مقـالـه پـژوهشی

عدم تغییر بیان ژن mef2c *عضلهٔ بطن* چپ رت‌ها در پی فعالیت استقامتی

محمد فتحی[1]*

1. استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان

تاریخ دریافت: 1395/04/03
تاریخ پذیرش: 1395/06/27

چکیده

زمینه و هدف: ژن*mef2c* القاءکنندهٔ تارهای کند انقباض در عضلات اسکلتی است که در بسیاری از فرآیندهای سلولی درگیر است، فعالیت‌های استقامتی بر بیان این ژن در عضلهٔ اسکلتی تأثیر می‌گذارد، هدف این مطالعه بررسی اثر دورهٔ فعالیت استقامتی بر بیان ژن *mef2c* قلب بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی 14 موش صحرایی تحت شرایط استاندارد (دما، چرخهٔ روشنایی و تاریکی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و بعد از آشناسازی با پروتکل فعالیت بدنی به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. گروه تجربی برنامه‌ای (14 هفته‌ای) فعالیت استقامتی را روی تردمیل اجرا کرد، سپس 48 ساعت پس از پایان آخرین جلسه فعالیت استقامتی بی‌هوش و تشریح شدند. قلب و بطن چپ آنها خارج شد. از روش Real time-PCR برای اندازه‌گیری بیان ژن *mef2c* قلب (در ناحیه بطن چپ) استفاده شد. در پایان با استفاده از آزمون آماری t اطلاعات به دست آمده تجزیه‌وتحلیل شد.

یافته‌ها: نتیجهٔ این پژوهش نشان داد فعالیت استقامتی موجب افزایش بیان ژن *mef2c* در قلب گروه تجربی شد اما این افزایش در بیان ژن *mef2c* قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل معنادار (p=0/148) نبود.

نتیجه‌گیری: احتمالاً فعالیت استقامتی بر القای تارهای کند انقباض و در نتیجه افزایش آن‌ها در عضلهٔ قلب تأثیر ندارد و از این طریق برای حفظ شرایط مطلوب بافت قلب، مکانیزم‌هایی در تلاشند که میزان بیان ژن*mef2c*درسطح ثابتی حفظ شود.

کلیدواژه‌ها:
بطن چـپ، ژن*mef2*، عضـلهٔ قلبی، فعالیت استقامتی.

* **نویسندهٔ: محمد فتحی**
نشانی: خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکدهٔ علوم انسانی، گروه تربیت‌بدنی
تلفن: 09163972041، **دورنگار:**
رایانه: fathi.m@lu.ac.ir.

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ 24، شمارهٔ 6، بهمن و اسفند 1396، ص 45-51.
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: 7487-1606

مقدمه

فعالیت استقامتی بر بیان بسیاری از ژن‌ها [1 و 2] از جمله فاکتورهای افزایش‌دهنده میوسیت Myocyte EnhancerFactors (MEFS) تأثیر می‌گذارد [3.] فاکتور رونویسی Myocyte EnhancerFactor-2 (MEF2c)در بسیاری از فرآیندهای سلولی درگیراست و با فاکتورهای تنظیمی‌میوژنیک در ارتباط است و موجب فعال‌سازی ژن‌های ویژه عضله می‌شود [4]. پروتئین MEF2c به‌عنوان کانون تلفیقی [5] برای دیگر مسیرهای سیگنالینگ تنظیم شده به‌وسیلهٔ کلسیم عمل می‌کند، همچنین بسیاری از ژن‌های متابولیک باMEF2 در ارتباطند و با توجه به نقش مهمی‌که MEF2 در تمایز میوبلاست‌ها به میوتیوب‌ها بازی می‌کند، به نظر می‌رسد که بسیاری از ژن‌های بیان شده در عضله توسط MEF2cتنظیم می‌شوند [6].

پژوهش‌ها نشان داده‌اند دویدن به‌صورت اختیاری و تحریک الکتریکی عصب سیاتیک [7] موجب تغییر چشمگیری در ایزوفرم تارهای عضلانی (نوع IIb←IIa←I) و همچنین افزایش بیان پروتئین‌های مرتبط با سوخت‌وساز اکسیداتیو، مانند میوگلوبین می‌شود که با فعال‌سازیMEF2همراه است [7 و 8]. از طرف دیگر فعال‌سازی مسیرهای کالسی نورین و MEF2 موجب بهبود بیان ژن‌های ویژهٔ عضله مانند میوگلوبین، میوزین زنجیره سنگین و تروپونین-1کند می‌شود [9 و10]. این یافته‌ها نشان می‌دهد کالسی نورین و MEF2 در فرآیندی از سازگاری شرکت می‌کنند که کسب خصوصیات انقباضی و متابولیکی ویژه توسط تارچه‌ها تابعی از الگوی انقباض القاء شده به‌وسیلهٔ فعالیت بدنی است [11].

در پژوهشی مشاهده شد که 90 دقیقه فعالیت‌بدنی با60 درصد vo_2max تأثیر معناداری بر بیان mRNA بلند، کوتاه (ایزوفرم‌های*mefs*) و همچنین پروتئین خانواده MEFS(-A, -B, -D) ندارد [12] و افزایش در بیان PGC-1α (تنظیم‌کنندهٔ رونویسی، بیوژنز میتوکندریایی، سوخت‌وساز اکسیداتیو و بیولوژی عضلات اسکلتی است) با تمرین، به تغییر در عملکردMEF2 می‌انجامد [13]. البته بیان ژن *mef2* در پاسخ به تمرین قدرتی زیاد دستخوش تغییر نمی‌شود [14]. در پژوهشی، Potthoff (2007) نشان داد که MEF2c القاءکنندهٔ تارهای کند انقباض در عضلات اسکلتی است به‌طوری که افزایش بیان این ژن با افزایش پروتئین مرتبط با خصوصیات اکسیداتیو تار عضلانی همراه است [5]. افزایش تارهای کند انقباض در عضله قلب نشانه‌ای از تجدید ساختار معیوب قلب است که معمولاً با نارسایی قلب همراه است [15]. پرسش اصلی این پژوهش این است آیا فعالیت‌های استقامتی که با افزایش خصوصیات اکسیداتیو در عضلات اسکلتی همراه است موجب افزایش بیان ژن *mef2c* (فاکتوری که القاءکنندهٔ تارهای کند انقباض در عضلات اسکلتی است) در قلب می‌شود؟ بنابراین هدف این پژوهش مطالعهٔ تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی بلند مدت بر بیان ژن*mef2c* درعضلهٔ بطن چپ موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار بود

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی (با شمارهٔ پژوهشی 90007014) تأثیر یک دوره فعالیت استقامتی بر بیان ژن*mef2c* درعضله بطن چپ ارزیابی شد. بدین‌منظور 20 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با 5 هفته سن (20±113گرم) از انستیتو پاستور خریداری شد. برای همهٔ آنها شرایط مناسب آزمایشگاهی (دسترسی آزاد به آب و غذا مخصوص موش چرخهٔ روشنایی و تاریکی 12:12 ساعت، میانگین دما 3±22 درجهٔ سانتی‌گراد) به‌صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات تا رسیدن به سن بلوغ فراهم شد. در این مدت آن‌ها در 4 قفس یکسان نگهداری شدند. در پایان این مرحله، میانگین و انحراف استاندارد وزن عبارت بود از 24±231 گرم. سپس دورهٔ آشناسازی با فعالیت استقامتی آغاز شد که این دوره 10 (5 جلسه) روز برای آشنایی به دویدن روی تردمیل (9متر در دقیقه، 5 دقیقه و 4 روز در هفته) به طول انجامید. در پایان جلسات آشناسازی، به صورت تصادفی به 2 گروه (10سر به‌عنوان گروه کنترل و 10سر دیگر به‌عنوان گروه تمرینی) تقسیم شدند. از موش‌های گروه تمرینی 3 سر نتوانست پروتکل را به پایان برساند؛ بنابراین تعداد نهایی آن‌ها به 14 سر(7 سر کنترل و 7 سر تجربی) کاهش یافت. در این پژوهش سعی شد اصول اخلاقی رعایت شود. به‌طور مثال در اجرای پروتکل موش‌هایی که قادر به ادامهٔ فعالیت نبودند از پژوهش کنار گذاشته شدند و همچنین قبل از استخراج قلب، موش‌ها با دوز مناسبی از کتامین و زایلازین بی‌هوش و بی‌حس شدند بعد از بی‌هوشی کامل (به‌طوری که به محرک‌ها پاسخ ندهند) تشریح شدند.

با استفاده از منابع پیشین یک پروتکل تمرین استقامتی مخصوص موش‌ها طراحی شد [16و 17] به‌طوری که منجر به هایپرتروفی قلب و بطن چپ ناشی از فعالیت استقامتی شود. پروتکل (14 هفته، هفته‌ای 6 روز) گروه تجربی عبارت بود از؛ دویدن روی تردمیل که سرعت، شیب و زمان آن قابل برنامه‌ریزی بود و در انتهای آن یک شوکر برای جلوگیری از توقف تعبیه شده بود، هر جلسه با یک بخش 5 دقیقه‌ای با سرعت 12 متر در دقیقه برای گرم‌کردن شروع می‌شد. در

جلسهٔ اول، بخش اصلی پروتکل 12 دقیقه بود. به‌طور هفتگی مدت زمان بخش اصلی پروتکل افزایش یافت؛ بدین صورت (در هفته 1-3 هر روز 2 دقیقه به مدت زمان اجرای بخش اصلی پروتکل اضافه می‌شد) به‌طوری که در پایان روز 23 مدت بخش اصلی پروتکل به 50 دقیقه رسید که با احتساب 5 دقیقه گرم‌کردن و 5 دقیقه سردکردن، مدت زمان کلی 60 دقیقه بود. شدت تمرین با سرعت 20 متر در دقیقه شروع شد. سپس هر هفته 2 متر بر دقیقه به سرعت اضافه شد به‌طوری که در پایان هفتهٔ ششم سرعت به 30 متر در دقیقه رسید. در نهایت، طی هفته‌های 7 تا 10 به تدریج 5 درجه شیب (ابتدای هر هفته تقریباً 1/2 درجه شیب) نیز اضافه شد. این پروتکل [60 دقیقه دویدن (شامل 5 دقیقه گرم کردن با سرعت 12 متر در دقیقه، 50 دقیقه دویدن با سرعت 30 متر در دقیقه، با شیب 5 درجه به‌عنوان بخش اصلی پروتکل و در نهایت 5 دقیقه دویدن با سرعت 9 متر در دقیقه به‌عنوان بخش سرد کردن)] تا پایان هفته 14 حفظ شد. پروتکل بین ساعات 5 تا 7 بعد از ظهر هر روز اعمال می‌شد.

در نهایت 48 ساعت پس از پایان آخرین جلسه تمرینی موش‌ها با ترکیبی از کتامین (50 میلی‌گرم به ازای هرکیلوگرم) و زایلازین (5 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی کامل (به‌طوری که موش به تحریک اعمال شده پاسخ ندهد)، قلب موش‌ها تحت شرایط استریل خارج شد و بطن چپ آنها توسط متخصص آناتومی‌جدا شد. بعد از اتمام تشریح و فریزکردن آنها با نیتروژون مایع و تا شروع هموژن بافت‌ها، همهٔ آنها در دمای 80- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از هاون و نیتروژن مایع بافت‌ها هموژن و در میکروتیوب‌هایی با حجم 1/5 میلی‌لیتر با برچسب مناسب نگهداری شدند.

برای استخراج RNA از بافت‌های هموژن شده، به100 میلی‌گرم از بافت داخل میکروتیوب، 1 میلی‌لیتر ترایزول (Invitrogen) اضافه شد و پس از مخلوط‌کردن کامل (پیپتاژکردن) به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق نگهداری (انکوبه) شد، سپس 0/2 میلی‌لیتر به آن کلروفرم سرد اضافه شد و پس از پیپتاژ (15 ثانیه) حدود 2 تا 3 دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد، در ادامه میکروتیوب‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 4 درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت 12000 دور در دقیقه سانتریفیوژ (شرکتEppendorff) شدند سپس مایع رویی به دقت برداشته شد و به یک میکروتیوب RNAase free انتقال داده شد (از این مرحله به بعد با سرسمپلر فیلتردار کار شد) سپس 0/5 میلی‌لیتر ایزوپروپانول سرد اضافه شد و بعد از هم زدن ملایم در دمای 20- سانتی‌گراد باقی ماندند (Overnight). روز بعد میکروتیوب‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای 4 درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت 12000 در دقیقه مجدداً سانتریفیوژ شدند که در این مرحله رسوبی سفیدرنگ در ته اکثر میکروتیوب‌ها قابل مشاهده بود. با سمپلر شرکت اپندورف مایع رویی با دقت خارج شد و 1 میلی‌لیتر اتانول خالص سرد به آن اضافه شد و بعد از تکان دادن مختصر به مدت 5 دقیقه در دمای 4 درجه با سرعت 7500 درو در دقیقه سانتریفیوژ شدند و در ادامه مایع رویی به دقت تخلیه شد و 10 دقیقه فرصت داده شد تا باقی‌ماندهٔ اتانول تبخیر شود و داخل میکروتیوب خشک شود، بعد از این مرحله 50 لاندا آب تزریقی به هر نمونه اضافه شد و چند بار به آرامی‌پیپتاژ صورت گرفت. در پایان غلظت و نسبت جذبی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(شرکت اپندورف) ارزیابی شد که نسبت جذبی 260/280 نانومتر برای تمام نمونه‌ها بین 1/6 تا 1/8بود. تمام مراحل کار زیر هودی که از قبل آماده شده بود (استریل شده با الکل 75 درصد و نورUV) انجام می‌شد. البته غیر از مراحلی که نیاز بود میکروتیوب‌های حاوی مواد، سانتریفیوز و یا ورتکس شوند. در تمامی مراحل از دستکش لاتکس بدون پودر استفاده می‌شد و به محض نیاز به تعویض، دستکش‌ها تعویض می‌شدند. کیت‌ها دقیقا قبل از استفاده از یخچال 20- خارج می‌شدند و بعد از استفاده به داخل یخچال منتقل می‌شدند. تمام سمپلرها طبق زمان‌بندی‌های گروه کالیبره شده بودند.

برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ScientificThermo با Cat # K1621 استفاده شد. و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت اپندورف بود.

قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک PCRReal Time نیاز بود که میزان کارآیی ژن رفرنس (*gapdh*) و ژن هدف (*mef2c*) بررسی شود. این کار صورت گرفت و مشخص شد که میزان کارآیی برای این دو ژن در بالاترین میزان خود یعنی 1 است. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت Applied Biosystem استفاده شد.SYBR green master mix استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا با Cat # RR820L بود. طبق دستورالعمل کیت و بررسی میزان کارآیی ژن رفرنس و هدف، برای یک نمونه 10 لاندایی ترکیبی از master mix (5 لاندا) پرایمر (1 لاندا)، cDNA (1 لاندا) و آب مقطر (3 لاندا) در نظر گرفته شد. برای هر نمونه (ژن رفرنس و هدف) از هر بافت دو میکروتیوب در نظر گرفته شد. به این معنی که هر نمونه به صورت دوگانه یا duplicate ارزیابی یا Run شد. مطابق دستورالعمل شرکت Applied Biosystem برای گروه کنترل ترکیبی از cDNAها (10 لاندا) تهیه شد، به این معنی که از گروه کنترل Pool ساخته شد و در هر Run که ژن هدف ارزیابی می شد از Pool (سه نمونه) گروه کنترل به‌عنوان گروه

کنترل استفاده می‌شد. بیان ژن با استفاده از روش نسبی ارزیابی شد. در هر Run نمونه‌ای به‌عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از 35 باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (*gapdh*)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و MEF2 هم‌زمان (در یک Run) ارزیابی شد. بعد از به‌دست آوردن CT دوتایی برای هر نمونه، میانگین آنها محاسبه شد. لازم به ذکر است در برخی موارد نیاز بود که test مجدداً تکرار شود که در این‌صورت این کار انجام می‌شد. بعد از انتقال اطلاعات به نرم‌افزار Excel طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ میزان بیان ژن *mef2c* محاسبه شد[18]. مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول 1 آمده است. ژن رفرنس در این تحقیق ژن *gapdh* است.

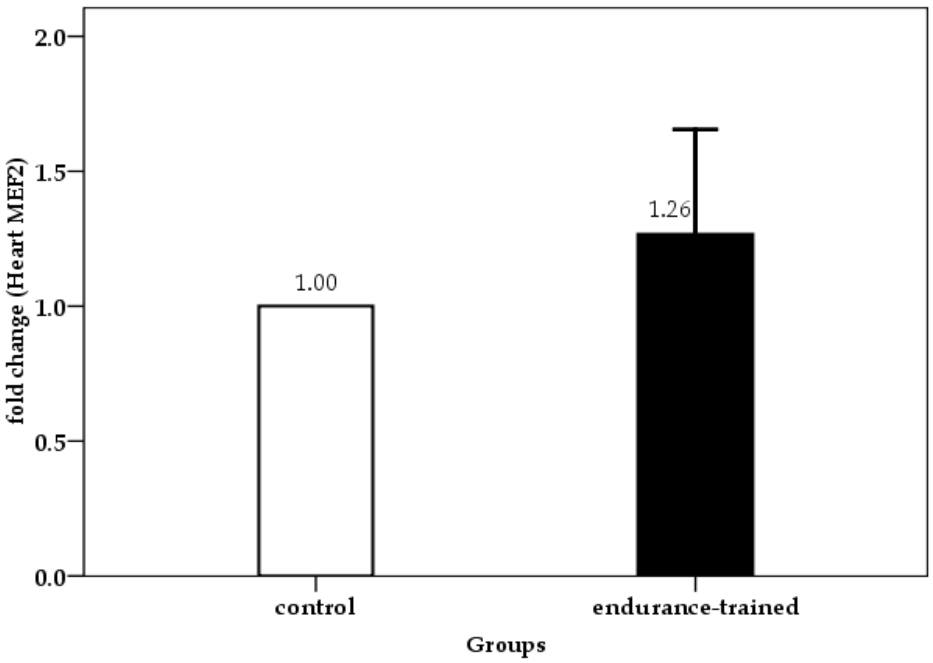
جدول 1. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

*gene*name		Sequence 5-3	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F	AACCCATCACCATCTTCCAG	XM_017008.4	74
	R	CACGACATACTCAGCACCAG		
mef2c	F	CCATTGGACTCACCAGACCT	XM_003749164.1	84
	R	ATGTTGCCCATCCTTCAGAG		

داده‌های به‌دست آمده از دستگاه Real Time PCR که به‌صورت CT (میانگین CT برای هر نمونه به‌صورت duplicate ارزیابی می‌شد) هفت نمونه برای گروه تجربی و هفت نمونه برای گروه کنترل بودند. با استفاده از نرم‌افزارExcel به $\Delta\Delta ct$ تبدیل شدند و سپس با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ اعداد نهایی به‌دست آمد. با انتقال این اعداد به نرم‌افزار SPSS، ابتدا نرمال‌بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی و مشخص شد که داده‌ها دارای توزیع طبیعی هستند. بعد از تعیین توزیع طبیعی، برای تعیین اختلاف میانگین‌ها از آزمون t استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج آزمون t (t=1/661) نشان داد که میانگین بیان ژن*mef2c* قلب گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در اثر 14 هفته تمرین استقامتی 26 درصد افزایش یافت که این افزایش (p =0/148) معنادار نبود. (شکل 1)



شکل 1. تأثیر دورۀ تمرین استقامتی بر بیان MEF2 عضلۀ قلب در گروه کنترل و تجربی

بحث

به‌نظر می‌رسد این تحقیق جزو نخستین پژوهش‌ها در این زمینه باشد که نشان داد میزان بیان ژن *mef2c* در بافت قلب تحت تأثیر 14 هفته تمرین استقامتی قرار نمی‌گیرد، هرچند تأثیر فعالیت‌های بدنی بر بیان ژن *mef2c* در عضلات اسکلتی مورد پژوهش قرار گرفته است [19]. به‌عنوان نمونه بخش‌های مسیر تنظیمی پروتئین سیگنالینگ MEF2 در حالت استراحت و در مدت 90 دقیقه تمرین دوچرخه‌سواری (60 درصد VO_2^{peak})در عضلۀ پهن جانبی 9 زن (سن1±24) و 8 مرد (سن1±25) تمرین کرده (متوسط) سالم (قبل و بلافاصله بعد از تمرین) مطالعه شد که نشان داد فسفوریلاسیون قسمت Thr پروتئین MEF2 افزایش می‌یابد، که با افزایش بیان ژن‌های *mef2a*، *mef2c* و *mef2d* همراه بود [20]. یک جلسه تمرین حاد استقامتی (60 دقیقه با 75 درصد VO_2^{peak}) موجب افزایش فعالیت اتصال به DNA هترومرهای A و D پروتئین MEF2 می‌شود [12] همچنین میزانMEF2D هسته‌ای بعد از تمرین تغییری نکرد؛ اما میزان MEF2A هسته افزایش معناداری داشت که نشان می‌دهد ورزش فعالیت اتصال به DNA فاکتورهای MEF2 را افزایش می‌دهد [12]. اما در قلب و عضلات اسکلتی موش‌های دیابتی، فعالیت اتصالی MEF2 به DNA کاهش می‌یابد که با میزان رونویسی ژن GLUT4 ارتباط مثبتی دارد. می‌توان گفت که فعالیت اتصالی MEF2 به DNA در عضلات اسکلتی تمایز یافته از طریق مسیرهای AMPK (مرتبط با مسیرهای متابولیکی) و MAPK (مرتبط با مسیرهای کلسیمی) تنظیم می‌شود [21]، همچنین فعالیت عملکردی فاکتور رونویسی MEF2 به‌وسیلۀ دوره‌های تمرین استقامتی یا ایمپالس‌های نرون حرکتی تغییر می‌یابد که این تغییر با تبدیل زیر گروه‌های تارچه‌ها همراه است(7). به‌طور خلاصه MEF2 ادغام‌کنندۀ چندین سیگنالینگ مهم است که به‌وسیلۀ کلسیم برای تنظیم بیان ژن درعضلات اسکلتی کنترل می‌شوند. فعالیت انقباضی ازطریق مسیرهای یک هلزوما شامل پروتئین فسفات از کالسی‌نورین هستند، عملکرد MEF2 را به‌عنوان یک فعال‌کننده رونویسی افزایش می‌دهد [7].در موش‌ها دیده شده که ژن *mef2c* با فعال‌سازی ژن‌های درگیر در تمایز عضله، موجب توسعۀ عضلات اسکلتی می‌شود [22]. از آنجایی که نتوانستیم پژوهشی را بیابیم که تأثیر فعالیت‌های استقامتی را بر بیان ژن *mef2c* بررسی کرده باشد، لذا در این زمینه مقایسه‌ای صورت نگرفته است؛ اما با توجه به تحقیقاتی که به بررسی نقش این ژن در قلب صرف‌نظر از فعالیت ورزشی پرداخته‌اند، به‌نظر می‌رسد این ژن در فرآیندهای سلولی قلب نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند و مشخص شده که در پاسخ به استرس‌های وارده به عضلۀ قلب که با فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ کلسیمی همراهند فعالیتMEF2 آغاز می‌شود [23]. فعال‌سازی این فاکتور موجب افزایش بیان ژن‌های قلبی دوران جنینی (شاخص معتبری برای نشان دادن‌های پرتروفی پاتولوژیکی قلب) می‌شود [24]، افزایش بیان ژن*mef2c* و *mef2a* موجب کاردیومیوپاتی متسع شده و مرگ در نمونه‌های حیوانی می‌شود اما موجب هایپرتروفی نشد [25]. MEF2 همچنین در کنترل سوخت‌وساز و هدایت‌پذیری آن نقش مهمی را به عهده دارد و حذف *mef2a* در موش‌ها موجب نقص در میتوکندری و گسترش بی‌نظمی‌در هدایت‌پذیری آن می‌شود. به‌طوری‌که آنها را مستعد مرگ ناگهانی می‌کند [26]. به‌علاوه جهش ژن*mef2a* در انسان موجب بیماری‌های قلبی-کرونری و انفارکتوس قلبی می‌شود [27]. در همین ارتباط افزایش بیان ویژۀ قلب ژن *mef2c* و *mef2a* موجب تغییر بیان ساختاری و رفتار یون‌ها و ژن‌های متابولیک می‌شود [25]. بنابراین می‌توان گفت که پروتئین‌های MEF2 برای تنظیم انرژی قلبی و هدایت‌پذیری قلب ضروری‌اند(15). اما به نظر می‌رسد این مقادیر باید در دامنۀ مشخصی حفظ شود زیرا با توجه به نتیجۀ پژوهش‌های ذکر شده می‌توان گفت که افزایش MEF2 با نارسایی قلب (فعال شدن برنامۀ ژنی جنینی) و همچنین کاهش بیان آن با نقص عملکردی در میتوکندری‌ها و هدایت‌پذیری قلب در ارتباط است [15]. پس می‌توان گفت هرچند فعالیت استقامتی موجب کارایی قلب و بطن چپ (هم به صورت عملکردی هم به صورت بافتی) می‌شود اما تأثیر معناداری بر بیان این ژن ندارد.

با توجه به نتایج این پژوهش که نشان داد فعالیت استقامتی بلندمدت تأثیری بر بیان ژن *mef2c*در بطن چپ ندارد، می‌توان نتیجه گرفت که حفظ سطوح طبیعی بیان این ژن برای قلب مطلوب است و فعالیت‌های استقامتی تأثیر متفاوتی بر بافت قلب نسبت به بافت عضله اسکلتی دارند، شاید به این دلیل که عضلۀ قلب اکسیداتیوترین بافت عضلانی است. البته این تحقیق نتوانست تغییرات پس‌رونویس این ژن را بررسی کند که ممکن است حتی تغییرناپذیری معنادار این ژن در سطح رونویسی مطابق با سطوح پس‌رونویسی آن نباشد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان انجام شد.

References

[1].Fathi M, Gharakanlou R, Rezaei R. The Effect of 14-Week Endurance Training on Left Ventricle HDAC4 Gene Expression of Wistar Male Rat. Journal of Sport in Biomotor Sciences. 2014; 11(1): 1-15. [in Persian]

[2]. Fathi M, Gharakhanluo R, Solimani M, Rajabi H, Rezai R. The study of timing series response of microRNA-1 expression to resistance exercise in slow and fast muscles of Wistar male rats. Journal of Sport in Biomotor Sciences. 2013; 9(1):5-15. [in Persian]

[3]. Smith JA, Collins M, Grobler LA, Magee CJ, Ojuka EO. Exercise and CaMK activation both increase the binding of MEF2A to the Glut4 promoter in skeletal muscle in vivo. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007; 292(2): 413-20.

[4].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.

[5]. 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.

[6]. McGee SL. Exercise and MEF2-HDAC interactions. Appl Physiol Nutr Me. 2007; 32(5): 852-6.

[7]. 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.

[8]. 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.

[9]. Friday BB, Mitchell PO, Kegley KM, Pavlath GK. Calcineurin initiates skeletal muscle differentiation by activating MEF2 and MyoD. Differentiation. 2003; 71(3): 217-27.

[10]. Chin ER, Olson EN, Richardson JA, Yang Q, Humphries C, Shelton JM, et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. Genes Dev. 1998; 12(16): 2499-509.

[11]. Shalizi A, Gaudilliere B, Yuan Z, Stegmuller J, Shirogane T, Ge Q, et al. A calcium-regulated MEF2 sumoylation switch controls postsynaptic differentiation. Science. 2006; 311(5763): 1012-7.

[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, Schmidtbleicher D, Steinacker JM. Response of growth and myogenic factors in human skeletal muscle to strength training. *BMJ*. 2007; 42(12):989-93.

[14]. Potthoff MJ, Olson EN. MEF2: a central regulator of diverse developmental programs. Development. 2007; 134(23): 4131-40.

[15]. 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.

[16]. Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, et al. Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2000; 279(6): 2994-3002.

[17]. Sun L, Shen W, Liu Z, Guan S, Liu J, Ding S. Endurance exercise causes mitochondrial and oxidative stress in rat liver: effects of a combination of mitochondrial targeting nutrients. Life Sci. 2010; 86(1-2): 39-44.

[18]. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{(-\text{Delta Delta C(T)})}$ Method. Methods. 2001; 25(4): 402-8.

[19]. Hitomi Y, Kizaki T, Katsumura T, Mizuno M, Itoh CE, Esaki K, et al. Effect of moderate acute exercise on expression of mRNA involved in the calcineurin signaling pathway in human skeletal muscle. IUBMB Life. 2003; 55(7): 409-13.

[20]. 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 Physiol Endocrinol Metab. 2008; 294(2):408-15.

[21]. 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.

[22]. Subramanian SV, Nadal-Ginard B. Early expression of the different isoforms of the myocyte enhancer factor-2 (MEF2) protein in myogenic as well as non-myogenic cell lineages during mouse embryogenesis. Mech Dev. 1996; 57(1): 103-12.

[23]. McKinsey TA, Zhang CL, Lu J, Olson EN. Signal-dependent nuclear export of a histone deacetylase regulates muscle differentiation. Nature. 2000; 408(6808): 106-11.

[24]. Chien KR, Knowlton KU, Zhu H, Chien S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response. FASEB J. 1991; 5(15): 3037-46.

[25]. Xu J, Gong NL, Bodi I, Aronow BJ, Backx PH, Molkentin JD. Myocyte enhancer factors 2A and 2C induce dilated cardiomyopathy in transgenic mice. J Biol Chem. 2006; 281(14): 9152-62.

[26]. Naya FJ, Black BL, Wu H, Bassel-Duby R, Richardson JA, Hill JA, et al. Mitochondrial deficiency and cardiac sudden death in mice lacking the MEF2A transcription factor. Nat Med. 2002; 8(11): 1303-9.

[27]. Bhagavatula MR, Fan C, Shen GQ, Cassano J, Plow EF, Topol EJ, et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease. Hum Mol Genet. 2004; 13(24): 3181-8.

Non change of *Mef2c* gene expression of rats left ventricle due to endurance activity

Mohammad Fathi[1 *]

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

Received: 2016/06/23
Accepted: 2016/09/17

Abstract

Background & Objectives: *Mef2c* gene induces slow twitch fibers in skeletal muscles which involves in various cellular processes. Endurance activity effects on expression of this genein skeletal muscle. The aim of this study was to investigate the effect of a course of endurance activity on *Mef2c* expression in cardiac .
Materials & Methods: In this experimental research, 14 rats under controlled conditions (temperature, light/dark (12:12) cycle, with ad Libitum access to food and water) were housed and randomly were divided into control and experimental groups after familiarization to endurance activity protocol. The experimental group performed 14 weeks endurance activity on motorized treadmill. They were anesthetized and sacrificed after 48 hours from the end of the last session of endurance activity. The heart and left ventricle of rats were removed. Using real time PCR, the expression levels of *Mef2c* gene was determined. The data were analyzed by t-test.
Results: Endurance activity induces the increase of *Mef2c* gene expression in heart but it was not significant (p= 0.148) in experimental group compared with control group.
Conclusion: The endurance training possibly does not effect on induction of slow twitch and increasing of them in heart muscle. Therefore, there are unknown mechanisms attempt that the rate of *Mef2c* gene expression do not much change, to maintain optimal conditions of heart tissue.

Keywords: endurance activity, left ventricle, *Mef2c* gene, muscular heart