

## اثر تمرینات استقامتی بر بیان ژن اپلین قلبی در موش های صحرائی نر نژاد ویستار

حدیث بیات<sup>۱</sup>، فاطمه کاظمی نسب<sup>۱</sup>، عفت بمبئی چی<sup>۱</sup>، سید محمد مرنندی<sup>۱</sup>، کامران قائدی<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup>گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۹

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۸

### چکیده:

زمینه و هدف: اپلین، پروتئین مؤثر بر عملکرد عروق می باشد که به فراوانی در بافت قلبی میوکارد پستانداران دیده می شود. این پپتید و گیرنده ی آن در لایه میانی آئورت و شریان های کرونری به خوبی شناسایی شده اند. اپلین دارای کارکردهای قلبی عروقی گوناگون می باشد و سبب کاهش فشار خون می شود، لذا هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن اپلین در بطن چپ قلب موش های نر نژاد ویستار است.

روش بررسی: در تحقیق تجربی حاضر تعداد ۱۲ عدد موش صحرائی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. موش های گروه تجربی (n=۶) مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته، با سرعت متوسط ۲۸ متر در دقیقه (شیب صفر درجه) و به مدت ۶۰ دقیقه، روی نوار گردان تمرین داده شدند. ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه ی تمرین ورزشی، رت ها بیهوش شدند. پس از شکاف سینه، بافت قلب جدا شد، سپس RNA هر نمونه تبدیل به cDNA شد. پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه گردان میزان بیان نسبی ژن اپلین نظر از روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  به دست آمد. برای تجزیه تحلیل داده ها از آزمون t مستقل استفاده شد.

یافته ها: نتایج به روشنی نشان داد که بیان ژن اپلین پس از ۸ هفته تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار (۲ برابر) یافته است ( $P < 0/05$ ).

نتیجه گیری: تمرینات استقامتی بر افزایش بیان ژن اپلین تاثیر مثبتی داشته و بدین وسیله می تواند در پیشگیری از بیماری قلبی عروقی مؤثر می باشد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، قلب، بیان ژن، اپلین.

### مقدمه:

قلب دارد (۴)، همچنین دارای تأثیرات مدر و کاهش فشار خون نیز در حیوانات می باشد و یک فاکتور قوی رگرایی می باشد که برای رشد طبیعی عروق در زمان جنینی لازم است (۵). بنا بر تحقیق Chandra و همکاران، mRNA اپلین و APJ (نام گیرنده آن)، به میزان زیادی در سیستم قلبی عروقی در انسان و موش بیان شده است و شباهت زیادی با ترادف های اسید آمینه ای و گستره گیرنده آنژیوتانسینوژن و آنژیوتانسینون ۲ گونه ۱ (AT1) دارد (۵). تمرین ورزشی به عنوان یک برنامه پیشگیری ثانویه بیماری های عروق کرونر حاد دارای مزیت های بالینی متعددی بوده منجر به کاهش چشمگیر میزان مرگ و میر

برای داشتن یک زندگی پر نشاط و سالم کارآمد بودن سیستم قلبی عروقی لازم می باشد و عدم کارکرد مناسب آن در روند زندگی مشکل ایجاد می کند. فدراسیون جهانی قلب در گزارشی به مناسبت روز جهانی قلب اعلام کرد: سالانه ۱۷.۳ میلیون نفر بر اثر بیماری های قلبی جان خود را از دست می دهند (۱). نخستین بار توسط Tatemoto از معده گاو، پپتیدی استخراج شد که اپلین نام گرفت (۲، ۳). اپلین یک پروتئین مؤثر بر عروق می باشد که عملکردهای قلبی عروقی همچون گشاد کنندگی عروق اندوتلیالی، تنگ کنندگی عروق از طریق اثر گذاری روی سلول های عضلانی صاف و افزایش قدرت انقباض

شدت ۲۰ متر در دقیقه، هفته دوم با شدت ۲۳ متر در دقیقه، هفته سوم با شدت ۲۵ در دقیقه، هفته چهارم با شدت ۲۸ متر در دقیقه و شیب صفر درجه تمرین کردند. بعد از ۴ هفته تمرین فزاینده، ۴ هفته ی دیگر، هفته ای پنج جلسه با شدت نهایی ۲۸ متر در دقیقه و مدت ۶۰ دقیقه به تمرین ادامه دادند. لازم به ذکر است این تمرین، یک تمرین استقامتی متوسط با شدت ۷۰٪ اکسیژن مصرفی برآورد می شود (۷). ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه ی تمرین ورزشی، رت ها در حالتی که یک شب کامل ناشتا بودند (۱۴ ساعت ناشتا) از طریق تزریق داخل صفاقی ماده بیهوشی کتامین و زایلازین بیهوش شدند. پس از شکاف در قسمت جلوی سینه رت ها، بافت قلب سریعاً جدا شد و برای استخراج RNA در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شد.

استخراج RNA و بررسی بیان ژن توسط Real time PCR برای استخراج RNA میزان ۵۰ میلی گرم بافت منجمد قلب موش هموزن کرده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت RNA-Plus (سیناژن، ایران)، محلول RNA از آن استخراج شد، و با آنزیم DNase I از هرگونه آلودگی به DNA و آنزیم های تخریب کننده RNA پاکسازی شد. از هر کدام از نمونه، ۲ میکروگرم mRNA برای سنتز اولین رشته cDNA استفاده شد. برای سنتز cDNA از کیت cDNA synthesis (Fermentas، آلمان) استفاده شد. با روش Real time PCR مقدار نسبی بیان ژن اپلین در قلب با کمک آغازگرهای اختصاصی اپلین اندازه گیری شد.

اطلاعات مربوط به پرایمرها به طور مختصر در جدول شماره ۱ آمده است.

به ویژه مرگ و میر اختصاصی ناشی از بیماری قلبی می شود که این امر با تعدیل عوامل خطر ساز بیماری عروق کرونر و نیز رفتار بهداشتی امکان پذیر می باشد (۶). نظر به اینکه از کشف اپلین مدت زیادی نمی گذرد، هنوز به درستی اثر فعالیت بدنی بر بیان پروتئین و آگونیست های آن مشخص نیست، همچنین تاکنون مطالعات محدودی به بررسی اثر تمرین بدنی بر بیان ژن پرداخته اند. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر یک دوره تمرین استقامتی بر بیان ژن اپلین موش های نر نژاد ویستار است. با توجه به اهمیت ژن اپلین، این تحقیق طراحی می شود تا بتواند به این سوال پاسخ دهد که آیا تمرین هوازی منتخب می تواند به عنوان یک محرک، تغییراتی را در بیان ژن اپلین بافت قلب موجب شود تا به سبب آن از بیماری قلبی عروقی پیشگیری شود یا خیر.

### روش بررسی:

جهت انجام این تحقیق که در سال ۱۳۹۳ شروع شد، ۱۲ عدد موش صحرایی نر ۱۲-۱۰ هفته ای و با وزن تقریبی  $216 \pm 13$  گرم به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. موش های گروه تجربی مدت ۸ هفته، ۵ روز در هفته، با سرعت متوسط ۲۸ متر در دقیقه (شیب صفر درجه) و به مدت ۶۰ دقیقه، روی نوار گردان (ساخت ایران، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان) تمرین داده شدند. از این مرحله به بعد، طبق یک پروتکل تمرینی فزاینده، موش های گروه تجربی، هر هفته ۵ روز متوالی، هر روز یک جلسه و هر جلسه ۶۰ دقیقه روی نوارگردان دویدند. به طوری که در هفته اول با

جدول شماره ۱: پرایمرهای طراحی شده

نام پرایمر	توالی پرایمر	دمای ذوب (°c)	طول محصول PCR
Apelin	F 5'-TGC TCT GGC TCT CCT TGA CT-3'	۵۳/۷	۱۹۰ (bp)
	R 5'-ATG GGT CCC TTA TGG GAG AG-3'	۵۴	
β-actin	F 5 GGAGAAGATTTGGCACCACAC 3	۵۵/۶	۱۶۴ (bp)
	R 5 GGATGGCTACGTACATGGCTG 3	۵۵/۶	

تیوب های ۱-۸ از تیوب های ۸ تایی Real-time PCR که هر کدام حاوی ۱۰ میکرولیتر SYBER Green، ۰/۸ میکرولیتر پرایمر پیشرو ۰/۸ میکرولیتر پرایمر برگشت و ۶/۴ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بودند، اضافه گردید و به منظور تهیه کنترل برای واکنش Real-time PCR به تیوب دیگری، به جای cDNA آب دو بار تقطیر اضافه گردید. (بنابراین غلظت های cDNA بکار رفته شامل ۰/۰۱ و ۱/۱ نانوگرم در هر ۲ میکرولیتر از نمونه cDNA استفاده شده می باشد). سپس با توجه به Ct و پیک های به دست آمده و همچنین با مشاهده باندهای ایجاد شده روی ژل آگارز حاصل از الکتروفورز نهایتاً رقت مناسب (۰/۰۱) به میزان ۲ میکرولیتر برای Real-time PCR به کار گرفته شد. در این تحقیق برای انجام واکنش Real-time PCR از دستگاه Chromo 4 ساخت کشور آلمان و ترکیب تشخیصی SYBR-Green محصول شرکت تجاری TakaRa استفاده شد.

پس از پایان واکنش و تعیین خط آستانه، سیکل آستانه (Ct) هر نمونه بدست آمد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن خانه گردان میزان بیان نسبی ژن اپلین از روش  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  به طریق زیر بدست آمد. ابتدا سیکل آستانه ژن مورد نظر هر نمونه از سیکل آستانه ژن خانه گردان همان نمونه کم گردید.

$$A = \Delta Ct = Ct_{Target} - Ct_{Housekeeping}$$

در مرحله بعد  $\Delta Ct$  هر نمونه تمرین یافته از نمونه

کنترل (شاهد) کم گردیده و منفی عدد بدست آمده را به توان ۲ رسانده و بیان نسبی ژن اپلین را بدست آوردیم.

$$B = \Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{Target} - \Delta Ct_{Reference}$$

$$C = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

در نهایت با استفاده از نتایج بدست آمده،

پروفایل مربوط به بیان ژن اپلین نسبت به ژن  $\beta$ -actin ترسیم شد. دربخش آمار توصیفی برای توصیف داده ها از شاخص های گرایش مرکزی و انحراف استاندارد استفاده شد. برای بررسی اثر تمرین بر متغیر وابسته از آزمون  $t$  مستقل استفاده شد. اطلاعات با استفاده از

مراحل PCR شامل: ۱) واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه؛ ۲) ۳۵ مرتبه استفاده از دماهای مختلف که به ترتیب شامل a) واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، b) اتصال در دمای مناسب برای هر پرایمر (۵۴ درجه سانتی گراد) به مدت ۳۰ ثانیه، c) طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه؛ ۳) طویل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود. به محتویات ویال های حاصل از تیمار با DNase I، ۱ میکرولیتر همگزامرهای تصادفی اضافه و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. ترکیبات زیر به هر ویال اضافه شد.

Reaction buffer (5X):	4 $\mu$ l
Ribonuclease inhibitor (20u/ $\mu$ l):	1 $\mu$ l
10mM dNTP Mix:	2 $\mu$ l
Revert Aid M-MuLV Reverse Transcriptase:	1 $\mu$ l

۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد انکوبه و برای غیر فعال کردن آنزیم رونوشت بردار معکوس ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد انکوبه شدند (توسط دستگاه ترموسایکلر TaKaRa).

محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل ۱/۵٪ آگارز بررسی شدند.

برای انجام Real-time PCR باید بهترین رقت cDNA برآورد شود. برای تعیین بهترین غلظت نمونه مورد استفاده از ژن های مورد مطالعه، ۴ غلظت مختلف از cDNA مربوط به یکی از نمونه ها تهیه شد (نمونه cDNA با غلظت اولیه، نمونه با غلظت های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱). سری رقت ها به صورت ذیل آماده شدند:

تیوب اول منبع cDNA بود و تیوب دوم حاوی ۲ میکرولیتر از نمونه ی منبع و ۱۸ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، تیوب سوم ۲ میکرولیتر از تیوب دوم و ۱۸ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، تیوب چهارم ۲ میکرولیتر از تیوب سوم و ۱۸ میکرولیتر آب دو بار تقطیر. از هر یک از ۴ تیوب فوق به صورت دو بار تکرار ۲ میکرولیتر به

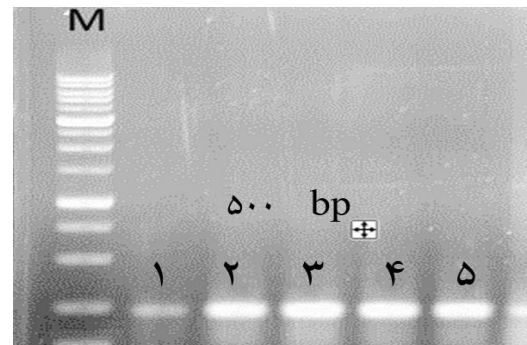
نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری  $\alpha=0/05$  در نظر گرفته شد و برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد.

### بحث:

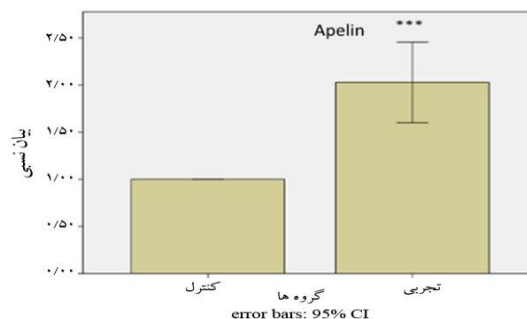
از یافته‌های مهم این پژوهش مشاهده بیان ژن اپلین در گروه تجربی بود. با اینکه در مطالعات زیادی فعالیت بدنی منظم به عنوان یک طرح در پیشگیری بیماری‌های قلبی عروقی در بسیاری از مطالعات، مورد تأیید قرار گرفته است اما به نظر می‌رسد که تا کنون مطالعه ورزشی اندکی، تأثیر تمرینات استقامتی بر بیان ژن اپلین قلبی را به ویژه در موش‌های صحرایی نر سالم انجام داده است، و به نظر می‌رسد که این پژوهش جزو معدود پژوهش‌ها در راستای بیان ژن اپلین قلبی رت‌های سالم خصوصاً برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی ناشی از پرفشار خونی یا چاقی، از طریق تأثیر تمرین هوازی بر سیستم آپلینژیک قلبی می‌باشد. در نتیجه این پژوهش بر آن شدیم تا از تمرینات استقامتی به جای تمرینات شدید برای بهبود سلامت قلب استفاده کنیم چرا که همانطور که مطالعات نشان داده اند تمرینات استقامتی جزو تمریناتی است که در کاهش مقاومت به انسولین، بهبود متابولیسم گلوکز، افزایش آنزیم‌های هوازی و بی‌هوازی، بهبود تناسب اندام، افزایش اکسیداسیون چربی نقش بسزایی دارد. بر این اساس می‌توان عنوان نمود که تمرینات هوازی با صرف زمان کمتر نسبت به کارهای درمانی، کارایی بیشتری داشته باشد. با وجود این، اثر تمرین هوازی بر اپلین قلبی کاملاً مشخص نبود تا اینکه در سال ۲۰۰۶ اولین پژوهش را در این زمینه انجام شد که اثر ۹ هفته تمرین شنا (شش جلسه در هفته و هر جلسه ۶۰ دقیقه) را بر APJ و اپلین در بافت‌های قلبی - عروقی موش‌های مبتلا به پرفشار خونی بررسی کردند و نشان دادند تمرین شنا در موش‌های مبتلا به پرفشار خونی باعث کاهش فشار خون سیستمیک و افزایش اپلین و APJ در بافت‌های قلبی - عروقی شده است (۹،۸). در پژوهش آن‌ها سازگاری پپتید اپلین در مدت ۹ هفته تمرین شنا و در سطح خون بررسی شده ولی در مطالعه

### یافته‌ها:

در تصویر شماره ۱ باندهای ژن اپلین در چند نمونه از گروه تجربی مشاهده می‌شود و نشان می‌دهد که آغازگرهای طراحی شده برای ژن اپلین اختصاصی برای این ژن است. با استفاده از تکنیک Real time PCR بیان ژن  $\beta$ -actin و Apelin مورد بررسی قرار گرفت. سپس میزان بیان mRNA ژن اپلین نسبت به ژن  $\beta$ -actin محاسبه شد. نتایج به روشی نشان می‌دهد که بیان ژن Apelin پس از ۸ هفته تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار (۲ برابر) یافته است (نمودار شماره ۱).



تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات PCR در ۵ نمونه گروه تجربی، M مارکر (Fermentas Ladder 100 bp)



نمودار شماره ۱: درصد بیان نسبی ژن اپلین نسبت

به ژن بتا اکتین در گروه‌های تجربی و کنترل  
\*\*\* تفاوت معنی دار گروه تجربی با گروه کنترل ( $P < 0.05$ ).

اپلین باعث بهبود سیستم حفاظت قلبی می گردد. هر چند مطالعات متعددی اثر تمرینات منظم ورزشی را بر جلوگیری از وقوع پرفشار خونی یا برگشت پرفشار خونی اکتسابی نشان داده‌اند، ساز و کارهای ویژه ای که در آن فعالیت بدنی باعث بهبود وضعیت دستگاه آپلینژیک قلب برای پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی ناشی از پرفشار خونی و چاقی شود، کاملاً مشخص نیست. فعالیت بدنی به عنوان یک محرک از طریق تحریک دستگاه قلبی عروقی سبب تحریک اپلین، سپس فعال شدن گیرنده مربوط به آن می شود (۱۳). اپلین به گیرنده خود متصل می شود، فسفو اینوزیتید از طریق فعالسازی Akt (از خانواده پروتئین کیناز B است به عنوان واسطه اصلی PIP3 شناخته شده است)، سبب فسفریله شدن eNOS می شود، سپس از طریق ال-آرژنین سبب انتشار نیتریک اکسید (NO) می شود. در ادامه، NO موجب افزایش مقدار گوانوزین منوفسفات حلقوی (cGMP) شده که در نتیجه گشاد شدن عروق رخ می دهد (۱۴، ۱۵). در سال ۲۰۱۳ اثرات تمرین ورزشی و یک نوع عصاره گیاهی را روی اپلین بافت قلب و کلیه در اثر تحریک نیترول-آرژنین متیل استر (L-NAME) در موش های صحرایی آزمایش کرده اند. این محققین افزایش در اپلین و NO در قلب و کلیه، و کاهش معنی دار در آنزیم مهار کننده آنژیوتانسین (ACE) را در مقایسه با گروه (L-NAME) مشاهده کردند (۱۰).

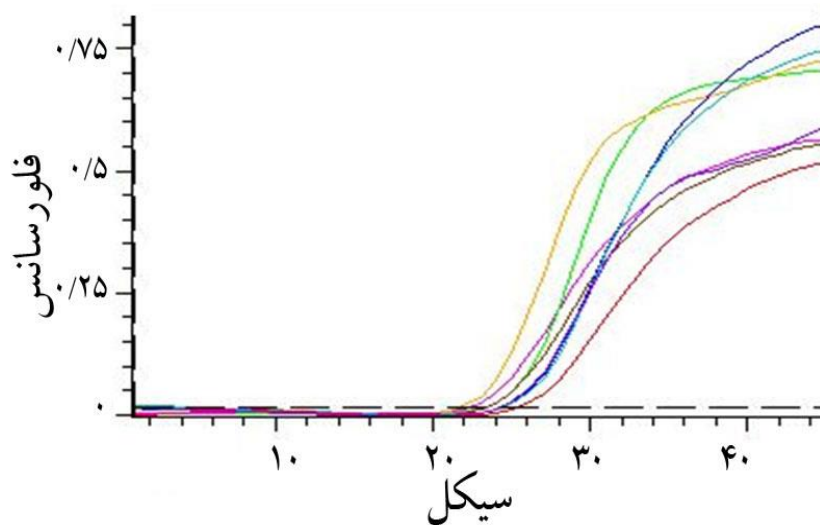
### نتیجه گیری:

در نهایت اگرچه تحقیقات نشان داده اند که فعالیت بدنی می تواند منجر به بهبود بیماری های قلبی شود اما تعداد تحقیقاتی که تاثیر فعالیت بدنی بر بیان ژن اپلین را بررسی کرده باشند بسیار محدود است. با توجه به اهمیت ژن اپلین در حفاظت سیستم قلبی، این تحقیق به مطالعه ی بیان این ژن توسط فعالیت بدنی پرداخت. همان طور که از نتایج مطالعه مشخص است بیان ژن اپلین پس از تمرین استقامتی با

حاضر بررسی پاسخ این پپتید در ۸ هفته فعالیت استقامتی بوده است، با اینکه نتایج این پژوهش با آن‌ها تشابه دارد، اما تحقیق آن‌ها بر روی موش های صحرایی پرفشار خونی انجام گرفت، در حالی که در مطالعه حاضر بررسی بیان ژن اپلین در بافت قلب رت های سالم صورت گرفت. گزارش شده است که مکانیسم همودینامیک اپلین از طریق تولید نیتریک اکسید می باشد. تحریک اپلین بر خلاف *in vivo* از طریق پیش درمانی با تزریق مهارکننده NO سنتتاز، N-Omega-Nitro-L-Arginine-methyl-ester (L-NAME) پاسخ شدیدی را در موش های صحرایی ایجاد می کند (۱۰). در سال ۲۰۰۹ پس از بررسی پاسخ اپلین به فعالیت پس از اعمال یک برنامه تمرین شای یک ساعته در موش های سالم، به این نتیجه رسیدند که در مقایسه با گروه کنترل و وضعیت پایه، میزان mRNA اپلین بافت قلبی و پلاسمایی در پاسخ به ورزش، ۴ برابر افزایش می یابد و این افزایش تا ۲۴ ساعت پس از ورزش بالا باقی می ماند، در حالی که سطوح پلاسمایی اپلین عضله اسکلتی در پی یک نوبت ورزش کوتاه مدت هیچ تغییر معنی داری نداشت (۱۱، ۱۲). پژوهش حاضر در راستای اثر ورزش بر افزایش بیان اپلین با نتایج آنها همسو می باشد با این تفاوت که بیان اپلین در عضله اسکلتی بررسی نشد. دیدی روشن و همکاران در تحقیقی که روی موش های صحرایی نر انجام دادند، اثر همزمان تمرین هوازی و مکمل گیاهی باریجه را بر تغییرات دستگاه حفاظت قلبی طی پرفشار خونی ناشی از نیترول-آرژنین متیل استر (L-NAME) آزمایش نمودند. در پژوهش آن‌ها مشخص شد تزریق هشت هفته محلول نیترول-آرژنین متیل استراز باعث ایجاد پرفشار خونی مزمن و همچنین تنظیم منفی مقادیر اپلین قلبی و گیرنده ی آن (APJ) از طریق کاهش ACE-I می شود. در مقابل، اجرای پروتکول ترکیبی تمرینات هوازی و مکمل باریجه باعث مهار اثرات زیان بار پرفشار خونی بر دستگاه حفاظت قلبی شد (۱۰). همسو با نتایج آن‌ها به این مهم دست یافتیم که تمرین هوازی از طریق افزایش

تابش شده، برای هر نمونه یک منحنی جداگانه و به رنگ متفاوت رسم می‌کند که در نهایت با توجه به Ct منحنی و مقایسه Ct های گروه‌ها و ژن‌ها با یکدیگر می‌توان افزایش یا کاهش بیان ژن مورد نظر را بررسی نمود. به عنوان نمونه در تصویر شماره ۲، ۴ منحنی مربوط به ژن اپلین در گروه تجربی، ۴ منحنی متناظر از ژن خانه‌گردان  $\beta$ -actin نمایش داده شده است.

شدت متوسط افزایش یافت. اما تأثیر تمرین استقامتی با شدت کمتر یا بیشتر از مقدار مورد نظر در این تحقیق، نیاز به انجام مطالعاتی در آینده دارد. نتایج ثبت شده توسط دستگاه Real-time PCR در پایان کار به شرح ذیل است:  
دستگاه Real-time PCR از طریق نرم افزار opticon monitor 3 بر اساس شدت فلورسنس



تصویر شماره ۲: نمایش منحنی‌های Real-time PCR مربوط به ژن اپلین و ژن خانه‌گردان  $\beta$ -actin به ترتیب از راست به چپ سه نمودار اول مربوط به  $\beta$ -actin و نمودارهای بعدی مربوط به اپلین.

### تشکر و قدردانی:

دستورالعمل‌های آزمایش‌های بیان ژن و آشناسازی با دستگاه‌های آزمایشگاه سلولی مولکولی، نیز از مدیریت دانشکده علوم به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات و وسایل آزمایشگاهی کمال سپاس و تشکر را می‌نمایند.

موضوع پروپوزال این پایان‌نامه در تاریخ ۹۲/۱۲/۲۰ با شماره ۸۵۲ در دانشکده تربیت بدنی دانشگاه اصفهان به تصویب رسید. ضمناً نویسندگان این مقاله از خانم نرگس آبرویی و آقای احمد شیخی به دلیل آموزش نحوه انجام

### منابع:

1. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2011; 32(23): 2999-3054.
2. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. Biochem Biophys Res Commun. 1998; 251(2): 471-6.

3. Koguchi W, Kobayashi N, Takeshima H, Ishikawa M, Sugiyama F, Ishimitsu T. Cardioprotective effect of apelin-13 on cardiac performance and remodeling in end-stage heart failure. *Circ J*. 2012; 76(1): 137-44.
4. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001; 99(2-3): 87-92.
5. Chandra SM, Razavi H, Kim J, Agrawal R, Kundu RK, de Jesus Perez V, et al. Disruption of the apelin-APJ system worsens hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31(4): 814-20.
6. Gaeini, AA. Shabani, R. Comparison of response to cardiac rehabilitation program (concurrent resistance and endurance training) in men and women with coronary artery disease. *Guilan Univ Med Sci*. 2010; 19(74): 48-57.
7. Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol*. 1993; 265(6 Pt 2): H2094-8.
8. Zhang J, Ren CX, Qi YF, Lou LX, Chen L, Zhang LK, et al. Exercise training promotes expression of apelin and APJ of cardiovascular tissues in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 2006; 79(12): 1153-9.
9. Sheybani S, Shemshaki A, Hanachi P. The effect of rast exercise on plasma levels of apelin and blood pressure in elite women runner. *Qom Univ Med Sci J*. : 2012; 6(3):27-31.
10. Mahmoodi AA, Dabidi-Roshan V, Gharakhanlou R, Hedayati M. Effects of exercise and ferula gummosa on apelin of cardiac and kidney tissues in L-NAME induced hypertension in rats. *Iranian J Health and Physical activity*. 2013; 4(2): 42-50.
11. Wright D, Sutherland L. Exercise increases apelin expression in white adipose tissue: 646: May 27 3: 15 PM-3: 30 PM. *Sci Sports Exerc*. 2009; 41(5): 38.
12. Castan-Laurell I, Dray C, Knauf C, Kunduzova O, Valet P. Apelin, a promising target for type 2 diabetes treatment? *Trends Endocrinol Metab*. 2012; 23(5): 234-41.
13. Szokodi I, Tavi P, Foldes G, Voutilainen-Myllyla S, Ilves M, Tokola H, et al. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*. 2002; 91(5): 434-40.
14. Modgil A, Guo L, O'Rourke ST, Sun C. Apelin-13 inhibits large-conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in cerebral artery smooth muscle cells via a PI3-kinase dependent mechanism. *PLoS One*. 2013; 8(12): e83051.
15. Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol*. 2001; 132(6): 1255-60.

## The effect of endurance training on the cardiac apelin gene expression in Wistar male rats

Bayat H<sup>1</sup>, Kazeminasab F<sup>1</sup>, Bambaiechi E<sup>1</sup>, Marandi SM<sup>1</sup>, Ghaedi K<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Exercise Physiology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; <sup>2</sup>Biology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 7/Feb/2015 Accepted: 31/Oct/2015

**Background and aims:** Apelin is a protein which is expressed in myocardia cardiac tissue of mammals, as well as coronary artery, aorta and saphenous vein. Apelin has various cardiovascular functions and causes hypertension reduction. The aim of this study was to investigate the effect of endurance training on the cardiac apelin gene expression in left ventricular in Wistar male rats.

**Methods:** In the current experimental study, 12 male Wistar rats were divided into control group and training groups. Training group was received exercise on a motor-driven treadmill at 28 m/min (0% grade) for 60 min/day, 5 days/week for 8 weeks. 24 hours after the last exercise session, the rats were anesthetized. After cutting chest, a part of heart tissue was separated. The RNA from each sample was converted into cDNA. Calculated relative expression of the interested gene was obtained. By dividing threshold of the gene to the cycle threshold of the house keeping gene, relative expression of the gene was calculated by  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  equation. All data was analyzed statistically by independent t-test.

**Results:** Data showed significant increase in the expression of Apelin in exercised group compared to control group after 8-week training ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Endurance exercise has had a positive increase in Apelin expression and might be effective to prevent cardiovascular diseases.

**Keywords:** Endurance training, Heart, Gene expression, Apelin.

**Cite this article as:** Bayat H, Kazeminasab F, Bambaiechi E, Marandi SM, Ghaedi K. The effect of endurance training on the cardiac apelin gene expression in Wistar male rats. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(2): 46-53.

---

**\*Corresponding author:**

Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00983137932479,  
E-mail: karmanghaedi@sci.ui.ac.ir