

تأثیر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله گر سدیم هیدروژن ۱ (NHE1) و هم انتقال دهنده سدیم بی کربنات ۱ (NBC1) در عضله قلبی رت

امیرعباس منظمی^{۱*}، حمید رجبی^۲، وحید شهبازی ندر^۳

۱- استادیار دانشگاه رازی کرمانشاه

۲- دانشیار دانشگاه خوارزمی

۳- کارشناس ارشد دانشگاه پیام نور

* نشانی نویسنده مسئول: کرمانشاه، باغ ابریشم، دانشگاه رازی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی

Email: monazzami.amirabbas@gmail.com

پذیرش: ۹۳/۱۲/۱۱

اصلاح: ۹۳/۱۰/۲۱

وصول: ۹۳/۰۹/۱۳

چکیده

مقدمه و هدف: تمرین با شدت بالا موجب افزایش بیان ژن‌های MCTs و NHEs و NBCs می‌شود اما اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های NHEs و NBCs مشخص نیست. بنابراین هدف از تحقیق حاضر تعیین اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن‌های مبادله گر سدیم هیدروژن ۱ (NHE1) و هم انتقال دهنده سدیم بی کربنات ۱ (NBC1) در عضله قلبی رت بود.

روش‌شناسی: بدین منظور تعداد ۲۰ رت نژاد ویستار نر در سن چهار هفتگی با میانگین وزن 93.7 ± 9.8 گرم انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه کنترل (۱۰ سر رت) و تمرینی (۱۰ سر رت) تقسیم شدند. تمرین استقامتی (دویدن روی نوار گردان جوندگان، شروع با ۲۰ متر بر دقیقه تدریجاً به ۳۰ متر بر دقیقه در هفته آخر) به مدت هفت هفته، بر گروه تمرینی اعمال شد. میزان بیان ژن mRNA (NHE1 و NBC1) از طریق تکنیک Real time-PCR انجام گرفت. از آزمون آماری t مستقل و از نرم افزار REST (permutation test) جهت تعیین معنی دار بودن تفاوت متغیرها استفاده گردید.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق نشان داد بیان ژن NHE1 mRNA عضله قلبی در گروه تمرین کرده ۸۰ درصد نسبت به گروه کنترل افزایش داشت و این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$). همچنین میزان بیان ژن NBC1 mRNA گروه تمرینی نسبت به گروه کنترل ۵۰ درصد افزایش داشت اما این افزایش معنی دار نبود ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن mRNA (NHE1 و NBC1) در گروه تمرینی می‌شود و این الگوی افزایش بیان ژن مختص ترانسپورتهایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم‌تری را در تنظیم و نگهداری pH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند.

واژه‌های کلیدی: تنظیم pH درون سلولی، بیان ژن، مبادله گر سدیم هیدروژن، هم انتقال دهنده سدیم بی کربنات، تمرین استقامتی.

نشان داده‌اند که تجمع یون هیدروژن و در پی آن اسیدوز طی فعالیت‌های ورزشی در کاهش عملکرد ورزشی از طریق تغییر در ساختار پروتئین‌ها و کانال‌های یونی و اختلال در عملکرد آنها و همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و نهایتاً اختلال در سرعت سنتز ATP انجام می‌گیرد

مقدمه

کنترل و تنظیم pH سلول قلب جهت حفظ انقباض‌های مکرر عضلانی و جلوگیری از آسیب در حین تمرین و فعالیت بدنی از اهمیت خاصی برخوردار است (۱-۴). بسیاری از تحقیقات

عملکردی عضله قلب، نشان داده شده است که مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 نقش بسیار مهمی را در تنظیم pH_i در شرایط اسیدوز ناشی از فعالیت بدنی ایفا می کنند و فعالیت و عملکرد آنها از دلایل توجیهی جهت پاسخ های تطابقی قلب به این شرایط است (۱۴،۱۳).

مطالعه تغییرات NHE1 و NBC1 در عضله قلبی فقط به تعدادی تحقیق در زمینه فعالیت و بیان پروتئین محدود می شود و در زمینه بیان ژن این انتقال دهنده ها در شرایط تمرین و فعالیت بدنی تحقیقات محدودی صورت گرفته است. در تحقیقی که توسط گان و همکاران (۱۹۹۹) بر روی عضله قلب رت ها انجام گرفت نشان داده شد که ایسکمی عضله قلب موجب افزایش بیان ژن mRNA (NHE1) می گردد (۱۳). علاوه بر این سندمن و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیق دیگر گزارش کردند که در اثر انسداد عروق کرونری قلب بیان ژن و پروتئین هر دو مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 افزایش پیدا می کند (۳۰). جانددلیت و همکاران (۲۰۰۰) در تحقیقی دیگر نشان دادند که بیان ژن mRNA (NHE1) نیز در عضلات عروق رت های دیابتی افزایش می یابد (۱۵).

نیکویی و همکاران (۱۳۸۹)، در یک مطالعه اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 در عضلات اسکلتی رت های دیابتی و سالم را مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد که تمرین استقامتی بیان ژن و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 را در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است (۴). همچنین در تحقیق دیگر که توسط بیکر و همکاران (۱۹۹۸) بر روی رت ها انجام گرفت نشان داده شد که تمرینات با شدت پایین موجب افزایش بیان mRNA (MCT1) در قلب و تمرینات با شدت بالا فقط در عضلات اسکلتی اکسیداتیو موجب افزایش mRNA (MCT1) می شوند (۵). منظمی و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیق دیگر نشان دادند که تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن NHE1 mRNA و NBC1 در عضله قلب دیابتی رت ها می گردد (۳). در تحقیق دیگر راسموسن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می شود. آنها همچنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی دار بیان mRNA (NHE1) در عضلات اسکلتی کند

(۷-۵). در عضله قلب تجمع یون هیدروژن و در پی آن اسیدوز با تاثیر بالقوه بر هر مرحله از فرایند زوج تحریک - انقباض و هوموستاز کلسیم موجب اختلال در انقباض میوسیت می گردد (۷). هر چند مکانیسم هایی که از طریق آن اسیدوز موجب اختلال در عملکرد انقباضی میوسیت می گردد به خوبی مشخص نشده اما نشان داده شده است که اسیدوز علاوه بر اثر بر روی فرایند زوج تحریک - انقباض، همچنین از طریق مهار کانال های کلسیمی، کاهش ذخیره کلسیم شبکه سارکوپلاسمی و تغییر جایگاه کلسیم در سیتوپلاسم موجب اختلال در عملکرد کلسیم می گردد (۱۲-۹). در نتیجه برای سلول قلبی حیاتی است که کاهش pH_i را در سیتوزول از طریق جلوگیری از تجمع پروتون در حین تمرین و فعالیت بدنی به تاخیر بیندازد (۱۴،۱۳).

به هر حال در حین فعالیت بدنی مکانیسم هایی جهت هوموستاز pH_i فعال می شوند که از مهمترین آنها می توان به فعالیت سیستم تامپونی و فعالیت انتقال دهنده های غشایی اشاره کرد. تغییر سریع در غلظت سیتوپلاسمی یون هیدروژن به وسیله مکانیسم های تامپونی که از بی کربنات، فسفات و پروتئین استفاده می کنند خنثی می شود اما به دلیل ظرفیت محدود این مکانیسم ها سلول به وسیله مکانیسم های انتقالی ویژه pH_i را حفظ می کند (۱۵). مهمترین انتقال دهنده های غشایی در تنظیم pH_i در حالت استراحت و فعالیت عضلانی مبادله گر سدیم - هیدروژن، هم انتقال دهنده سدیم - بی کربنات و هم انتقال دهنده لاکتات - پروتون می باشند. در این مجموعه MCT ها یا انتقال دهنده های لاکتات و پروتون به عنوان تنظیم کننده های وابسته به لاکتات و NBC ها (انتقال دهنده سدیم و بی کربنات که دارای چهار ایزوفرم وابسته به بافت هستند و NHE ها (مبادله گر سدیم و هیدروژن که دارای ۱۰ ایزوفرم وابسته به بافت هستند) هر دو به عنوان تنظیم کننده های غیر وابسته به لاکتات شناسایی شده اند (۱۴،۱۳). در حالت استراحت و فعالیت با شدت پایین بخش عمده ای از خنثی سازی پروتون با مبادله گر سدیم - هیدروژن و هم انتقال دهنده سدیم - بی کربنات تعدیل می شود اما در شرایط فعالیت با شدت بالا هم انتقال دهنده های لاکتات - پروتون که با شیب لاکتات بالا تحریک می شوند بخش عمده تعدیل pH_i را به عهده می گیرند (۱۴،۱۳). با توجه به ویژگی های ساختاری و

می‌گردد اما این افزایش در سطح پروتئین NHE1 در عضلات اسکلتی معنی دار نبود (۲۹). در مجموع به نظر می‌رسد این گونه تحقیقات بیشتر انتقال دهنده‌هایی را که در شرایط تمرینات پیشینه فعال می‌شوند مورد توجه قرار داده‌اند و همچنین تحقیقات محدودی در زمینه اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن این انتقال دهنده‌ها در عضله قلب وجود دارد.

در نتیجه با توجه به تحقیقات محدود در زمینه اثر تمرین استقامتی بر بیان ژن این انتقال دهنده‌ها در عضله قلبی، در این تحقیق به بررسی این که آیا تمرین استقامتی بیان ژن این انتقال دهنده‌ها را تغییر می‌دهد و همچنین پاسخ تمرین به بیان ژن این انتقال دهنده‌ها چگونه است؟، پرداخته می‌شود تا از این طریق برخی از مکانیسم‌های مسئول تنظیم pH_i در عضله قلب معین گردد.

روش‌شناسی

تعداد ۲۰ رت نر نژاد ویستار در سن چهار هفتگی با میانگین وزنی $93/7 \pm 9/8$ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و تحت چرخه ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی در محیط آزمایشگاهی با درجه حرارت 22 ± 4 و رطوبت (۴۹ تا ۵۱ درصد) به صورت ۱۰ تایی در قفس‌های مخصوص جوندگان نگهداری شدند. وزن بدن به طور روزانه ثبت و رت‌ها با غذای مخصوص رت (ساخت شرکت‌های کانی دام و سرم سازی رازی) و آب تغذیه شدند. بعد از گذشت دو هفته (سازگاری با محیط آزمایشگاه)، رت‌ها با میانگین وزن $183/47 \pm 11/4$ گرم به طور تصادفی ضمن همسان‌سازی بر اساس وزن به دو گروه کنترل ($n=10$) و تمرینی ($n=10$) تقسیم شدند. لازم به یادآوری است که تعدادی از نمونه‌های حیوانی در جریان پروتکل تحقیق از جمله بیهوشی و نمونه‌گیری خون (چهار سر رت) و استخراج نمونه (چهار سر رت) از تحقیق خارج شدند و به همین خاطر تعداد نمونه‌های تحقیق (N) در مراحل اندازه‌گیری متفاوت در نظر گرفته شد (۱۹،۳۳).

پروتکل تمرینی

تمرین استقامتی به مدت هفت هفته بر روی تردمیل مجهز به سیستم تحریک الکتریکی، هر روز (سرعت 20 m/min و زمان 20 min در هفته اول و به تدریج به سرعت 30 m/min و زمان 35 min در هفته آخر می‌رسید) بر گروه تمرینی اعمال شد که

خلاصه آن در جدول یک گزارش شده است. ضمن این که شدت به گونه‌ای انتخاب گردید که سطوح لاکتات را در حین تمرین دستخوش تغییر قابل ملاحظه نماید ($70-60$ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$). بروکس و همکاران نشان دادند که این شدت تمرینی موجب افزایش قابل توجه سطوح لاکتات می‌شود (۶). تمامی این اطلاعات با انجام مطالعات پایلوت روی چهار رت بدست آمد. میزان لاکتات در شدت تمرینی 30 متر بر دقیقه (60 تا 70 درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$) برابر با چهار میلی مولار بود. دو هفته آخر نیز تمامی متغیرهای تمرینی ثابت نگه داشته شدند تا سازگاری‌های انجام شده در زمان تشریح به حالت یکنواخت خود برسند (۱۹،۳۳).

استخراج نمونه

۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرینی رت‌ها بوسیله تریق درون صفاقی کتامین (90 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش و عضله قلب بلافاصله استخراج و در نیتروژن -80 منجمد و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد (۱۹).

Real time -PCR

حدود 50 میلی‌گرم عضله قلبی رت با روش هاون کوبی پودر گردید و جهت استخراج RNA تام به نسبت یک به 10 در بافر لیز Biso1 RNA-Lysis reagent به مدت 15 دقیقه هموژن - گردید. به منظور برداشتن اجزای پروتئینی محصول حاصل در 4°C ، ده دقیقه، 12000 g سانتریفیوژ شد. مایع رویی برداشته و با نسبت یک به 2 Biso1 اولیه با کلروفورم مخلوط و به مدت هر 15 ثانیه یک‌بار به آرامی تکان داده شد و سپس محصول را به مدت 15 دقیقه روی یخ قرار گرفت. محصول در 4°C ، 15 دقیقه، 12000 g سانتریفیوژ و بخش معدنی و آلی از هم جدا شدند، بخش محتوی RNA برداشته و هم حجم مایع رویی به آن ایزوپروپانل اضافه نموده و به مدت بیش از 20 دقیقه در یخچال -20 قرار داده تا RNA جدا سازی شود. در مرحله بعد محصول را به مدت 10 دقیقه، 4°C ، 12000 g سانتریفیوژ نموده تا RNA رسوب کند. رسوب حاوی RNA در اتانول 75 درصد شستشو و در $20 \mu\text{l}$ آب فاقد RNase-Free حل گردید. غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ سنجیده و نسبت 260 به 280 بین $1/8$ تا 2 به عنوان تخلیص مطلوب تعریف گردید. cDNA با استفاده از یک میکروگرم از

یافته‌ها

بیان ژن NHE1 و NBC1

کل تغییرات بیان ژن mRNA (NBC1 و NHE1) در گروه تحقیق مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل از طریق محاسبه ارزش RQ استاندارد شدند. نتایج تحقیق نشان داد که بیان ژن mRNA (NHE1) در گروه تمرینی ۸۰ درصد افزایش داشت که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود (شکل ۱) ($P < 0.05$). از طرف دیگر افزایش بیان NBC1 در گروه تمرینی به میزان ۵۰ درصد نسبت به گروه کنترل، موجب تغییر معنی‌دار در بین گروه‌ها نشد (شکل ۲) ($P < 0.05$).

RNA و با استفاده از Reverse primers و آنزیم نسخه‌برداری معکوس انجام گرفت (جدول دو). Real-Time PCR با استفاده غلظت ۱۰۰ نانو گرم از cDNA انجام گرفت (جدول سه). برنامه مورد استفاده در Real time شامل 94° به مدت ۵ دقیقه - 94° به مدت ۴۵ (باز شدن ۴۵ ثانیه)، 60° به مدت ۴۵ ثانیه (جفت شدن) و 72° به مدت ۴۵ ثانیه (تکثیر) (تکرار ۴۰ سیکل) بود. میزان بیان ژن‌های مورد نظر با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ اندازه‌گیری شد (۲۹،۳۰).

تجزیه و تحلیل آماری

بعد از این که نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K-S تأیید شد، جهت تعیین معنی‌دار بودن تفاوت متغیرها بین گروه‌های تحقیق از آزمون آماری t مستقل و با استفاده از نرم‌افزار REST (permutation test) استفاده گردید. مقدار α در تمامی مراحل برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. مشخصات پروتکل تمرینی

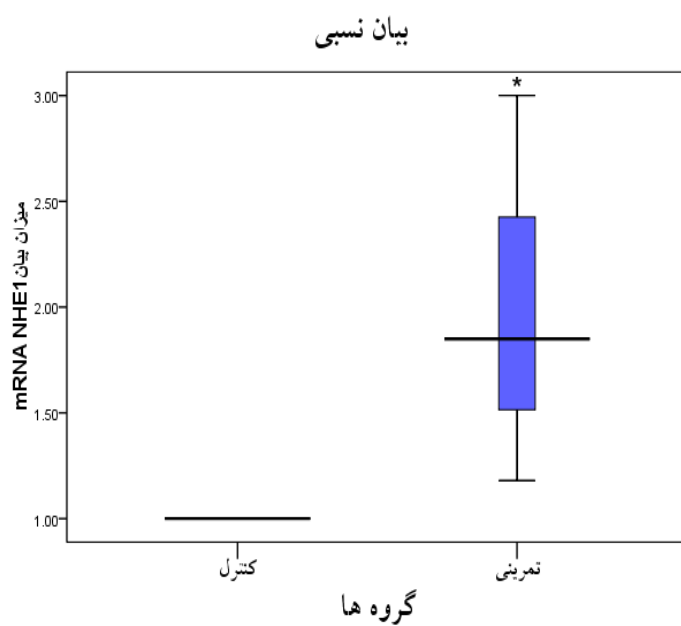
زمان	آشناسازی ۵ روز	هفته ۱	هفته ۲	هفته ۳	هفته ۴	هفته ۵	هفته ۶	هفته ۷
سرعت [m/min]	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۰
مدت [min]	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵	۳۰	۳۰	۳۵	۳۵

جدول ۲. توالی پرایمرهای مورد استفاده در تحقیق

ژن	Forward primer	Reverse primer	Gene bank
NHE1	CACATCAATGAGCTGCTGC	GCTGGCAAACCTCCTCAAAG	Slc9a1
NBC1	ACTCCCTTCATTGCCTTTG	CATGGTAGGACTTGGCTTTC	Slc4a4
18S	GTC GGC ATC GTT TAT GGT CG	GTTGGTTTTTCGGAAGCTGAGGC	18s

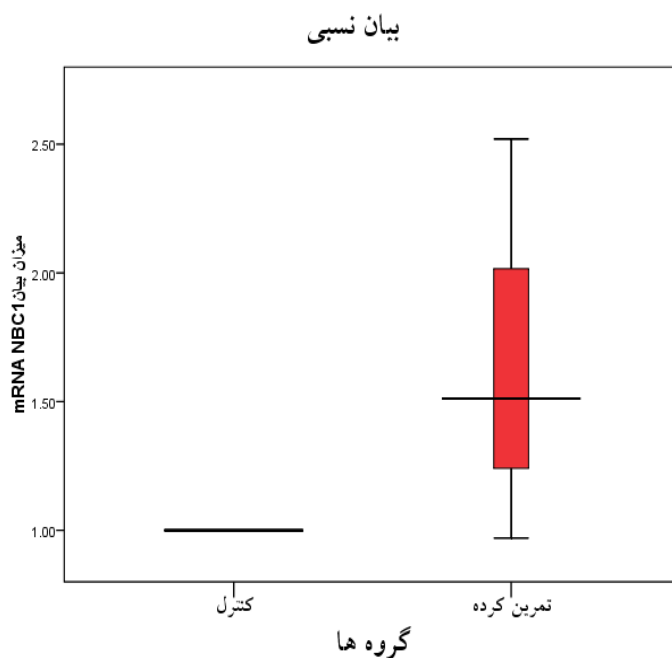
جدول ۳. اجزای PCR جهت تکثیر ژن

Product	Syber mix (μl)	Primers (μl)	Taq-polymerase (μl)	cDNA (μl)	ddH2O (μl)
NHE1	12.5	0.5	0.15	2	9
NBC1	12.5	0.5	0.15	2	9
18S	12.5	0.5	0.15	2	9



شکل ۱. میزان بیان ژن NHE1 در عضله قلبی گروه های تحقیق

**اختلاف معنی دار ($P < 0.05$)، کنترل (n=6)، تمرینی (n=6).



شکل ۲. میزان بیان ژن NBC1 در عضله قلبی گروه های تحقیق

($P < 0.05$)، کنترل سالم (n=6)، تمرینی (n=6)

بحث و نتیجه گیری

کنترل و تنظیم pH_i سلول قلب جهت حفظ انقباض های مکرر عضلانی و جلوگیری از آسیب درحین تمرین و فعالیت بدنی از اهمیت خاصی برخوردار است. در مطالعه حاضر مدل تمرین استقامتی به عنوان شرایط ایجاد کننده اسیدوز مورد استفاده قرار گرفت تا بیان ژن های mRNA (NHE1 و NBC1) را مورد ارزیابی قرار دهد. تحقیق حاضر اولین تحقیقی است که اثرات بلند مدت تمرین استقامتی را بر بیان ژن های mRNA (NHE1 و NBC1) در عضله قلب رت، مورد بررسی قرار می دهد. مهمترین یافته های تحقیق این است که تمرین استقامتی می تواند بیان ژن های mRNA (NHE1 و NBC1) را در شرایط تمرین نسبت به شرایط کنترل افزایش دهد و این الگوی افزایش بیان مختص ترانسپورتهایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم تری را در تنظیم و نگهداری PH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند. مطالعه تغییرات NHE1 و NBC1 در عضله قلب فقط به تعدادی تحقیق در زمینه فعالیت و بیان پروتئین محدود می شود و در زمینه بیان ژن این انتقال دهنده ها در شرایط اسیدوز و اثر تمرین بر روی آن تحقیقات محدودی صورت گرفته است. افزایش بیان ژن های mRNA (NHE1 و NBC1) در گروه تمرینی دلالت بر این دارد که بیان ژن این انتقال دهنده ها نیز تحت تاثیر تغییرات متابولیکی قرار می گیرند. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که پاسخ انتقال دهنده های غشایی به شرایط اسیدوز ناشی از تمرین متفاوت می باشد و اطلاعات در این زمینه ضد و نقیض و وابسته به سطح فعالیت، محتوی پروتئین و بیان ژن می باشد. در تحقیق حاضر افزایش قابل توجه در بیان ژن های mRNA (NHE1 و NBC1) در عضلات قلب گروه تمرینی دیده شد.

افزایش بیان ژن مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 در گروه تمرینی در تحقیق حاضر حاکی از اثرات تطابقی تمرین استقامتی بر متغیرهای درگیر در تنظیم PH درون سلولی در شرایط اسیدوز است. اغلب تصور بر این است که افزایش بیان ژن منجر به افزایش پروتئین می گردد اما فاکتورهای متعدد دیگری مانند تجزیه پروتئین، تغییرات پس ترجمه ای و ثبات RNA می توانند بر ارتباط بین ژن و پروتئین تاثیر بگذارند. البته ما در این تحقیق فقط تغییرات ژن را بررسی کرده ایم و اینکه

بتوان نتیجه گرفت که افزایش mRNA این انتقال دهنده ها منجر به کنترل اسیدوز ناشی از تمرین می شود، خارج از حیطه این تحقیق است و تحقیق در مورد ارتباط بین بیان ژن و پروتئین به محققین بعدی توصیه می گردد. در تایید این موضوع راسموسن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند یک جلسه تمرین سرعتی موجب افزایش معنی دار در بیان mRNA (NHE1) عضلات اسکلتی رت می شود. آنها همچنین گزارش کردند که سه هفته تمرین استقامتی موجب افزایش معنی داری در بیان (NHE1) mRNA در عضلات اسکلتی کند می گردد اما این افزایش در سطح پروتئین NHE1 در عضلات اسکلتی معنی دار نبود (۲۹). بیان mRNA (NHE1) در پاسخ به تمرین استقامتی (۸۰ درصد افزایش) بیشتر از بیان mRNA (NBC1) (۵۰ درصد افزایش) در عضله قلبی گروه تمرین کرده بود (شکل یک و دو). دلایل این افزایش را می توان به خصوصیات اکسیداتیوی عضله قلبی و نحوه توزیع و کتیک فعالیت این انتقال دهنده ها در بافت قلب از یک طرف و همچنین شدت و نوع تمرین (استقامتی) از طرف دیگر نسبت داد (۳۴). پریجنت و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که مشارکت مبادله گر و انتقال دهنده NHE1 و NBC1 در خارج ساختن پروتون H^+ از سلول قلب در $\text{pH}=6.90$ به ترتیب ۶۹ و ۳۱ درصد است (۲۳). همچنین بروکس و همکاران نشان دادند که دویدن بر روی نوار گردان با شدت ۶۰ تا ۷۰ درصد $\text{VO}_{2\text{max}}$ موجب تغییر قابل ملاحظه ای در سطوح لاکتات (4mmol/l) می گردد (۷). بدین منظور تمرین دویدن بر روی نوار گردان در تحقیق حاضر با این شدت انتخاب گردید (جدول یک). در نتیجه افزایش بیان mRNA (NHE1) نسبت به mRNA (NBC1) در عضله قلب با توجه به خصوصیات اکسیداتیوی این عضله و همچنین کتیک انتقال دهنده ها و از طرف دیگر شدت تمرین استقامتی به کار رفته در این تحقیق منطقی به نظر می رسد. این نتایج با نتایج تحقیق نیکویی و همکاران (۱۳۸۹) که نشان دادند تمرین استقامتی بیان ژن ها و محتوی پروتئینی MCT1 و MCT4 عضلات اسکلتی در گروه تمرینی دیابتی و سالم افزایش داده است همسو می باشد (۴).

مکانیسم هایی که از طریق آن تمرین استقامتی موجب افزایش بیان ژن مبادله گر و هم انتقال دهنده NHE1 و NBC1 می شود به خوبی مشخص نشده است اما اختلاف بین بیان ژن و پروتئین نشان دهنده تاثیر متغیرهای مداخله گر پس ترجمه ای

(۷). لاگادیک گوسمان و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که کاهش کلسیم درون سلولی ناشی از دیابت نوع دو موجب کاهش فعالیت مبادله گر NHE1 می شود (۲۱). علاوه بر این همچنین پریجنس و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که فعالیت NBC1 در شرایط دیابت نوع دو با شرایط کنترل سالم تفاوتی ندارد (۲۴). پروتئین کیناز C (PKC) دیگر فاکتور فعالیت ورزشی است که در تغییرات پروتئین های غشایی نقش دارد. پیشنهاد شده است که ترانسپورترهای NHE1 و NBC1 دارای جایگاه هایی هستند که توسط PKC فعال می شوند. در اثر فعالیت ورزشی و افزایش آزاد سازی کلسیم این کیناز نیز فعال می شود و می تواند نقش مهمی در فعال سازی و سنتز پروتئین های غشایی NHE1 و NBC1 ایفا کند (۱۸).

در مجموع نتایج تحقیق نشان داد که بیان ژن انتقال دهنده ها در گروه تمرینی افزایش قابل ملاحظه ای دارد و الگوی افزایش بیان ژن مختص انتقال دهنده هایی است که از لحاظ متابولیکی نقش مهم تری را در تنظیم و نگهداری PH درون سلولی در عضله قلب بر عهده دارند.

بر کنترل سنتز پروتئین می باشد. نتایج تحقیق راسموسن و همکاران، پریجنس و همکاران، دارملا و همکاران و دیگر محققین موید این موضوع می باشد (۱۱، ۲۹). از طرف دیگر تغییرات متابولیکی نیز می توانند به عنوان عوامل موثر پس-ترجمه ای در افزایش بیان این انتقال دهنده ها باشد. تمرین استقامتی موجب آزاد سازی کلسیم درون سلولی می گردد و کلسیم از طریق فعال کردن چندین مکانیسم به تغییرات در سطح mRNA و پروتئین ترانسپورترهای غشایی کمک می کند (۱۸). پیشنهاد شده است که ساختار ترانسپورتر NHE1 دارای دو جایگاه اختصاصی کالمودلین Ca^{2+} می باشد و پیوند کلسیم به این جایگاه ها موجب فعال شدن این ترانسپورتر می گردد و تمرین استقامتی می تواند از طریق افزایش کلسیم درون سلولی طی انقباض های مکرر به فعال شدن آن پاسخ دهد (۱۸).

در یک مطالعه برتراند و همکاران (۱۹۹۴) دو مسیر درون سلولی را برای کنترل فعالیت NHE1 از طریق کلسیم پیشنهاد دادند. مسیر اول از طریق پیوند مستقیم کلسیم/کالمودلین (Ca/CAM) به مبادله گر و مسیر دوم فسفوریلاسیون مبادله گر بوسیله کلسیم/کالمودلین وابسته به پروتئین کیناز دو می باشد

منابع

- Ghaeini A A, Khaledi N, Ravasi A A, Sahebghadamlotfi A, Hedayati M, Arabkordi M and et al. The Response of skeletal muscle sarcomeric proteins to 8 week progressive resistance training in Sprague-Dawley rats. *Olympic quarterly* 2012;56(4):125-135.
- Monazzami A, Rajabi H, Ghrakhanlou R. The effect of endurance training on skeletal muscle sodium bicarbonate cotransporter1(NBC1) and sodium proton exchanger1(NHE1) gene expression in rat. *Sport Physiology* 2014;22:55-68.
- Nikoei R, Rajabi H, ghrakhanlou R, Omidfar K, Monazzami A A, Atabi F and et al. Modulation of skeletal muscle monocarboxylate cotrans-porter 1 (MCT1) and 4 (MCT4) gene expression in type 2 diabetic rats following endurance training. *ijdl* 2012;10(3):241-250.
- Baker S, Karl JA, Mcculla GH, Bonen A. Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. *J Appl Physiol* 1998; 84:987-994.
- Bertrand B, Wakabayashi S, Ikeda T, Pouyssegur J, Shigekawa M. The NaH exchanger isoform _NHE 1 is a novel member of the calmodulin-binding proteins. Identification and characterization of calmodulin-binding sites. *J Biol Chem* 1994;269:13703-13709.
- Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rat responses of rats to treadmill exercise. *J Appl Physiol* 1978; 45: 1009-1015.
- Claire T, David B. Effect of High- Intensity Training on MCT1, MCT4 and NBC Expressions in Rat Skeletal Muscles: Influence of Chronic Metabolic Alkalosis. *Am J Physiol End Met* 2007;293:E916-E922.
- Charles TP, Norman L, George N, Heigenhauser JF. Effects of short-term training on plasma acid-base balance during incremental exercise in man. *Physiol* 2003; 55: 585-603.
- Danielle F. The regulation of intracellular pH in the diabetic myocardium. *Cardio Res* 1997; 34: 48-54.
- Darmellah D. Enhanced activity of myocardial na/h exchanger contribute to left ventricular hypertrophy in GOTO-KAKIZAKI rat model of type 2 diabetes: critical role of Akt. *diabetologia* 2007 ; 50:1335-1344.
- Fligel L. molecular biology of the myocardial Na/H exchanger . *J Mol and Cell Cardio* 2008;44 : 228-237.
- Gan XT, Chakrabarti S, Karmazyn M. Modulation of Na+/H+ exchange isoform 1 mRNA expression in isolated rat hearts. *Am J Physiol* 1999; 277:H993-8.
- Grinstein S, Goetz JD, Rosthstein A. Na/H fluxes in thymic lymphocytes. II. Amiloride sensitive Na/H exchange pathway: reversibility of transport and asymmetry of the modifier site. *J Gen Physiol* 1984;84:585-600.

14. Jandeleit-Dahm K, Hannan KM, Farrelly, CA, Allen, TJ, Rumble JR, Gilbert RE and et al. Diabetes-induced vascular hypertrophy is accompanied by activation of Na(+)-H(+) exchange and prevented by Na(+)-H(+) exchange inhibition. *Circ Res* 2000;87:1133-40.
15. Juel C. Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiol Scand* 1998; 162: 359-366.
16. Juel C. Regulation of PH in Human Skeletal Muscle : Adaptaion to Physical Activity. *Acta Physiol* 2008; 193:17-24.
17. Juel C. Training-induced changes in membrane transport proteins of human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2006 ;96: 627-635.
18. Juel C. Expression of The Na/H Exchanger Isoform NHE1 in Skeletal Muscle and Effect of Training . *Acta Physiol Scand* 2000;170:59-63.
19. Juel C, Mads KH, Dela F. Effect of Strenght Training on Muscle Lactate Release and MCT1 and MCT4 Content in Healthy and Type 2 Diabetic Humans. *J Physiol* 2004; 55:297-304.
20. Lagadic-Gossmann D, Buckler KJ, Le- Prigent K, Feuvray D. Altered Ca² handling in ventricular myocytes isolated from diabetic rats. *Am J Physiol* 1996;270:H1529-H1537.
21. Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Intracellular sodium activity in papillary muscle from diabetic rat hearts. *Exp Physiol* 1991;76:147-149.
22. Le - Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Modulation by extracellular pH and intracellular calcium of Na/H exchange in diabetic rat isolated ventricular myocytes. *Circ Res* 1997;80:253-260.
23. Le -Prigent K, Lagadic-Gossmann D, Feuvray D. Na-HCO₃ symport activity in diabetic ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:A67.
24. Norten A. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur soc of cardio* 2007; 14: 753-760.
25. Orchard CH, Kentish JC. Effects of changes in pH on the contractile function of cardiac muscle. *Am J Physiol* 1990;258:C967-C981.
26. Pierce GN, Ramjiawan B, Dhalla, NS, Ferrari, R. Na/H exchange in cardiac sarcolemmal vesicles isolated from diabetic rats. *Am J Physiol* 1990;258:H255-H261
27. Pierce GN, Slotin T, Fliegel L, Gilchrist JSC, Maddaford TG. Expression and activity of the sodium-hydrogen exchanger in cardiac sarcolemma in health and disease. In: Fliegel L, ed. *The Na/H Exchanger*. Springer-Verlag 1996;217-228.
28. Rasmussen M, Juel C, Nordsborg B. Exercise-induced regulation of muscular Na⁺-K⁺ pump, FX₂D1, and NHE1 mRNA and protein expression: importance of training status, intensity, and muscle type. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300:R1209-R1220.
29. Sandmann SYu, M, Kaschina E, Blume A, Bouzinova E, Aalkjaer C. Differential effects of angiotensin AT1 and AT2 receptors on the expression, translation and function of the Na⁺-H⁺ exchanger and Na⁺-HCO₃⁻ symporter in the rat heart after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:2154-65.
30. Sharma AK, Srinivasan BP. Triple versus glimepiride plus metformin therapy on cardiovascular risk biomarkers and diabetic cardiomyopathy in insulin resistance type 2 diabetes mellitus rats. *Euro J Pharm Scie* 2009; 38: 433-444.
31. Van ZD. Diagnosis and Treatment of Diabetic Ketoacidosis. *SA FAMPRAC* 2008;50: 35-40.
32. Viswanad KB, Lydia A, Ramarao P. Combination of High-Fat-Diet-Fed and Low-Dose Streptocin-Treated Rat: A Model for Type 2 Diabetes and Pharmacological Screening Srinivasan. *Pharm Res* 2005; 52: 313-32.

The effects of endurance training on myocardial sodium proton exchanger 1 (NHE1) and sodium bicarbonate cotransporter1 (NBC1) mRNA expression in rats

Monazzami AA^{*1}, Rajabi H², Shahbazi Nedar V³

1. University of Razi
2. Khawrazmi University
3. University of Payam Nur

Received: 2015/12/05

Revised: 2016/01/11

Accepted: 2016/03/01

* Correspondence:

Amir Abbas Monazzami,
Department of Physical
Education and Sport Sciences,
Kermanshah, Iran

Email:

monazzami.amirabbas@gmail.com

Abstract

Introduction: High intensity exercise training increases MCTs, NHEs and NBCs gene expression but the effect of endurance training on NHEs and NBCs gene and protein expression is uncertain. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of endurance training on myocardial NHE1 and NBC1 mRNA expressions in rat.

Methods: 20 male Wistar rats (4 weeks age and 93.7±9.8g in weight) were selected and randomly divided into control and training groups. The rats were exposed to endurance training for 7 weeks (20m/min and 20 min respectively) in the first week and reached to 30m/min and 35min gradually in the last week. NHE1 and NBC1 mRNA expressions were determined by Real time-PCR technique in myocardial preparation. To analyze the data, independent samples t-test and REST (permutation test) were employed.

Results: There was a significant increase in NHE1 mRNA in training group by 80% in comparison with the control group (P<0.05). Also, NBC1 mRNA expression was increased in trained group by 50% but it was not statistically significant at (P<0.05).

Conclusions: In conclusion, these result show that endurance training increases NHE1 NBC1 mRNA expression in myocardial in trained group and this pattern of increase in gene expression depends on transporter-type specifications that are metabolically important in intracellular pH regulation of the heart muscle.

Keywords: PH_i regulation, gene expression, Na/H exchanger, Na/HCO₃ cotransporter , endurance training.