

پاسخ ژن mef2 عضله کند و تند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار به یک جلسه تمرین مقاومتی

محمد فتحی^۱، رضا قراخانلو^{۲*}، مسعود سلیمانی^۳، حمید رجبی^۴

چکیده

مقدمه: ژن 2 Myocyte Enhancer Factor (mef2) با چندین فاکتور تنظیمی میوزنیک در ارتباط است که موجب فعال‌سازی ژن‌های ویژه عضله می‌شود. MEF2 در رشد، تمایز سلول‌های عضلانی و همچنین تبدیل تارها در پاسخ به محرك‌ها مشارکت دارد؛ بنابراین هدف این مطالعه ارزیابی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان ژن mef2 عضلات اسکلتی تند و کند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار بود.

روش بررسی: برای این پژوهش تجربی ۱۵ رت از انسنتیتو پاستور تهیه و تحت شرایط طبیعی (دما، چرخه روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و سپس به صورت تصادفی به گروه مقاومتی (۱۰ سر) و کنترل (۵ سر) تقسیم شدند. گروه مقاومتی یک جلسه تمرین مقاومتی را اجرا نمودند و سپس ۳ و ۶ ساعت پس از جلسه تمرینی بی‌هوش و تشریح شدند. در ادامه عضلات نعلی (کند انقباض) و بازکننده دراز انگشتان (تند انقباض) Extensor digitorum longus (EDL) خارج شد. از روش Real time RT-PCR برای تعیین میزان بیان ژن mef2 استفاده شد و با استفاده از آزمون آماری t یک نمونه‌ای و مستقل داده‌ها تحلیل شد.

نتایج: در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی بیان ژن mef2 در عضله EDL در سه ساعت ($P = 0.93$) به طور غیرمعنی‌دار و شش ساعت ($P = 0.08$) پس از آن به طور معنی‌داری افزایش یافت، اما در عضله نعلی بیان ژن mef2 سه ساعت پس از فعالیت مقاومتی به طور معنی‌داری ($P = 0.1$) کاهش یافت و شش ساعت پس از فعالیت بدنی ($P = 0.247$) تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بیان ژن mef2 به شیوه متفاوتی در تارها دستخوش تغییر می‌شود که احتمالاً با تمایل تغییر نوع تارها در پاسخ به تمرین مقاومتی مرتبط است.

واژه‌های کلیدی: تمرین مقاومتی، 2 Myocyte Enhancer Factor، فیبر عضله تند انقباض و فیبر عضله کند انقباض

۱- استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

۲- دانشیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- دانشیار هماتولوژی، گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- دانشیار فیزیولوژی ورزش، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه خوارزمی، کرج
(نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۴۶۴۶، پست الکترونیکی: ghara_re@modares.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۲

مقدمه

مورد آن اتفاق نظر دارند این است که فاکتور رونویسی MEF2 عمدها با فعالسازی بیان تارهای اکسیداتیو در ارتباط است (۷،۸). از جمله محرک‌هایی که بر عضلات تأثیرگذار است، فعالیت بدنی و تمرینات ورزشی (قدرتی و استقامتی) است (۸-۱۰) که از طریق مسیرهای سیگنالینگ موجب تغییراتی در عضله می‌شود (۱۱). پژوهش‌ها در این مورد صورت گرفته که نتایج برخی از آن‌ها گزارش می‌شود. فعالیت بدنی باعث افزایش بیان MEF2 و افزایش MEF2A در هسته سلول می‌شود و همچنین اتصال MEF2 به DNA بعد از یک دو ماراثن نیز افزایش می‌یابد (۱۲). افزایش در Peroxisome proliferator-activated receptor (PGC-1 α) بیان می‌شود (۱۳) و بیان زن mef2 در پاسخ به تمرین قدرتی زیاد دستخوش تغییر نمی‌شود (۱۴) بیشتر پژوهش‌ها با رویکرد متابولیسمی به تحقیق در مورد زن mef2 و فعالیت‌های بدنی پرداخته‌اند، حال آنکه این زن در تمایز (۶) و تبدیل نوع تارها نقش مهمی را ایفا می‌کند (۱۵) و تمرینات مقاومتی موجب فعالسازی فرآیند تکثیر و تمایز سلول‌های ماهواره‌ای (Satellite cells) (۱۶) و همچنین تبدیل نوع تارها می‌شود (۱۵،۱۷) و از طرفی زن mef2 در تمایز سلول‌های عضلانی به سمت تارهای کند انقباض نقش دارد (۷). هدف این تحقیق، بررسی پاسخ زن mef2 عضله کند و تند انقباض رت‌های نر نژاد ویستار به یک جلسه تمرین مقاومتی است.

روش بررسی

در این پژوهش تجربی اثر یک جلسه تمرین مقاومتی بر بیان Zn2 mef2 در عضله نعلی و EDL (Extensor digitorum longus) ارزیابی شد. بدین منظور ۱۵ سرعت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن (۱۰-۱۲۰ گرم) از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همه آن‌ها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص رت، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت، میانگین دما 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد) به صورت یکسان در آزمایشگاه تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در پایان این دوره

فعالیت بدنی بر بافت‌های عضلانی (۱) و همچنین بیان زن بافت تأثیر می‌گذارد (۲)، از جمله این زن‌های تأثیرپذیر، می‌توان به زن mef2 (فاکتور-۲ افزایش دهنده میوسیت) اشاره کرد. Zn mef2 عضوی MCM1, AGAMOUS, از خانواده فاکتورهای رونویسی (MADS-box(DEFICIE, NSSRF -box (MRF)(Myogenic regulatory factor) فاکتور تنظیمی میوزنیک در ارتباط است (۳) و موجب فعالسازی زن‌های ویژه عضله می‌شود. این فاکتور به توالی حفاظت شده از DNA و غنی از نوکلئوتیدهای A-T موجود در پرومتر چندین زن ویژه عضله متصل می‌شود (۳). رونویسی MEF2 در تنظیم بیان میوزنیک در میوبلاست‌های در حال تمایز مشارکت دارد و فهرستی از زن‌های موجود در عضلات اسکلتی به وسیله این فاکتور تنظیم می‌شود، برخی از این زن‌ها عبارت‌اند از؛ مایوزنین (Myogenic)، MyoD، MyoAT، کیناز عضلانی (Muscle Creatine Kinase)، Troponin (Muscle Differentiation)، میوگلوبین و تروپونین (Troponin C(C)، القای افزایش بیان MEF2 در سلول‌های غیر عضلانی به وسیله فعالسازی بیان مایوزنین و MyoD موجب القای میوزن در سلول‌های غیر عضلانی می‌شود (۴). هرکدام از ایزومرهای MEF2 در مرحله‌ای خاص بیان می‌شوند. همچنین MEF2 با تنظیم عمل انسولین در افراد دیابتی نیز مرتبط است (۵). با توجه به نقش مهمی که MEF2 در تمایز میوبلاست‌ها به میوتیوب‌ها بازی می‌کند، به نظر می‌رسد که بسیاری از زن‌های بیان شده در عضله توسط MEF2 تنظیم می‌شوند (۶).

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که ماهیت و عملکرد عضله کندتنش و اکسیداتیو به ترتیب به وسیله تعادل سیگنال‌های مشبت و منفی MEF2 و هیستون داستیلازهای (Histone deacetylase) (HDACs) (۷). کلاس II کنترل می‌شود (۷). تخریب پروتئین‌های HDAC کلاس II موجب فعالسازی مدادوم و چشمگیر MEF2 و در نتیجه شکل‌گیری تارهای کندانقباض و اکسیداتیو می‌شود که باعث افزایش استقامت عضلانی و مقاومت در برابر خستگی می‌شود (۷). موضوعی که بیشتر تحقیقات در

شدن. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن و در میکروتیوب‌هایی با حجم $1/5$ میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

استخراج RNA از بافت

برای استخراج RNA، به 100 میلی‌گرم از بافت هموژن شده داخل میکروتیوب، 1 میلی‌لیتر تراپیزول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد، سپس $2/2$ میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از مخلوط کردن کامل حدود 2 تا 3 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند، سپس مایع رویی به دقت برداشته و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد، سپس $5/5$ میلی‌لیتر ایزoproپرپانول (Isopropyl) سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملايم در دمای -20 - درجه سانتی‌گراد باقی ماندند. با سمپلر (شرکت Eppendorff) مایع رویی با دقت خارج شد و 1 میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه و بعد از تکان دادن مختصر سانتریفیوژ و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد. بعد از این مرحله 50 لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (شرکت Eppendorff) ارزیابی شد که نسبت جذبی $260/280$ نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین $1/6$ تا $1/8$ بود.

cDNA سنتز

برای سنتز cDNA از کیت شرکت ترموساینتفیک با Cat # K1621 استفاده شد. تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام شد.

ارزیابی بیان ژن

قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک PCR Real Time Efficiency نیاز بود که میزان Efficiency ژن رفرنس (GAPDH) و ژن هدف (mef2) بررسی شود که این کار صورت گرفت و میزان Efficiency برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی 1 بود. قابل ذکر است پرایمرهای پژوهش حاضر با استفاده از نرمافزار Oligo نسخه 7 طراحی و همچنین با استفاده از سایت https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=Bla

سن رت‌ها به 9 هفته رسید. در این مدت آن‌ها در 3 قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن عبارت بود از $234/6 \pm 22/6$ گرم. سپس دوره آشناسازی با تمرینات مقاومتی آغاز شد که این دوره یک هفته (سه جلسه) به طول انجامید. در جلسه اول رت‌ها با وزنهای به میزان 10 درصد وزن خودشان که به دم آن‌ها وصل بود از نرdban به ارتفاع 1 متر (26 پله) و با شیب 45 درجه، سه بار بالا می‌رفتند و سپس در جلسات دوم و سوم، همین بار و تکرار در نظر گرفته شد، اما زاویه نرdban تدریجاً به 85 درجه افزایش یافت. در پایان این دوره، رت‌ها به صورت تصادفی به 2 گروه (5 سر به عنوان گروه کنترل و 10 سر دیگر به عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. گروه تجربی یک جلسه تمرین مقاومتی (صعود از نرdban یک متری با 26 پله با زاویه 85 درجه در حالت قائم) با 4 سرت، 5 تکرار، 30 ثانیه استراحت بین تکرارها و 2 دقیقه استراحت بین سرت‌ها را اجرا کرد. برای تعیین بار اولیه، ابتدا وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. بار اولیه، 50 درصد وزن هر رت در نظر گرفته شد. در ادامه، در ابتدای اجرای هر سرت 10 درصد وزن رت به بار اولیه اضافه می‌شد، به طوری که هر رت در پایان سرت 40 درصد وزن خود را از نرdban بالا می‌برد (14).

از آنجایی که برخی پژوهش‌ها اندازه‌گیری بیان ژن **mef2** در دو ساعت 3 تا 6 بعد از اعمال تمرین گزارش کرده‌اند (18)، بنابراین رت‌های گروه تمرینی به طور تصادفی به دو دسته تقسیم شدند که یک گروه 3 ساعت و گروه دیگر 6 ساعت پس از جلسه تمرین مقاومتی به صورت زیر تشریح شدند. ضمن رعایت مسائل اخلاقی، ابتدا حیوانات با ترکیبی از کتامین (Ketamine) (50 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (Xylazine) (5 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به طوری که رت به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، عضله نعلی و EDL تحت شرایط استریل خارج شد. بافت‌های مورد نظر بلافاصله در میکروتیوب‌هایی با حجم $1/5$ میلی‌لیتر با برچسب مناسب با بافت، رت و ساعت تشریح جاسازی و وارد تانک نیتروژن شدند. بعد از اتمام تشریح و تا شروع هموژن، همه بافت‌ها در دمای -80 - سانتی‌گراد نگهداری

۱) cDNA Master Mix (۵ میکرو لیتر)، پرایمر (۱ میکرو لیتر)، میکرو لیتر) و آب مقطر (۳ میکرو لیتر) در نظر گرفته شد و میزان بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرمافزار Excel طبق فرمول $\Delta\Delta^{Ct}$ میزان بیان ژن محاسبه شد (۱۹).

برای شناسایی ژن‌های مورد نظر Blast شدند. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت SYBR Green Master Mix Applied Biosystem استفاده شد. Cat # takara با RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارآیی ژن RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارآیی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه ۱۰ میکرو لیتری ترکیبی از

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

genes		Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F	AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_017008.4	74
	R	CACGACATACTCAGCACCAG		
mef2	F	CCATTGGACTCACCAAGACCT	XM_003749164.1	84
	R	ATGTTGCCCATCCTTCAGAG		

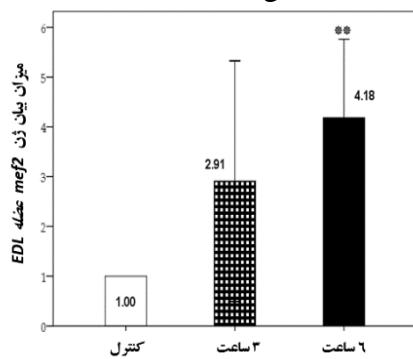
در هر عضله (در ساعت ۳ و ۶ پس از تمرين مقاومتی) از آزمون t مستقل استفاده شد.

نتایج

نتایج آزمون t نشان داد که بیان ژن mef2 عضله EDL نسبت به گروه کنترل در ۳ ساعت پس از تمرين مقاومتی افزایش یافت اما این افزایش معنی دار نبود ($P = 0.93$), اما ۶ ساعت پس از تمرين مقاومتی میزان افزایش بیان ژن معنی داری شد ($P = 0.08$), به این معنی که میزان بیان ژن mef2 به ترتیب به میزان ۲/۹۱ و ۴/۱۸ برابر افزایش یافت (نمودار ۱). نتایج آزمون t مستقل نشان داد که بین بیان ژن EDL mef2 در دو گروه تجربی (۳ و ۶ ساعت) در عضله اختلاف معنی داری ($P = 0.277$) وجود ندارد.

تجزیه و تحلیل دادهها

دادههای به دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به صورت CT (Cycle threshold) (میانگین CT برای هر نمونه) بودند. با استفاده از نرمافزار Excel به $\Delta\Delta^{Ct}$ تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول $\Delta\Delta^{Ct}$ اعداد نهایی به دست آمد. ابتدا نرمالبودن توزیع دادهها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد و مشخص شد که دادهها دارای توزیع طبیعی هستند. سپس با استفاده از آزمون Levene مساوی بودن واریانس‌ها ارزیابی شد. نتایج این آزمون نشان داد که واریانس‌ها در عضلات نعلی و همچنین EDL همگن می‌باشند. بعد از تعیین نرمالبودن، از آزمون‌های آماری t یک نمونه (One sample test) برای تعیین اختلاف بین گروه کنترل (شاخص عدد ۱ است) و گروه‌های تجربی و برای تعیین اختلاف میانگین



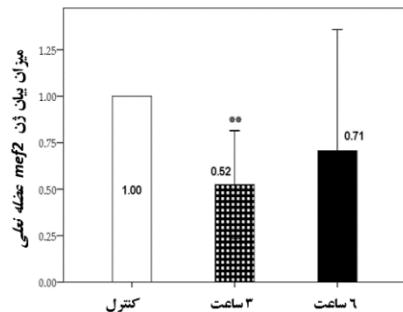
نمودار ۱: تأثیر یک جلسه تمرين مقاومتی بر بیان ژن mef2 عضله EDL در گروه کنترل، ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرين مقاومتی
** = تفاوت میانگین گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل در سطح $P \leq 0.05$ معنی دار است.



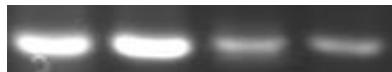
شکل ۱: نمایش محصول PCR ژن *mef2* عضله EDL در سه گروه که با استفاده از ژن GAPDH (سمت چپ) به عنوان کنترل داخلی نرمال شده‌اند.

ژن *mef2* در عضله نعلی، به ترتیب به نصف و ۷۱٪ برابر کاهش یافت (نمودار ۲). نتایج آزمون *t* مستقل نشان داد که بین بیان *EDL* ژن *mef2* در دو گروه تحریکی (۳ و ۶ ساعت) در عضله اختلاف معنی‌داری ($P = 0.0247$) وجود ندارد.

۳ ساعت پس از تمرين مقاومتی، در عضله نعلی، بیان ژن *mef2* به طور معنی‌داری ($P = 0.01$) نسبت به گروه کنترل کاهش نشان یافت اما ۶ ساعت پس از تمرين مقاومتی تمایل داشت به سطح پایه برگرداند، به طوری که کاهش آن با گروه کنترل معنی‌دار ($P = 0.0247$) نشد؛ به این معنی که میزان بیان



نمودار ۲: تأثیر یک جلسه تمرين مقاومتی بر بیان ژن *mef2* عضله نعلی در گروه کنترل، ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرين مقاومتی
** تفاوت میانگین گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل در سطح $P \leq 0.01$ معنی‌دار است



شکل ۲: نمایش محصول PCR ژن *mef2* عضله نعلی در سه گروه که با استفاده از ژن GAPDH (سمت چپ) به عنوان کنترل داخلی نرمال شده‌اند.

بحث

عصبي که فعالیت MEF2 را نیز تنظیم کنند (۲۱)، به عنوان مثال دویدن روی چرخ دور (wheel running) و تحریک الکتریکی عصب سیاتیک (۱۵) موجب تغییر قابل توجهی در نوع فیبرها (I \leftarrow IIa \leftarrow IIb) و همچنین افزایش بیان پروتئین‌های مرتبط با متابولیسم اکسیداتیو مانند میوگلوبین و همچنین MEF2 در رت‌ها می‌شود، اما زمانی که سیکلوسپورین A (Cyclosporine A) و مهارکننده کالسی نورین (calcineurin inhibitor) – تجویز شد، این پاسخ متوقف گردید؛ به این معنی که فعالیت MEF2 به طور چشمگیری تحت تأثیر کالسی نورین نیز است (۱۵، ۱۷).

تمرين استقامتی پروتئین MEF2 تام و هسته‌ای در سلول موش‌های تمرين کرده (استقامتی ۴ هفته) را افزایش داد؛ اما میزان MEF2 متصل به HDAC5 بعد از تمرين کاهش یافت (۲۰) که این موضوع نشان می‌دهد که فعالیت‌های ورزشی به

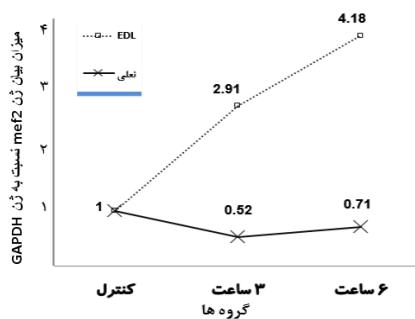
در این تحقیق بیان ژن *mef2* در پاسخ به یک جلسه تمرين مقاومتی در عضله EDL ۳ و ۶ ساعت پس از تمرين مقاومتی افزایش یافت، به طوری که ۶ ساعت پس از تمرين این افزایش معنی‌دار شد، هرچند این تغییر ۳ ساعت پس از تمرين معنی‌دار نشد. در حالی که بیان آن در عضله نعلی در ۳ ساعت بعد از تمرين مقاومتی به نصف رسید که این کاهش معنی‌دار بود و سپس در ۶ ساعت پس از تمرين تمایل داشت به حالت اولیه برگردد بطوریکه به ۷۱ درصد رسید اما این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نبود.

قبل از هر چیز باید یادآوری شود که فاکتورهای زیادی بر فعالیت و یا میزان MEF2 اثر می‌گذارد، فاکتورهایی مانند HDACs کالسی نورین و GLUT4 (Glucose transporter type 4) که با مسیرهای متابولیکی در ارتباطاند و همچنین سیگنال‌های

هرچند فعالیت‌های ورزشی موجب تغییراتی در فاکتورهای رونویسی می‌شوند اما باید دانست که این تغییرات لزوماً افزایش یا کاهش بیان ژن نیست بلکه می‌تواند تعدیلات پس‌رونویسی نیز باشد، مانند فسفوریلاسیون و یا دفسفوریلاسیون پروتئین‌های تنظیمی. در تایید این موضوع تحقیقی با هدف بررسی مسیر تنظیمی پروتئین سیگنالینگ MEF2 حالت استراحت و در مدت ۹۰ دقیقه تمرين دوچرخه سواری (۶۰ دقیقه $\text{VO}_{2\text{peak}}$ افراد سالمن) انجام شد، از عضله پهنه جانبی (قبل و بلافاصله بعد از تمرين) آزمودنی‌ها بیوپسی به عمل آمد. نتایج نشان داد که فسفوریلاسیون، سرین^{۴۹۸} HDAC5 و تیرونین MEF2 در اثر یک جلسه تمرين ۹۰ دقیقه‌ای (روی دوچرخه کار سنج) افزایش می‌یابد و همچنین تمرين موجب افزایش mRNA فاکتورهای MEF2D، MEF2C، MEF2A، MyoD می‌شود (۲۶). یا زمانی که McGee (۲۰۰۵) پاسخ MEF2 به یک جلسه تمرين حاد استقاماتی (۶۰ دقیقه روی دوچرخه کار سنج) با ۷۵ دقیقه مطالعه کردند از نوع استقاماتی بود. فعالیت استقاماتی mef2 را مطالعه کردند از نوع استقاماتی بود. فعالیت استقاماتی مسیرهای سیگنالینگ متabolیکی را فعال می‌کنند (۲۴). از آنجا که تمرينات مقاومتی مسیرهای سیگنالینگ کلسلیمی را فعال می‌کنند (۲۴)، احتمالاً تمرينات مقاومتی بر بیان ژن mef2 عضلات تند و کند انقباض تأثیر متفاوتی دارد. تحقیقی که پروتکل آن از نوع مقاومتی بود (همراه با مصرف اسیدآمینه‌ها)، تحقیق Drummond (۲۰۰۸) با نمونه‌های انسانی است که نشان داد تمرين مقاومتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن mef2 ندارد (۱۸) که نتایج آن با نتایج این تحقیق در مورد عضله EDL تناقض دارد. شاید نوع آزمودنی‌ها (مدل انسانی یا حیوانی) یا عضله مورد ارزیابی (پهنه جانبی در نمونه‌های انسانی) موجب این تناقض شده باشد. بیشتر تحقیقات اتفاق نظر دارند که فاکتور رونویسی MEF2 عمدها با فعال‌سازی بیان تارهای اکسیداتیو در ارتباط است (۷، ۱۷) که این احتمال ممکن است در تارهایی که پتانسیل بالایی برای گرایش به سمت تارهای کند انقباض دارند، اتفاق بیفتد؛ زیرا تمرين مقاومتی موجب افزایش بیان تارهای نوع آهسته‌تر MHC IIa (MHC IIb) و در همان زمان کاهش بیان MHC I می‌شود، هرچند میزان MHC I تغییری نکرد (۹، ۲۵).

نوعی MEF2 را از مهار HDACs می‌رهاند. در تایید این موضوع ۲۴ McGee (۲۰۰۶) گزارش کرد که HDAC5 متعلق به MEF2 تا PGC-1 MEF2 به میزان اتصال پروتئین (۲۲) بیشتر شد و میزان فاکتور مرتبط با مسیرهای متabolیکی (۲۲) افزایش معنی‌داری نسبت به حالت استراحت داشت (۲۳).

در تحقیق حاضر در پاسخ به یک جلسه تمرين مقاومتی (۳ و ۶ ساعت پس از تمرين قدرتی) میزان بیان ژن mef2 عضله EDL افزایش یافت. با توجه به درصد کمتر زنجیره سنگین میوزین (Myosin Heavy Chain) (MHC) از کند در عضله EDL، احتمال دارد این افزایش در بیان ژن mef2 نشانه‌ای باشد از افزایش ظرفیت اکسیداتیو عضله EDL در اثر تمرينات مقاومتی. پروتکل بیشتر تحقیقاتی که تأثیر فعالیت بر بیان ژن mef2 را مطالعه کردند از نوع استقاماتی بود. فعالیت استقاماتی مسیرهای سیگنالینگ متabolیکی را فعال می‌کنند (۲۴). از آنجا که تمرينات مقاومتی مسیرهای سیگنالینگ کلسلیمی را فعال می‌کنند (۲۴)، احتمالاً تمرينات مقاومتی بر بیان ژن mef2 عضلات تند و کند انقباض تأثیر متفاوتی دارد. تحقیقی که پروتکل آن از نوع مقاومتی بود (همراه با مصرف اسیدآمینه‌ها)، تحقیق Drummond (۲۰۰۸) با نمونه‌های انسانی است که نشان داد تمرين مقاومتی تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن mef2 ندارد (۱۸) که نتایج آن با نتایج این تحقیق در مورد عضله EDL تناقض دارد. شاید نوع آزمودنی‌ها (مدل انسانی یا حیوانی) یا عضله مورد ارزیابی (پهنه جانبی در نمونه‌های انسانی) موجب این تناقض شده باشد. بیشتر تحقیقات اتفاق نظر دارند که فاکتور رونویسی MEF2 عمدها با فعال‌سازی بیان تارهای اکسیداتیو در ارتباط است (۷، ۱۷) که این احتمال ممکن است در تارهایی که پتانسیل بالایی برای گرایش به سمت تارهای کند انقباض دارند، اتفاق بیفتد؛ زیرا تمرين مقاومتی موجب افزایش بیان تارهای نوع آهسته‌تر MHC IIa (MHC IIb) و در همان زمان کاهش بیان MHC I می‌شود، هرچند میزان MHC I تغییری نکرد (۹، ۲۵).



نمودار ۳: روند تغییرات بیان زن *mef2* در گروه کنترل ۳ و ۶ ساعت پس از یک جلسه تمرین مقاومتی در عضله EDL و نعلی

نتیجه‌گیری

رسید و سپس در ۶ ساعت بعد از تمرین تمایل داشت به حالت اول برگرد که احتمالاً با نوع تارهای عضلانی در ارتباط باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمام کسانی که در انجام این پژوهش با ما همکاری کردند صمیمانه تشکر می‌شود.

پاسخ زن *mef2* به یک جلسه تمرین مقاومتی یکسان در تارهای کند و تندر انبساط متفاوت بود (نمودار ۳). در حالی که میزان بیان آن در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی در عضله EDL افزایش یافت و سیر صعودی داشت. در تارهای کند میزان بیان آن ۳ ساعت پس از تمرین مقاومتی تقریباً به نصف

References:

- 1- Fathi M, Gharakhanlou R, Solimani M, Rajabi H, Rezaei R. *The effect of resistance exercise on myoD expression in slow and fast muscles of wistar rats*. J sport biosci 2015; 6(4): 435-49.
- 2- Fathi M. *Increase of pgc-1 alpha gene expression accompanied by left ventricular structural changes caused by endurance training*. J Zabol University Med Scis Health Serv 2015; 7(3): e4238.
- 3- Black BL, Olson EN. *Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2) proteins*. Annu Rev Cell Dev Biol 1998; 14: 167-96.
- 4- Friday BB, Mitchell PO, Kegley KM, Pavlath GK. *Calcineurin initiates skeletal muscle differentiation by activating MEF2 and MyoD*. Differentiation; Res Biologic Diversity 2003; 71(3): 217-27.
- 5- Al-Khalili L, Kotova O, Tsuchida H, Ehren I, Feraille E, Krook A, et al. *ERK1/2 mediates insulin stimulation of Na(+),K(+)-ATPase by phosphorylation of the alpha-subunit in human skeletal muscle cells*. J Biol Chem 2004; 279(24): 25211-8.
- 6- McGee SL. *Exercise and MEF2-HDAC interactions*. Appl Physiol Nutr Me 2007; 32(5): 852-6.
- 7- Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. *Histone deacetylase degradation and MEF2 activation promote the formation of slow-twitch myofibers*. J Clin Invest. 2007; 117(9): 2459-67.

- 8- Lucia A, Burd NA, West DWD, Staples AW, Atherton PJ, Baker JM, et al. *Low-Load High Volume Resistance Exercise Stimulates Muscle Protein Synthesis More Than High-Load Low Volume Resistance Exercise in Young Men.* PLoS One 2010; 5(8): e12033.
- 9- Campos G, Luecke T, Wendeln H, Toma K, Hagerman F, Murray T, et al. *Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones.* Euro J Appl Physiol 2002; 88(1-2): 50-60.
- 10- Dimitrov VG, Arabadzhiev TI, Dimitrova NA, V. DG. *Eccentric Contraction-Induced Muscle Fibre Adaptation.* Bio Automation 2009;13 (4):119-26.
- 11- Bassel-Duby R, Olson EN. *Signaling Pathways in Skeletal Muscle Remodeling.* Annu Rev Biochem 2006; 75: 19-37.
- 12- McGee SL, Sparling D, Olson AL, Hargreaves M. *Exercise increases MEF2- and GEF DNA-binding activity in human skeletal muscle.* FASEB J 2006; 20(2): 348-9.
- 13- Liu Y, Heinichen M, Wirth K, Schmidtbileicher D, Steinacker JM. *Response of growth and myogenic factors in human skeletal muscle to strength training.* Br J Sports Med 2007; 42(12): 989-93.
- 14- Raue U, Slivka D, Jemiolo B, Hollon C, Trappe S. *Myogenic gene expression at rest and after a bout of resistance exercise in young (18-30 yr) and old (80-89 yr) women.* J Appl Physiol 2006; 101(1): 53-9.
- 15- Wu H, Naya FJ, McKinsey TA, Mercer B, Shelton JM, Chin ER, et al. *MEF2 responds to multiple calcium-regulated signals in the control of skeletal muscle fiber type.* EMBO J 2000; 19(9): 1963-73.
- 16- Kadi F. *The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles.* J Physiol 2004; 558(3): 1005-12.
- 17- Wu H, Rothermel B, Kanatous S, Rosenberg P, Naya FJ, Shelton JM, et al. *Activation of MEF2 by muscle activity is mediated through a calcineurin-dependent pathway.* EMBO J 2001; 20(22): 6414-23.
- 18- Drummond MJ, McCarthy JJ, Fry CS, Esser KA, Rasmussen BB. *Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids.* Am J Physiol Endocrinol Metabolism 2008; 295(6): E1333-40.
- 19- Livak KJ, Schmittgen TD. *Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ Method.* Methods 2001;25(4):402-8.
- 20- Gong H, Xie J, Zhang N, Yao L, Zhang Y. *MEF2A binding to the Glut4 promoter occurs via an AMPKalpha2-dependent mechanism.* Med Sci Sports Exerc 2011;43(8):1441-50.
- 21- Cohen TJ, Barrientos T, Hartman ZC, Garvey SM, Cox GA, Yao TP. *The deacetylase HDAC4 controls myocyte enhancing factor-2-dependent structural gene expression in response to neural activity.* FASEB J 2009; 23(1): 99-106.

- 22- Koves TR, Li P, An J, Akimoto T, Slentz D, Ilkayeva O, et al. *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma co-activator 1alpha-mediated metabolic remodeling of skeletal myocytes mimics exercise training and reverses lipid-induced mitochondrial inefficiency.* J Biol Chem 2005; 280(39): 33588-98.
- 23- McGee SL, Hargreaves M. *Exercise and myocyte enhancer factor 2 regulation in human skeletal muscle.* Diabetes 2004; 53(5): 1208-14.
- 24- Czubryt MP, Olson EN. *Balancing contractility and energy production: the role of myocyte enhancer factor 2 (MEF2) in cardiac hypertrophy.* Recent Prog Horm Res 2004; 59: 105-24.
- 25- Adams GR, Hather BM, Baldwin KM, Dudley GA. *Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training.* J Appl Physiol 1993;74(2): 911-5.
- 26- Vissing K, McGee SL, Roepstorff C, Schjerling P, Hargreaves M, Kiens B. *Effect of sex differences on human MEF2 regulation during endurance exercise.* Am J of physiol Endocrinol Metabol 2008; 294(2): E408-15.

Response of mef2 Gene of Slow and Fast Twitch Muscles of Wistar Male Rats to One Bout of Resistance Exercise

Mohammad Fathi (PhD)¹, Reza Gharakhanlou (PhD)*², Masoud Solimani (PhD)³, Hamid Rajabi (PhD)⁴

¹ Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

² Department of Physical Education, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

³ Department of Hematology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

⁴ Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education & Sports Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran.

Received: 21 Apr 2016

Accepted: 22 Sep 2016

Abstract

Introduction: Myocyte Enhancer Factor 2 (mef2) gene relates with multiple myogenic transcriptional factors that induces activation Muscle-specific genes. MEF2 contributes in muscular cells development and differentiation as well as in fibers transition in response to stimulants. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of one bout of resistance exercise (RE) on mef2 gene expression in fast and slow skeletal muscles of Wistar male rats.

Methods: For this experimental study, 15 rats from Pasteur Institute were prepared and housed under natural conditions (temperature, light/dark (12:12) cycle, with ad libitum access to food and water) and then randomly divided assigned to RE (n=10) and control groups (n=5); the RE group performed one RE session. 3 and 6 hours following, the rats were anaesthetized and sacrificed, then the soleus and Extensor digitorum longus (EDL) muscles were removed. determine mef2 gene expression rate, the Quantitative Real time RT-PCR was used. Data were analyzed by one sample and independent samples t test.

Results: In EDL muscle, in response to one RE session, the mef2 gene expression increased non significantly at 3 hour ($p=0.093$) and increased significantly ($p=0.008$) at 6 hour after exercise, but in soleus muscle, the mef2 gene expression decreased significantly at 3 hour ($p=0.01$), and at 6 hour after RE session there was no observed significant change ($p=0.247$).

Conclusion: Mef2 expression gene is differently changes in muscle fibers, which are likely associated with changes in fiber type in response to resistance exercise.

Keywords: Muscle Fibers; Fast-Twitch; Muscle Fibers; Slow-Twitch; Myocyte Enhancer Factor 2; Resistance Exercise

This paper should be cited as:

Mohammad Fathi, Reza Gharakhanlou, Masoud Solimani, Hamid Rajabi. ***Response of mef2 gene of slow and fast twitch muscles of wistar male rats to one bout of resistance exercise.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(8): 630-39.

*Corresponding author: Tel: 02182884646, email: ghara_re@modares.ac.ir