، ساختار و الگوی بیانشان در زمان رشد به چند دسته تقسیم (۸) و به‌طور مستقیم به نواحی تنظیمی بیان ژن موجود بر روی DNA متصل می‌شوند، برخی از این فاکتورها عملکرد ویژه بافت دارند. فاکتورهای bHLH اعضای ویژه بافت هستند که در تنظیم رونویسی به عنوان فعال‌کننده و یا سرکوب‌گر و یا هر دو عمل می‌کنند (۷).

از جمله اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی bHLH می‌توان به Hand2 اشاره کرد (۹) که مشخص شده در شکل‌گیری دیواره بین‌بطنی (۱۰،۱۱) حفره‌های قلب و قوس آئورت درگیر است (۱۲) به‌طوری‌که سرکوب ژنتیکی Hand2 موجب نقص در توسعه میوسیت‌های بطن (۱۳،۱۴) می‌شود و همچنین در نارسایی عضله قلب نمونه‌های انسانی و هایپرتروفی نمونه‌های حیوانی میزان بیان ژن Hand2 کاهش می‌یابد که ممکن است نشانه‌ای از کاردیومیوپاتی باشد (۱۵). در پژوهشی در رت‌ها، مشخص شد که بستن آئورت موجب افزایش هایپرتروفی قلب می‌شود (این تغییر در افزایش نسبت وزن قلب به وزن بدن نیز نمایان شد). در این تجدید ساختار از قلب، مشاهده شد که بیان ژن Hand2 در بطن چپ نیز به میزان معناداری کاهش می‌یابد (۱۵). اما در نمونه‌های انسانی دیده شد که میزان بیان ژن Hand2 در بیمارانی که دچار اختلالات بافت قلب (هایپرتروفی، گشادی قلب، ایسکمی و یا کاردیومیوپاتی سارکوئید ۳-نوعی التهاب بافت قلب-) شده بودند در مقایسه با گروه کنترل تغییر معناداری نکرده است (۱۶). هرچند این ژن در شکل‌گیری ساختار قلب نقش بسیار مهمی را به‌عهده دارد و در قلب هایپرتروفی شده دستخوش تغییر می‌شود اما هنوز هیچ پژوهشی پاسخ این ژن را به فعالیت استقامتی (القاء‌کننده هایپرتروفی فیزیولوژیکی) بررسی نکرده است. با توجه به این که فعالیت استقامتی بر تجدید ساختار قلب اثر می‌گذارد، فرض شد که این ژن از فعالیت استقامتی تأثیر می‌پذیرد. بنابراین هدف این پژوهش بررسی اثر فعالیت استقامتی (القاء‌کننده هایپرتروفی نوع فیزیولوژیکی) بر

- 
1. basic Helix-Loop-Helix
  2. Heart- and neural crest derivatives-expressed 2
  3. sarcoid cardiomyopathies

بیان ژن Hand2 بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار اثر بود.

### روش پژوهش

پژوهش حاضر اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی را بر بیان ژن Hand2 عضله قلب را به روش تجربی ارزیابی کرد. بدین منظور ۲۰ سر رت صحرائی نر نژاد ویستار با پنج هفته سن ( $20 \pm 113$  گرم) از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همه آن‌ها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد) به صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ (هشت هفته) فراهم شد. در این مدت رت‌ها در چهار قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن رت‌ها عبارت بود از  $231 \pm 24$  گرم. سپس دوره آشناسازی رت‌ها با فعالیت استقامتی (دویدن روی تردمیل با سرعت نه متر در دقیقه، به مدت پنج دقیقه و چهار روز در هفته) آغاز شد که این دوره ۱۰ روز (پنج جلسه) به طول انجامید. در پایان جلسات آشناسازی، رت‌ها به صورت تصادفی به دو گروه (۱۰ سر به عنوان گروه کنترل و ۱۰ سر دیگر به عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. از رت‌های گروه تمرینی سه سر نتوانستند پروتکل را به پایان برسانند. از آن جایی که در روش Real time (نسبی) باید تعداد گروه شاهد و تجربی مساوی باشند، با حذف سه سر از رت‌های گروه کنترل (به‌طور تصادفی) تعداد نهایی به ۱۴ سر (هفت سر شاهد و هفت سر تجربی) کاهش یافت.

با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل فعالیت استقامتی برای رت طراحی شد (۱۷، ۱۸) به‌طوری‌که منجر به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از فعالیت استقامتی شود. پروتکل (۱۴ هفته، هفته‌ای شش 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 پنج دقیقه‌ای با سرعت ۱۲ متر در دقیقه برای گرم کردن شروع می‌شد. در جلسه اول، بخش اصلی پروتکل ۱۲ دقیقه بود. به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش یافت (در هفته اول تا سوم هر روز دو دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد)؛ به‌طوری‌که در پایان روز ۲۳، مدت بخش اصلی پروتکل به ۵۰ دقیقه رسید که با احتساب پنج دقیقه گرم کردن و پنج دقیقه سرد کردن، مدت زمان کلی ۶۰ دقیقه بود. شدت تمرین با سرعت ۲۰ متر در دقیقه شروع شد. سپس هر هفته دو متر بر دقیقه به سرعت اضافه شد به‌طوری‌که در پایان هفته ششم سرعت به ۳۰ متر در دقیقه رسید. در نهایت در طی هفته‌های هفت تا ۱۰ به تدریج پنج درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً ۱/۲ درجه شیب) نیز اضافه شد. این پروتکل (۶۰ دقیقه دویدن (شامل پنج دقیقه گرم کردن با سرعت ۱۲ متر در دقیقه، ۵۰ دقیقه دویدن با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، با شیب پنج

درجه به عنوان بخش اصلی پروتکل و در نهایت پنج دقیقه دویدن با سرعت نه متر در دقیقه به عنوان بخش سرد کردن)) تا پایان هفته ۱۴ حفظ شد. پروتکل بین ساعات پنج تا هفت بعد از ظهر 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 (پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به طوری که رت به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، قلب رت‌ها تحت شرایط استریل خارج شد و بطن چپ آن‌ها توسط متخصص آناتومی جدا شد. بافت موردنظر (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 و در میکروتیوب‌هایی با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن‌شده، به ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، یک میلی‌لیتر تریزول اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل (پیپتاژ کردن) به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد سپس ۰/۲ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از پیپتاژ (۱۵ ثانیه) حدود دو تا سه دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور 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- باقی ماندند (overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۲۰۰۰ مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله یک رسوب سفید رنگ در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل مشاهده بود. با سمپلر (شرکت eppendorff) مایع رویی با دقت خارج شد و یک میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه با دور ۷۵۰۰ 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 لاندآ آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت eppendorff) ارزیابی شد که نسبت جذبی ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین ۱/۶ تا ۱/۸ بود. تمام مراحل کار زیر هودی

## 1. Invitrogen

که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل ۷۵ درصد و نور UV) انجام می‌شد، غیر از مراحل که نیاز بود میکروتیوب‌های حاوی مواد سانتریفیوز و یا ورتکس شوند. در طی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می‌شد و به محض نیاز به تعویض دستکش‌ها تعویض می‌شدند. کیت‌ها دقیقاً قبل از استفاده از یخچال ۲۰- خارج می‌شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها طبق زمان‌بندی‌های گروه، کالیبره شده بودند.

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ترموسایننتیفیک<sup>۱</sup> با Cat # K1621 استفاده شد و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت eppendorff بود.

قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک Real Time PCR نیاز بود که میزان کارایی<sup>۲</sup> ژن رفرنس<sup>۳</sup> (gapdh) و ژن هدف (Hand2) بررسی شود. این کار صورت گرفت و میزان کارایی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی یک بود. در ادامه ارزیابی بیان ژن، از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم<sup>۴</sup> استفاده شد. سایر گرین مسترمیکس<sup>۵</sup> استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارایی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ لاندایی ترکیبی از master mix (پنج لاند) پرایمر (یک لاند)، cDNA (یک لاند) و آب مقطر (سه لاند) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run (۴۰ سیکلی) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (gapdh)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و Hand2 همزمان (در یک Run واحد) ارزیابی شد. نمونه‌ها به صورت دوتایی ارزیابی شدند. بعد از به دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه، میانگین آن‌ها محاسبه شد. لازم به ذکر است در مواردی که نیاز بود تست مجدداً تکرار می‌شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم افزار اکسل طبق فرمول  $2^{-\Delta\Delta ct}$  میزان بیان ژن Hand2 محاسبه شد (۱۹). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول یک آمده است. ژن رفرنس<sup>۶</sup> Housekeeping<sup>۷</sup> در این پژوهش ژن gapdh<sup>۸</sup> است.

- 
1. Scientific Thermo
  2. Efficiency
  3. Housekeeping
  4. Applied Biosystem
  5. SYBR green master mix
  6. Duplicate
  7. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase
  8. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase

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		
Hand2	F	CCAGCTACATCGCCTACCTC	NM_022696.1	163
	R	TTCTTGTCGTTGCTGCTCAC		

داده‌های به‌دست‌آمده از دستگاه Real Time PCR که به‌صورت  $CT$  (میانگین  $CT$  برای هر نمونه) بودند (۲۰-۲۲). با استفاده از نرم افزار اکسل به  $\Delta\Delta Ct$  تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  اعداد نهایی به‌دست‌آمد (۲۳). با انتقال این اعداد به نرم افزار اس.پی.اس.اس، ابتدا طبیعی بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک ارزیابی شد و مشخص شد که داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند. بعد از تعیین طبیعی بودن، برای تعیین اختلاف میانگین‌ها از آزمون تی تک نمونه‌ای<sup>۳</sup> استفاده شد.

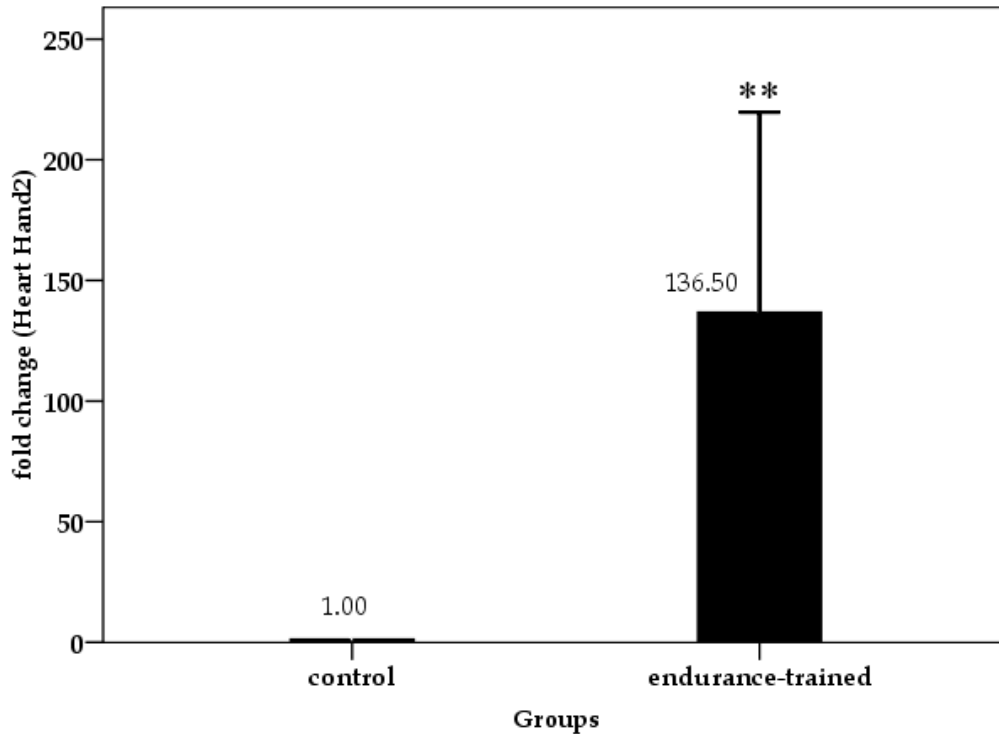
## نتایج

در جدول دو شاخص‌هایی ذکر شده‌است که میزان هایپرتروفی بطن چپ در اثر فعالیت استقامتی را نشان می‌دهد و همچنین نتایج آزمون تی ( $t=3/98$ ) نشان داد که میانگین بیان ژن Hand2 قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر ۱۴ هفته فعالیت استقامتی ۱۳۶/۵ برابر افزایش می‌یابد و این افزایش در سطح  $P=0.007$  معنادار بود. (شکل یک)

جدول ۲- توصیف شاخص ارزیابی‌کننده هایپرتروفی بطن چپ (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

گروه	وزن بدن (گرم)	وزن قلب (گرم)	وزن بطن چپ (گرم)	نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن
کنترل (n=7)	۱۶±۳۶۱/۸	۱/۰±۱۵/۰۹۶	۰/۰±۷۳۶/۰۴۵	۲/۰±۰۴۹/۱۲۷
تجربی (n=7)	۳۳±۳۳۱/۴	۱/۰±۲۴/۰۶	۰/۰±۷۵۹/۰۴۹	۲/۰±۳/۱۸۳

1. Cycle threshold
2. Shapiro-Wilk test
3. One Sample T test



شکل ۱- تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی بر بیان ژن Hand2 عضله قلب در گروه کنترل و تجربی

\*\*= تفاوت میانگین گروه‌ها (تجربی و کنترل) در سطح  $P \leq 0.01$

### بحث و نتیجه گیری

این پژوهش اولین پژوهشی بود که در پاسخ به فعالیت استقامتی تغییرات ژن Hand2 بطن چپ را اندازه‌گیری کرد. نتیجه این پژوهش نشان داد میزان بیان ژن Hand2 در اثر فعالیت‌های استقامتی به میزان معناداری افزایش می‌یابد که این موضوع با هایپرتروفی بطن چپ همراه بود. به نظر می‌رسد میزان بیان این ژن در انواع هایپرتروفی قلب تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به این صورت که در هایپرتروفی پاتولوژیک میزان آن در بطن چپ ابتدا به مقدار کمی افزایش می‌یابد و با گذشت چند روز (بعد از پنج روز) میزان آن به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (۱۵). ژن Hand2 در تکامل عروق قلبی نقش حیاتی را به‌عهده دارد به‌طوری‌که نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند در حیوانات جهش یافته (حذف ژن Hand2) عروق شکل نمی‌گیرند (۲۴). علاوه بر دوره رشد ژن‌های Hand1 و Hand2 در قلب بالغ موش‌ها، مانند نمونه‌های انسانی بیان می‌شود (۱۵). احتمال دارد مسیرهای سیگنالینگ درگیر با

افزایش بیان ژن Hand2 بسترهای لازم را برای رشد هماهنگ و تغییرات ساختاری (هایپرتروفی) متناسب در قلب فراهم کنند و به توسعه بسترهای مویرگی کمک می‌کند. کاهش بیان ژن Hand2 در "اضافه بار فشاری" بیشتر است، که با افزایش بیان ژن ANP (یکی از مارکرهای نارسایی قلبی) همراه است (۱۵). به این معنی که در هایپرتروفی نوع پاتولوژیک کاهش بیان ژن Hand2 بیشتر است. در این پژوهش مشاهده شد که در اثر فعالیت‌های استقامتی، هایپرتروفی قلب نیز رخ می‌دهد به طوری که هم نتایج m-mode و هم نتایج وزنی قلب و بطن چپ، هایپرتروفی و افزایش ابعاد داخلی بطن چپ را تأیید کردند (۲۵) موضوع مشخص این است که میزان بیان این ژن در اثر فعالیت‌های استقامتی (القاء کننده هایپرتروفی نوع فیزیولوژیک) افزایش می‌یابد که خلاف چیزی است که در هایپرتروفی پاتولوژیک رخ می‌دهد.

پژوهش‌ها نشان دادند که ژن‌های Hand (نوع یک و دو) در توسعه حفره‌های قلب نقش اساسی را به عهده دارند (۱۴) همچنین فعالیت استقامتی، موجب افزایش اندازه بطن‌ها می‌شود (۲۶) و نوع خاصی از هایپرتروفی، با نام هایپرتروفی استنتریک را القاء می‌کند (۲۷)؛ که با هایپرتروفی که در اثر عوامل پاتولوژیک رخ می‌دهد (تغییری در اندازه داخلی حفره‌های بطنی رخ نمی‌دهد) متفاوت است (۲۸). در این پژوهش مشاهده شد که حفره داخلی بطن چپ به طور معناداری در اثر فعالیت‌های استقامتی نیز افزایش می‌یابد (۲۵). اگر یافته‌های ژنی (این مطالعه) و ساختاری سایر مطالعات در انواع هایپرتروفی را با هم مورد توجه قرار دهیم، می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت‌های استقامتی موجب افزایش جریان خون به سمت قلب می‌شود که موجب پرشدگی حفره‌های قلبی از خون می‌شود، ضمن این که احتباس آب توسط هورمون‌ها در اثر فعالیت‌های استقامتی، میزان حجم خون را افزایش می‌دهد (۲۹). بنابراین مجموعه‌ای از این عوامل در بلندمدت موجب افزایش حجم داخلی بطن‌ها به ویژه بطن چپ می‌شود. از طرف دیگر فعال شدن روند بیان ژن‌ها از جمله ژن Hand2 (در شکل‌گیری حفره‌های قلبی نقش دارد) که پاسخ طبیعی قلب به فعالیت‌های استقامتی است، زمینه را برای هماهنگی بین عوامل ساختاری و عملکردی فراهم می‌آورد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ژن Hand2 تحت تأثیر میکروآران‌ای (microRNAs) - سرکوب‌کننده بیان ژن - از جمله microRNA-1 قرار می‌گیرد (۱۳) که نهایتاً بر بیان و میزان پروتئین آن اثر می‌گذارد و ممکن است بین بیان ژن و پروتئین آن که در حقیقت عملکرد اصلی این ژن را به عهده دارد تفاوت وجود داشته باشد. در این پژوهش میزان بیان پروتئین Hand2 اندازه‌گیری نشد، بنابراین افزایش بیان مشاهده‌شده در میزان ژن، لزوماً منجر به افزایش پروتئین نمی‌شود. پژوهش‌ها در مورد ژن Hand2 انگشت شمار است به خصوص با رویکرد

---

## 1. Atrial Natriuretic Peptide



فعالیت‌های ورزشی (این تنها پژوهش در این زمینه است). بنابراین برای کشف زوایای این ژن و تأثیرگذاری و تأثیرپذیری آن از فعالیت‌های متفاوت ورزشی در بافت قلب به پژوهش‌های گسترده‌ای نیاز است.

به‌طور خلاصه نتیجه این پژوهش نشان داد فعالیت استقامتی به مدت ۱۴ هفته موجب افزایش بیان Hand2 در بافت بطن چپ می‌شود که با هایپرتروفی نوع فیزیولوژیک همراه بود. احتمال دارد ژن Hand2 در نوع هایپرتروفی ایجادشده تأثیرگذار باشد.

## تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دفتر حمایت از طرح‌های پژوهشی ریاست جمهوری انجام شد.

## منابع

- 1) Wisloff U, Helgerud J, Kemi OJ, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO (2 max) and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 280 (3): 1301-10.
- 2) 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.
- 3) Rohini A, Agrawal N, Koyani CN, Singh R. Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy. *Pharmacological Research*. 2010; 61 (4):269-80.
- 4) Luedde M, Katus HA, Frey N. Novel molecular targets in the treatment of cardiac hypertrophy. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*. 2006; 1 (1):1-20.
- 5) McMullen. J R, Jennings. J L. Differences between pathological and physiological cardiac hypertrophy: novel therapeutic strategies to treat heart failure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2007; 34:255-62.
- 6) Srivastava D, Cserjesi P, Olson EN. A subclass of bHLH proteins required for cardiac morphogenesis. *Science*. 1995; 270 (5244):1995-9.
- 7) Dai YS, Cserjesi P. The basic helix-loop-helix factor, HAND2, functions as a transcriptional activator by binding to E-boxes as a heterodimer. *J Biol Chem*. 2002; 277 (15):12604-12.
- 8) Massari ME, Murre C. Helix-loop-helix proteins: regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Mol Cell Biol*. 2000; 20 (2):429-40.
- 9) Firulli BA, Hadzic DB, McDaid JR, Firulli AB. The basic helix-loop-helix transcription factors dHAND and eHAND exhibit dimerization characteristics that suggest complex regulation of function. *J Biol Chem*. 2000; 275 (43):33567-73.
- 10) Togi K, Yoshida Y, Matsumae H, Nakashima Y, Kita T, Tanaka M. Essential role of Hand2 in interventricular septum formation and trabeculation during cardiac development. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 343 (1):144-51.

- 11) Akazawa H, Komuro I. Roles of cardiac transcription factors in cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2003; 92 (10):1079-88.
- 12) Srivastava D. HAND proteins: molecular mediators of cardiac development and congenital heart disease. *Trends Cardiovasc Med.* 1999; 9 (1-2):11-8.
- 13) Zhao Y, Srivastava D, Samal E. Serum response factor regulates a muscle-specific microRNA that targets Hand2 during cardiogenesis. *Nature.* 2005; 436 (7048):214-20.
- 14) McFadden DG, Barbosa AC, Richardson JA, Schneider MD, Srivastava D, Olson EN. The Hand1 and Hand2 transcription factors regulate expansion of the embryonic cardiac ventricles in a gene dosage-dependent manner. *Development.* 2005; 132 (1): 189-201.
- 15) Thattaliyath BD, Livi CB, Steinhilber ME, Toney GM, Firulli AB. HAND1 and HAND2 are expressed in the adult-rodent heart and are modulated during cardiac hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 297 (4):870-5.
- 16) Natarajan A, Yamagishi H, Ahmad F, Li D, Roberts R, Matsuoka R, et al. Human eHAND, but not dHAND, is down-regulated in cardiomyopathies. *J Mol Cell Cardiol.* 2001; 33 (9):1607-14.
- 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):H2994-3002.
- 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) Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ ct Method. *Methods.* 2001; 25 (4):402-8.
- 20) Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart CN, Jr. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics.* 2006; 7:85-97.
- 21) Wong ML, Medrano JF. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques.* 2005; 39 (1):75-85.
- 22) Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols.* 2008; 3 (6):1101-8.
- 23) Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001; 29 (9):45.
- 24) Yamagishi H, Olson EN, Srivastava D. The basic helix-loop-helix transcription factor, dHAND, is required for vascular development. *J Clin Invest.* 2000; 105 (3): 261-70.
- 25) Fathi M, Gharakanlou R, Abroun S, Mokhtari-Dizaji M, Rezaei R. Considerations in the evaluation of cardiac changes following endurance training in male Wistar rats. *yafteh.* 2013; 15:112-23 (in Persian).
- 26) Morganroth J, Maron BJ, Henry WL, Epstein SE. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med.* 1975; 82 (4):521-4.
- 27) Venckunas T, Lionikas A, Marcinkeviciene JE, Raugaliene R, Alekrinskis A, Stasiulis A. Echocardiographic parameters in athletes of different sports. *Journal of sports science & medicine.* 2008; 7 (1):151-6.

- 28) Muhl C, Dassen WR, Kuipers H. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. *Neth Heart J.* 2008; 16 (4):129-33.
- 29) Bankir L. Antidiuretic action of vasopressin: quantitative aspects and interaction between V1a and V2 receptor-mediated effects. *Cardiovasc Res.* 2001; 51 (3):372-90.

ارجاع دهی به روش ونکوور

فتحی محمد، قراخانلو رضا. تأثیر فعالیت استقامتی بر بیان ژن **Hand2** بطن چپ رت‌های نر نژاد ویستار. فیزیولوژی ورزشی. بهار ۱۳۹۴؛ ۷(۲۵): ۵۷-۶۸.

## The effect of endurance Activity on left ventricle Hand2 gene expression in wistar male rat

M. Fathi<sup>1</sup>, R. Gharakhanlou<sup>2</sup>

1. Assistant Professor at Lorestan University
2. Associate Professor at Tarbiat Modares University \*

Received date: 2014/01/20

Accepted date: 2014/08/09

---

### Abstract

Endurance activity causes changes in the expression of some genes and induces hypertrophy in heart, Meanwhile Hand2 gene is changed in response to pathological hypertrophy of the heart, so the aim of this study was to investigate the effect of endurance activity on Hand2 gene expression in left ventricle. For this purpose, 14 rats (male wistar, 113±20g, age five weeks) under controlled conditions (temperature, light/dark (12:12) cycle, with ad Libitum access to food and water) were housed and randomly divided into control and Experimental groups, the experimental group performed 14 -weeks endurance training on motorized treadmill, and then were anesthetized and sacrificed 48 hours after the end of the last session. The left ventricle of the heart was removed. Real time RT-PCR method was used to determine the expression levels of Hand2 in the left ventricle. the obtained data were evaluated using t-test. The results showed, the mean of left ventricle Hand2 gene expression increased in experimental group significantly (P=0.007) than control group. It seems, Hand2 gene influence on created the type of hypertrophy.

**Keyword:** Hand2 gene, Endurance training, Left ventricle

---

---

\* Corresponding author

E-mail: : ghara\_r@modares.ac.ir