Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

The effects of swimming training on N-cadherin, β-catenin and Emerin in cardiac left ventricle of male Wistar rat

Masoumeh Asadi[1], Hasan Matin Homaee[2*], Farshad Ghazalian[3]

[1]PhD student in exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad Univercity, Tehran,Iran
[2]Department of exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad Univercity, Tehran, Iran
[3]Department of exercise physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Science And Research Branch, Islamic Azad Univercity, Tehran, Iran
*Corresponding author; E-mail: hasanmatinhomaee@gmail.com

Received: 29 October 2018 Accepted: 25 December 2018 First Published online: 28 Oct 2020
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(4):373-380

Abstract

Background: Physical activity and exercise training plays a protective role against cardiovascular disease via reducing risk factors. Swimming as one of the best aerobic activity and exercise modality recommended for preventing and treatment of cardiovascular disease. On the other hand, exercise training could effects cardiac muscle protein structure. Therefore, the propose of this study was to investigate the effects of eight-week swimming training on N-cadherin, beta catenin and Emerin gene expression in left ventricle of cardiac muscle in male Wistar rat.

Methods: In this study, twenty four male Wistar rat (8-week old) with an average (weight 237±33 in gr) randomly divided to three groups: Control (n=8), 8- week control (n=8) and swimming training (n=8). Swimming group participated in a swimming training for 8- week (5 seasons per week of 30 minutes floating on the water with moderate intensity) and the control group continued their usual lives. Twenty four hours after the last training session, the heart tissue of rats were extracted and β-catenin, N-cadherin and Emerin gene expression evaluated by Real Time-PCR. Data were statistically analyzed by one-way ANOVA and post-hoc Tukey methods ($P<0.05$).

Results: The results of the study showed the expression of genes N-cadherin and beta catenin significantly higher in the swimming group than in the control group. However, Emerin gene expression in swimming group was significantly lower than in the control group.

Conclusion: According to these findings, it seems that eight-weeks of swimming training an effective way of improving the structure and function of the heart muscle cells by increasing beta catenin and N-cadherin.

Keywords: Swimming training, Beta-catenin, N-cadherin, Emerin

How to cite this article: Asadi M, Matin Homaee H, Ghazalian F. [The effects of swimming training on N-cadherin, β-catenin and Emerin in cardiac left ventricle in male Wistar rat]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020;42(4):373-380 Persian.

© 2020 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر تمرین شنا بر بیان ژن‌های ان- کادهرین، بتا- کاتنین و امرین در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی نر

معصومه اسدی[۱]، حسن متین همایی[۲*]، فرشاد غزالیان[۳]

[۱]دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران
[۲]گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران
[۳]گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
[*] نویسنده مسؤول؛ ایمیل: hasanmatinhomaee@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۷/۸/۷ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۴ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۸/۷
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۴):۳۷۳-۳۸۰

چکیده

زمینه: فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی با کاهش عوامل خطرزا، نقش حفاظتی در برابر بیماری های قلبی- عروقی ایفا می‌کنند. شنا به عنوان یکی از بهترین فعالیت‌های هوازی و یک روش تمرینی برای جلوگیری و درمان بیماری‌های قلب توصیه گردیده است. بنابراین هدف مطالعه حاضر، بررسی تاثیر هشت هفته تمرین شنا بر بیان ژن‌های ان- کادهرین، بتا-کاتنین و امرین در بطن چپ عضله قلبی موش‌های صحرایی نر ویستار می‌باشد.

روش‌کار: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۸ هفته‌ای) با میانگین وزن (۲۳۷±۳۳ گرم) به صورت تصادفی در سه گروه کنترل (۸)، کنترل ۸ هفته‌ای (۸) و تمرین شنا (۸) قرار گرفتند. گروه تمرین در یک برنامه ۸ هفته‌ای شنا (هر هفته ۵ جلسه ۳۰ دقیقه‌ای با شدت متوسط) شرکت کردند و گروه کنترل به زندگی معمول خود ادامه دادند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی، بافت قلب موش‌ها برداشت و بیان ژن‌های ان-کادهرین، بتا-کاتنین و امرین با استفاده از روش بررسی شد. داده‌ها، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یکراهه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شد ($P<۰/۰۵$).

یافته‌ها: نتایج تحقیق نشان داد بیان ژن‌های ان-کادهرین و بتا-کاتنین در گروه تمرین شنا به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود، ولی بیان ژن امرین به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس این یافته‌ها، به نظر می‌رسد ۸ هفته تمرین شنا با افزایش بتا-کاتنین و ان-کادهرین روش کارآمدی در بهبود ساختار و عملکرد سلول‌های عضله قلب باشد.

کلید واژه‌ها: تمرین شنا، بتا-کاتنین، ان-کادهرین، امرین

نحوه استناد به این مقاله: اسدی م، متین همایی ح، غزالیان ف. تاثیر تمرین شنا بر بیان ژن‌های ان- کادهرین، بتا-کاتنین و امرین در بافت بطن چپ قلب موش‌های صحرایی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛۴۲(۴):۳۷۳-۳۸۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

امروزه بیماری‌های قلبی-عروقی علت اصلی مرگ و میر در جهان به شمار می‌روند و مسؤول ۳۵ درصد مرگ‌ها در کشورهای در حال توسعه و حدود ۳۰ درصد مرگ‌ها در سراسر جهان هستند. انتظار می‌رود تا سال ۲۰۲۰ این بیماری‌ها علت ۴۰ درصد مرگ‌ها در سراسر جهان گردد (۱). از طرفی، امروزه تجویز فعالیت‌های ورزشی به عنوان یک نسخه اثر بخش در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها و بهبود عملکرد قلبی پذیرفته گردیده است (۲). با این حال، سازوکارهای دقیق اثرگذاری تمرینات ورزشی به طور دقیق مشخص نگردیده و به نظر می‌رسد شناخت مسیرهای زیستی به درک بهتر سازوکارهای سازگاری اندام‌های مختلف به ویژه قلب، منجر گردد. در راستای شناسایی مسیرها و سازوکارهای بهبود عملکرد سلولی ناشی از تمرینات ورزشی استفاده از مجموعه داده‌های ژنومیک و بیان پروتینی به عنوان روشی قدرتمند و قابل اطمینان می‌تواند کمک‌کننده باشد (۳). در میان مسیرهای پیام‌رسانی مختلف مسیر (Wnt signaling pathway, Wnt) نقش مهمی در کنترل فعالیت ژنتیکی سلول‌ها از طریق فعال‌سازی عوامل رونویسی در سیتوزل دارد. در این مسیر عامل اصلی تبدیل پیام درون سلولی Wnt در انسان‌ها پروتئین بتا-کاتنین (β-Catenin) است که در انسان توسط ژن بتا-کاتنین-۱(β-Catenin-1) بیان می‌شود (۴). بتا-کاتنین در تنظیم و هماهنگی چسبندگی و اتصالات بین سلولی نقش دارد. همچنین، بتا-کاتنین یکی از اجزای کمپلکس پروتئین ان-کادهرین می‌باشد (۵). بتا-کاتنین در عضله قلب در اتصالات چسبنده در ساختار صفحات اینترکاله ایفای نقش می‌کند و نقش حیاتی در جفت‌شدگی تحریک مکانیکی و الکتریکی بین سلول‌های قلبی مجاور را دارد (۶). Walsh و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که تنظیم افزایشی مسیر Wnt در عضله قلبی و اسکلتی با افزایش بیان پروتئین بتا-کاتنین و به دنبال آن کاهش فعالیت پروتئین گلیکوژن سنتاز کیناز-۳ (Glycogen synthase kinase-3) موجب افزایش فعالیت عوامل رونویسی میوژنیک و هایپرتروفی عضلانی می‌شود (۷). در کنار این پروتئین، ان-کادهرین و امرین نیز تاثیرات قابل توجهی بر عملکرد طبیعی دستگاه قلبی-عروقی دارند؛ ان-کادهرین‌ها که در انسان توسط ژن CDH2 کد می‌شوند پروتئین‌های غشایی هستند که در بسیاری از بافت‌ها بیان گردیده و نقش میانجی در اتصالات سلولی را دارند؛ ان-کادهرین جزء لاینفک در اتصالات چسبنده است که در صفحات اینترکاله وجود دارد و عملکرد مکانیکی و الکتریکی در مجاورت سلول‌های قلبی دارد. تغییرات در یکپارچگی و بیان پروتئین ان-کادهرین در انواع مختلف بیماری‌ها مانند کاردیومیوپاتی مشاهده گردیده است. از طرفی، ان-کادهرین به عنوان تنها کادهرین بیان شده در عضله قلبی نقش کلیدی در حفظ یکپارچگی ساختار قلبی دارد (۸و ۹).

نکات کاربردی

این یک مطالعه تجربی بنیادی و basic science است که دستاوردهای علمی آن می تواند مورد استفاده تحقیقات بیشتری در آینده برای کاربردی کردن ورزش درجهت درمان بعضی از نارسایی های قلبی باشد

علاوه بر این، پروتئین امرین نیز در انسان توسط ژن امرین (EMD) به مقدار زیاد در عضلات اسکلتی و قلبی بیان می‌شود. در عضله قلب، امرین در اتصالات چسبنده در داخل صفحات اینترکاله قرار دارد و در انتقال و تبدیل پیام‌های حسی از سلول‌های عضلانی به دستگاه عصبی مرکزی با کمک سیگنال بتا-کاتنین نقش دارد. جهش در بیان ژن امرین احتمالاً موجب ابتلا به دیستروفی عضلانی، اختلال در عملکرد هدایتی قلب و کاردیومیوپاتی اتساعی می‌شود (۱۰). با توجه به آنچه گفته شد، امروزه تغییرات رفتاری و اصلاح شیوه‌های زندگی مانند افزایش فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی از متداول‌ترین راهکارها در جهت کاهش و کنترل این دسته از بیماری‌ها محسوب می‌شوند؛ به طوری که شاهد روند رو به رشد در استفاده از ورزش‌های مختلف برای مقاصد گوناگون درمانی هستیم (۱۱). به طوری که، Chiarotto و همکاران در پژوهشی با عنوان برنامه ورزشی همراه با شیمی‌درمانی و ردیابی بتا-کاتنین به این نتیجه رسیدند که ورزش برای بیماران مبتلا به سرطان متاستاتیک که شیمی‌درمانی می‌کنند عملی و ایمن هست و بتا-کاتنین به عنوان یک بیومارکر بالقوه برای اثر ضد سرطانی ورزش در سرطان کولورکتال می‌باشد (۱۲). بنابراین، با توجه به موثر بودن فعالیت‌های ورزشی مختلف بر ساختار و عملکرد قلب، شنا به عنوان یک ورزش مفرح و رایج و به عنوان یک روش تمرینی کارآمد برای دستیابی به فواید ناشی از ورزش برای بسیاری از افراد که امکان اجرای برخی از انواع ورزش‌ها را ندارند و پیشگیری از ابتلا به بسیاری از بیماری‌های مزمن به ویژه بیماری‌های قلبی-عروقی، توصیه گردیده است (۱۳). به طور مثال، Spillane و همکاران در تحقیقی گزارش کردند که یک جلسه تمرین مقاومتی بالا تنه و تمرین بالا تنه- پائین تنه باعث افزایش محتوی پروتئین بتا-کاتنین عضله پهن جانبی آزمودنی‌های انسانی در بازه‌های زمانی ۳ و ۲۴ ساعت پس از تمرین مقاومتی بالا تنه-پائین تنه گردیده است (۱۰). در مقابل، Bashiri و همکاران گزارش کردند که سه ماه تمرین هوازی با تنظیم افزایشی مسیر پیام‌رسانی Wnt باعث کاهش بیان ژن بتا-کاتنین عضله نعلی موش‌های صحرایی گردیده است (۱۴). با این حال، مطالعات بسیار اندکی در مورد تأثیر تمرینات هوازی و استقامتی بر مسیر پیام‌رسانی Wnt و پروتئین‌های آن مانند بتا-کاتنین وجود دارد (۱۴) Dos Santos و همکاران در تحقیقی نیز دریافتند که بیان پروتئین‌های ان-کادهرین و بتا-کاتنین در هایپرتروفی قلبی ناشی از

نارسایی قلبی در موش‌های صحرایی کاهش یافته است (۱۵). با این وجود، بیشتر مطالعاتی که در سال‌های اخیر به صورت مطالعات انسانی و حیوانی انجام یافته است، بیانگر آثار قوی ورزش شنا در کاهش عوامل التهابی، افزایش ساختار عضله قلبی، پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی–عروقی بوده است. از این رو، با توجه به تناقضات موجود که احتمالاً ناشی از عدم همسانی شدت، مدت و نوع تمرینات بدنی باشد یا ناشی از وضعیت سن، سلامت و آمادگی آزمودنی‌های مورد مطالعه باشد و با توجه به آنکه مطالعه جامعی هر سه نوع پروتئین ان–کادهرین، بتا–کاتنین و امرین را به طور همزمان مورد بررسی قرار داده باشد و همچنین به دلیل اهمیت شناسایی اثر تمرینات ورزشی بر ساختار بافت مهمی مانند بافت قلب و سازوکارهای سازگاری با تمرینات ورزشی مختلف انجام مطالعه‌ای در زمینه بررسی تاثیر تمرینات شنا بر بیان ژن‌های ان–کادهرین، بتا–کاتنین و امرین بطن چپ عضله قلبی موش‌های صحرایی ضروری به نظر می‌رسید.

روش کار

مطالعه تجربی حاضر به صورت پس آزمون همراه با گروه کنترل، روی ۲۴ سر موش صحرایی نر ۸ هفته‌ای نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۳±۲۳۷ گرم انجام شد. سپس برای تعیین گروه‌های تجربی و کنترل، از موش‌های موجود در هر یک از قفس‌ها (با مقادیر وزنی نزدیک به هم) به صورت تصادفی یک نمونه انتخاب و در یکی از گروه‌های کنترل (در بدو پروتکل پس از ۴۸ ساعت استقرار کشته و بافت‌برداری شدند)، کنترل ۸ هفته‌ای (در هیچ‌گونه برنامه فعالیت ورزشی شرکت نکردند) و تمرین شنا قرار داده شدند (هشت موش در هر گروه). در طول تحقیق حیوانات در قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف به ابعاد ۱۵×۲۶/۵×۴۲ سانتیمتر، دمای ۱/۴±۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۵۵ درصد و چرخه روشنایی– تاریکی ۱۲:۱۲ با تهویه مناسب نگهداری شدند و به آب و غذای پلت (ساخت شرکت به پرور کرج) آزادانه دسترسی داشتند. کلیه مراحل تحقیق با رعایت دستورالعمل سازمانی در خصوص مراقبت و استفاده از حیوانات انجام شد. به منظور آشنایی با آب، آزمودنی‌های گروه‌های تمرینی دو روز متوالی قبل از شروع پروتکل اصلی به مدت ۲۵ دقیقه، با سرعت ۳–۴/۵ سانتیمتر بر ثانیه تمرین داده شدند. برنامه تمرین اصلی شامل ۴۰ دقیقه شنا کردن با شدت متوسط (هفته اول ۳۰ دقیقه، هفته دوم ۳۲ دقیقه، هفته سوم ۳۵ دقیقه و در نهایت در هفته ششم به ۴۰ دقیقه و حفظ این زمان تا هفته هشتم) در تانکر ویژه جوندگان، ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته بود که در ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح انجام می‌شد. پنج دقیقه قبل و بعد از تمرین به ترتیب برای گرم‌کردن و سرد کردن حیوانات در نظر گرفته شد. دمای آب برای شنا کردن ۲±۳۲ درجه سلسیوس بود. زمان تمرینات به گونه‌ای تدریجی افزایش پیدا کرد تا حیوان با محرک تمرینی جدید سازگار گردد و استرس ناشی از تمرینات به طور تدریجی افزایش یابد. پروتکل تمرینی از نوع هوازی و با شدت متوسط بود زیرا که مطالعات پیشین، تمرین به مدت ۹۰ دقیقه شنا کردن پیوسته بدون اعمال وزنه بر روی موش و تا ۶ درصد وزن بدن اعمال وزنه را متوسط و هوازی گزارش کرده‌اند (۱۶). در ضمن، پس از انجام تمرینات شنا در هر جلسه حیوانات با قرار گرفتن در معرض جریان هوای گرم با استفاده از گرماساز مخصوص جوندگان خشک می‌شدند. بافت‌برداری در گروه کنترل پایه در هفته اول آشنا سازی و پس از ۵ روز استقرار در محل نگهداری انجام گرفت. گروه کنترل ۸ هفته نیز همراه با گروه تمرینی پس از ۸ هفته تمرین و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی بافت‌برداری شدند. در ابتدا حیوانات با استفاده از تزریق زایلازین و کتامین بی‌هوش و سپس فدا شدند. پس از شکافتن حفره سینه‌ای، بافت قلب (بخش بطن چپ) به دقت جدا شدند. سپس بافت نمونه هر حیوان بلافاصله در تیوب وارد محلول نیتروژن مایع شد و تا زمان انجام ارزیابی تغییرات بیان ژن در دمای ۸۰– درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای استخراج RNA فرآیند لیز در ازت مایع و بدین صورت که نمونه‌ها را در ازت منجمد کرده و با استفاده از هاون خرد کردن بافت‌ها انجام شد. پس از لیز بافت، ۷۰۰ میکرولیتر از کیازول را روی نمونه لیز شده ریخته سپس با پیپتاژ کردن آنها با هم ترکیب شدند. سپس ۵ تا ۱۰ ثانیه ورتکس کرده و آن را ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار می‌دهیم. ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه کرده و ۱۵ ثانیه به خوبی مخلوط می‌کنیم (بدون ورتکس). میکروتیوب را به مدت ۵ دقیقه بر روی یخ با دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم و سپس آن را در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ می‌کنیم. در این مرحله سه فاز شکل می‌گردد که فاز شفاف‌رویی حاوی RNA خواهد بود. با استفاده از سمپلر زرد و کریستالی با دقت تمام محلول شفاف‌رویی را جدا کرده و برای ادامه مراحل به میکروتیوب دیگر انتقال داده می‌شود. غلظت و خلوص RNA استخراج شده توسط اسپکتروفوتومتر نانودراپ بررسی شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری گردیده و غلظت آن بر اساس ضریب رقت برحسب نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. برای از بین بردن آلودگی با DNA ژنومی تیمار نمونه‌های RNA استخراج شده با Dnasel انجام شد. برای ژن‌های مورد مطالعه، پرایمرهای اختصاصی طراحی گردید و توسط شرکت سیناکلون (Sinaclon) سنتز شدند. سپس هر پرایمر توسط نرم افزار BLAST جهت اطمینان از یکتا بودن محل جفت شدن پرایمرها مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). طبق دستورالعمل مشخص شده از شرکت سنتز کننده پرایمرها، مقدار لازم آب مقطر فاقد RNase، DNase به منظور رقیق‌سازی به آن

اضافه شد. سپس از این استوک ۱۰۰ Mμ، رقت ۱۰ Mμ تهیه کرده و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. در این تحقیق از ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده شد که همیشه در تمامی سلول‌ها بیان می‌شود.

جدول ۱: توالی پرایمرهای ژن‌های مورد بررسی

ژن	توالی پرایمر
CDH2	For: 5′- GATGAAGAAGGTGGAGGAGAGG -3′ Rev: 5′- GGGGATCGGACTGGATATTGTGG-3′
CTNNB1	For: 5′- ATGCTGAGGAAGAAGATGTGGA -3′ Rev: 5′- ATGAAACTGCGTGGATGGGA -3′
EMD	For: 5′- AGAAGAGGAAGGCAAGGATAGG -3′ Rev: 5′- GAAGAGGGAGAAGATGAAGAGGA-3′
GAPDH	For: 5′- GACATGCCGCCTGGAGAAAC -3′ Rev: 5′- AGCCCAGGATGCCCTTTAGT -3

از کیت Quanti Tect Reverse cDNA synthesis (Qiagen) Transcription Kit برای ساخت cDNA طبق دستور العمل شرکت سازنده استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان بیان ژنی از دستگاه (Thermal BIO RAD) استفاده شد. برنامه زمانی-گرمایی دستگاه در سه مرحله انجام شد. مرحله اول که ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد، مرحله دوم ۴۵ سیکل متوالی و هر سیکل آن شامل ۱۰ ثانیه قرار گرفتن نمونه در درمای ۹۵ درجه سانتیگراد و سپس ۳۰ ثانیه قرار گرفتن ۶۰ درجه سانتیگراد و در مرحله سوم هر ۵ ثانیه ۰/۵ درجه سانتیگراد دما را بالا برده تا دما از ۵۵ به ۹۵ درجه سانتیگراد برسد و منحنی ذوب رسم شد. واکنش‌های Real Time PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر در پلیت‌های ۹۶ چاهکی انجام شدند. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌ها به ترتیب از آزمون‌های شاپیرو- ویلک و لوین استفاده شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) انجام شد و در صورت معناداری اختلاف بین گروه‌ها، برای تعیین محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ و در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ انجام شد.

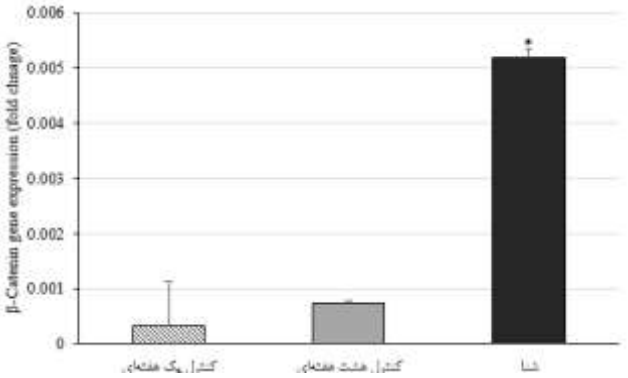
یافته‌ها

نتایج آزمون شاپیرو-ویلک و آزمون لوین در تمامی شاخص‌ها (P>۰/۰۵) بود که دلالت بر توزیع نرمال داده‌ها و تجانس واریانس‌ها داشت. با توجه به ارزش F محاسبه شده حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه، تفاوت معناداری بین میانگین مقادیر وزن بدن، بیان ژن‌های بتا-کاتنین، ان-کادهرین و امرین قلبی موش‌های صحرایی پس از هشت هفته مشاهده شد (نمودار ۱ و ۲). همچنین یافته‌های حاصل از آزمون تعقیبی توکی نشان داد که پس از هشت هفته تمرینات شنا میزان بیان ژن‌های بتا-کاتنین و ان-کادهرین در گروه تمرین شنا به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود، ولی بیان ژن امرین (P=۰/۰۰۰۱) به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل (هشت هفته‌ای) بود (جدول ۲).

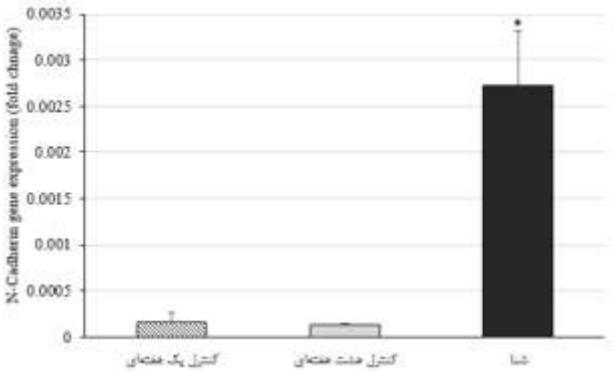
جدول ۲: متغیرهای اندازه‌گیری شده پس از اتمام پروتکل تحقیق

متغیر	گروه		
	کنترل پایه	کنترل هفته هشتم	تمرین شنا
وزن بدن (گرم)	۲۳۷/۵۰ ± ۳۳/۶۱	۳۱۵ ± ۲۱/۵۴*	۳۱۶/۷۵±۲۲/۱۸
اکسیژن مصرفی بیشینه (میلی‌لیتر/وزن بدن/دقیقه)	۵۱ ± ۷/۵۲	۴۷/۱۲ ± ۷/۶۲	۵۳/۸۷±۱۰/۶۸
بیان ژن	۰/۰۰۰۳ ± ۰/۰۰	۰/۰۰۰۷ ± ۰/۰۰*	۰/۰۰۵± ۰/۰۰*
بیان ژن	۰/۰۰۰۰۲ ± ۰/۰۰	۰/۰۰۰۰۵ ± ۰/۰۰*	۰/۰۰۲± ۰/۰۰*
بیان ژن	۰/۰۱ ± ۰/۰۰۲	۰/۰۱۲± ۰/۰۰*	۰/۰۰۲± ۰/۰۰*

* سطح معنی‌داری (۰/۰۰۰۱)



نمودار ۱: بیان ژن بتا-کاتنین پس از پروتکل تمرینی در هر سه گروه (مقادیر بر حسب میانگین و انحراف معیار گزارش گردیده است).
* نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل هفته اول و کنترل هشت هفته.



نمودار ۲: بیان ژن ان-کادهرین پس از پروتکل تمرینی در هر سه گروه (مقادیر بر حسب میانگین و انحراف معیار گزارش گردیده است).
* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل هفته اول و گروه کنترل هشت هفته.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پس از هشت هفته تمرین شنا با شدت متوسط، بیان ژن‌های بتا-کاتنین و ان-کادهرین به طور

معنی‌داری افزایش و بیان ژن پروتئین امرین کاهش معنی‌داری داشت. با این حال، مطالعات بسیار اندکی در مورد تاثیر تمرینات ورزشی به ویژه شنا بر پروتئین‌های بتا-کاتنین، ان-کادهرین و امرین وجود دارد که اغلب نتایج متناقضی را گزارش کرده‌اند. به طوری که، نتایج مطالعه حاضر در راستای نتایج برخی مطالعات از جمله Fujimaki و همکاران، Leal و همکاران قرار دارد (۱۷و۱۸). در این راستا، Fujimaki و همکاران اشاره داشتند که چهار هفته دویدن اختیاری و با شدت آرام روی چرخ‌گردان موجب افزایش بتا-کاتنین در گروه تمرین شد (۱۷). همچنین، Leal و همکاران گزارش دادند که هشت هفته تمرینات قدرتی-توانی موجب افزایش بیان پروتئین بتا-کاتنین در عضله اسکلتی شد (۱۸). با این حال، برخلاف با یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر افزایش بیان ژن بتا-کاتنین متعاقب هشت هفته تمرین شنا نسبت به گروه کنترل، Amin و همکاران، Vissing و همکاران عدم تغییر معنی‌دار در میزان بیان پروتئین بتا-کاتنین متعاقب تمرینات ورزشی استقامتی را در موش‌های صحرایی گزارش کردند (۱۹و۲۰). به طوری که، Amin و همکاران اشاره داشتند که تغییری در میزان بیان پروتئین بتا-کاتنین متعاقب فعالیت ورزشی در موش‌های صحرایی مشاهده نشد (۱۹). Vissing و همکاران نیز عنوان داشتند که ۱۰ هفته تمرین استقامتی تغییر معنی‌داری در سطوح پایه پروتئین بتا-کاتنین ایجاد نکرد (۲۰). از این رو، با مقایسه دو مطالعه فوق الذکر با یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان ابراز داشت که نوع تمرین احتمالاً باعث دستیابی به اثرات متفاوتی در بیان ژن‌های فوق گردیده است. به طوری که تمرینات شنا به دلیل انجام تمرین در یک محیط آبی و در مقابل فشار هیدرواستاتیک آب باعث اعمال فشار و استرس سوخت و سازی بیشتری نسبت به تمرین استقامتی دویدن می‌شود (۲۱). با این حال، در رابطه با ان-کادهرین، چندین پژوهش نشان دادند که ان-کادهرین به عنوان یک پروتئین درون غشایی که در بافت‌های مختلفی از جمله عضله قلبی بیان می‌شود و در چسبندگی بین سلولی و یکپارچه‌سازی بین صفحات اینترکاله و همچنین در جفت‌سازی عملکردهای مکانیکی و الکتریکی سلول‌های قلبی نقش دارد، لذا افزایش بیان ژن ان-کادهرین و بتا-کاتنین نشان‌دهندهٔ در بهبود ساختار و عملکرد سلول‌های قلبی بر اثر تمرینات شنا است. در این راستا، Dos Santos و همکاران هایپرتروفی قلبی ناشی از تمرینات ورزشی و هایپرتروفی ناشی از نارسایی قلبی به ترتیب باعث افزایش و کاهش بیان پروتئین ان-کادهرین و بتا-کاتنین می‌شود (۱۵). همچنین، همراستا با نتایج مطالعه حاضر در برخی مطالعات گزارش گردیده است افزایش بتا-کاتنین با کاهش همزمان میزان امرین همراه است و افزایش همزمان بیان دو ژن ان- کادهرین و بتا-کاتنین به این دلیل اهمیت دارد که مجموعه کادهرین-بتاآکتینین با اتصال به آکتین اسکلت سلولی پیوند سلول به سلول را ایجاد کرده و همچنین جایگاهی برای اتصال تارهای عضلانی عضله قلب بوده، انتقال نیروی انقباضی را در طول غشای پلاسمایی تسهیل می‌کند (۲۲). در راستای تبیین نحوه و سازوکار اثرگذاری تمرینات ورزشی به ویژه شنا از طریق مسیر پیام‌رسانی Wnt و اجزای درگیر در این مسیر به ویژه پروتئین‌های کادهرین، بتا کاتینین و امرین باید ابراز داشت که مسیر پیام‌رسانی Wnt دارای یک تاثیر انکوژنیک است که در بیشتر مسیرهای مرتبط با رشد و نمو مشاهده می‌شود. بتا-کاتنین از طریق اتصال و تعامل با گیرنده‌های لیپوپروتئینی Wnt باعث انتقال و افزایش تجمع کمپلکس β-catenin-Tcf/LEF در درون هسته گردیده و باعث افزایش فعال‌سازی و رونویسی ژن‌های هدفی (مانند c-fos و mTOR) و به دنبال آن افزایش هایپرتروفی عضلانی می‌شود (۲۱). همچنین، در برخی مطالعات گزارش گردیده است که گیلکوژن سنتاز کیناز-۳ بتا (GSK3β) که یکی از پروتئین‌های اصلی درگیر در مسیر پیام‌رسانی Wnt است به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی در هایپرتروفی عضلانی عمل می‌کند. در حالی که کاهش بیان GSK3β و فسفریله شدن آن با افزایش تجمع بتا-کاتنین در هسته همراه است. در برخی مطالعات گزارش گردیده است که افزایش بیان GSK3β یا فعال‌سازی آن با کاهش سنتز پروتئین همراه است که این مسئله عمدتاً پس از تمرینات استقامتی مشاهده شده است، در حالی که این پدیده در مطالعه حاضر دیده نشده است. این مطلب به عنوان یکی از دلایل احتمالی عدم همراستایی با مطالعه حاضر گزارش گردیده است (۱۴و۲۱). از این‌رو، افزایش معنی‌دار بیان ژن بتا-کاتنین و ان-کادهرین و کاهش معنی‌دار امرین (به عنوان پروتئین‌های کلیدی درگیر در مسیر پیام‌رسانی Wnt) بر اثر تمرینات ورزشی نهایتاً می‌تواند باعث فعال شدن سنتز پروتئین و تقویت عضله قلب شود (۱۴). البته این احتمال وجود دارد که فعالیت‌های استقامتی شدید مانند شناهای طولانی مدت، خطر آتروفی عضلانی و سارکوپنی را به ویژه در افراد سالخورده و مسن افزایش دهد. با این حال، اظهار نظر قطعی در زمینه مسیرهای منجر به هایپرتروفی عضله قلب و تمرینات ورزشی مختلف، منوط به انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، می‌توان ابراز داشت که تمرین شنا با شدت متوسط تاثیر افزایشی بر بیان ژن‌های ان-کادهرین و بتا-کاتنین دارد ولی باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن امرین می‌شود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، از آنجا که پروتئین‌های ان-کادهرین و بتا-کاتنین در ساز و کارهای هایپرتروفی و بهبود انقباض عضله قلبی تاثیر مثبتی دارند، لذا می‌توان بیان داشت که تمرین شنا با شدت متوسط روش موثری برای بهبود ساختار و عملکرد قلب است.

قدردانی

مطالعه حاضر حاصل پایان‌نامه دانشجویی دکتری در دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز می‌باشد. از تمام افرادی که در این تحقیق همکاری کرده‌اند، تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در دانشکده داروسازی و علوم دارویی – دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران بررسی و با شناسه اخلاق IR.IAU.PS.REC.1398.313 مصوب گردید.

منابع مالی

منابع مالی این طرح تحقیقاتی توسط نویسندگان تامین گردیده است.

منافع متقابل

مؤلف اظهار می‌دارد که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارد.

مشارکت مؤلفان

۱. م ا انتخاب موضوع، طراحی پروتکل، اجرا، تحلیل نتایج و تدوین مقاله مطالعه و ۲. ح م ه به عنوان استاد راهنما در انتخاب موضوع، طراحی پروتکل، تحلیل نتایج و تدوین مقاله مطالعه و ۳. ف غ به عنوان استاد مشاور در طراحی و اجرای پروتکل تحقیق نقش داشتند. همچنین مقاله را تالیف نموده و نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده‌اند.

References

1. Ehrman J, Gordon P, Visich P, Keteyian S. *Clinical Exercise Physiology*. 4th ed. Human Kinetics; 2018.
2. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11(9):607-15. doi: 10.1038/nri3041.
3. Kraus C, Liehr T, Hülsken J, Behrens J, Birchmeier W, Grzeschik K-H, et al. Localization of the human β-catenin gene (CTNNB1) to 3p21: a region implicated in tumor development. *Genomics* 1994;23(1):272-4. doi: 10.1006/geno.1994.1493.
4. Nusse R, Clevers H. Wnt/β-catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell* 2017;169(6):985-99. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.016.
5. Barker N, Clevers H. Catenins, Wnt signaling and cancer. *Bioessays* 2000;22(11):961-5. doi: 10.1002/1521-1878(200011)
6. Bu S, Chen Y, Wang S, Zhang F, Ji G. Treadmill training regulates β-catenin signaling through phosphorylation of GSK-3β in lumbar vertebrae of ovariectomized rats. *Eur J App Physiol* 2012;112(9):295-304. doi: 10.1007/s00421-011-2306-4.
7. Walsh FS, Barton CH, Putt W, Moore SE, Kelsell D, Spurr N, et al. N-cadherin gene maps to human chromosome 18 and is not linked to the E-cadherin gene. *J Neurochem* 1990;55(3):805-12. doi: 10.1111/j.1471-4159.1990.tb04563.x.
8. Reid RA, Hemperly JJ. Human N-cadherin: nucleotide and deduced amino acid sequence. *Nucleic Acids Res* 1990;18(19):5896.
9. Holaska JM. Emerin and the nuclear lamina in muscle and cardiac disease. *Circ Res* 2008;103(1):16-23. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.172197.
10. Spillane M, Schwarz N, Willoughby DS. Upper-body resistance exercise augments vastus lateralis androgen receptor–DNA binding and canonical Wnt/β-catenin signaling compared to lower-body resistance exercise in resistance-trained men without an acute increase in serum testosterone. *Steroids* 2015;98:63-71. doi: 10.1016/j.steroids.2015.02.019.
11. Moradi H, Nikbakht H, Ebrahim K, Abed Natanzi H. The effects of aerobic training and grape seed extract on some cardiovascular risk indexes in young men. *Iran J Nutr Sci & Food Technol* 2017;12(2):1-10.
12. Chiarotto JA, Akbarali R, Bellotti L, Dranitsaris G. A structured group exercise program for patients with metastatic cancer receiving chemotherapy and CTNNB1 (β-catenin) as a biomarker of exercise efficacy. *Cancer Manag Res* 2017;13(9):495-501. doi: 10.2147/cmar.s147054.
13. Yang Q, Wang W-w, Ma P, Ma Z-x, Hao M, Adelusi TI. Swimming training alleviated insulin resistance through Wnt3a/β-catenin signaling in type 2 diabetic rats. *Iran J Basic Med Sci* 2017;20(11): 1220-6.
14. Bashiri J, NourAzar A, Purrazi H. Effect of three months aerobic training on Wnt-signaling pathway in skeletal muscle of male rats. *Razi J Med Sci* 2017;24(160):7-16.
15. Dos Santos DO, Blefari V, Prado FP, Silva CA, Fazan Jr R, Salgado HC, et al. Reduced expression of adherens and gap junction proteins can have a fundamental role in the development of heart failure following cardiac hypertrophy in rats. *Exp Mol Pathol* 2016;100(1):167-76. doi: 10.1016/j.yexmp.2015.12.009.
16. Farzad B, Rajabi H, Jameie SB,Gharakhanlou R, Hayat P, Nasirinezhad F, et al. The Effects of Two-Week Swimming Training on Neuropathic Pain Induced by Chronic Constriction Injury and the Expression of GAD65 in Adult Male Rats. *J Fasa Univer of Med Sci* 2016;6(2):246-54. doi: 10.1093/pm/pnx294
17. Fujimaki S, Hidaka R, Asashima M, Takemasa T, Kuwabara T. Wnt Protein-mediated satellite cell conversion in adult and aged mice following voluntary wheel running.

J of Bio Chem 2014;289(11):7399-412. doi: 10.1074/jbc.m 113.539247

18. Leal ML, Lamas L, Aoki MS, Ugrinowitsch C, Ramos MSC, Tricoli V, et al. Effect of different resistance-training regimens on the WNT-signaling pathway. *Eur J Appl Physiol* 2011;111:2535-45. doi: 10.1007/s00421-011-1874-7
19. Amin H, Vachris J, Hamilton A, Steuerwald N, Howden R, Arthur ST. GSK3β inhibition and LEF1 upregulation in skeletal muscle following a bout of downhill running. *J Physiol Sci* 2014;64(1):1-11. doi: 10.1007/s12576-013-028 4-5.
20. Vissing K, McGee S, Farup J, Kjølhede T, Vendelbo M, Jessen N. Differentiated mTOR but not AMPK signaling after strength vs endurance exercise in training-accustomed individuals. *Scand J Med Sci Sports* 2013;23(3):355-66. doi: 10.1111/j.1600-0838.2011.01395.x
21. Leem Y-H, Kato M, Chang H. Regular exercise and creatine supplementation prevent chronic mild stress-induced decrease in hippocampal neurogenesis via Wnt/GSK3β/β-catenin pathway. *J Exerc Nutrition Biochem* 2018;22(2):1. doi: 10.20463/jenb.2018.0009.
22. Tilgner K, Wojciechowicz K, Jahoda C, Hutchison C, Markiewicz E. Dynamic complexes of A-type lamins and emerin influence adipogenic capacity of the cell via nucleocytoplasmic distribution of β-catenin. *J Cell Sci* 2009;122(3):401-13. doi: 10.1242/jcs.026179.