

Research Paper:

The Effect of Different Exercise Intensities on T-Box Transcription Factor 5 Gene Expression and Hypertrophy in the Heart Muscle of Male Rats



*Elham Vosadi¹, Mahbobeh Borjian Fard²

1. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education & Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.



Citation Vosadi E, Borjian Fard M. [The Effect of Different Exercise Intensities on T-Box Transcription Factor 5 Gene Expression and Hypertrophy in the Heart Muscle of Male Rats (Persian)]. Journal of Inflammatory Diseases. 2020; 24(3):202-211. <https://doi.org/10.32598/IQUMS.24.3.1>

doi <https://doi.org/10.32598/IQUMS.24.3.1>



Received: 21 Dec 2019

Accepted: 25 Apr 2020

Available Online: 01 Aug 2020

Keywords:

T-box transcription factor TBX5, High intensity training, Low intensity training, Male adult rat

ABSTRACT

Background Exercise is one of the methods affecting cardiovascular adaptation, but its cellular and molecular pathways and mechanisms are unknown. T-Box Transcription Factor 5 (TBX5) gene seems to be one of the factors involved in regulating cardiac hypertrophy.

Objective The aim of this study was to investigate the effect of an 8-week exercise program with different intensities on the expression of TBX5 gene in the heart of male Wistar rats.

Methods In this experimental study, 24 male adult Wistar rats were divided into three groups of High Intensity Training (HIT), Low Intensity Training and (LIT) and control. Training groups performed the exercise program for 8 weeks, 5 sessions per week. The exercise program for the HIT group consists of running on a treadmill with five 8-min intervals at 85-90% VO₂ max intensity divided into 2-min intervals at 50-60% VO₂ max intensity, while for the LIT group it was included five 8-min intervals with 50-60% VO₂ max intensity divided into 2-min intervals with 45% -50% VO₂ max intensity. The control group performed no exercise. The real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) analysis was used to measure the expression level of TBX5 gene. The collected data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

Findings The heart weight ($P \leq 0.001$ and $P = 0.004$), heart-weight to body-weight ratio ($P \leq 0.0001$ and $P = 0.001$), and left ventricular wall thickness were significantly higher in the HIT and LIT groups than in the control group ($P \leq 0.0001$ and $P = 0.38$). The left ventricular wall thickness in the HIT group was significantly higher than in the LIT group ($P = 0.001$). The TBX5 expression in the two training groups were not significantly different from that of control group ($P = 0.11$).

Conclusion It seems that more intensive exercise can have more significant effects on cardiac hypertrophy than less intensive exercise.

Extended Abstract

1. Introduction

Exercise has beneficial effects on increasing performance and health and reducing the risk of cardiovascular diseases. However, its exact mechanism is not known yet [1]. The cardio-

vascular system has a remarkable ability to adapt during exercise. These adaptations require the integration of systemic, cellular, and molecular signaling pathways in the cardiovascular system. Depending on the type of exercise, the cardiovascular system adapts to physiological requirements and dominant hemodynamic load. Therefore, the classification of the type of exercise can be done based on the physiologi-

* Corresponding Author:

Elham Vosadi

Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sports Sciences, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran.

Tel: +98 (23) 32392204

E-Mail: e.vosadi@yahoo.com

cal and morphological changes resulted from exercise in the heart and cardiovascular system [2].

In order to understand the molecular adaptations in cardiac tissue following exercise, it is necessary to identify the cellular signaling pathways that are effective in transmitting physiological stimuli to downstream transcription factors and other regulatory mechanisms. T-Box Transcription Factor 5 (TBX5) is a transcription factor of the T-box family that promotes cardiac muscle growth [5]. Physiological growth of the heart results in increased cell size and myocyte mass of the heart muscle through exercise. This balanced and reversible physiological growth of the heart is mediated by cardiomyocyte hypertrophy through activating various signaling pathways, including the Insulin-like Growth Factor-1 phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (IGF-1-PI3K/AKT), which causes increased gene expression of TBX5 that regulates cardiac hypertrophy [7].

TBX5 in cardiomyocytes is a transcription activator of cardiac gene expression and interacts directly with other cardiac transcription factors [8]. Since there is less information on the molecular mechanisms affecting the physiological hypertrophy of the heart based on TBX5 gene expression caused by exercise with different intensities, this study aimed to investigate the effect of different intensities of intermittent exercise on TBX5 gene expression.

2. Materials and Methods

The animals used in this study were 24 male adult Wistar rats weighting 160-180 g. They were kept under controlled conditions at a room temperature and 12:12h light:dark cycle and humidity of 40-60%. Food and water were available for them. They were divided into three groups of High Intensity Training (HIT), Low Intensity Training (LIT) and Control. The intermittent exercise program was performed for 8 weeks, 5 sessions per week. The exercise program for the HIT group consists of running on a treadmill with five 8-min intervals at 85-90% VO₂ max intensity divided into 2-min intervals at 50-60% VO₂ max intensity, while for the LIT group it was included five 8-min intervals with 50-60% VO₂ max intensity divided into 2-min intervals with 45-50% VO₂ max intensity. They performed exercises at a specific hour of the day and at the same time. The control group had no exercise.

The heart muscle was removed, and the rate of hypertrophy was determined by evaluating the ratio of heart-weight to body-weight, Left Ventricular (LV) wall thickness and cardiomyocyte length. The expression of TBX5 gene was measured by Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR)

analysis. Finally, the data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test.

3. Results

The heart weight ($P \leq 0.001$ and $P = 0.004$), heart-weight to body-weight ratio ($P \leq 0.0001$ and $P = 0.001$), and LV wall thickness were significantly higher in the HIT and LIT groups than in the control group ($P \leq 0.0001$ and $P = 0.38$). LV wall thickness in the HIT group was significantly higher than in the LIT group ($P = 0.001$). The TBX5 expression in the two training groups were not significantly different from that of control group ($P = 0.11$).

4. Discussion

The findings of the present study indicated that the heart weight, ratio of heart-weight to body-weight and LV wall thickness in the HIT and LIT groups were significantly higher than in the control group. The LV wall was significantly thicker in the HIT group than in the LIT group. Hematoxylin & eosin staining showed a significant increase in the cardiomyocyte area in the two exercise groups; the amount of this increase in the HIT group was significantly higher than in the LIT group.

Exercise can affect cardiac hypertrophy by affecting some cellular and molecular factors. According to studies, exercise through various signaling pathways including Neuregulin-1 (NRG-1), ERB, C/EBP β , and IGF-1-PI3K/AKT can affect the function and growth of the heart muscle [22]. Cardiomyocyte length seems to increase after exercise. Therefore, it is generally accepted that exercise-induced heart growth is due to an increase in cardiomyocyte length rather than a change in the number of heart cells. Moreover, along with increased heart mass, the heart tissue is exposed to morphological changes depending on the type of exercise [23].

TBX5, as one of the most important members of the T-box family involved in cardiovascular development, plays an important role in cardiac morphogenesis [24]. In the present study, TBX5 expression level was directly related to the intensity of exercise. In the LIT and HIT groups, the differences in TBX5 expression were two and three times higher than in the control group, respectively, but these differences were not statistically significant. In overall, it seems that more intensive exercise can have more significant effects on cardiac hypertrophy than less intensive exercise.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All animal experiments were performed in accordance with guidelines of the Ethics Committee of the University of Tehran (Code: 370299/141).

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

Resources, validation, editing, supervision, project administration, and funding acquisition: Mahbobeh Borjjanfard; Conceptualization, methodology, writing and data analysis: Elham Vosadi

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Faculty of Physical Education and Sports Sciences at University of Tehran for their valuable cooperation in conducting this study.

تأثیر شدت‌های مختلف ورزشی بر بیان ژن TBX5 و هایپر تروفی در عضله قلب رت‌های نر بالغ ویستار

* الهام وسدی^۱، محبوبه برجیان فرد^۲

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.
 ۲. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

چکیده

تاریخ دریافت: ۳۰ آذر ۱۳۹۸
 تاریخ پذیرش: ۰۶ اردیبهشت ۱۳۹۹
 تاریخ انتشار: ۱۱ مرداد ۱۳۹۹

زمینه: فعالیت ورزشی از عوامل تأثیرگذار بر سازگاری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که مسیرها و مکانیسم‌های سلولی و مولکولی آن کاملاً شناخته‌شده نیست. به نظر می‌رسد، TBX5 از جمله عواملی است که می‌تواند در تنظیم هایپر تروفی قلب مؤثر باشد.

هدف: پژوهش حاضر با هدف بررسی هفت هفته فعالیت ورزشی با شدت‌های مختلف بر بیان ژن TBX5 در قلب رت‌های نر نژاد ویستار انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، ۲۴ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار در سه گروه هشت‌تایی کنترل، فعالیت ورزشی پر شدت (HIT) و فعالیت ورزشی کم‌شدت (LIT) تقسیم‌بندی شدند. تمرین گروه HIT، شامل دویدن با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و دو دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و برنامه تمرین گروه LIT، شامل دویدن با شدت ۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی و دو دقیقه با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بود و در همین زمان، گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی نداشت. میزان بیان ژن TBX5 قلب نیز با استفاده از روش Real time-PCR اندازه‌گیری شد. در پایان، داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی ارزیابی شدند.

یافته‌ها: شاخص وزن قلب، نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت دیواره بطن چپ در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر و به ترتیب $P \leq 0.001$ و $P = 0.004$ ، $P \leq 0.001$ و $P = 0.001$ ، $P \leq 0.001$ و $P = 0.001$ بود. همچنین ضخامت بطن چپ در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد به طور معنی‌داری از گروه تمرین تناوبی با شدت کم بیشتر بود ($P = 0.001$)؛ در حالی که مقادیر TBX5 در گروه‌های تمرین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نداشت ($P = 0.11$).

نتیجه‌گیری: فعالیت ورزشی با شدت بیشتر می‌تواند اثرات برجسته‌تری بر هایپر تروفی قلب نسبت به فعالیت‌های ورزشی با شدت کمتر داشته باشد.

کلیدواژه‌ها:

TBX5، فعالیت ورزشی
 پر شدت، فعالیت ورزشی
 کم‌شدت، رت نر بالغ

ورزشی می‌تواند بر اساس تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ناشی از تمرین در قلب و سیستم قلبی عروقی نیز انجام شود [۲].

بررسی تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت ورزشی نخستین‌بار در قرن نوزدهم بر قلب افراد کم‌تحرک و ورزشکار صورت گرفت که تشخیص بزرگ شدن قلب و همچنین برادیکاردی در افراد تمرین کرده مشاهده شد. افزایش در پیش‌بار و پس‌بار قلبی به دنبال شرکت در دوره‌های تمرین ورزشی شدید طولانی‌مدت با بزرگ شدن متقارن تمامی حفره‌های قلبی همراه است [۳]. به صورت کلی ورزشکاران ۱۰ تا ۲۰ درصد افزایش در ضخامت دیواره بطن چپ و ۱۰ تا ۱۵ درصد افزایش در حفره‌های بطن راست و چپ در مقایسه با افراد همسن و هم‌جسه را تجربه می‌کنند. علاوه بر این، ورزشکاران افزایش پُرشدگی دیاستول،

فعالیت ورزشی منظم اثرات سودمندی بر افزایش عملکرد و سلامت و کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی دارد. با این حال، سازوکار دقیقی که به واسطه آن تمرین ورزشی منظم با بهبود سلامت قلبی عروقی همراه باشد و از آسیب بافت‌ها جلوگیری کند، هنوز به صورت کامل شناخته نشده است [۱]. سیستم قلب و عروق در طی فعالیت ورزشی توانایی سازگار شدن قابل ملاحظه‌ای دارد. این سازگاری‌ها نیازمند یکپارچگی مسیرهای سیگنالینگ سیستمیک، سلولی و مولکولی در سیستم قلبی عروقی است. با توجه به نوع تمرین ورزشی، سیستم قلبی عروقی با نیازمندی‌های فیزیولوژیکی تطبیق پیدا می‌کند و بر اساس نوع بار غالب همودینامیک سازگار می‌شود. بنابراین، تقسیم‌بندی نوع فعالیت

* نویسنده مسئول:

الهام وسدی

نشانی: شاهرود، دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده تربیت بدنی، گروه فیزیولوژی ورزشی.

تلفن: +۹۸ (۲۳) ۳۲۳۹۲۲۰۴

رایانامه: e.vosadi@yahoo.com

این، تمرینات با شدت بالا از طریق افزایش تراکم مویرگی مزایای دیگری را ارائه می‌دهند. بنابراین باید به عنوان یک روش تمرینی برتر برای ورزشکاران و بیماران در نظر گرفته شوند [۱۱].

ویندی و همکاران^۶ (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای دیگر به بررسی تأثیر سه شدت متفاوت فعالیت ورزشی پس از یک دوره تمرین هشت‌هفته‌ای پرداختند که نتایج حاکی از افزایش وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در تمرینات با شدت متوسط و زیاد، نسبت به تمرینات با شدت کم بود [۱۲]. بوستروم و همکاران^۷ (۲۰۱۰)، اثر فعالیت ورزشی بر هیپرتروفی و تکثیر کاردیومیوسیت‌ها را مرتبط با کاهش بیان فاکتور رونویسی C/EBP β و افزایش بیان CITED4 دانسته و بیان کردند که مهار تنظیم C/EBP β ممکن است عامل پاسخ سرم را فعال کند و به نوبه خود به فعال کردن مجموعه ژن‌های Tbx5، GATA4، Nkx2.5 و Mef-2c کمک کند [۱۳].

همتی نفر و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی شدت تمرین بر ظرفیت نوزایی قلبی بر روی رت‌های نر نژاد ویستار به این نتیجه رسیدند که تغییر معنی‌داری بر بیان ژن TBX5 پس از شدت‌های متفاوت فعالیت ورزشی ایجاد نشد. آن‌ها گزارش کردند که تمرین ورزشی با شدت کم، عامل مؤثرتری در افزایش ظرفیت نوزایی قلبی رت‌های مبتلا به آنفاریکتوس میوکارد است [۱۴]. در مطالعه‌ای که بهرامیان و همکاران (۱۳۹۷) به بررسی شدت‌های متفاوت فعالیت ورزشی در رت‌های نر بالغ پرداختند، نتایج تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید در بازسازی فیزیولوژیک قلب را پس از فعالیت ورزشی نشان داد. در این مطالعه بیان شده است که عملکردهای قلبی به شدت فعالیت ورزشی وابسته است و شدت بالاتر فعالیت ورزشی تأثیر بیشتری را بر بیان ژن‌های مؤثر در هیپرتروفی دارد [۱۵].

نتایج مطالعه نادری و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی تأثیر شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی بر رت‌های مبتلا به آنفاریکتوس میوکارد نشان داد که تمرین ورزش در شدت‌های مختلف باعث بهبود عملکرد قلب و سطح نشانگرهای سلول‌های بنیادی و قلبی و کاهش اندازه آنفاریکتوس می‌شود. بیان ژن TBX5 به طور قابل توجهی در گروه تمرینی با شدت بالا نسبت به گروه‌های تمرینی با شدت متوسط و کم افزایش بیشتری داشت [۱۶]. با در نظر گرفتن اینکه هیپرتروفی قلب در واکنش به تمرینات ورزشی صورت می‌گیرد، اما شدت‌های متفاوت فعالیت‌های ورزشی می‌تواند تأثیرات گوناگونی بر رشد عضله قلبی داشته باشد و از آنجا که اطلاعات در مورد مکانیسم‌های مولکولی مؤثر در هیپرتروفی فیزیولوژیک قلب با سازوکار بیان ژن TBX5 در نتیجه انجام تمرینات با شدت‌های مختلف ورزشی، اندک و متناقض است، در این پژوهش، به بررسی تأثیر شدت‌های مختلف

افزایش حجم ضربه‌ای حتی در ضربان قلب بالا و افزایش ظرفیت اکسایشی و هدایت مویرگی درون عضله اسکلتی را از خود نشان می‌دهند که با مقادیر بالای اکسیژن مصرفی در طول اجرای فعالیت ورزشی همراه است [۴].

به منظور درک سازگاری‌های مولکولی در بافت قلب به دنبال فعالیت ورزشی، شناسایی مسیرهای سیگنالینگ سلولی مؤثر در انتقال محرک فیزیولوژیک به عوامل رونویسی پایین‌دست و سایر سازوکارهای تنظیمی الزامی است. TBX5^۱ یک عامل رونویسی از خانواده T-box است که موجب رشد عضله قلبی می‌شود [۵]. رشد عضله قلب به دو شکل پاتولوژیک و فیزیولوژیک صورت می‌گیرد. رشد پاتولوژیک فیبروز شده تارها و کاستن قدرت انقباضی قلب را به دنبال دارد که در اثر بیماری‌هایی همچون تنگی آئورت، بیماری‌های دریچه قلب و فشار خون ایجاد می‌شود [۶]. رشد فیزیولوژیک قلب افزایش اندازه سلول و توده میوسیت عضله قلب را از طریق فعالیت ورزشی به همراه دارد. این رشد فیزیولوژیک متعادل و برگشت‌پذیر قلب از طریق هایپرتروفی کاردیومیوسیت‌ها با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ مختلف از جمله مسیر پیام‌رسانی عامل رشد شبه‌انسولینی - فسفوااینوزیتید ۳ کیناز - پروتئین کیناز B^۲ صورت می‌گیرد که افزایش مقادیر بیان ژن تنظیم‌کننده هیپرتروفی قلبی TBX5 را منجر می‌شود [۷]. TBX5 در کاردیومیوسیت‌ها یک فعال‌کننده رونویسی بیان ژن قلب و به صورت مستقیم با سایر عوامل رونویسی قلب در تعامل است [۸]. گزارش شده است که جهش در ژن TBX5 منجر به از بین رفتن تعامل آن با عوامل رونویسی می‌شود و عملکرد آن را در بیان ژن‌های قلبی تحت تأثیر قرار می‌دهد [۹].

از سوی دیگر مطالعات گوناگون به بررسی فعالیت ورزشی بر رشد فیزیولوژیک قلب پرداختند و تغییرات ساختاری و شاخص‌های عملکردی قلبی را مورد بررسی قرار دادند؛ این در حالی است که به نظر می‌رسد هیپرتروفی قلبی بیشتر به شدت و مدت فعالیت ورزشی بستگی داشته باشد [۱۰]. در مطالعه‌ای که وربوان و همکاران^۲ (۲۰۱۹)، انجام دادند به بررسی تأثیر فعالیت ورزشی تناوبی با شدت متوسط^۴ و زیاد^۵ در رت‌های سالم پرداختند که پس از یک دوره ۱۳ هفته‌ای فعالیت ورزشی عملکرد قلبی با اکوکاردیوگرافی و اندازه‌گیری همودینامیک بررسی شد. پس از ۱۳ هفته فعالیت ورزشی، تنها در گروه HIIT فشار خون مفید قلب دیده شد. پارامترهای قلبی (کسر تزریقی، برون‌ده قلبی و حجم ضربه‌ای) به طور مشابه بین هر دو روش تمرینی بهبود یافت. تراکم مویرگی گروه HIIT، به شکل قابل توجهی افزایش داشت. داده‌ها در این مطالعه نشان داد تمرینات HIIT و MIT در بهبود عملکرد قلبی در موش‌های سالم مؤثر هستند. علاوه بر

1. T-box transcription factor TBX5
2. T-box transcription factor TBX5
3. Verboven et al
4. Moderate intensity Training (MIT)
5. High intensity interval Training (HIIT)

6. Windi et al

7. Bostrom et al

فعالیت ورزشی بر بیان ژن TBX5 پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر که در سال ۱۳۹۷ در دانشکده تربیت بدنی دانشگاه تهران انجام شد، ۲۴ سررت نر نژاد ویستار (با سن هشت هفته و میانگین وزن 10 ± 170 گرم)، به صورت تصادفی در سه گروه هشت‌تایی کنترل، فعالیت ورزشی پر شدت^۸ و فعالیت ورزشی کم‌شدت^۹ تقسیم شدند. رت‌ها تحت شرایط کنترل شده در دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد، بدون هیچ‌گونه محدودیت غذایی و آب‌نگهداری شدند.

برای کاهش استرس و آشنایی حیوانات با محیط جدید، رت‌ها به مدت یک هفته بر روی نوارگردان با سرعت ۸ متر در دقیقه و ۱۰ دقیقه در طول هر روز فعالیت کردند. پس از مرحله آشناسازی، حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها با پروتکل غیرمستقیم ولی با دقت زیاد اندازه‌گیری شد [۱۷]. سپس رت‌ها طبق برنامه‌های ورزشی بر اساس درصدی از حداکثر اکسیژن مصرفی که با توجه به پژوهش کمی^{۱۰} و همکارانش (۲۰۰۵) طراحی شدند، به صورت پنج جلسه در هفته و به مدت هشت هفته به تمرین پرداختند و در همین زمان گروه کنترل هیچ‌گونه تمرینی نداشت. هر جلسه تمرین تناوبی با شدت زیاد شامل یک ساعت (۶۰ دقیقه) فعالیت ورزشی بود که طی آن ابتدا رت‌ها ۵ تا ۱۰ دقیقه با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی گرم می‌کردند و سپس پنج تناوب ۸ دقیقه‌ای با شدت ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی - که با تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی از هم جدا می‌شدند - را دنبال می‌کردند و در آخر نیز ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی را داشتند. گروه تمرین تناوبی با شدت کم بعد از ۵ تا ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی، به اجرای پنج تناوب ۸ دقیقه‌ای با شدت ۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی - که با تناوب‌های ۲ دقیقه‌ای با شدت ۴۵ تا ۵۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی از هم جدا می‌شدند - پرداختند و در آخر نیز ۵ دقیقه سرد کردن با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی داشتند [۱۸].

در نهایت ۴۸ ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی رت‌ها با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. به منظور ارزیابی میزان هیپرتروفی قلب از ارزیابی نسبت وزن قلب به وزن بدن [۱۹] و اندازه قطر بطن چپ و اندازه کاردیومیوسیت‌ها به کمک روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین به عنوان شاخص‌های هیپرتروفی قلبی استفاده شد [۲۰، ۲۱]. برای این کار در حالت بیهوشی وزن هر

رت به گرم اندازه‌گیری شد. سپس قلب حیوان از شکاف ناحیه سینه خارج و وزن شد. بافت قلب بلافاصله در تانک ازت قرار داده شد و به فریزر با دمای منهای ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

به منظور ارزیابی ضخامت بطن چپ و اندازه کاردیومیوسیت‌ها، پس از مراحل مختلف تثبیت، آنگیری (توسط اتانول)، شفاف‌سازی، قالب‌گیری بافت قلب، مقاطع بافتی به ضخامت ۵ میکرون به کمک میکروتوم تهیه و با هماتوکسیلین - اتوزین رنگ‌آمیزی و برای مطالعه با میکروسکوپ نوری آماده شدند. نتایج به دست آمده در این بخش به کمک نرم‌افزار digimizer به صورت کمی ارائه شدند.

به منظور تعیین میزان بیان ژن TBX5 از روش Real Time PCR استفاده شد. ابتدا طراحی آغازگرها بر اساس اطلاعات بانک ژنی NCBI^{۱۱} و توسط شرکت پیشگام (ایران) انجام شد. اطلاعات آغازگرها در جدول شماره ۱ گزارش شده است. سپس RNA از بافت‌ها طبق پروتکل شرکت سازنده (کیازن، آلمان)^{۱۲} استخراج و به cDNA تبدیل شد. سپس cDNA طبق پروتکل شرکت سازنده (فرمنتاز، آمریکا)^{۱۳} به روش PCR تکثیر شد و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. ضمن اینکه از GAPDH^{۱۴} به عنوان ژن مرجع استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده در Real Time PCR این گونه بود: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در مرحله گرم شدن صفحه قرارگیری نمونه و چرخه‌های گرمایی شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (تکرار ۴۰ چرخه). نمودار ذوب برای بررسی درستی داده‌ها و نمودار استاندارد به منظور بهینه‌سازی شرایط آزمایش رسم شد و بیان داده‌ها توسط نسبت بیان ژن TBX5 نسبت به ژن مرجع محاسبه شدند. میزان بیان ژن‌های مرجع نیز با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ اندازه‌گیری شد.

اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و کلیه نتایج به صورت $Mean \pm SEM$ بیان و در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شد. پس از اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرهای پژوهش با استفاده از آزمون شاپیرو ویلک، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین‌های سه گروه استفاده شد و در صورت معنی‌داری از آزمون تعقیبی توکی برای روشن کردن محل اختلاف استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین وزن گروه کنترل از گروه‌های تمرینی پس از هشت هفته فعالیت ورزشی تناوبی بیشتر بود؛ اما این تفاوت بین گروه‌ها

11. National Center for Biotechnology Information
12. Qiagen, Germany
13. Fermentas, USA
14. Glycerolaldehyde-3-phosphate dehydrogenase

8. High Intensity Training (HIT)
9. Low Intensity Training
10. Kemi et al

شاخص‌های وزن قلب، نسبت وزن قلب به وزن بدن و ضخامت دیواره بطن چپ در گروه‌های تمرین تناوبی با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود. همچنین ضخامت بطن چپ در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد به طور معنی‌داری از گروه تمرین تناوبی با شدت کم بیشتر بود. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین، افزایش معنادار مساحت کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های تمرین تناوبی (شدت زیاد و کم) را نشان داد که میزان افزایش مساحت کاردیومیوسیت‌ها در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد به طور معناداری از گروه تمرین تناوبی با شدت کم بیشتر بود.

فعالیت ورزشی می‌تواند بر هیپرتروفی قلب از طریق تأثیر بر برخی فاکتورهای سلولی و مولکولی مؤثر باشد. بر اساس مطالعات صورت گرفته تمرینات ورزشی از طریق مسیرهای مختلفی شامل PI3K-Akt ، ERK ، $\text{C/EBP}\beta$ ، IGF-1 (IGF-1) می‌شوند و مسیر پیام‌رسانی PI3K-Akt می‌تواند عملکرد و رشد عضله قلبی را تحت تأثیر قرار دهد [۲۲]. میوسیت قلبی سرانجام به دنبال تمرینات ورزشی تمایز یافته و اندازه آن افزایش می‌یابد. بنابراین، عموماً پذیرفته شده است که رشد قلب ناشی از فعالیت ورزشی به دلیل افزایش در اندازه میوسیت است و نه تغییر در تعداد سلول‌های قلبی. همچنین، همسو با افزایش در توده قلب، بافت قلب در معرض تغییرات ریخت‌شناسی قرار می‌گیرد که به نوع فعالیت ورزشی بستگی دارد [۲۳].

TBX5 به عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای خانواده T-box در تکامل قلبی-عروقی، نقش مهمی در مورفوژنز قلب دارد [۲۴]. در پژوهش حاضر سطوح TBX5 با شدت فعالیت ورزشی نسبت مستقیم و در گروه تمرین تناوبی کم‌شدت و پرشدت نسبت به گروه کنترل به ترتیب تفاوت دو و سه‌برابری داشت، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. مطالعه حاضر با نتایج مطالعات

معنی‌دار نبود ($P=0/08$). شاخص وزن قلب در گروه‌های تمرین تناوبی با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (به ترتیب $P\leq 0/001$ و $P=0/004$). نسبت وزن قلب به وزن بدن نیز در گروه‌های تمرین تناوبی با شدت زیاد و کم به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود (به ترتیب $P\leq 0/001$ و $P=0/001$) (تصویر ۱-الف). میانگین شاخص‌های وزن قلب و وزن پایانی بدن گروه‌های مختلف در جدول شماره ۲ ذکر شده است.

همچنین در اثر تمرین تناوبی، بطن چپ هیپرتروفی را نشان داد که این شاخص به وسیله ارزیابی ضخامت دیواره بطن چپ در گروه‌ها مشخص شد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین نشان داد ضخامت دیواره بطن چپ در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد و شدت کم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (به ترتیب $P\leq 0/001$ و $P=0/38$). همچنین ضخامت بطن چپ در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد به طور معنی‌داری از گروه تمرین تناوبی با شدت کم بیشتر بود ($P=0/001$) (تصویر ۱-ب).

همچنین رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین، افزایش معنادار مساحت کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های تمرین تناوبی (شدت زیاد و کم) را نشان داد (به ترتیب $P\leq 0/001$ و $P\leq 0/001$). میزان افزایش مساحت کاردیومیوسیت‌ها در گروه تمرین تناوبی با شدت زیاد به طور معناداری از گروه تمرین تناوبی با شدت کم بیشتر بود ($P\leq 0/001$) (تصویر ۱-ج). میزان بیان ژن TBX5 در گروه‌های تمرین تناوبی کم و زیاد نسبت به گروه کنترل افزایش بیان دو و سه‌برابری داشت، ولی این افزایش معنی‌دار نبود ($P=0/11$) (تصویر ۱-د).

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر حاکی از این مطلب است که

جدول ۱. توالی، طول محصول و دمای آغازگرهای استفاده‌شده

نام ژن	کد ژن	توالی آغازگر (۳'-۵')	طول محصول (جفت باز)	دمای ذوب (درجه سانتی‌گراد)
TBX5	XM_017598339.1	F: 5' GCTACAAAGTGAAGGTGACTGG 3' R: 5' TGAGGTTGAGTTTCTGGAAGG 3'	۲۲۵	۸۴/۹۸
GAPDH	XM_017593963.1	F: 5' -CATACTCAGCACCAGCATCACC-3' R: 5' -AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG-3'	۱۲۱	۷۹/۶۵

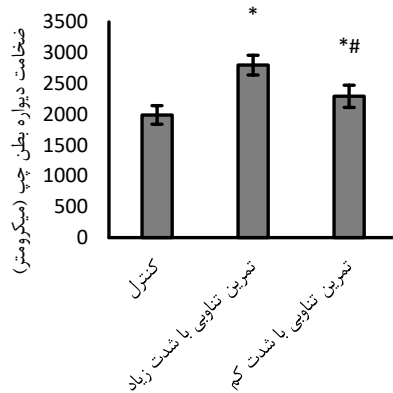
مجله
بیماری‌های تنهائی

جدول ۲. مقادیر میانگین و انحراف استاندارد وزن پایانی بدن و وزن قلب در گروه‌های مختلف

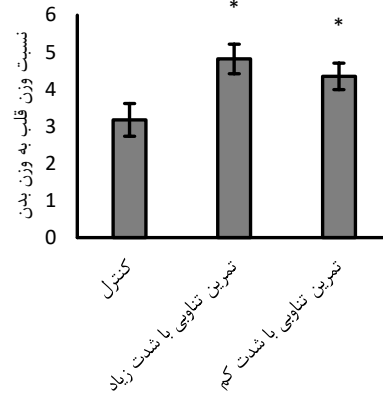
میانگین \pm انحراف معیار	گروه‌های آزمودنی
وزن بدن (گرم)	وزن قلب (گرم)
۳۲۰ \pm ۲۳	۱/۰۱ \pm ۰/۱۱
۳۰۱ \pm ۸	۱/۴۵ \pm ۰/۱۱
۳۰۴ \pm ۹	۱/۳۲ \pm ۰/۷۲

مجله
بیماری‌های تنهائی

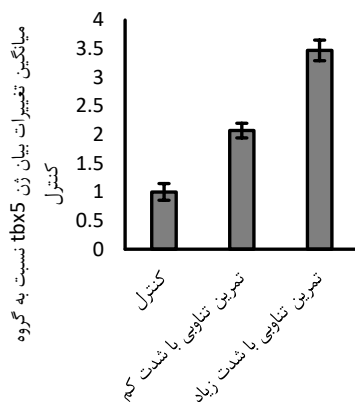
ز ا



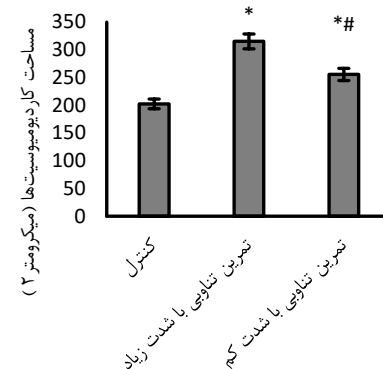
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

مجله
بیماری‌های تنه‌ای

تصویر ۱. (الف) تفاوت نسبت وزن قلب به وزن بدن، (ب) ضخامت بطن چپ قلب، (ج) مساحت کاردیومیوسیت‌های قلب و (د) میانگین تغییرات بیان ژن TBX5 قلب در گروه‌های مطالعه.

* نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل؛ # نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین

یافته‌های دیگر این پژوهش، تغییرات آناتومیکی قلبی است که می‌تواند از طریق افزایش وزن قلب، وزن قلب نسبت به وزن بدن و مساحت کاردیومیوسیت‌ها اندازه‌گیری شود. اما به نظر می‌رسد که رشد قلبی بیشتر از نوع فعالیت ورزشی، به شدت و مدت فعالیت ورزشی بستگی داشته باشد [۱۰]. برخی از مطالعات، فعالیت ورزشی با شدت بالا را در هیپر تروفی قلبی مؤثر دانسته و برخی دیگر فعالیت ورزشی کم‌شدت را در رشد عضله قلبی مفید می‌دانند [۱۶-۱۴].

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تشکیل کاردیومیوسیت‌های جدید با شدت فعالیت همبستگی مستقیم دارد [۲۵]. در همین زمینه وارینگ^{۱۵} و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند ظرفیت هوازی،

بهرامیان و نادری هم‌راستا و با نتایج مطالعه همتی نفر مخالف بود. نادری و همکاران نشان دادند که تمرین ورزشی در شدت‌های مختلف باعث بهبود عملکرد قلب، سطح نشانگرهای سلول‌های بنیادی و قلبی شد. بیان ژن TBX5 به طور قابل توجهی در گروه تمرینی با شدت بالا نسبت به گروه‌های تمرینی با شدت متوسط و کم افزایش بیشتری داشت [۱۶].

این در حالی است که نتایج مطالعه همتی نفر و همکاران حاکی از عدم معنیداری بیان ژن TBX5 پس از شدت‌های متفاوت فعالیت ورزشی بود و محقق فعالیت ورزشی تناوبی با شدت کم را عامل مؤثرتری در بهبود شاخص‌های عملکردی قلب دانسته است [۱۴] که به نظر می‌رسد، تفاوت در نتایج مطالعات به دلیل تفاوت در نمونه‌های تحقیق (رت‌های سالم یا مبتلا به آنفارکتوس میوکاردی) باشد.

15. Waring

مشارکت نویسندگان

اعتبارسنجی، منابع، ویراستاری، نظارت و مدیریت پروژه و تأمین مالی: الهام برجیان فرد؛ مفهوم‌سازی، روش‌شناسی، نگارش و تحلیل داده‌ها: الهام وسدی.

تعارض منافع

بنا به اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران انجام شده است. نویسندگان از کارکنان این مرکز تشکر می‌کنند.

کسر تزریقی، کسر کوتاه‌شدگی و سایر شاخص‌های آناتومیکی قلب در رت‌هایی که به تمرین ورزشی با دو شدت پایین (۵۵ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و بالا (۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) پرداخته بودند، به صورت معناداری افزایش یافت که این تغییرات در گروه تمرینی با شدت بالا، بیشتر بود [۱۰]. همین‌طور نتایج مطالعه ویندی^{۱۶} و همکاران حاکی از افزایش وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن در تمرینات با شدت متوسط و زیاد نسبت به شدت پایین بود [۱۲].

داده‌های وربوان^{۱۷} و همکاران نشان داد، پارامترهای قلبی همچون کسر تزریقی، برون‌ده قلبی و حجم ضربه‌ای در هر دو شدت تمرینی متوسط و بالا به شکل مشابهی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بودند [۱۱] که این نتیجه حاکی از تأثیر مشابه شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی در بهبود عملکرد قلبی در موش‌های سالم بود. علت تفاوت در نتایج مطالعات در زمینه تأثیر شدت‌های مختلف فعالیت ورزشی بر هیپرتروفی قلب را می‌توان به یکسان نبودن شدت‌های مورد بررسی فعالیت ورزشی، نسبت داد. در مطالعه پیش‌رو هم‌راستا با تحقیق وارینگ و ویندی، شدت‌های پایین و بالای فعالیت ورزشی تناوبی مورد بحث قرار گرفت، اما در مطالعه وربوان به مقایسه شدت‌های متوسط و بالا پرداخته شده بود.

از آنجا که مطالعات اندکی در زمینه بررسی تأثیر فعالیت ورزشی بر سطوح TBX5 صورت گرفته است و طبق گزارش‌های متفاوت در زمینه تأثیر شدت‌های متفاوت فعالیت ورزشی تناوبی بر رشد عضله قلبی و سطوح TBX5، به نظر می‌رسد مطالعه‌های بیشتری در این زمینه نیاز باشد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت فعالیت ورزشی به عنوان محرکی مثبت در رشد قلب رت‌های سالم محسوب می‌شود و فعالیت ورزشی تناوبی با شدت بیشتر می‌تواند اثرات برجسته‌تری بر شاخص‌های عملکردی قلب نسبت به فعالیت ورزشی با شدت کم داشته باشد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

پژوهش حاضر دارای کد اخلاق به شماره ۱۴۱/۳۷۰۲۹۹ از کمیته اخلاق دانشگاه تهران است. در این مطالعه اصول و کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شده است.

حامی مالی

این مطالعه حامی مالی ندارد.

16. Windi
17. Verboven

References

- [1] Fulghum K, Hill BG. Metabolic mechanisms of exercise-induced cardiac remodeling. *Front Cardiovasc Med*. 2018; 5:127. [DOI:10.3389/fcvm.2018.00127] [PMID] [PMCID]
- [2] Hellsten Y, Nyberg M. Cardiovascular adaptations to exercise training. *Compr Physiol*. 2015; 6(1):1-32. [DOI:10.1002/cphy.c140080] [PMID]
- [3] Luijckx T, Cramer MJ, Prakken NHJ, Buckens CF, Mosterd A, Rienks R, et al. Sport category is an important determinant of cardiac adaptation: An MRI study. *Br J Sports Med*. 2012; 46(16):1119-24. [DOI:10.1136/bjsports-2011-090520] [PMID]
- [4] Sharma S, Merghani A, Mont L. Exercise and the heart: The good, the bad, and the ugly. *Eur Heart J*. 2015; 36(23):1445-53. [DOI:10.1093/eurheartj/ehv090] [PMID]
- [5] Li QY, Newbury-Ecob RA, Terrett JA, Wilson DI, Curtis AR, Yi CH, et al. Holt-Oram syndrome is caused by mutations in TBX5, a member of the Brachyury (T) gene family. *Nat Genet*. 1997; 15(1):21-9. [DOI:10.1038/ng0197-21] [PMID]
- [6] Ellison GM, Waring CD, Vicinanza C, Torella D. Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: Cellular and molecular mechanisms. *Heart*. 2012; 98(1):5-10. [DOI:10.1136/heartjnl-2011-300639] [PMID]
- [7] Rawlins J, Bhan A, Sharma S. Left ventricular hypertrophy in athletes. *Eur J Echocardiogr*. 2009; 10(3):350-6. [DOI:10.1093/ejehocardiography/ejp017] [PMID]
- [8] Yutzey KE, Woodrow Benson D. TBX5: A developmental key that fits many locks. *J Mol Cell Cardiol*. 2003; 35(10):1175-7. [DOI:10.1016/S0022-2828(03)00248-7] [PMID]
- [9] Steimle JD, Moskowitz IP. TBX5: A key regulator of heart development. In: Frasch M, editor. *Current Topics in Developmental Biology. T-box Genes in Development and Disease*. Vol. 122. Cambridge, MA: Academic Press; 2017. p. 195-221. [DOI:10.1016/bs.ctdb.2016.08.008] [PMID] [PMCID]
- [10] Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *Eur Heart J*. 2014; 35(39):2722-31. [DOI:10.1093/eurheartj/ehs338] [PMID] [PMCID]
- [11] Verboven M, Cuypers A, Deluyker D, Lambrechts I, Eijnde BO, Hansen D, et al. High intensity training improves cardiac function in healthy rats. *Sci Rep*. 2019; 9(1):5612. [DOI:10.1038/s41598-019-42023-1] [PMID] [PMCID]
- [12] Windi Gunadi J, Tarawan VM, Setiawan I, Lesmana R, Wahyudiansih R, Supratman U. Cardiac hypertrophy is stimulated by altered training intensity and correlates with autophagy modulation in male Wistar rats. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2019; 11:9. [DOI:10.1186/s13102-019-0121-0] [PMID] [PMCID]
- [13] Boström P, Mann N, Wu J, Quintero PA, Plovie ER, Panáková D, et al. C/EBP β controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell*. 2010; 143(7):1072-83. [DOI:10.1016/j.cell.2010.11.036] [PMID] [PMCID]
- [14] Hemati Nafar M, Gaeini AA, Kordi MR, Chobineh S, Karimzadeh F. The effect of exercise training intensity on cardiac regeneration capacity in rats with myocardial infarction. *J Sport Biosci*. 2019; 11(1):17-34. [In Persian] [DOI: 10.22059/JSB.2019.134611.1006]
- [15] Bahramian A, Mirzaei B, Karimzadeh F, Ramhmaninia F, Gaeini AA, Naderi N, et al. The effects of exercise training intensity on the expression of C/EBP β and CITED4 in rats with myocardial infarction. *Asian J Sport Med*. 2018; 9(4):e59300. [DOI:10.5812/asjasm.59300]
- [16] Naderi N, Hemmatinafar M, Gaeini AA, Bahramian A, Ghardashi-Afousi AR, Kordi MR, et al. High-intensity interval training increase GATA4, CITED4 and c-Kit and decreases C/EBP β in rats after myocardial infarction. *Life Sci*. 2019; 221:319-26. [DOI:10.1016/j.lfs.2019.02.045] [PMID]
- [17] Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: Practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007; 14(6):753-60. [DOI:10.1097/HJR.0b013e3281eacef1] [PMID]
- [18] Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, et al. Moderate vs. high exercise intensity: Differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res*. 2005; 67(1):161-72. [DOI:10.1016/j.cardiores.2005.03.010] [PMID]
- [19] Liu X, Xiao J, Zhu H, Wei X, Platt C, Damilano F, et al. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell Metab*. 2015; 21(4):584-95. [DOI:10.1016/j.cmet.2015.02.014] [PMID] [PMCID]
- [20] Passier R, Zeng H, Frey N, Naya FJ, Nicol RL, McKinsey TA, et al. CaM kinase signaling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *J Clin Invest*. 2000; 105(10):1395-406. [DOI:10.1172/JCI8551] [PMID] [PMCID]
- [21] Willis MS, Ike C, Li L, Wang DZ, Glass DJ, Patterson C. Muscle ring finger 1, but not muscle ring finger 2, regulates cardiac hypertrophy in vivo. *Circ Res*. 2007; 100(4):456-9. [DOI:10.1161/01.RES.0000259559.48597.32] [PMID] [PMCID]
- [22] Tao L, Bei Y, Zhang H, Xiao J, Li X. Exercise for the heart: Signaling pathways. *Oncotarget*. 2015; 6(25):20773-84. [DOI:10.18632/oncotarget.4770] [PMID] [PMCID]
- [23] Gharaat MA, Kashef M, Jameie B, Rajabi H. Effect of endurance and high intensity interval swimming training on cardiac structure and Hand2 expression of rats. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2017; 25(9):748-58. [In Persian] <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-4279-en.html>
- [24] Hatcher CJ, Kim MS, Mah CS, Goldstein MM, Wong B, Mikawa T, et al. TBX5 transcription factor regulates cell proliferation during cardiogenesis. *Dev Biol*. 2001; 230(2):177-88. [DOI:10.1006/dbio.2000.0134] [PMID]
- [25] Lerchenmüller C, Rosenzweig A. Mechanisms of exercise-induced cardiac growth. *Drug Discov Today*. 2014; 19(7):1003-9. [DOI:10.1016/j.drudis.2014.03.010] [PMID]