

Research Paper

The effect of different acute exercises on the expression of genes responsible for cardiac conduction in elderly rats

 Zahra Amraei¹,  Sajad Ahmadizad²,  Rana Fayaz Milani³,  Ulrik Wisloff⁴

Received: Aug 14, 2025

Revised: Oct 18, 2025

Accepted: Oct 18, 2025

Article info

1. PhD Student in Exercise Physiology, Faculty of Sport and Health Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
2. Professor at Faculty of Sport and Health Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor at Faculty of Sport and Health Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
4. Professor at Department of Circulation and Medical Imaging, Faculty of Medicine and Health Sciences, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway.

*Corresponding Author Address:

Faculty of Sport and Health Sciences,
Shahid Beheshti University, Tehran,
Iran;

Email: s_ahmadizad@sbu.ac.ir

Extended Abstract

Background and Aim: Aging is a significant risk factor for the development of cardiac conduction disorders like arrhythmia. It impairs cardiac conduction by disrupting the electrical conduction channels in the heart. Among the most evident physiological changes associated with aging are the morphological alterations in the cardiovascular system. Unfortunately, these changes diminish the overall function of the cardiovascular system, particularly affecting the cardiac conduction system in elderly individuals.

Numerous studies have shown that the function of these channels and connexins is regulated by various genes, including GATA transcription factor 4 (GATA4), protein kinase B (AKT), myocytes enhancer factor type 2C (MEF2C), and T-box transcription factor 5 (Tbx5). Additionally, research suggests that physical activity and exercise can mitigate the progression of cardiac conduction disorders in aging individuals.. The aim of this study was to investigate the effect of different acute exercises on the expression of genes responsible for cardiac conduction in elderly rats.

Materials and Methods: Twenty-four old male Wister rats (23 months, weigh 465±45 g) were recruited and divided into four groups (each group consist of six elderly rats), include of control, moderate intensity continuous exercise (MICE), high intensity interval exercise-low volume (HIIE-LV), and high intensity interval exercise-high volume (HIIE-HV) groups. Rats were maintained under controlled conditions with 75–85% humidity, 23±2°C temperature, and a 12-h light–dark cycle.

Prior to the commencement of the study, ethical approval was obtained from the Ethics

Cite this article:

Amraei Z, Ahmadizad S, Fayaz Milani R, Wisloff U. The effect of different acute exercises on the expression of genes responsible for cardiac conduction in elderly rats. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*. 2025;13(36):88-101. <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2025.9930.1995>



Committee for Biological Research at Shahid Beheshti University. All rats underwent a familiarization protocol to acclimate them to the pool and the exercise regimen. This protocol involved placing the rats in shallow water at 32°C for three consecutive days, with each session lasting 10 minutes.

Following the familiarization phase, the maximum exercise load for each rat was individually determined to establish exercise intensity and workload. To assess the maximum exercise load, a metal weight equivalent to 5% of the rat's body weight was attached to the end of their tails using leucoplast tape. After a warm-up period, the workload was increased by 1 g every five minutes of swimming until the rats reached exhaustion. The maximum exercise load was defined as the highest load the rats could carry until exhaustion.

The MICE protocol consisted of 35 min swimming at 65% of maximal workload. The HIIE-HV consisted of 35 min interval swimming encompassed five sets of four min swimming at 85% of maximal workload and three min of passive recovery. The HIIE-LV consisted of seven min interval swimming encompassed 14 sets of 30 s swimming at 110 % of maximal workload interspersed by 30 s of passive recovery. After exercise sessions, all rats were anesthetized and sacrificed. SA and AV node tissue was used to examine the expression of GATA4, AKT, MEF2C, and Tbx5. Real-Time Quantitative PCR was used to analyses gene expression. For data analysis, One-way ANOVA and Tukey post hoc tests were utilized at $p < 0.05$ level.

Results: Analysis of the data revealed that the expression of AKT1 ($p=0.001$ in the SA node and $p=0.001$ in the AV node), GATA4 ($p=0.001$ in both nodes), MEF2C ($p=0.01$ in the SA node and $p=0.001$ in the AV node), and Tbx5 ($p=0.001$ in both nodes) genes increased significantly after HIIE-HV compared to the control group.

In the SA node, the expression of AKT1 ($p=0.01$), GATA4 ($p=0.005$), and Tbx5 ($p=0.009$) genes also increased significantly after HIIE-LV compared to the control group. However, the expression of AKT1 ($p=0.43$), GATA4 ($p=0.21$), Tbx5 ($p=0.19$), and MEF2C ($p=0.44$) genes in the AV node did not change significantly.

In response to MICE, the expression of AKT1 ($p=0.29$ in the SA node and $p=0.11$ in the AV node), GATA4 ($p=0.15$ in the SA node and $p=0.72$ in the AV node), MEF2C ($p=0.31$ in the SA node and $p=0.85$ in the AV node), and Tbx5 ($p=0.98$ in the SA node and $p=0.84$ in the AV node) did not change significantly in either the SA or AV nodes (Table 1).

Table 1. Results of One-way ANOVA test on expression of AKT1, GATA4, MEF2C, and Tbx5 in SA and AV node

Genes	Tissue	Control	MICE				HIIE-LV			HIIE-HV		
	type	mean± SD	mean± SD	MD	p	mean± SD	MD	p	mean± SD	MD	p	
AKT1	SA node	1.03±0.28	2.93±1.67	1.9	0.29	4.46±2	1.53	0.01*	6.52±1.9	3.59	0.001*	
	AV node	1.04±0.35	1.06±0.12	0.02	0.11	1.4±0.21	0.34	0.43	2.42±0.59	1.36	0.001*	
GATA4	SA node	1.01±0.22	2.72±0.65	1.71	0.15	4.1±0.98	1.38	0.005*	6.7±2.09	3.98	0.001*	
	AV node	1.01±0.18	1.77±0.4	0.76	0.72	2.49±0.41	0.72	0.21	5.57±2.21	3.8	0.001*	
MEF2C	SA node	1.02±0.27	4.32±3	3.3	0.31	4.7±1.06	0.38	0.23	7.28±4.86	2.96	0.01*	
	AV node	1.11±0.44	2.71±0.72	1.6	0.85	4.15±1.07	1.44	0.44	10.31±6.16	7.6	0.001*	
Tbx5	SA node	1.03±0.3	1.4±0.19	0.37	0.98	4.81±2.77	3.41	0.009*	11.52±1.52	10.12	0.001*	
	AV node	1.02±0.24	1.67±0.24	0.65	0.84	2.66±0.36	0.99	0.19	7.49±2.4	5.82	0.001*	

*Significant difference compared to the control group, $p < 0.05$. AKT: Protein kinase B; GATA4: Transcription factor GATA4; MEF2C: Myocyte specific enhancer factor 2C; Tbx5: T-box transcription factor 5; MICE: moderate intensity continuous exercise; HIIE-HV: high intensity interval exercise – high volume; HIIE-LV: high intensity interval exercise – low volume; SA node: sinoatrial node; AV node: atrioventricular node.

Conclusion: The HIIE-LV and HIIE-HV significantly increase the expression of genes related to cardiac conduction in elderly rats compared to MICE. This increase may enhance the function of the cardiac electrical conduction system, improve arrhythmias, and reduce mortality in elderly individuals by activating various molecular and cellular signaling pathways. Despite the limited information available on the signals associated with cardiac conduction and exercise, it appears that calcium-related mechanisms (such as calcium calmodulin and protein kinase C), mechanisms related to the tension-stretch of the atrial and ventricular walls during diastolic filling (increased preload and activation of focal adhesion kinase, FAK), and mechanisms related to cellular metabolism (protein kinase A and cyclic AMP, cAMP) are likely candidates for mediating the expression of cardiac conduction genes in response to exercise. Additionally, this study found that the expression of genes related to cardiac conduction in the SA node increased significantly even with intense exercise of short duration (seven minutes). In contrast, in the AV node, the expression of these genes increased significantly only with prolonged intense exercise. Although a specific mechanism explaining the differential expression of these genes in the SA and AV nodes has not yet been proposed, it is suggested that the varying degrees of stimulation from the autonomic nervous system (including parasympathetic inhibition and sympathetic activation) may contribute to these differences.

Key words: Continuous swimming, Interval swimming, Aging, Cardiac conduction, Cardiac gene expression.

Ethical Considerations: This study was conducted based on the ethical guidelines for animal studies. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Shahid Beheshti University Ethics Code: IR.SBU.REC.1403.134.

Compliance with Ethical Guidelines: Throughout all stages of the present study, all ethical principles for working with laboratory animals were observed following the NIH, IASP, and ARRIVE guidelines for the care and use of laboratory animals.

Funding: This study received no funding from public, commercial, or nonprofit organizations.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

تأثیر انواع فعالیت ورزشی بر بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در رت‌های سالمند

زهرا امرائی^۱، سجاد احمدی زاد^۲، رعنا فیاض میلانی^۳، الریک ویسلوف^۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۳

اطلاعات مقاله

چکیده

زمینه و هدف: در دوران سالمندی مشکلات هدایت قلبی و آریتمی، یکی از علل اصلی مرگ و میر در این افراد است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر انواع فعالیت ورزشی بر بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در رت‌های سالمند بود. **روش تحقیق:** آزمودنی‌های این مطالعه ۲۴ سر رت نر و بیستار ۲۳ ماهه با وزن 45 ± 4.5 گرم بودند که پس از تعیین حداکثر بار فعالیت، به‌طور تصادفی در چهار گروه مساوی (هر گروه شش سر) شامل کنترل، فعالیت شنای تداومی با شدت متوسط (MICE)، فعالیت شنای تناوبی با شدت بالا (HIIE-HV) و فعالیت شنای تناوبی با شدت بالا و حجم کم (HIIE-LV) قرار گرفتند. بعد از اتمام فعالیت، رت‌ها سریعاً بیهوش و تشریح شدند. بافت گره‌های SA و AV قلبی برای بیان ژن‌های عامل^۴ رونویسی GATA (GATA4)، پروتئین کیناز B (AKT)، عامل پیش برنده میوسیت C₂ (MEF2C) و عامل ۵ رونویسی T-box (Tbx5) مورد استفاده قرار گرفت. به منظور بررسی بیان ژن‌های مذکور از روش آزمایشگاهی Real-time PCR استفاده شد. برای بررسی نتایج از آزمون تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح $p < 0.05$ استفاده شد. **یافته‌ها:** تحلیل داده‌ها نشان داد HIIE-HV در گره SA و AV باعث افزایش معنی دار بیان ژن‌های AKT1 (به ترتیب با $p = 0.001$ و $p = 0.001$)، GATA4 (به ترتیب با $p = 0.001$ و $p = 0.001$)، MEF2C (به ترتیب با $p = 0.001$ و $p = 0.001$) و Tbx5 (به ترتیب با $p = 0.001$ و $p = 0.001$) شد. HIIE-LV فقط در گره SA باعث افزایش معنی بیان ژن‌های AKT1 ($p = 0.001$)، GATA4 ($p = 0.005$) و Tbx5 ($p = 0.009$) شد؛ در حالیکه بیان ژن‌های AKT1 ($p = 0.043$)، GATA4 ($p = 0.021$)، Tbx5 ($p = 0.019$) و MEF2C ($p = 0.044$) در گره AV تغییر معنی داری نداشت. هم چنین در پاسخ به MICE، در گره SA و AV بیان ژن‌های AKT1 (به ترتیب با $p = 0.011$ و $p = 0.011$)، GATA4 (به ترتیب با $p = 0.015$ و $p = 0.072$)، MEF2C (به ترتیب با $p = 0.031$ و $p = 0.085$) و Tbx5 (به ترتیب با $p = 0.098$ و $p = 0.084$) تغییر معنی داری نداشت. **نتیجه گیری:** تحقیق حاضر نشان داد HIIE-HV و HIIE-LV نسبت MICE می تواند باعث افزایش معنی دار بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در رت‌های سالمند شود و این تغییرات می تواند باعث ارتقاء عملکرد سیستم هدایت الکتریکی قلب، بهبود آریتمی و کاهش مرگ و میر در افراد سالمند شود.

واژه های کلیدی: شنای تداومی، شنای تناوبی، سالمندی، هدایت قلبی، بیان ژن های قلبی.

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲. استاد گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴. استاد گروه گردش خون و تصویربرداری پزشکی، دانشکده پزشکی و علوم بهداشت، دانشگاه علم و صنعت نیروژ (UNTN)، تروندهایم، نیروژ.

*آدرس نویسنده مسئول:
تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم ورزشی و تندرستی، گروه فیزیولوژی ورزشی؛
پست الکترونیک:

s_ahmadizad@sbu.ac.ir

مقدمه

سالمندی یکی از چالش‌های مهم حوزه سلامت است که در دو دهه اخیر نیز افزایش تصاعدی نرخ آن باعث ایجاد یک نگرانی قابل توجه در زمینه سلامت و اقتصاد جامعه جهانی شده است. با افزایش سالمندی، مشکلات سلامتی ناشی از افزایش سن هم چون ناکارآمدی سیستم قلبی - عروقی، ناکارآمدی سیستم تنفسی و عصبی - عضلانی، باعث کاهش کیفیت زندگی و افزایش مرگ و میر می‌شود (۱). از مهم ترین بیماری‌های قلبی - عروقی ناشی از سن، می‌توان به فیبریلاسیون دهلیزی، نارسایی قلبی، اختلال عملکرد عروقی (سفتی عروق و پرفشار خونی)، اختلالات ریتم و هدایت قلبی (تاکی کاردی^۱، برادی کاردی^۲ و سندروم سینویس بیمار^۳) و سنکوپ اشاره کرد (۲). هدایت قلبی در گره سینوسی - دهلیزی (SA) و دهلیزی - بطنی (AV) به دو صورت سریع و آهسته انجام می‌شود که توسط کانال‌های یونی از جمله کانال دریچه دار نوکلئوتید حلقوی فعال شده با هایپرپلاریزاسیون^۴ (HCN4)، کانال پروتئینی سدیم زیر واحد ۵ و ۱۰^۵ (SCN5A) و اتصالات شکاف دار ویژه ای به نام کانکسین^۶ (Cx) کنترل می‌شود (۳-۵). در دوران سالمندی عوامل فیزیولوژیکی زیادی باعث اختلال در هدایت الکتریکی در گره‌های قلبی می‌شوند که از مهم ترین و اصلی ترین این عوامل، می‌توان به کاهش تعداد کانال‌های یونی و کانکسین‌ها، افزایش بیش از حد رسوب چربی و فیبروبلاست‌ها در گره‌ها، و افزایش کنترل نشده تولید گونه های فعال اکسیژن (آسیب مستقیم به DNA، غشای سلولی و اندامک‌ها) اشاره نمود (۲، ۶). مطالعات زیادی نشان داده اند عملکرد این کانال‌ها و کانکسین‌ها توسط ژن‌های مختلفی از جمله عامل-۴ رونویسی GATA^۷ (GATA4)، پروتئین کیناز B^۸ (AKT)، عامل پیشبرنده میوسیت نوع ۲C^۹ (MEF2C) و عامل ۵ رونویسی T-box^{۱۰} (Tbx5) تنظیم می‌شود (۷-۱۰). عوامل مختلفی می‌تواند بر عملکرد ژن‌های مرتبط با هدایت الکتریکی قلب تأثیر بگذارند که

فعالیت ورزشی، سبک زندگی، تغذیه، جنسیت و افزایش سن؛ از اثرگذارترین عوامل دخیل در این امر هستند (۱۴-۱۱). متأسفانه اطلاعات اندکی در مورد تأثیر فعالیت ورزشی بر ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در دسترس است. مطالعات محدودی نشان داده اند که فعالیت ورزشی با شدت بالا نسبت به فعالیت ورزشی با شدت متوسط، باعث افزایش معنی‌دار سطوح عوامل بالا دست ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی از جمله WNT^{۱۱}، Nkx2.5^{۱۲}، CaMK^{۱۳}، HDACs^{۱۴}، PKA^{۱۵}، MAPK^{۱۶} و NFAT^{۱۷} می‌شود (۱-۱۲). ژن MEF2C یکی از ژن‌های اصلی در تنظیم عملکرد و ساختار کانکسین‌ها و کانال‌های هدایت پیام است که تحت تأثیر عوامل بالا دستی همچون کیناز چسبان کانونی^{۱۸} (FAK)، مسیر سیگنالینگ Ca^{۲+}، مسیر سیگنالینگ MAPK، مسیر سیگنالینگ WNT، مسیر سیگنالینگ PI3K/AKT^{۱۹}، خانواده هیستون داستیلازها، PKA^{۲۰} و PGC1α^{۲۱} قرار دارند (۱۸-۱۶). جالب آنکه اکثر مطالعات نشان داده اند فعالیت ورزشی استقامتی با پروتکل‌ها، شدت‌ها و مدت‌های مختلف؛ همه این مسیرهای سیگنالی را تحریک می‌کند. با توجه به همه این موارد، حتی اگر همه سیگنال‌های متابولیکی و هورمونی نتوانند بر بیان این ژن تأثیر بگذارند، کشش حفره‌های دهلیزی و بطنی در طول دیاستول، به دلیل افزایش پیش‌بار در حین فعالیت، سیگنال FAK را تحریک و فعال می‌کند که خود یکی از عوامل قدرتمند بالا دست MEF2C است (۱۹). علاوه بر این، FAK به MEF2C متصل می‌شود و یک کمپلکس سه‌گانه با DNA تشکیل می‌دهد و بیان ژن را در بافت قلب افزایش می‌دهد. شواهد جدید نشان داده که FAK با دخالت در عملکرد عامل های رونویسی خاص، مانند p53 و GATA4، و با کنترل ساختار کروماتین، در کنترل بیان ژن و بقای سلول نقش دارد (۱۸). دیگر ژن اصلی مرتبط با هدایت قلبی، GATA4 است که Cx30، Cx40 و چندین تقویت‌کننده کانال دهلیزی - بطنی را فعال می‌کند (۹). عوامل بالادست GATA4 شامل Nkx2-5، GATA6، عامل پاسخ

1. Tachycardia

2. Bradycardia

3. Sick sinus syndrome

4. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 4

5. Sodium channel protein type 5 and 10 subunit

6. Connexin

7. Transcription factor 4 GATA

8. Protein kinase B

9. Myocyte specific enhancer factor 2C

10. T-box transcription factor 5

11. Wingless/Integrated

12. NK2 homeobox 5

13. Calcium/Calmodulin-dependent protein kinase

14. Histone deacetylases

15. Protein kinase A

16. Mitogen activated protein kinase

17. Nuclear factor of activated T cells

18. Focal adhesion kinase

19. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT

20. Protein kinase A

21. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

و کمتر مطالعه ای به بررسی بیان ژن‌های مذکور در بافت گره‌های SA و AV افراد سالمند و بویژه در بافت‌های مختلف قلب در پاسخ به فعالیت ورزشی پرداخته است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر انواع فعالیت ورزشی بر بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در رت‌های سالمند بود.

روش تحقیق

طرح پژوهش و آزمودنی‌ها: آزمودنی‌های این مطالعه 24 سر رت نر ویستار ۲۳ ماهه با وزن 465 ± 45 گرم بودند. رت‌ها تحت شرایط کنترل‌شده با رطوبت ۷۵ تا ۸۵ درصد، دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه نور-تاریکی ۱۲ ساعته (هفت صبح تا هفت بعد از ظهر) نگهداری شدند (۲۶). قبل از شروع پژوهش، کد اخلاق (با شناسه IR.SBU. REC.1403.134) از کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیستی دانشگاه شهید بهشتی دریافت شد قبل از اجرای مطالعه، همه رت‌ها جهت آشناسازی با استخر و اجرای فعالیت، پروتکل آشناسازی را انجام دادند. پروتکل آشناسازی شامل قرار دادن رت‌ها در آب با عمق کم در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز متوالی (۱۰ دقیقه در هر روز) بود. بعد از مرحله آشناسازی، تعیین حداکثر مقدار بار فعالیت برای همه رت‌ها به صورت جداگانه انجام شد تا براساس آن شدت فعالیت و بار کار تعیین شود.

تعیین حداکثر بار فعالیت: برای تعیین حداکثر بار برای همه رت‌ها، وزنه فلزی معادل پنج درصد وزن بدنشان با نوار لکوپلاست به انتهای دم آنها چسبانده شد. پس از گرم کردن، بعد از هر پنج دقیقه شنا کردن، یک گرم به بار کار اضافه گردید؛ تا زمانی که رت‌ها به مرحله واماندگی رسیدند. بیشترین وزنه ای که رت‌ها می‌توانستند تا انتهای فعالیت (واماندگی) حمل کنند، بعنوان حداکثر بار فعالیت برای آنها در نظر گرفته شد (۲۶).

پروتکل‌های فعالیت ورزشی: پس از تعیین حداکثر بار فعالیت، رت‌ها به صورت تصادفی در چهار گروه مساوی (هر گروه شش سر) شامل کنترل، فعالیت تداومی با شدت متوسط^۴ (MICE)، فعالیت تناوبی با شدت و حجم بالا^۵ (HIIE-HV) و فعالیت تناوبی با شدت بالا و حجم کم^۸ (HIIE-LV) قرار گرفتند و پروتکل‌های مربوطه را انجام

سرم^۱ (Srf)، میوکاردین^۲، Tbx5، کمپلکس کلسیم/کالمودولین/ NFAT، کمپلکس کلسیم/کلسینورین/ NFAT، کمپلکس ROS/ ERK-p^۳ و p53 هستند (۲۲-۲۰). بیشتر مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت استقامتی با شدت متوسط تا زیاد، می‌تواند سطوح ROS، کلسیم-کلسینورین، کلسیم-کالمودولین و p53 را به طور قابل توجهی افزایش دهند. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که عوامل ذکر شده بتوانند رونویسی GATA4 را به طور مستقیم فعال کنند (۲۳، ۲۴). دیگر ژن کلیدی مرتبط با هدایت الکتریکی قلب، Tbx5 است که فعالیت آن توسط ژن HOX^۴ تنظیم می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که ژن Tbx5 نقش کلیدی در تشکیل قلب در دوران جنینی، استراحت قلب در دوران بعد از تولد و شروع سیگنالینگ WNT و FGF^۵ دارد (۲۵). متأسفانه اطلاعاتی در مورد تاثیر فعالیت ورزشی بر بیان Tbx5 در دسترس نیست. به نظر می‌رسد فعالیت ورزشی شدید با فعال سازی تعداد بسیار زیادی سیگنال‌های سلولی مولکولی، باعث ایجاد پاسخ‌های چشمگیری در همه افراد بخصوص بیماران قلبی-عروقی و سالمندان می‌شود. البته باید توجه نمود که همزمان با فعال سازی این سیگنال‌های مهم، تعدادی سیگنال و عامل مخرب مانند ROS ایجاد می‌شود که باعث تداخل و کاهش عملکرد سیگنال‌های مذکور می‌گردد. به همین علت، تاثیر پروتکل‌های ورزشی و بهینه سازی آن در افراد مختلف، باید با نهایت دقت مورد بررسی قرار گیرد.

علی‌رغم تعداد زیاد مطالعاتی که با هدف بررسی تاثیر فعالیت‌های ورزشی متنوع بر عوامل بالادست و پایین دست ژن‌های GATA4، ME2C، GATA4 و AKT1 انجام شده است، متأسفانه تاکنون پژوهش‌های محدودی با هدف بررسی تاثیر فعالیت ورزشی بر بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی، به اجرا درآمده است. از طرفی، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ژن‌های GATA4، ME2C، GATA4 و AKT1 در تمامی قسمت‌های مختلف قلب بیان می‌شوند، اما متأسفانه در مورد مقایسه مقادیر و چگونگی بیان این ژن‌ها در پاسخ به فعالیت ورزشی در گره SA و گره AV، اطلاعات زیادی در دسترس نیست. همچنین، تمامی نتایج گزارش شده در تحقیقات پیشین، مربوط به بافت میوکارد (بطن چپ) است

1. Serum response factor

2. Myocardin

3. ROS/extracellular signal-regulated kinase-phosphorylated

4. Homeobox genes

5. Fibroblast growth factor

6. Moderate intensity continuous exercise

7. High intensity interval exercise- high volume

8. High intensity interval exercise – low volume

درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور جداسازی کل RNA از سلول‌ها، از محلول تریزول استفاده شد. برای اجتناب از آلودگی RNase، در همه مراحل از میکروتیوب‌ها و سرسمپلرهای عاری از RNase و DNase و اتوکلاو شده، استفاده شد. بررسی کیفی RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ^۱ (ND-1000) انجام شد. پس از تعیین میزان جذب نمونه، معادل پنج میکروگرم RNA برداشته و با نصف میزان RNA یعنی دو و نیم میکروگرم DNase تیمار شد. پس از انجام تیمار آنزیمی، برای کسب اطمینان از عدم وجود آلودگی DNA، مقدار پنج دهم میکروگرم از نمونه را در ژل آگارز یک درصد بارگذاری کرده و باندهای 18s و 28s و عدم وجود باند DNA، در نمونه بررسی شد. DNA مکمل (cDNA) با استفاده از 20 primer (dt) oligo به عنوان پرایمر (جدول یک) و کیت پارس طوس^۲ ایران انجام شد. برای انجام واکنش‌های Real Time PCR از دستگاه Corbett Research Rotor-Gene 3000 استفاده گردید. برای افزایش دقت، از هر نمونه آزمایشی سه تکرار مستقل زیستی در نظر گرفته شد. ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی در نظر گرفته شد و از روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ ، برای مقایسه تغییرات بیان ژن‌ها بهره‌برداری گردید.

روش‌های آماری: به منظور بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک^۳ استفاده شد و با توجه به طبیعی بودن توزیع داده‌ها، آمار پارامتریک بکار گرفته شد. برای مقایسه پاسخ‌های متغیرها به فعالیت‌های ورزشی، از آزمون تحلیل واریانس یک راهه^۴ استفاده شد و برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی توکی^۵ بهره‌برداری گردید. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد و داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ تجزیه و تحلیل شدند.

دادند. پروتکل MICE شامل ۳۵ دقیقه شنا با شدت ۶۵ درصد حداکثر بار بود. پروتکل HIIE-HV شامل ۳۵ دقیقه شنا که شامل پنج ست چهار دقیقه‌ای با شدت ۸۵ درصد حداکثر بار و پنج ست سه دقیقه‌ای ریکاوری غیرفعال بود. پروتکل HIIE-LV شامل هفت دقیقه فعالیت شنا که شامل ۱۴ ست ۳۰ ثانیه‌ای فعالیت با شدت ۱۱۰ درصد حداکثر بار و ۱۴ ست ۳۰ ثانیه‌ای ریکاوری غیرفعال بود (۲۷-۳۰).

نحوه اندازه‌گیری متغیرهای وابسته تحقیق: بعد از اتمام فعالیت، برای جداسازی بافت قلب، تمام رت‌ها سریعاً با تزریق کتامین (۸۰ تا ۱۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم) بیهوش و سپس قفسه سینه آن‌ها جراحی گردید. بافت‌های استخراج شده بعد از شست و شو به وسیله محلول نرمال سالین در فالکن‌های مخصوص و داخل تانک ازت برای انجام فرآیندهای آزمایشگاهی قرار داده شدند. در بافت قلب رت‌های سالمند از جمله گره‌های SA و AV به دلیل تجمع زیاد فیبروبلاست‌ها و جلوگیری از خطای انتخاب سلول‌های موردنظر، برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های Akt1، GATA4، MEF2C و Tbx5 از روش تخمینی تعداد سلول در واحد مقطع میکروسکوپی استفاده شد. برای شمارش تعداد سلول‌ها به روش تخمینی، ابتدا یک برش از بافت با مساحت و ضخامت استاندارد دستگاه گرید بر روی لام مخصوص تهیه شد و سپس تعداد سلول‌ها با استفاده از تصاویر میکروسکوپ و نرم افزار ImageJ Fiji محاسبه گردید. برای بررسی بیان ژن‌ها به روش PCR-qRT، ابتدا سلول‌ها به وسیله آنزیم EDTA/Trypsin به صورت منفرد درآمدند و بعد از سانتریفیوژ، پلاک‌های خشک سلولی در فریزر ۸۰-

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده

ژن‌ها	توالی پرایمرها
GATA4	r-Gata4-F TGTGCTAGAACTGGCAACCC
	r-Gata4-R CCTTGAGGGAGAAACAGCGT
AKT1	r-AKT1-F CCCTTCCTTACAGCCCTCAAG
	r-AKT1-R ACACAATCTCCGACCGTAG
GAPDH	r-GAPDH-F AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
	r-GAPDH-R AGGTCGGTGTGAACGGATTTG
Tbx5	r-Tbx5-F GCTACAAAGTGAAGGTGACTGG
	r-Tbx5-R TGAGGTTGAGTTTCTGGAAGG
MEF2C	r-MEF2c-F GGAGCTTGCACTAGCACTCAT
	r-MEF2c-R AACTGCTACAGCTGCTCAGG

1. Nanodrop spectrophotometer
2. Parstus Iran kit

3. Shapiro-Wilk
4. One- way ANOVA

5. Tukey

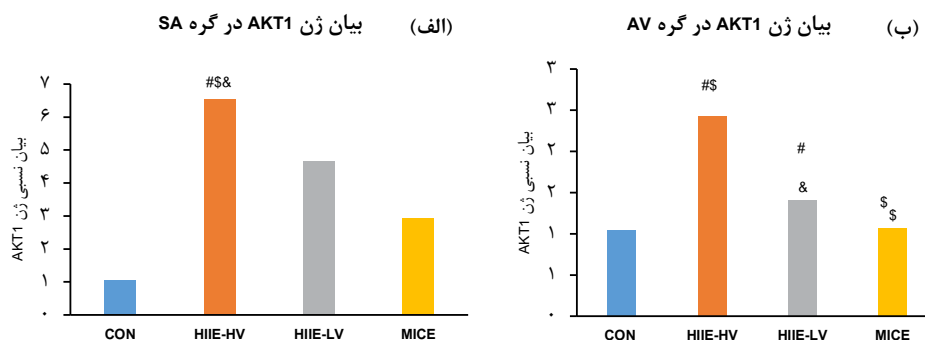
یافته ها

هم چنین مشخص شد بین پاسخ های HIIE-LV نسبت به MICE، بر تغییرات بیان ژن های AKT1 (به ترتیب با $p=0/37$ و $p=0/48$)، GATA4 (به ترتیب با $p=0/35$ و $p=0/11$) و MEF2C (به ترتیب با $p=0/19$ و $p=0/21$) تفاوت معنی داری وجود ندارد (شکل ۱ تا ۴). از طرف دیگر، پاسخ های HIIE-LV نسبت به MICE در بیان ژن Tbx5 ($p=0/02$) در گره SA به طور معنی داری بیشتر بود، در حالی که در گره AV بین پاسخ های HIIE-LV نسبت به MICE بر تغییرات بیان ژن Tbx5 ($p=0/19$) تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۱ تا ۴). هم چنین پاسخ های HIIE-HV نسبت به HIIE-LV بر تغییرات بیان ژن های GATA4 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/04$) و Tbx5 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$) به طور معنی داری بیشتر بود. این در حالی بود که پاسخ های HIIE-HV نسبت به HIIE-LV بر تغییرات بیان ژن های AKT1 ($p=0/02$) و MEF2C ($p=0/04$) در گره AV به طور معنی داری بیشتر بود؛ اما در گره SA بین پاسخ های HIIE-HV نسبت به HIIE-LV بر تغییرات بیان ژن های AKT1 ($p=0/30$) و MEF2C ($p=0/19$)، تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۱ تا ۴).

بحث

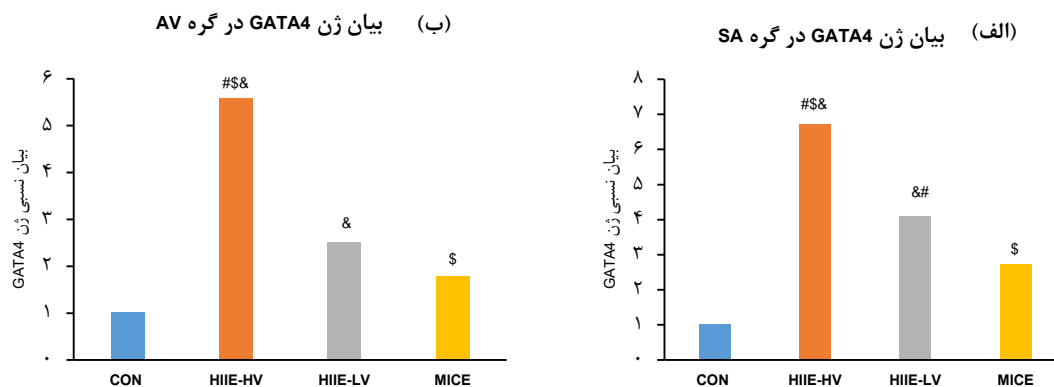
یکی از اصلی ترین ژن های مرتبط با هدایت قلبی، MEF2C است که توسط عامل های بالا دستی هم چون AKT1 و FAK تنظیم می شود. در سیستم قلبی - عروقی، توسط عوامل مختلفی مانند عامل رشد شبه انسولین^۱

نتایج تحقیق حاضر نشان داد HIIE-HV باعث افزایش معنی دار بیان AKT1 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$)، GATA4 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$) و Tbx5 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$) در گره SA و AV می شود (شکل ۱ تا ۴). هم چنین مشخص گردید که HIIE-LV باعث افزایش معنی دار بیان ژن های AKT1 ($p=0/01$)، GATA4 ($p=0/05$) و Tbx5 ($p=0/09$) در گره SA می شود، در حالی که تغییرات بیان ژن های AKT1 ($p=0/43$)، GATA4 ($p=0/21$) و Tbx5 ($p=0/19$) و MEF2C ($p=0/44$) در گره AV معنی دار نبود (شکل ۱ تا ۴). جالب آنکه MICE بر تغییرات بیان ژن های AKT1 (به ترتیب با $p=0/29$ و $p=0/11$)، GATA4 (به ترتیب با $p=0/15$ و $p=0/72$) و MEF2C (به ترتیب با $p=0/31$ و $p=0/85$) و Tbx5 (به ترتیب با $p=0/98$ و $p=0/84$) در گره SA و AV تاثیر معنی دار نداشت (شکل ۱ تا ۴). سایر نتایج نشان داد اثر HIIE-HV نسبت به MICE بر تغییرات بیان ژن های AKT1 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$)، GATA4 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$) و Tbx5 (به ترتیب با $p=0/01$ و $p=0/01$) به طور معنی داری بیشتر است. از طرف دیگر، بین پاسخ های MICE و HIIE-HV در بیان ژن MEF2C ($p=0/77$) در گره SA تفاوت معنی دار وجود نداشت، در حالی که بیان ژن MEF2C ($p=0/09$) در گره AV پس از HIIE-HV نسبت به MICE، به طور معنی داری بیشتر بود.

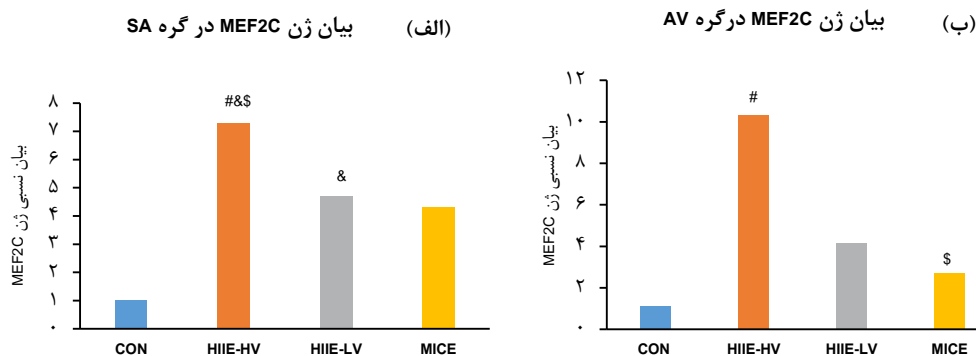


شکل ۱. مقایسه بیان ژن AKT1 در گره SA (الف) و گره AV (ب). # نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل، \$ نشانه تفاوت معنی دار بین دو گروه HIIE-HV و HIIE-LV، & نشانه تفاوت معنی دار بین دو گروه HIIE-LV و MICE، سطح معنی داری $p < 0/05$. CON: کنترل، HIIE-HV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم بالا، HIIE-LV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم کم، MICE: فعالیت تداومی با شدت متوسط؛ SA: گره سینوسی - دهلیزی؛ AV: گره دهلیزی - بطنی.

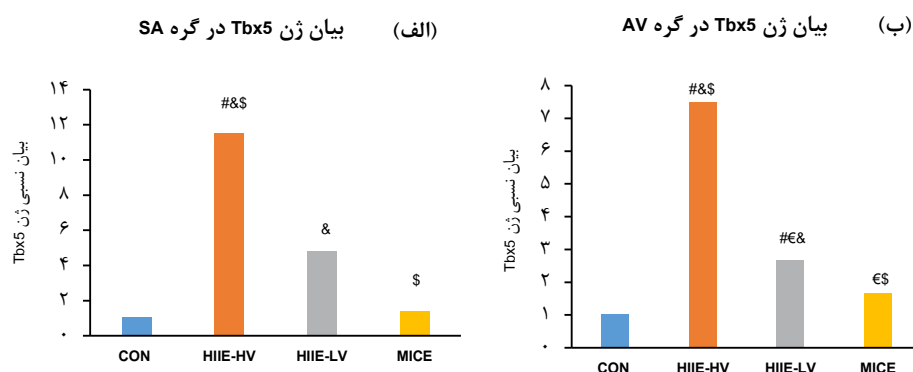
1. Insulin like growth factor 1



شکل ۲. مقایسه بیان ژن GATA4 در گره SA (الف) و گره AV (ب). # نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، \$ نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-HV و MICE، & نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-LV و HIIE-HV، سطح معنی داری $p < 0.05$. CON: کنترل، HIIE-HV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم بالا، HIIE-LV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم کم، MICE: فعالیت تداومی با شدت متوسط؛ SA: گره سینوسی - دهلیزی؛ AV: گره دهلیزی - بطنی.



شکل ۳. مقایسه بیان ژن MEF2C در گره SA (الف) و گره AV (ب). # نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، \$ نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-HV و MICE، & نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-LV و HIIE-HV، سطح معنی داری $p < 0.05$. CON: کنترل، HIIE-HV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم بالا، HIIE-LV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم کم، MICE: فعالیت تداومی با شدت متوسط؛ SA: گره سینوسی - دهلیزی؛ AV: گره دهلیزی - بطنی.



شکل ۴. مقایسه بیان ژن Tbx5 در گره SA (الف) و گره AV (ب). # نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، \$ نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-HV و MICE، & نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه HIIE-LV و HIIE-HV، € نشانه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه فعالیت تداومی با شدت بالا-حجم بالا، HIIE-LV: فعالیت تناوبی با شدت بالا-حجم کم، MICE: فعالیت تداومی با شدت متوسط؛ SA: گره سینوسی - دهلیزی؛ AV: گره دهلیزی - بطنی.

ATP، باعث افزایش غلظت سطوح کلسیم درون سلولی، افزایش سطوح پروتئین کیناز A و PGC1 α می‌شود که همه این عوامل موجب مهار HDACs و تحریک رونویسی ژن MEF2C در بافت میوکارد قلب می‌شوند (۱۵). دیگر ژن کلیدی مرتبط با هدایت الکتریکی قلب، GATA4 است که به صورت مستقیم باعث فعال سازی بسیاری از ژن‌های قلبی می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد HIIE-LV و HIIE-HV باعث افزایش معنی دار سطوح GATA4 و AKT1 در گره SA قلب رت های سالمند می‌شود؛ در حالی که در گره AV تنها HIIE-HV باعث افزایش معنی دار سطوح GATA4 و AKT1 در گره AV قلب رت های سالمند می‌شود؛ در حالی که در گره AV تنها HIIE-HV باعث افزایش معنی دار GATA4 و AKT1 شد. مطالعات نشان داده اند عامل های بسیار زیادی هم چون AKT، Nkx2.5، کلسینورین/NFAT، کلسیم کالمودولین، PKC، MAPKها، p53 و p16 باعث فعال سازی GATA4 می‌شوند در حالی که گلیکوژن سنتاز کیناز^۶ (GSK) یک مهار کننده بسیار قوی برای بیان ژن GATA4 است (۲۲-۲۰). هم چنین بیشتر مطالعات نشان داده اند که فعالیت حاد ورزشی باعث آزادسازی کلسیم، فسفوریلاسیون فسفولامبان^۸ (PLB)، افزایش فعالیت SERCA2^۹، فعال سازی کلسیم کالمودولین و در نهایت، فعال سازی GATA4 می‌شود (۳۵). دیگر عامل کلیدی در تحریک ژن های MEF2C و GATA4، عامل AKT1 است. همان گونه که مطالعات پیشین نشان دادند مهم ترین سیگنال تحریکی AKT مسیر IGF1 است که در پاسخ به فعالیت با شدت بالا به صورت معنی داری افزایش می یابد. هم راستا با نتایج تحقیق حاضر، ملینگ^{۱۰} و دیگران (۲۰۰۴) نشان دادند که در حین فعالیت استقامتی با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و هم چنین در دوره ریکاروری بعد از فعالیت، سطوح PKA و PKC در بافت میوکارد قلب موش ها به صورت معنی داری نسبت به زمان قبل از فعالیت افزایش یافت (۳۶). هم چنین شن^{۱۱} و دیگران (۲۰۱۱) نشان دادند فعالیت استقامتی (دویدن روی نوارگردان) با شدت ۶۵ تا ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی باعث افزایش سطوح PKC در بافت میوکارد قلب موش های جوان می‌شود (۳۷). هم راستا با نتایج ملینگ و شن، در پژوهشی کواک^{۱۲} و دیگران (۲۰۱۳) نشان دادند که فعالیت

(IGF1)، عامل رشد مشتق از پلاکت^۱ (PDGF)، عامل رشد اندوتلیال عروقی^۲ (VEGF)، عامل رشد اپیدرمی^۳ (EGF) و عامل رشد فیبروبلاست پایه^۴ (bFGF)؛ فعال می‌شود (۳۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد HIIE-LV و HIIE-HV باعث افزایش معنی دار سطوح MEF2C در گره SA قلب رت های سالمند می‌شود. در حالی که در گره AV تنها HIIE-HV باعث افزایش معنی دار MEF2C می‌شود. هم راستا با نتایج تحقیق حاضر، لاجوئی و دیگران (۲۰۰۴) نشان دادند که فعالیت ورزشی (دویدن روی نوارگردان) با شدت ۷۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، باعث افزایش معنی دار سطح AKT در بافت میوکارد بطن چپ رت های کم تحرک مبتلا به پرفشاری خون می‌شود (۳۲). هم راستا با نتایج لاجوئی و دیگران، وو^۵ و دیگران (۲۰۲۲) نشان دادند پنج دقیقه فعالیت تناوبی (۳۰ ثانیه فعالیت با شدت ۱۰۰ درصد حداکثر توان هوازی و یک دقیقه استراحت غیرفعال)، با افزایش معنی دار سطوح AKT1 در بافت میوکارد بطن چپ موش های جوان همراه است (۳۳). دیگر عامل تنظیم کننده بیان ژن MEF2C، عامل FAK است که در پاسخ به کشش دیواره بافت قلب تحریک و تولید می‌شود. مطالعات نشان داده اند که فعالیت ورزشی با افزایش میزان پیش بار در حین فعالیت، باعث کشش دیواره دهلیزها و بطن ها و در نهایت، باعث افزایش سطوح FAK و MEF2C در بافت میوکارد قلب می‌شود (۱۹، ۳۴). یکی دیگر از عواملی که مستقیماً در رونویسی و بیان ژن MEF2C دخالت می‌کند، خانواده هیستون داستیلازها هستند. در بافت قلب عموماً HDAC4 تعامل قابل توجهی با ژن MEF2C دارد. مطالعات نشان داده اند تعامل ژن MEF2C با HDAC5، HDAC4 و HDAC9 باعث کاهش بیان MEF2C و کاهش هاپیرتروفی میوکارد قلب می‌شود (۱۷). عوامل تحریک کننده زیادی باعث مهار مجموعه HDACs/HDACs می‌شوند که از مهم ترین آنها می‌توان به PKA، cAMP، MAPK، مسیرهای سیگنال وابسته به ترشح کلسیم مانند پروتئین کیناز C^۶ (PKC) و کلسیم کالمودولین کیناز اشاره کرد (۱۵، ۱۶). ثابت شده است که فعالیت ورزشی حاد با افزایش انقباضات عضلانی و مصرف

1. platelet-derived growth factor

2. Vascular endothelial growth factor

3. Epidermal Growth Factor

4. Basic fibroblast growth factor

5. Wu

6. Protein kinase C

7. Glycogen synthase kinase

8. Phospholamban

9. Sarcoendoplasmic reticulum calcium ATPase

10. Melling

11. Shen

12. Kwak

قلبی تحت فرآیندی به نام بازبرنامه ریزی^۵ می‌توانند به سلول‌های شبه کاردیومیوسیت تبدیل شوند. مطالعات نشان داده‌اند که فرآیند بازبرنامه ریزی فیبروبلاست‌ها به سلول‌های شبه کاردیومیوسیت^۱ توسط سه ژن کلیدی ME2C، GATA4 و Tbx5 انجام می‌شود (۳۹).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد HIIE-LV و HIIE-HV با فعال سازی سینگال‌های سلولی مولکولی مختلف می‌واند باعث بهبود عملکرد سیستم هدایت الکتریکی قلب و آریتمی در سالمندان شوند. متأسفانه اطلاعات محدودی در زمینه سینگال‌های مرتبط با هدایت قلبی و فعالیت ورزشی وجود دارد و به نظر می‌رسد مکانیسم‌های مرتبط با کلسیم درون سلولی، مکانیسم‌های مرتبط با کشش دیواره دهلیزها و بطن‌ها، و مکانیسم‌های مرتبط با متابولیسم سلولی؛ محتمل‌ترین سینگال‌های سلولی مولکولی مرتبط با بیان ژن‌های هدایت قلبی در پاسخ به فعالیت ورزشی هستند.

تعارض منافع

فرم مربوط به این قسمت تکمیل و در اختیار مجله قرار گرفته است. این مقاله پیش از این در جای دیگری برای چاپ ثبت نشده است و نویسندگان تعارض منافی ندارند.

قدردانی و تشکر

از آقای زارعی و حسنوند کارکنان بخش خدمات و پشتیبانی و آقای مقدم منشی دفتر ریاست محترم دانشکده علوم ورزشی و تندرستی دانشگاه شهید بهشتی که در همه مراحل این مطالعه ما را همراهی کردند، صمیمانه تشکر می‌نمایم.

استقامتی با شدت ۴۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی باعث افزایش سطوح IGF1 و AKT1 در بافت میوکارد قلب انسان می‌شود (۳۸). با توجه به نتایج تحقیقات پیشین به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر HIIE-LV و HIIE-HV توانسته باعث افزایش سطوح کلسیم کالمودولین، PKC، MAPK، AKT1 و مهار GSK و در نهایت موجب افزایش بیان ژن GATA4 در گره‌های SA و AV شود. دیگر ژن کلیدی مرتبط با هدایت الکتریکی قلب، Tbx5 است. از مهم‌ترین عوامل بالا دست این ژن می‌توان به Nkx2.5 و HOX اشاره کرد. در تحقیق حاضر HIIE-LV و HIIE-HV در گره SA و HIIE-HV در گره AV باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن Tbx5 گردید. متأسفانه اطلاعاتی در زمینه تأثیر فعالیت ورزشی بر بیان ژن Tbx5 و عوامل بالادست این ژن در دسترس نیست و چگونگی تأثیر فعالیت ورزشی بر فعال سازی یا مهار این ژن در حاله‌ای از ابهام است. دیگر نکته بسیار جالب توجه در تحقیق حاضر تفاوت در بیان ژن‌های مرتبط با هدایت قلبی در گره SA و AV بود. تحقیقات نشان داده‌اند که سلول‌های ضربان ساز گره SA، حدود چهار برابر سلول‌های گره AV، عصب دهی می‌شوند و همین امر می‌تواند دلیل اصلی تفاوت در بیان ژن‌های مورد نظر در پاسخ به فعالیت‌های مختلف ورزشی باشد (۳۹). هم چنین مطالعات نشان داده‌اند بیان ژن‌های GATA4، ME2C، GATA4 و AKT1 اثرات ضد پیری سلولی دارند که می‌تواند سرعت و شدت فرآیند پیری قلب را در افراد سالمند کاهش دهد (۲۰، ۲۳). هم چنین مشخص شده است تنها یک درصد از سلول‌های آسیب دیده به وسیله سلول‌های بنیادی جایگزین می‌شود (۲۴). جالب آنکه تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که فیبروبلاست‌های

منابع

- Gadó K, Szabo A, Markovics D, Virág A. Most common cardiovascular diseases of the elderly—A review article. *Developments in Health Sciences*. 2022 Mar 16;4(2):27-32. <http://doi.org/10.1556/2066.2021.00048>.
- Curtis AB, Karki R, Hattoum A, Sharma UC. Arrhythmias in patients ≥ 80 years of age: pathophysiology, management, and outcomes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018 May 8;71(18):2041-57. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.03.019>.
- van Eif VW, Devalla HD, Boink GJ, Christoffels VM. Transcriptional regulation of the cardiac conduction system. *Nature Reviews Cardiology*. 2018 Oct;15(10):617-30. <http://doi.org/10.1038/s41569-018-0031-y>.
- Choquet C, Boulgakoff L, Kelly RG, Miquerol L. New insights into the development and morphogenesis of the cardiac

- purkinje fiber network: Linking architecture and function. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2021 Aug 7;8(8):95. <http://doi.org/10.3390/jcdd8080095>.
5. Park DS, Fishman GI. Development and function of the cardiac conduction system in health and disease. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*. 2017;4(2):7. <http://doi.org/10.3390/jcdd4020007>.
 6. Mirza M, Strunets A, Shen WK, Jahangir A. Mechanisms of arrhythmias and conduction disorders in older adults. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2012;28(4):555-73. <http://doi.org/10.1016/j.cger.2012.08.005>.
 7. Vedantham V, Evangelista M, Huang Y, Srivastava D. Spatiotemporal regulation of an Hcn4 enhancer defines a role for Mef2c and HDACs in cardiac electrical patterning. *Developmental Biology*. 2013;373(1):149-62. <http://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.10.017>.
 8. Bruneau BG. Signaling and transcriptional networks in heart development and regeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2013;5(3):a008292. <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a008292>.
 9. Nemer M, Gharibeh L. Guiding cardiac conduction with GATA. *Circulation: Cardiovascular Genetics*. 2015;8(2):247-9. <http://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.115.001039>.
 10. Munshi NV. Gene regulatory networks in cardiac conduction system development. *Circulation Research*. 2012;110(11):1525-37. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.26002>.
 11. Guiraud T, Labrunee M, Gaucher-Cazalis K, Despas F, Meyer P, et al. High-intensity interval exercise improves vagal tone and decreases arrhythmias in chronic heart failure. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2013;45(10):1861-7. <http://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182967559>.
 12. Dor-Haim H, Lotan C, Horowitz M, Swissa M. Intensive exercise training improves cardiac electrical stability in myocardial-infarcted rats. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(7):e005989. <http://doi.org/10.1161/JAHA.117.005989>.
 13. Chang Y, Yu T, Yang H, Peng Z. Exhaustive exercise-induced cardiac conduction system injury and changes of cTnT and Cx43. *International Journal of Sports Medicine*. 2015;36(01):1-8. <http://doi.org/10.1055/s-0034-1384545>.
 14. Stølen TO, Høydal MA, Ahmed MS, Jørgensen K, Garten K, Hortigon-Vinagre MP, Zamora V, Scrimgeour NR, Berre AM, Nes BM, Skogvoll E. Exercise training reveals micro-RNAs associated with improved cardiac function and electrophysiology in rats with heart failure after myocardial infarction. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2020;148:106-19. <http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2020.08.015>.
 15. McGee SL. Exercise and MEF2–HDAC interactions. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2007;32(5):852-6. <http://doi.org/10.1139/H07-082>.
 16. Ginnan R, Sun LY, Schwarz JJ, Singer HA. MEF2 is regulated by CaMKII δ 2 and a HDAC4–HDAC5 heterodimer in vascular smooth muscle cells. *Biochemical Journal*. 2012;444(1):105-14. <http://doi.org/10.1042/BJ20120152>.
 17. Han Y, Nie J, Wang DW, Ni L. Mechanism of histone deacetylases in cardiac hypertrophy and its therapeutic inhibitors. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2022;9:931475. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.931475>.
 18. Cardoso AC, Pereira AH, Ambrosio AL, Consonni SR, de Oliveira RR, Bajgelman MC, et al. FAK forms a complex with MEF2 to couple biomechanical signaling to transcription in cardiomyocytes. *Structure*. 2016 Aug 2;24(8):1301-10. <http://doi.org/10.1016/j.str.2016.06.003>.
 19. Neves JS, Leite-Moreira AM, Neiva-Sousa M, Almeida-Coelho J, Castro-Ferreira R, Leite-Moreira AF. Acute myocardial response to stretch: what we (don't) know. *Frontiers in Physiology*. 2016;6:408. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00408>.

20. Xiong H, Hua F, Dong Y, Lin Y, Ying J, Liu J, et al. DNA damage response and GATA4 signaling in cellular senescence and aging-related pathology. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2022;14:933015. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.933015>.
21. Mazaheri NM, Sabbagh SK, Shahramian I, Noori NM. Expression analysis of Gata4, Tbx5 and Nkx2. 5 genes involved in congenital heart disease. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2016;18(4):e6448. <https://doi.org/10.17795/zjrms-6448>.
22. Harris JP, Bhakta M, Bezprozvannaya S, Wang L, Lubczyk C, Olson EN, Munshi NV. MyoR modulates cardiac conduction by repressing Gata4. *Molecular and Cellular Biology*. 2015;35(4):649-61. <http://doi.org/10.1128/MCB.00860-14>.
23. Pahlavani HA. Exercise-induced signaling pathways to counteracting cardiac apoptotic processes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10:950927. <http://doi.org/10.3389/fcell.2022.950927>.
24. Hood DA, Memme JM, Oliveira AN, Triolo M. Maintenance of skeletal muscle mitochondria in health, exercise, and aging. *Annual Review of Physiology*. 2019;81(1):19-41. <http://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114310>.
25. Zhu Y, Gramolini AO, Walsh MA, Zhou YQ, Slorach C, Friedberg MK, et al. Tbx5-dependent pathway regulating diastolic function in congenital heart disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(14):5519-24. <http://doi.org/10.1073/pnas.0801779105>.
26. Nunes RB, Heck TG, Alves JP, Dal Lago P. Hemodynamic responses during an incremental swimming exercise test in rats. *Journal of Exercise Physiology Online*. 2015;15(3):55-62. <https://www.researchgate.net/publication/290453459>.
27. Dun Y, Smith JR, Liu S, Olson TP. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2019;35(4):469-87. <http://doi.org/10.1016/j.cger.2019.07.011>.
28. Eijssvogels TM, Molossi S, Lee DC, Emery MS, Thompson PD. Exercise at the extremes: the amount of exercise to reduce cardiovascular events. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;67(3):316-29. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.11.034>.
29. Mehboudi M, Asgharpour H, Hosseini SA, Rezaeeshirazi R. Effect of a six week-swimming interval training with resveratrol consumption on apoptotic markers in the liver tissue of aged rat. *Elderly Health Journal*. 2021;7(1):39-44. <http://doi.org/10.18502/ehj.v7i1.6550>.
30. Amirazodi F, Mehrabi A, Amirazodi M, Parsania S, Rajizadeh MA, Esmaeilpour K. The combination effects of resveratrol and swimming HIIT exercise on novel object recognition and open-field tasks in aged rats. *Experimental Aging Research*. 2020;46(4):336-58. <http://doi.org/10.1080/0361073X.2020.1754015>.
31. Ghafouri-Fard S, Khanbabapour Sasi A, Hussien BM, Shoorei H, Siddiq A, Taheri M, et al. Interplay between PI3K/AKT pathway and heart disorders. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(10):9767-81. <http://doi.org/10.1007/s11033-022-07468-0>.
32. Lajoie C, Calderone A, Trudeau F, Lavoie N, Massicotte G, Gagnon S, Béliveau L. Exercise training attenuated the PKB and GSK-3 dephosphorylation in the myocardium of ZDF rats. *Journal of Applied Physiology*. 2004;96(5):1606-12. <http://doi.org/10.1152/japplphysiol.00853.2003>.
33. Wu L, Wang J, Cao X, Tian Y, Li J. Effect of acute high-intensity exercise on myocardium metabolic profiles in rat and human study via metabolomics approach. *Scientific Reports*. 2022;12(1):6791. <http://doi.org/10.1038/s41598-022-10976-5>.

34. Wang JG, Miyazu M, Matsushita E, Sokabe M, Naruse K. Uniaxial cyclic stretch induces focal adhesion kinase (FAK) tyrosine phosphorylation followed by mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;288(2):356-61. <http://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5775>.
35. Oliveira RS, Ferreira JC, Gomes ER, Paixao NA, Rolim NP, Medeiros A, et al. Cardiac anti-remodelling effect of aerobic training is associated with a reduction in the calcineurin/NFAT signalling pathway in heart failure mice. *The Journal of Physiology*. 2009;587(15):3899-910. <http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2004.05.021>
36. Melling CJ, Thorp DB, Noble EG. Regulation of myocardial heat shock protein 70 gene expression following exercise. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2004;37(4):847-55. <http://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2004.05.021>.
37. Shen YJ, Pan SS, Zhuang T, Wang FJ. Exercise preconditioning initiates late cardioprotection against isoproterenol-induced myocardial injury in rats independent of protein kinase C. *The Journal of Physiological Sciences*. 2011;61(1):13-21. <http://doi.org/10.1007/s12576-010-0116-9>.
38. Kwak HB. Effects of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *Journal of Exercise Rehabilitation*. 2013;9(2):212. <http://doi.org/10.12965/jer.130002>.
39. Hastings MH, Zhou Q, Wu C, Shabani P, Huang S, Yu X, et al. Cardiac ageing: from hallmarks to therapeutic opportunities. *Cardiovascular Research*. 2024;26:cvae124. <http://doi.org/10.1093/cvr/cvae124>.