

تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن $hdac4$ در عضلات کند و تند انقباض رت های نر نژاد ویستار

محمد فتحی^۱، رضا قراخانیلو^{۲*}

(۱) گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

(۲) گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۱۱

چکیده

مقدمه: در یک کروماتین فشرده دسترسی فاکتورهای رونویسی به DNA به سختی صورت می گیرد، بنا بر این بیان ژن به یک نوکلئوزوم باز شده نیاز دارد. در ایجاد فشردگی ساختار کروماتین فاکتور $HDAC4$ نقش اصلی را بازی می کند. هدف این مطالعه ارزیابی اثر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن $hdac4$ در عضله اسکلتی تند و کند انقباض رت های نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۱۵ رت از انستیتو پاستور تهیه شد و تحت شرایط طبیعی (دما، چرخه تاریکی و روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا) نگهداری و به صورت تصادفی به دو گروه تجربی (۱۰ سر) و کنترل (۵ سر) تقسیم شدند. گروه تجربی یک جلسه فعالیت ورزشی را اجرا کرده (صعود از یک نردبان یک متری، همراه با وزنه ای با اندازه ۸۰ درصد وزن خودشان) سپس ۳ و ۶ ساعت پس از آن، بی هوش و تشریح شدند. عضلات نعلی و عضله بازکننده دراز انگشتان (EDL) خارج شده و برای تعیین میزان بیان ژن $hdac4$ آن ها از روش Real time RT-PCR استفاده شد. با استفاده از آزمون آماری t تک نمونه ای و مستقل اطلاعات به دست آمده ارزیابی شدند.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد که در پاسخ به یک جلسه فعالیت مقاومتی بیان ژن $hdac4$ در عضلات EDL در ۳ ساعت پس از فعالیت ورزشی به طور معنی داری ($P=0.0013$) افزایش یافت و ۶ ساعت ($P=0.058$) پس از فعالیت بدون تغییر باقی ماند. در صورتی که در عضله نعلی بیان ژن $hdac4$ در ۳ ساعت ($P=0.18$) و ۶ ساعت ($P=0.45$) پس از فعالیت بدون تغییر باقی ماند.

بحث و نتیجه گیری: به نظر می رسد عضلات تند انقباض نسبت به تارهای کند انقباض در اثر فعالیت های مقاومتی تاثیرپذیری بیشتری را تجربه کنند و احتمالاً فشردگی کروماتین در تارهای تند انقباض در اثر فعالیت مقاومتی بیشتر می شود.

واژه های کلیدی: فعالیت ورزشی، ژن $hdac4$ ، عضله نعلی و عضله بازکننده دراز انگشتان

*نویسنده مسئول: گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

Email: ghara_re@modares.ac.ir

مقدمه

عمده تاثیر فعالیت های بدنی بر ژنوم انسان از طریق فرآیندی به نام اپی ژنتیک (Epigenetic) صورت می گیرد که داستیلاسیون (Deacetylation) و استیلاسیون (Acetylation) و به تبع آن فاکتور $HDAC^4$ (Histone Deacetylase ۴) از جمله عوامل تاثیرگذار بر تغییرات ژنی ناشی از ورزش محسوب می شود (۱،۲). در سلول ها، حالت رونویسی پایه محدود است (۳) و دسترسی به پروموتورها (توالی از DNA که به آن پلیمرز اتصال یافته و شروع رونویسی را هدایت می کند) توسط ساختمان کروماتین (Chromatin) محدود می شود و فعال شدن رونویسی در محل آن با تغییرات متعددی در ساختمان کروماتین همراه است (۴) بنا بر این برای آغاز رونویسی هر ژن، فعال شدن فرآیند رونویسی نیاز است (۵). کروماتینی که در حالت متراکم تری قرار دارد فعالیت رونویسی ندارد و با متراکم شدن DNA در داخل کروماتین، رونویسی ژن شدیداً سرکوب می شود (۶). داستیلاسیون و استیلاسیون کروماتین (که به ترتیب موجب تراکم و عدم تراکم -شل شدن- کروماتین می شود) به ترتیب توسط پروتئین های خانواده HDACs و HATs (Acetyltransferases) صورت می گیرد (۷،۸). زمانی که نیاز به بیان یک ژن است، HATs موجب استیلاسیون کروماتین می شود. اما وقتی نیاز به رونویسی نیست میزان استیلاسیون در آن محل توسط داستیلازها کاهش می یابد (۵،۹).

برای افزایش بیان ژن های مرتبط با تار کند تنش و افزایش میتوکندری ها (که منجر به کاهش خستگی، افزایش اجرای عضله و افزایش ظرفیت اکسیداتیو عضله اسکلتی می شود) فعال سازی $MEF2C$ (Myocyte Enhancer Factor-۲) ضروری است، اما این فاکتور توسط فاکتور $HDAC^4$ سرکوب می شود (۱۰). حذف ژن $mef2c$ موجب کاهش تارهای نوع کند انقباض در عضله نعلی می شود (۱۰) و تجزیه پروتئین های $HDAC^4$ موجب بهبود شکل گیری تارهای اکسیداتیو و کند انقباض می شود و مقاومت در مقابل خستگی و هم چنین استقامت عضله را شدیداً افزایش می دهند (۱۰). پروتئین HDACs

عمدتاً در هسته و سیتوپلاسم سلول قرار دارد (۸) و عملکرد آن ها برای میوژنیک (عضلات اسکلتی، قلبی) بسیار حیاتی است، به طوری که تنظیم نامناسب فعالیت $HDAC^4$ با هیپرتروفی قلبی و مرگ ناگهانی همراه است (۱۱). پژوهش هایی با رویکرد فعالیت ورزشی بر روی این فاکتور صورت گرفته به عنوان مثال مک گی و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که بعد از ۶۰ دقیقه دوچرخه سواری با ۷۰ درصد VO_2^{peak} ، $HDAC^4$ از $MEF2C$ جدا و از هسته خارج می شود که این موضوع با افزایش بیان ژن $GLUT4$ (Glucose Transporter Isoform ۴) بلافاصله بعد از تمرین در ارتباط بود. این یافته ها نشان داد که HDACs یک تنظیم کننده کلیدی بیان ژن هستند که به وسیله ورزش فعال می شوند (۱۱). مهار انتخابی $HDAC$ کلاس II در عضلات کند موجب افزایش اجرای بدنی و مقاومت در برابر خستگی می شود (۱۰). مک گی و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی بر روی مردان جوان نشان دادند، ۶۰ دقیقه دوچرخه سواری تغییری در mRNA فاکتور $HDAC^4$ ایجاد نمی کند (۱۲).

همان طور که گزارش شد به دلیل تاثیر فعالیت ورزشی بر افزایش بیان تارهای کند انقباض ما انتظار داریم میزان بیان ژن $hdac^4$ در پاسخ به فعالیت مقاومتی کاهش یابد که با رفع فشردگی کروماتین شرایط برای بیان ژن های که پروتئین های درگیر در فعالیت ورزشی را کد می کنند مساعد شود، ضمناً پژوهش های کمی در مورد بیان ژن $hdac^4$ صورت گرفته است و بیشتر تحقیقات، تعدیلات پس رونویسی این فاکتور را بررسی کرده اند و توجه کمی به نوع تار عضله شده است، بنا بر این هدف این پژوهش بررسی اثر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن $hdac^4$ در عضلات کند و تند انقباض رت های نر نژاد ویستار بود.

مواد و روش ها

بدین منظور ۱۵ سر رت صحرایی نر نژاد ویستار با ۵ هفته سن که در دامنه وزنی ۱۲۰-۱۰۵ گرم بودند از انستیتو پاستور تهیه شد. برای همه آن ها شرایط مناسب به صورت یکسان در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس تا رسیدن به سن بلوغ فراهم

شد. در پایان این دوره سن رت ها به ۹ هفته و وزن آن ها به $22/6 \pm 234/6$ گرم رسید. سپس دوره آشناسازی (دوره یک هفته، سه جلسه) با فعالیت مقاومتی آغاز شد. در ادامه رت ها به صورت تصادفی به ۲ گروه (۵ سر به عنوان گروه کنترل و ۱۰ سر دیگر به عنوان گروه تجربی) تقسیم شدند. گروه تجربی یک جلسه فعالیت بدنی (صعود از نردبان یک متری با ۲۶ پله با زاویه ۸۵ درجه) با ۴ ست، ۵ تکرار، ۳۰ ثانیه استراحت بین تکرارها و ۲ دقیقه استراحت بین ست ها را اجرا کردند. بار اولیه، ۵۰ درصد وزن هر رت در نظر گرفته شد. در ابتدای اجرای هر ست ۱۰ درصد وزن رت به بار اولیه اضافه می شد، به طوری که هر رت در پایان ست چهارم ۸۰ درصد وزن خود را از نردبان بالا می برد (۱۳، ۱۴). بر مبنای برخی پژوهش ها (۱۵) رت های گروه تجربی به طور تصادفی به دو دسته تقسیم شدند که یک گروه ۳ ساعت و گروه دیگر ۶ ساعت پس از پایان فعالیت با رعایت مسائل اخلاقی به صورت زیر تشریح شدند. ابتدا حیوانات با ترکیبی از کتامین (۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) بی هوش شدند. بعد از بی هوشی کامل، عضله نعلی و EDL تحت شرایط استریل خارج و بلافاصله وارد تانک نیتروژن شدند. تا شروع هموژن کردن (با استفاده از هاون و نیتروژن مایع) بافت ها، همه آن ها در دمای -80°C سانتی گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA از بافت: برای استخراج RNA از بافت های هموژن شده، به ۱۰۰ میلی گرم از بافت داخل میکروتیوب، ۱ میلی لیتر تریزول (Invitrogen) -ساخت کشور آمریکا- اضافه شد و ادامه کار، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

سنتز cDNA برای رونویسی RNA به cDNA از کیت شرکت ترموساینترفیک (Thermoscientific) با کاتالوگ نامبر K۱۶۲۱ (ساخت کشور آمریکا) استفاده شد و تمام مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از Random Hexamer انجام شد. ترموسایکلر مورد استفاده در این مرحله متعلق به شرکت اپندورف بود.

ارزیابی بیان ژن: قبل از ارزیابی نهایی بیان ژن طبق دستورالعمل تکنیک Real Time PCR نیاز بود که میزان کارایی (Efficiency) ژن رفرنس (gapdh) و ژن هدف (hdac۴) بررسی شود. در ادامه ارزیابی بیان ژن از تکنیک Real Time PCR و دستگاه شرکت آپلاید بایوسیستم (Applied Biosystem) متعلق به کشور آمریکا استفاده شد. سایبرگرین مسترمیکس (SYBR green master mix) استفاده شده در این مرحله متعلق به شرکت تاکارا (کشور ژاپن) با کاتالوگ نامبر RRA۲۰L بود. در هر Run (۴۰ سیکلی) یک نمونه به عنوان کنترل منفی برای تعیین آلودگی master mix (طبق دستورالعمل شرکت آپلاید بایوسیستم نباید CT آن کمتر از ۳۵ باشد) در نظر گرفته شد و کنترل داخلی (gapdh)، کنترل مثبت (گروه کنترل) و hdac۴ هم زمان (در یک Run) ارزیابی شد. نمونه ها به صورت دوتایی (Duplicate) ارزیابی شدند. بعد از انتقال اطلاعات طبق فرمول $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ میزان بیان ژن hdac۴ محاسبه شد (۱۶). مشخصات پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره ۱ آمده است. ژن رفرنس در این تحقیق ژن gapdh (Glyceraldehyde ۳-Phosphate Dehydrogenase) است (۱۷).

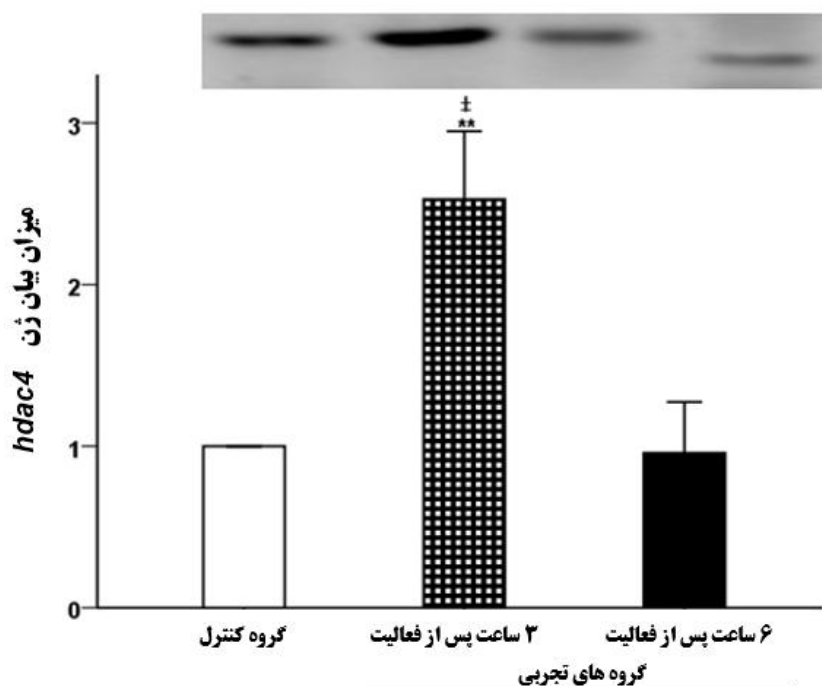
جدول شماره ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

ژن		Sequence ۵-۳	NCBI Reference Sequence	Product size
gapdh	F	AACCCATCACCATCTTCCAG	NM_۰۱۷۰۰۸،۴	۷۴
	R	CACGACATACTCAGCACCAG		
hdac۴	F	AACCTAACCTGAAATTACGGTC	NM_۰۵۳۴۴۹،۱	۱۳۷
	R	ACATGCGGAGTCTGTAACATC		

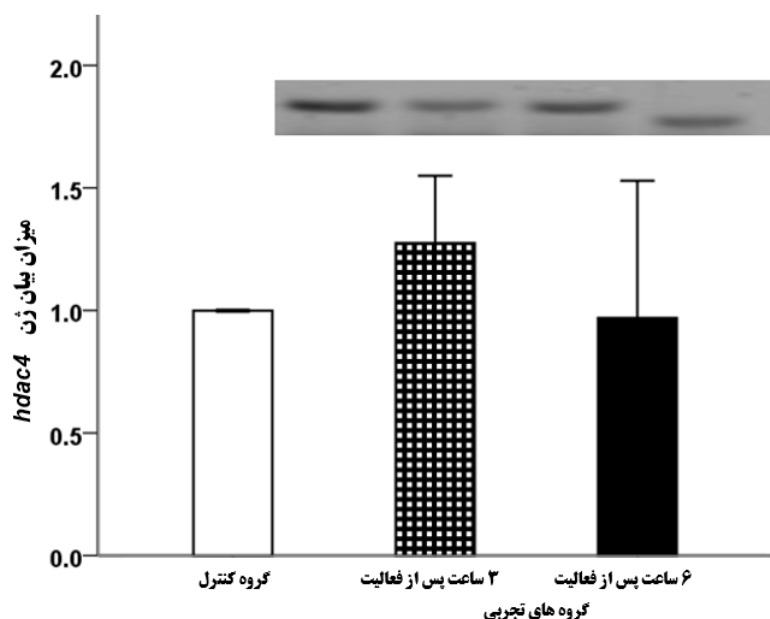
یافته های پژوهش

نتایج این آزمون نشان داد که واریانس ها داده ها در عضلات نعلی و EDL همگن هستند، بیان ژن $hdac4$ در عضله EDL در سه ساعت پس از فعالیت ۲/۴ برابر افزایش داشت که این افزایش نسبت به گروه کنترل در سطح $P=0,001$ معنی دار بود. اما در ۶ ساعت پس از فعالیت به سطوح استراحتی گرایش داشت به طوری که نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری $P=0,058$ مشاهده نشد (شکل شماره ۲ و ۱).

تجزیه و تحلیل داده ها: داده ها وارد نرم افزار SPSS شد، ابتدا پرت بودن (Outliers) آن ها بررسی شد. سپس نرمال بودن و مساوی بودن واریانس ها توزیع داده ها به ترتیب با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلکس (shapiro wilk) و لیون (Levene) ارزیابی شد. در ادامه از آزمون های آماری t یک نمونه (One sample test) برای تعیین اختلاف بین گروه کنترل (شاخص عدد ۱ است) و گروه های تجربی و برای تعیین اختلاف میانگین در هر عضله (در ساعات ۳ و ۶ پس از) از آزمون t مستقل (Independent Samples Test) استفاده شد.



شکل شماره ۱. تاثیر یک جلسه فعالیت مقاومتی بر بیان ژن $hdac4$ عضله EDL در گروه کنترل، و گروه های تجربی (۳ و ۶ ساعت) پس از فعالیت را نشان می دهد. در بالای نمودار شکل محصول PCR ژن $hdac4$ عضله EDL در سه گروه منطبق بر ستون های نمودار است که با استفاده از $gapdh$ (سمت راست) به عنوان کنترل داخلی نرمال شده اند (ستون مربوط به $gapdh$ نمایش داده نشده است). ** تفاوت میانگین گروه ها در مقایسه با گروه کنترل در سطح $P \leq 0,01$ معنی دار است. † تفاوت معنی دار میانگین گروه های تجربی در ۳ و ۶ ساعت پس از فعالیت ورزشی



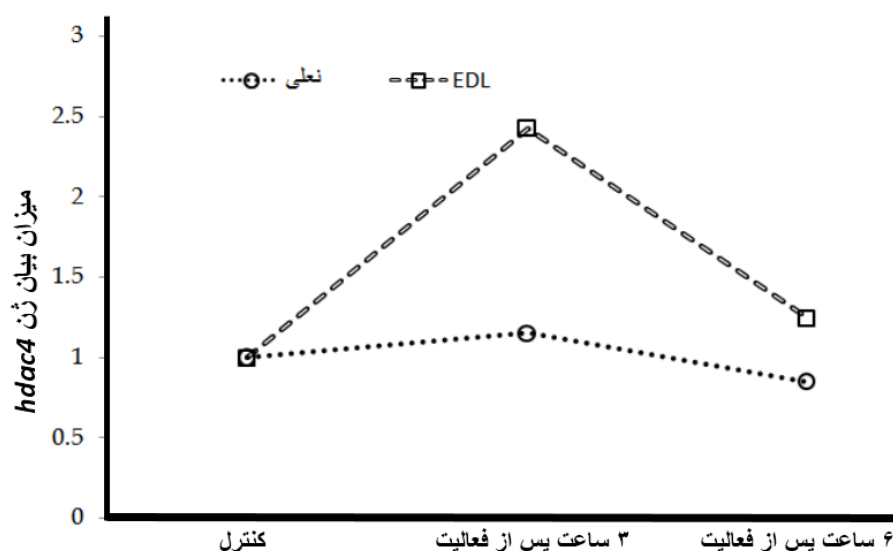
شکل شماره ۲. تاثیر یک جلسه فعالیت ورزشی بر بیان ژن *hdac4* در عضله نعلی گروه کنترل و گروه های تجربی (۳ و ۶ ساعت) پس از یک جلسه فعالیت ورزشی را نشان می دهد. در بالای نمودار شکل محصول PCR ژن *hdac4* عضله نعلی در سه گروه منطبق بر نمودار است که با استفاده از *gapdh* (سمت راست) به عنوان کنترل داخلی نرمال شده اند (ستون مربوط به ژن *gapdh* نمایش داده نشده است)

بر این از این طریق فشردگی کرماتین (توسط $HDAC^4$) از میان برداشته می شود و زمینه برای بیان ژن های پاسخگو به فعالیت های بدنی از جمله مقاومتی افزایش می یابد. در اهمیت عملکرد $HDACs$ باید گفت که این فاکتور نقش بسیار حیاتی در میوزنیک (عضلات اسکلتی و قلبی) دارد (۲۱) به طوری که تنظیم نامناسب فعالیت $HDAC^4$ با هیپرتروفی قلبی و مرگ ناگهانی همراه است (۱۱) بیشتر تغییرات پس رونویسی فاکتور $HDAC^4$ تحت تاثیر پروتکل های تمرینات استقامتی مطالعه شده است (۱۱،۲۲) و دیده شده که ورزش موجب افزایش فعالیت پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین ($CaMKII$) در عضلات اسکلتی و در نتیجه فسفوریله شدن $HDAC^4$ می شود و می تواند به وسیله کلسیم در سازگاری های متابولیک مشارکت کند (۱۱). در این پژوهش دیده شد که بیان ژن *hdac4* در پاسخ به فعالیت مقاومتی در عضله کند انقباض چندان تغییر نمی کند، اما بیان آن در عضله EDL تا ۲/۴ برابر افزایش می یابد (شکل شماره ۳).

هم چنین نتایج نشان داد که بیان ژن *hdac4* در عضله نعلی، ۳ ساعت پس از فعالیت مقاومتی در گروه تجربی ۱/۱۵ افزایش داشت که این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی دار ($P=0.18$) نبود و در ۶ ساعت پس از فعالیت نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری ($P=0.45$) در بیان این ژن مشاهده نشد.

بحث و نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان داد که بیان ژن *hdac4* عضله EDL بیشتر از عضله نعلی به خصوص در ساعات اولیه تحت تاثیر فعالیت مقاومتی قرار می گیرد. هیستون داستیلازهای کلاس II ($HDAC5$, $HDAC^4$, $HDAC^7$ و $HDAC^9$) در عضلات اسکلتی به مقدار بالایی بیان می شوند (۱۸). فعالیت $HDACs$ به شدت توسط فسفوریلاسیون کنترل می شود (۱۹) که سیگنال های دریافتی از پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین ($CaMK$) موجب فسفوریلاسیون $HDACs$ کلاس II و در نتیجه حرکت $HDACs$ از هسته به سیتوپلاسم می شود (۱۱،۲۰). بنا



شکل شماره ۳. روند تغییرات بیان ژن $hdac4$ در عضله نعلی و EDL متعاقب یک جلسه فعالیت مقاومتی (۳ و ۶ ساعت) در مقایسه با گروه کنترل

دنبال ۶۰ دقیقه دوچرخه سواری میزان mRNA تام ایزوفرم های ۴، ۵، ۷ و ۹ فاکتور HDAC کلاس IIa درون عضله (پهن جانبی) با فعالیت ورزشی ثابت باقی می ماند. اما میزان ایزوفرم های ۴ و ۵ هسته ای آن کاهش می یابد (۱۲). با وجود تفاوت در گونه آزمودنی، نوع تار عضله و پروتکل تمرینی یافته های مک گی با نتایج این پژوهش در مورد عضله نعلی هم خوانی داشت. در پژوهشی دیگر که میزان HDACs کلاس IIa هسته نسبت به ورزش ارزیابی شد، مشاهده شد بعد از ورزش تنها نسبت $HDAC4/5$ هسته کاهش می یابد و میزان پروتئین آن ها قبل و بعد از ورزش بدون تغییر باقی می ماند که به رفت و برگشت (Shuttling) هسته-سیتوپلاسم پروتئین های $HDAC4/5$ اشاره دارد. فعال سازی کینازهای بالقوه در پاسخ به ورزش که ممکن است هدف $HDAC4/5$ برای خروج از هسته پروتئین ها باشد مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که در فسفوریلاسیون $CaMKII$ و $AMPK$ (AMP kinases) بعد از یک جلسه تمرین استقامتی حاد افزایش معنی داری رخ می دهد. این دو کیناز موجب فسفوریلاسیون HDACs کلاس IIa می شود و موجب خروج آن ها از هسته به سیتوپلاسم می شود (۱۹) و بدین صورت فعالیت آن ها را ضعیف

هر چند میزان حضور این پروتئین در عضلات متفاوت است به طوری که تجمع آن در عضله نعلی (عضله کند) در مقایسه با پهن جانبی (عضله تند) محدود است (۱۰) اما ممکن است تفاوت حضور به این دلیل باشد که $HDAC4$ بیان تارهای کند انقباض را سرکوب کند و این سرکوب از طریق مهار فعالیت $MEF2$ صورت گیرد (۱۰). سرکوب انتخابی $HDAC4$ موجب افزایش فعالیت $MEF2$ (۲۳) و افزایش بیان تارهای کند انقباض می شود (۲۴). عدم تغییر بیان ژن $hdac4$ در عضله نعلی در این پژوهش ممکن است به این دلیل باشد که فعالیت ورزشی (نوع مقاومتی) موجب بیان تارهای کند انقباض می شود (۲۵، ۲۶) از آن جا که عضله نعلی دارای درصد بالایی از تارهای کند انقباض است (۸۹ درصد تارهای نوع I و ۱۱ درصد تارهای نوع IIa) (۲۷) ظرفیت تغییر و تبدیل این تارها به سمت تارهای نوع کند انقباض در حداقل باشد، بنا بر این میزان بیان ژن $hdac4$ تحت تاثیر بازخوردهایی افزایش نیابد. هر چند تعدیلات پس رونویسی و بخش های زیر سلولی مانند سیتوپلاسم و هسته را نیز باید مورد توجه قرار داد زیرا مک گی و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی (دوچرخه سواری با تقریباً ۷۵ درصد VO_2^{peak} برای یک ساعت-عضله پهن جانبی) نشان دادند که به

تاثیرپذیری بیشتری را نسبت به تارهای کند انقباض در اثر فعالیت های مقاومتی تجربه می کند، به نظر می رسد فعالیت مقاومتی منجر به فشردگی بیشتری در کروماتین تارهای تند انقباض نسبت به تارهای کند انقباض می شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت حوزه مالی و پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس تقدیر و تشکر می شود.

References

1. Ntanasistathopoulos J, Tzanninis JG, Philippou A, Koutsilieris M. Epigenetic regulation on gene expression induced by physical exercise. *JMN* ۲۰۱۳; ۱۳:۱۳۳-۴۶.
2. Liu Y, Randall WR, Schneider MF. Activity-dependent and independent nuclear fluxes of HDAC ϵ mediated by different kinases in adult skeletal muscle. *J Cell Biol* ۲۰۰۵; ۱۶۸:۸۸۷-۹۷.
3. Luger K. Nucleosomes structure and function. *Encyclopedia of life sciences* Nat Publishing Group ۲۰۰۱; P. ۲۳۱-۲.
4. Kehat I, Accornero F, Aronow BJ, Molkentin JD. Modulation of chromatin position and gene expression by HDAC ϵ interaction with nucleoporins. *J Cell Biol* ۲۰۱۱; ۱۹۳:۲۱-۹.
5. Puri PL, Sartorelli V. Regulation of muscle regulatory factors by DNA-binding, interacting proteins, and post-transcriptional modifications. *J Cell Physiol* ۲۰۰۰; ۱۸۵:۱۵۵-۷۳.
6. McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN. Signaling chromatin to make muscle. *Curr Opin Cell Biol* ۲۰۰۲; ۱۴:۷۶۳-۷۲.
7. Kass SU, Wolffe AP. DNA methylation, nucleosomes and the inheritance of chromatin structure and function. *Novartis Found Symp* ۱۹۹۸; ۲۱۴:۲۲-۳۵.
8. Dressel U, Bailey PJ, Wang SC, Downes M, Evans RM, Muscat GE. A dynamic role for HDAC γ in MEF γ -mediated muscle differentiation. *J Biol Chem* ۲۰۰۱; ۲۷۶:۱۷۰۰۷-۱۳.
9. Wolffe AP, Guschin D. Chromatin structural features and targets that regulate transcription. *J Struct Biol* ۲۰۰۰; ۱۲۹:۱۰۲-۲۲.
10. Potthoff MJ, Wu H, Arnold MA, Shelton JM, Backs J, McAnally J, et al. Histone deacetylase degradation and MEF γ activation promote the formation of slow-twitch myofibers. *J Clin Invest* ۲۰۰۷; ۱۱۷:۲۴۵۹-۶۷.
11. McGee SL. Exercise and MEF γ -HDAC interactions. *Appl Physiol Nutr Me* ۲۰۰۷; ۳۲:۸۵۲-۶.
12. McGee SL, Fairlie E, Garnham AP, Hargreaves M. Exercise-induced histone modifications in human skeletal muscle. *J Physiol* ۲۰۰۹; ۵۸۷:۵۹۵۱-۸.
13. Duncan ND, Williams DA, Lynch GS. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* ۱۹۹۸; ۷۷:۳۷۲-۸.
14. Kim JS, Park YM, Lee SR, Masad IS, Khamoui AV, Jo E, et al. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate did not enhance high intensity resistance training-induced improvements in myofiber dimensions and myogenic capacity in aged female rats. *Mol Cells* ۲۰۱۲; ۳۴:۴۳۹-۴۸.
15. 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 Metab* ۲۰۰۸; ۲۹۵:۱۳۳۳-۴۰.
16. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods* ۲۰۰۱; ۲۵:۴۰۲-۸.
17. Silver N, Cotroneo E, Proctor G, Osailan S, Paterson KL, Carpenter GH. Selection of housekeeping genes for gene expression studies in the adult rat submandibular gland under normal, inflamed, atrophic and regenerative states. *BMC Mol Biol* ۲۰۰۸; ۹:۶۴.

۱۸. McKinsey TA, Zhang CL, Olson EN. Control of muscle development by dueling HATs and HDACs. *Curr Opin Genet Dev* ۲۰۰۱; ۱۱:۴۹۷-۵۰۴.
۱۹. Saleem A, Safdar A. Exercise-induced histone acetylation - playing tag with the genome. *J Physiol* ۲۰۱۰; ۵۸۸:۹۰۵-۶.
۲۰. McKinsey TA, Zhang CL, Lu J, Olson EN. Signal-dependent nuclear export of a histone deacetylase regulates muscle differentiation. *Nature* ۲۰۰۰; ۴۰۸:۱۰۶-۱۱.
۲۱. Clocchiatti A, Di Giorgio E, Demarchi F, Brancolini C. Beside the MEF 2 axis unconventional functions of HDAC 4 . *Cell Signal* ۲۰۱۳; ۲۵:۲۶۹-۷۶.
۲۲. Vissing K, McGee SL, Roepstorff C, Schjerling P, Hargreaves M, Kiens B. Effect of sex differences on human MEF 2 regulation during endurance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* ۲۰۰۸; ۲۹۴:۴۰۸-۱۵.
۲۳. Cohen TJ, Barrientos T, Hartman ZC, Garvey SM, Cox GA, Yao TP. The deacetylase HDAC 4 controls myocyte enhancing factor- 2 -dependent structural gene expression in response to neural activity. *FASEB J* ۲۰۰۹; ۲۳:۹۹-۱۰۶.
۲۴. Potthoff MJ. MEF 2 and HDAC Proteins Regulate Striated Muscle Development and Remodeling. Dissertation ۲۰۰۷; ۶:۶۴-۹.
۲۵. Harridge SD. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Exp Physiol* ۲۰۰۷; ۹۲:۷۸۳-۹۷.
۲۶. Seene T, Pehme A, Alev K, Kaasik P, Umnova M, Aru M. effects of resistance training on fast- and slow-twitch muscles in rats. *Biol Sport* ۲۰۱۰; ۲۷:۲۲۱-۹.
۲۷. Talmadge RJ. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms. *Muscle Nerve* ۲۰۰۰; ۲۳:۶۶۱-۷۹.



The Effect of one Session Resistance Exercise on Hdac ϵ gene Expression in Slow and Fast Twitch Muscles of Male Wistar Rats

Fathi M^۱, Gharakanlou R^{*۲}

(Received:

Accepted:)

Abstract

Introduction: In a condensed chromatin formation, the DNA is hardly accessible for transcription factors; thus, gene expression requires nucleosome unfolding. A key role in condensing of chromatin structure is played by HDAC ϵ . Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of a single bout of resistance exercise on hdac ϵ gene expression in fast and slow twitch skeletal muscles in male Wistar rats.

Materials & methods: The subjects of this experimental study were ۱۰ rats that provisioned from Pasteur Institute and housed under natural conditions (temperature, light/dark (۱۲-h) cycle, with ad Libitum access to food and water). The rats were randomly assigned into experimental (n=۱۰) and control groups (n=۵); the exercise group performed a session exercise (Climbing of a one meter ladder, plus ۸۰٪ of their weight). After three and six hours, the rats were anaesthetized and killed, then to determine

hdac ϵ gene expression rate, the soleus and EDL muscles were removed, to determine expression rate, the Quantitative Real time RT-PCR was used. Data were analyzed by one sample and independent *t* test.

Findings: The results indicated that in response to an acute exercise, the expression of hdac ϵ gene in EDL muscle significantly ($p=۰,۰۰۱۳$) increased at ۳h and it remained unchanged ($p=۰,۰۵۸$) ۶h after exercise, while in soleus muscle the hdac ϵ expression remained unchanged at ۳h ($p=۰,۱۸$) and ۶h ($p=۰,۴۵$) after exercise.

Discussion & Conclusions: It seems that fast twitch type muscles have more plasticity than slow type fiber to response exercise and possibly chromatin condensation increase in fast-twitch fibers after exercise.

Keywords: EDL, Soleus muscle, HDAC ϵ and exercise

^۱. Dept of Physical Education, Faculty of Humanities, Lorestan University, khorramabad, Iran

^۲. Dept of Physical Education, Faculty of Humanities, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

* Correspondin author Email: ghara_re@modares.ac.ir