

تأثیر هشت هفته تمرین تداومی شدید بر بیان ژن های خانواده MicroRNAs-29 در قلب رت های نر سالم

امین نکویی^۱، محمد رضا کردی^۱، سیروس چوبینه^۱، مسعود سلیمانی^۲، احد شفیعی^{۱*}، وحید حدیدی^۱

گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران؛ گروه هماتولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۲

چکیده:

زمینه و هدف: ژن خانواده miR29 شامل سه عضو miR29a، miR29b، miR29c می باشد. از تأثیرات سلولی miR29 می توان به تکثیر و تمایز سلولی، آپوپتوز و تنظیم ماتریکس خارج سلولی اشاره کرد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر هشت هفته تمرین تداومی شدید بر بیان ژن های خانواده miR29 در قلب رت های نر سالم بود.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی ۱۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با شرایط وزنی و سنی مشابه انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه تمرین تداومی و کنترل (n= ۶) تقسیم شدند. پروتکل تمرینی به مدت هشت هفته، هفته ای ۵ جلسه و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی اجرا شد. آتوپسی بافت ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی صورت گرفت. تغییرات بیان ژن های miR29 با استفاده از تکنیک Quantitative RT-PCR آنالیز شد و میزان بیان ژن های miR29 با استفاده از روش 2^{-ΔΔCT} محاسبه شد. معنی دار بودن متغیرها بین گروه های تحقیق با استفاده از آزمون آماری t مستقل بررسی شد.

یافته ها: بیان ژن miR29a,c در گروه تمرین افزایش ۷۲/۶٪ نشان داد که این افزایش از لحاظ آماری معنی دار است (P=۰/۰۰۱)، اما بیان ژن miR29b در گروه تمرین کاهش ۰/۶۴٪ نشان داد که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست (P=۰/۴۱۶).

نتیجه گیری: به نظر می رسد که تمرین استقامتی تداومی با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی باعث افزایش بیان ژن miR29a,c و القا هایپرتروفی فیزیولوژیک را در قلب رت های گروه تمرینی شده است. از آنجایی که این افزایش منجر به کاهش معنی داری در بیان ایزوفرم های کلاژن می شود، می توان نتیجه گرفت که افزایش miR29a,c در هایپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرین استقامتی به طور مستقیم در تنظیم ماتریکس خارج سلولی و اتساع پذیری بطنی نقش دارد.

واژه های کلیدی: تمرین تداومی، خانواده MicroRNAs-29، بیان ژن، عضله قلبی.

مقدمه:

می کردند، اما در سه دهه گذشته این عقیده کاملاً متحول شده و اکنون نه تنها برای پیشگیری از بیماری های قلبی، بلکه به عنوان عامل موثر در درمان بیماری های مختلف قلبی از تمرینات با شدت متوسط تا شدید استفاده می شود (۲). تمرینات ورزشی باعث افزایش کیفیت زندگی، ظرفیت عملکردی بدن، التهاب و عملکرد اندوتلیالی می شود. در سال ها اخیر، جنبه های

سالیانه ۱۶/۷ میلیون نفر در سراسر جهان جان خود را در اثر بیماری های قلبی- عروقی از دست می دهند، پیشرفت های زیادی که در زمینه پاتوفیزیولوژی نارسایی های قلبی انجام شده است، منجر به کاهش میزان مرگ و میر ناشی از این بیماری ها شده است (۱). در گذشته، متخصصان قلب و عروق برای اکثر بیماران خود استراحت طولانی مدت تجویز

ارزیابی قرار دادند و مشاهده کردند که بیان miR29a و miR29c در گروه های تمرینی افزایش معنی داری داشته است و در پاسخ به افزایش حجم تمرینات بیان miR29a افزایش، اما بیان miR29c با کاهش کمی همراه بوده است و سطوح miR29b در گروه اول بدون تغییر، اما در گروه دوم با کاهش اندکی همراه بوده است (۱۰). آن ها نتیجه گرفتند که miR29 پاسخ فیزیولوژیک قلبی به هایپرتروفی ناشی از تمرینات هوازی را تنظیم می کند و افزایش miR29 در اثر تمرین به منظور کاهش کلاژن و محافظت از ماتریکس خارج سلولی می باشد و از آنجایی که کاهش رسوب کلاژن همراه با افزایش کامپلینس بطنی می باشد. در نتیجه miR29 مستقیماً کامپلینس بطنی را تنظیم می کند. با توجه به اثر مثبت فعالیت بدنی به نظر می آید که پژوهش ها بر عملکردهای سلولی و مولکولی ناشی از ورزش بتواند در آینده به استفاده از فعالیت بدنی به عنوان یک درمان هدفمند و بدون عوارض منجر شود. با توجه به اندک بودن مطالعات انجام شده در زمینه ی تأثیر فعالیت بدنی بر miRNAs موثر در فرآیند هایپرتروفی فیزیولوژیک و با عنایت به جست و جویهای انجام شده، تاکنون هیچگونه پژوهشی تأثیر تمرینات تداومی را بر میزان تغییرات در بیان ژن های miR29 را در عضله قلبی بررسی نکرده است، لذا این مطالعه با هدف تعیین تأثیر تمرین تداومی شدید بر بیان ژن های خانواده miR29 در قلب انجام شده است.

روش بررسی:

روش پژوهش حاضر تجربی و از نوع بنیادی است. با توجه به اهداف مطالعه تعداد ۱۲ سرت نر ویستار با محدوده وزنی 180 ± 20 گرم از مؤسسه پاستور ایران خریداری شد. برای سازگاری با محیط، حیوانات در قفس های ۳ تایی نگهداری شدند. رت ها به طور تصادفی به دو گروه (تمرین استقامتی تداومی و گروه کنترل) تقسیم شدند. نگهداری حیوانات بر اساس خط مشی انجمن ایرانیان حمایت از

مختلف پاسخ بدن به ورزش در سطح ژن مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (۲). مطالعه نقش این مولکول ها و تغییرات آن ها در اثر تمرینات ورزشی در پیشگیری و درمان بیماری های قلبی، عامل بالقوه ای برای دستیابی به دستاوردهای جدید در مورد این روش درمانی است (۳). یکی از این عوامل میکروریبونوکلیک اسیده (MicRNAs) هستند (۵،۴). MicroRNAs مولکول های RNA رمزنگاری نشده کوچکی (۲۵-۱۸ نوکلئوتیدی) هستند که از نظر تکاملی محافظت شده می باشند. این مولکول ها بیان ژن را پس از رونویسی از طریق مهار ترجمه mRNA یا القا تجزیه آن کنترل می کنند و این کار را از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی انتهای mRNAs انجام می دهند. مطالعات اخیر توجه خود را به بیولوژی خانواده miR29 و آسیب قلبی-عروقی و کلیوی مرتبط با آن متمرکز کرده اند (۵). خانواده miR29 در انسان شامل miR29a، miR29b، miR29c، miR29d و miR29e است. خانواده miR29 توالی seed (توالی seed ضروری برای اتصال MicroRNAs به mRNA می باشد که معمولاً در انتهای ۵' بین نوکلئوتید ۲ تا ۷ قرار می گیرد) یکسانی دارند و به نظر می رسد که هدف های آن ها به میزان زیادی بین اعضا هم پوشانی دارد؛ اما از آنجایی که خانواده miR29 در بسیاری از موارد به طور افتراقی تنظیم شده و توزیع درون سلولی آن ها متفاوت است. به نظر نمی رسد که از لحاظ عملکردی یکسان باشند (۴). miR29 حداقل ۱۶ ژن مربوط به ماتریکس خارج سلولی قلب را هدف قرار می دهد و بهترین تنظیم کننده سنتز ماتریکس خارج سلولی است. این ژن ها برای پروتئین های کلیدی کد می شوند که در شکل گیری فیزیولوژیک و پاتولوژیک ماتریکس خارج سلولی نقش دارند. پیش بینی نشده است که به غیر از miR29، هیچ microRNA دیگری بتواند ۱۱ تا ۲۰ ایزوفرم ژن کلاژن را مورد هدف قرار دهد (۹-۶). سوسی و همکاران در پژوهشی نقش MicroRNAs در هایپرتروفی قلبی ناشی از تمرینات شنای کم شدت طولانی مدت را در رت های ماده مورد

روز به منظور آشنا سازی با تمرین تداومی شدید به تمرین پرداختند؛ سپس به مدت هشت هفته، هفته ای پنج جلسه و هر جلسه ۳۰ دقیقه با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی با شیب صفر بر روی دستگاه نوار گردان تمرین کردند که در جدول شماره ۱ ارائه شده است. در پایان هر دو هفته آزمون حداکثر اکسیژن مصرفی برآورد و سرعت تمرینی جدیدی در هفته بعد، اعمال شد.

حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده برای اهداف علمی و آزمایشگاهی انجام شد. حیوانات در قفس های ساخته شده از جنس پلی اتیلن شفاف با ابعاد ۴۰ در ۲۰، به ارتفاع ۲۰ سانتیمتر نگهداری شدند. رت ها در شرایط دمایی $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت ۴۰ تا ۶۰٪، تحت چرخه خواب و بیداری ۱۲:۱۲ و با دسترسی آزاد به آب و غذا (پلت استاندارد) نگهداری شدند. گروه تمرین در دو هفته اول ۱۰-۷

جدول شماره ۱: طرح پروتکل تمرین تداومی شدید

مراحل تمرین	گرم کردن	بدنه اصلی تمرین	سرد کردن
مؤلفه تمرین			
زمان تمرین (دقیقه)	۶ دقیقه	۳۰ دقیقه	۶ دقیقه
شدت تمرین ($\text{VO}_{2\text{max}}$)	۵۰ تا ۶۰٪	۷۰-۷۵٪	۵۰ تا ۶۰٪

شیب نوارگردان در همه مراحل تمرین صفر بود.

استفاده از یک میلی مول محلول تریزول لیز شده و با دستگاه همگن کننده بافت هموزن شد. در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ۰/۲۵ میلی لیتر کلروفرم انجام شد. RNA استخراج شده با ۱ میلی لیتر اتانول سرد ۷۰٪ شستشو و خشک شد و سپس به آن آب استریل ۱/۵ میکرولیتر بر میلی گرم بافت اضافه شد. برای سنجش کمی RNA استخراج شده از دستگاه بايوفوتومتر (غلظت RNA را تعیین کرد) با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. میانگین OD خوانده شده ۱/۷۷ بود که نشانگر کارایی مناسب RNA استخراج شده بود. ساخت cDNA برای هر نمونه سه مرحله ساخت cDNA انجام گرفت. بدین ترتیب که در ابتدا هشت میکروگرم از RNA استخراج شده را با ۰/۸ میکرولیتر از آنزیم DNase I و ۲ میکرولیتر از بافر ۱۰x آن و آب DEPC مخلوط کرده و حجم نمونه به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. محصول ایجاد شده را بدون ورتکس کردن و به آرامی مخلوط کرده و سپس با برنامه زیر در دستگاه ترموسایکر تکثیر انجام گردید: پنج دقیقه در دمای ۵۵ درجه

پروتکل حاضر بر مبنای پژوهش برنیستون و همکاران طراحی شده است. دلیل انتخاب پروتکل نقش اثبات شده تمرینات استقامتی در جلوگیری از بیماری های قلبی است و از آنجایی که می توان نتایج تمرینات استقامتی تداومی در حیوانات آزمایشگاهی را به انسان تعمیم داد، لذا از آن می توان برای بررسی سازگاری های مولکولی در قلب استفاده کرد (۱۱). پس از ۲۴ ساعت از آخرین جلسه تمرین رت ها پس از ناشتایی شبانه با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی بیهوش شدند؛ سپس، قفسه سینه شکافته و پس از خون گیری از قلب، قلب حیوان برداشته شد. پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک دهلیزها و بطن راست قلب جدا شد و بطن چپ بعد از وزن کشی با استفاده از ازت مایع منجمد و برای سنجش های بعدی به فریزر با دمای -80°C منتقل شدند. استخراج RNA با استفاده از ۵۰ میلی گرم از بافت بطن چپ انجام گرفت. بافت با

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار، بیان و در سطح معنی داری ($P \leq 0/05$) پردازش و سپس تحلیل شد. بعد از اطمینان از طبیعی بودن توزیع متغیرهای پژوهش توسط آزمون گولموگرف اسمیرنوف، از آزمون آماری t مستقل به منظور تعیین معنی دار بودن تفاوت بین میانگین ها استفاده شد.

یافته ها:

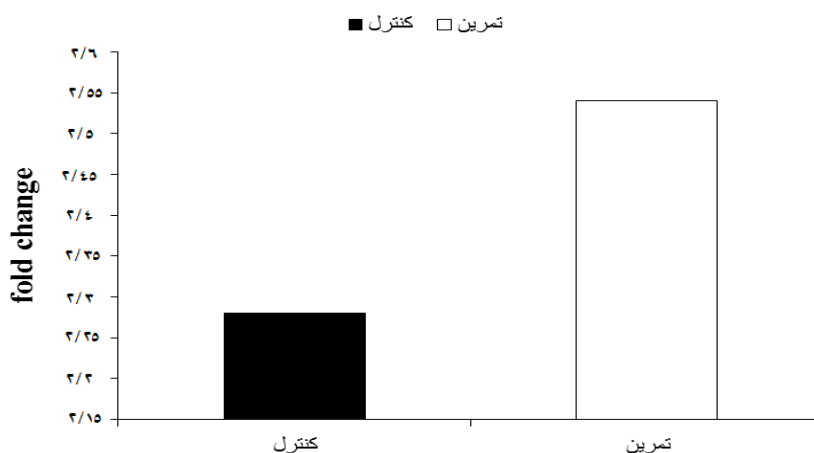
تغییرات وزن رت ها در جدول شماره ۲ گزارش شده است که نشان دهنده رشد طبیعی، در عین حال افزایش کمتر وزن رت ها در گروه تمرین نسبت به کنترل است. براساس نتایج پژوهش حاضر نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن (شاخص هایپرتروفی فیزیولوژیک) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است ($P=0/013$)، میزان تغییرات آن در نمودار شماره ۱ ارائه شده است.

جدول شماره ۲: میانگین و انحراف استاندارد وزن گروه ها

گروه	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)
کنترل (n= ۶)	۲۰۹/۷۹±۹/۶۴	۳۲۵/۶۳±۸/۸
تمرین (n= ۶)	۲۱۲/۴۵±۹/۳۸	۳۰۳±۱۵/۳۴

داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار آورده شده اند.

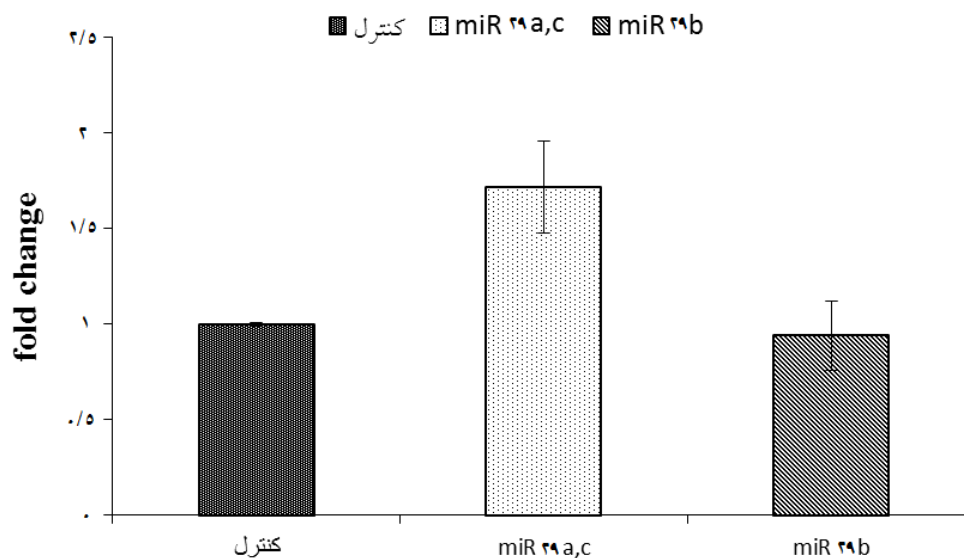
سانتی گراد، ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد (مرحله ساخت cDNA به وسیله آنزیم ترانس کریپتاز معکوس RT)، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (جهت غیر فعال کردن آنزیم RT). پس از اتمام مراحل ترموسایکلر ۲۸۰ میکرولیتر آب تزریقی اضافه شد و برای استفاده در QPCR در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد، برای هر نمونه cDNA نیز، یک نمونه کنترل مثبت با پرایمر b2m به عنوان کنترل داخلی (Internal Control)، برای آزمون حضور cDNA تهیه شد. نمونه ها به آرامی و بدون ورتکس مخلوط شده و در دستگاه Real time PCR (Corbett) با برنامه زیر PCR شد: ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (واسرشته شدن اولیه)، ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (واسرشته شدن) ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد (اتصال پرایمرها)، ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد (گسترش)، واکنش از مرحله دوم به بعد، برای ۴۰ سیکل تکرار شد. Cts مربوط به واکنش ها توسط نرم افزار دستگاه Real-time PCR استخراج و در نهایت Ct mean سه مرتبه ثبت شد (۱۲). کمی سازی مقادیر بیان ژن هدف مورد نظر از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS و کلیه



نمودار شماره ۱: نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن (میلی/گرم)

تمرین نسبت به کنترل کاهش ۰/۶۴٪ نشان داد که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست (P=۰/۴۱۶). میزان بیان آن در نمودار شماره ۲ ارائه شده است.

سطح بیان ژن miR29a,c در گروه تمرین نسبت به کنترل افزایش ۰/۷۲٪ نشان داد که این افزایش از لحاظ آماری معنی دار است (P=۰/۰۰۱)، اما سطح بیان ژن miR29b در گروه



نمودار شماره ۲: تغییرات بیان ژن miR29 (برابر تغییرات نسبت به گروه کنترل)

بحث:

طرفی استرس باعث تحریک ترشح پپتید ناتریورتیک مغز (Brain natriuretic peptid=BNP) از مایوسیت های قلبی می شود که با اثر $TGF-\beta$ مقابله می کند، به نظر می رسد که سیگنالینگ BNP از مایوسیت های قلبی به فیروبلاست ها باعث تعدیل بیان miR29 می شود. اگرچه miR29 نقش کلیدی در کنترل فیروز قلبی دارد، اما باید توجه شود که بین سطوح miR29 و کلاژن رابطه مستقیم یک به یک برقرار نیست. برای مثال کاهش جزئی در بیان miR29 بعد از سکت قلبی منجر به افزایش ۲۰ برابری در بیان کلاژن می شود (۱۶-۱۳). افزایش miR29a,c همسو با این تغییر در قلب گروه تمرینی می باشد تا از ماتریکس خارج سلول در مقابل رسوب کلاژن محافظت کند و باعث بهبود کامپلینانس بطنی شود. از علل احتمالی این تغییرات ناهمسو در بیان اعضای خانواده miR29 می توان به موارد زیر اشاره کرد: به نظر

در پژوهش حاضر نقش فعالیت بدنی بر میزان تغییرات بیان miR29 در قلب رت های نر سالم مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۸ هفته دویدن با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی باعث القای هایپرتروفی فیزیولوژیک و افزایش بیان معنی دار miR29a,c و کاهش غیر معنی دار بیان miR29b در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد که با نتایج سوسی و همکاران همسو است؛ اما تفاوت این پژوهش با سوسی در جنسیت مورد استفاده این دو پژوهش می باشد. سازوکار دقیق تنظیم miR29 در پاسخ به استرس هنوز کاملاً مشخص نشده است؛ اما نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که فاکتور رشد تغییر دهنده β (Transforming growth factor-beta= TGF- β) تنظیم کننده اصلی فیروز و محرک بسیاری از ژن های ماتریکس خارج سلولی است، می تواند miR29 را سرکوب کند، از

نتیجه گیری:

فعالیت ورزشی منظم به شماری سازگاری های خودکار و فیزیولوژی منجر می شود که پیامد آن افزایش عملکرد قلبی-عروقی و افزایش ظرفیت فعالیت ورزشی هوازی است. قلب بزرگ تر و نیرومندتر، در زیاد شدن حجم ضربه ای و برون ده اوج مشارکت دارد، در حالی که ضربان قلب زیر بیشینه کمتر، قلب را در معرض استرس کمتری در هر شدت فعالیت ورزشی زیر بیشینه معینی قرار می دهد. با توجه به هدف این پژوهش حاضر که بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی تداومی بر بیان miR29، در قلب رت های نر سالم بود از یافته های آن پژوهش چنین استنباط می شود که تمرین استقامتی تداومی با شدت ۷۵-۷۰٪ حداکثر اکسیژن مصرفی سبب القا هایپرتروفی فیزیولوژیک در قلب گروه تمرینی و افزایش معنی داری در میزان بیان miR29a,c می شود که افزایش miR29a,c احتمالاً منجر به کاهش معنی داری در بیان کلاژن نوع ۱ و نوع ۳ می شود که افزایش miR29a,c در هایپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرین استقامتی مستقیماً منجر به افزایش کامپلینانس بطنی می شود، اما جهت روشن تر شدن موضوع لازم است مطالعات وسیع تری، در سطح مولکولی انجام شود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش با شماره ۵۹۰۴۱ که در کتابخانه دانشگاه تهران ثبت شده است. نویسندگان این پژوهش مراتب سپاس و قدردانی خود را از همکاری آزمایشگاه سولوی مولکولی، دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس ابراز می دارند.

می رسد که اعضای خانواده miR29 ممکن است در برخی موارد با سازوکارهای متفاوت تنظیم شوند. برای مثال miR29a در سلول های هلا (HelaCells) بیان می شود. در حالی که miR29b به میزان کمی بیان می شود و به استثنا دوره میتوز سریعاً کاهش پیدا می کند و miR29c اصلاً بیان نمی شود. فرایند پس از رونویسی و پایداری اعضای خانواده miR29 ممکن است در تنظیم افتراقی آن ها مهم باشد. سازوکارهای مولکولی تنظیم افتراقی اعضای خانواده miR29 به پژوهش های بیشتری نیاز دارد (۶). اعضای خانواده miR29 توزیع سلولی متفاوتی دارند، Hwang و همکاران دریافتند که در سلول های هلا miR29 در نواحی مختلف سلول تجمع یافته اند. به طور مثال miR29a عمدتاً در سیتوزولی حضور دارد، اما miR29b عمدتاً در هسته سلول حضور دارد و در هسته نسبت به سیتوپلاسم ۴/۵۴ برابر است. miRNAs سیتوزولی و هسته ای ممکن است با پروتئین های مختلف تداخل داشته باشند و تأثیرات بیولوژیکی متفاوتی داشته باشند که هنوز مشخص نشده اند (۶، ۱۷). علی رغم تفاوت هایی که در جنسیت رت ها، نوع فعالیت هوازی و حجم تمرینات در پژوهش حاضر با پژوهش سوسی و همکاران وجود داشت، اما نتایج این دو پژوهش مشابه است و به نظر می رسد که تنظیم افزایشی بیان ژن miR29a,c و عدم تغییر و یا کاهش غیر معنی دار در بیان ژن miR29b مستقل از نوع فعالیت هوازی، حجم تمرینات و جنسیت است. پژوهش حاضر اولین پژوهشی است که تأثیر تمرینات استقامتی تداومی را بر بیان ژن های خانواده miR29 سنجیده است، لذا برای روشن شدن آثار تمرینات هوازی با شدت ها و حجم های متفاوت به پژوهش های بیشتری نیاز است.

منابع:

1. Fernandes-Silva MM, Carvalho VO, Guimaraes GV, Bacal F, Bocchi EA. Physical exercise and microRNAs: new frontiers in heart failure. *Arq Bras Cardiol.* 2012; 98(5): 459-66.

2. Rohini A, Agrawal N, Koyani CN, Singh R. Molecular targets and regulators of cardiac hypertrophy. *Pharmacol Res.* 2010; 61(4): 269-80.
3. 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.
4. Serena V, Gay S, and Distler O. Suppl 1: Role of MicroRNAs in fibrosis. *Rheumatol J.* 2012; 6: 130-43.
5. Gupta S, Das B, Sen S. Cardiac hypertrophy: mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2007; 9(6): 623-52.
6. Kriegel AJ, Liu Y, Fang Y, Ding X, Liang M. The miR-29 family: genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury. *Physiol Genomics.* 2012; 44(4): 237-44.
7. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet.* 2010; 11(9): 597-610.
8. Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol.* 2009; 11(3): 228-34.
9. Inui M, Martello G, Piccolo S. MicroRNA control of signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11(4): 252-63.
10. Soci UP, Fernandes T, Hashimoto NY, Mota GF, Amadeu MA, Rosa KT, et al. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. *Physiol Genomics.* 2011; 43(11): 665-73.
11. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity-controlled endurance exercise. *Proteomics.* 2009; 9(1): 106-15.
12. Shafiee A, Gaeini A, Soleimani M, Nekouei A, Hadidi V. The effect of eight week of high intensity interval training on expression of mir-210 and ephrinA3 mRNA in soleus muscle healthy male rats. *Arak Med Univ J.* 2014; 17(3): 26-34.
13. Fernandes T, Soci UP, Oliveira EM. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. *Braz J Med Biol Res.* 2011; 44(9): 836-47.
14. Rao PK, Toyama Y, Chiang HR, Gupta S, Bauer M, Medvid R, et al. Loss of cardiac microRNA-mediated regulation leads to dilated cardiomyopathy and heart failure. *Circ Res.* 2009; 105(6): 585-94.
15. van Rooij E, Marshall WS, Olson EN. Toward microRNA-based therapeutics for heart disease: the sense in antisense. *Circ Res.* 2008; 103(9): 919-28.
16. Fujimoto N, Hastings JL, Bhella PS, Shibata S, Gandhi NK, Carrick-Ranson G, et al. Effect of ageing on left ventricular compliance and distensibility in healthy sedentary humans. *J Physiol.* 2012; 590(Pt 8): 1871-80.
17. Hwang HW, Wentzel EA, Mendell JT. A hexanucleotide element directs microRNA nuclear import. *Science.* 2007; 315(5808): 97-100.

The effect of eight week continuous training on expression of MicroRNAs29 mRNA, in healthy male rat's cardiac muscle

Nekouei A¹, Kordi M¹, Choobineh S¹, Soleimani M², Shafiee A^{1*}, Hadidi V¹

¹Exercise Physiology Dept., Tehran University, Tehran, I.R. Iran; ²Hematology Dept., Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 2/May/2015 Accepted: 17/Aug/2015

Background and aims: MiR29 family includes miR29a, miR29b and miR29c. Cell proliferation and differentiation, apoptosis and extracellular matrix regulation are some the cellular effects of miR29. The aim of this study was to evaluate the effect of eight weeks continues training on the expression of miR29 mRNA in the cardiac muscle of healthy male rats.

Methods: In this experimental study, 12 Male Wistar rats with were randomly divided into two groups in identical age and weight status: continues training and control groups (n= 6). Training protocol was prescribed 70-75% vo2max for 30 min in each session, 5 days/week, for 8 weeks. Autopsy and hearts tissue isolation did 24 hours after the last session of training. MiR29 expression was analyzed by quantitate RT-PCR and then calculated by $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Independent t-test was used to determine the significance of variables between study groups.

Results: Results showed that there is a significant increase(72.6%), in gene expression miR29_{a,c} in training group compared to control group (P=0.001), But miR29b gene expression showed reduction and it was not significant statistically (0.64%) (P=0.416).

Conclusion: Based on the findings, it seems that continuous endurance training with 70-75% vo2max induces physiological hypertrophy in the heart of training group. Since this increase leads to a significant reduction in expression of collagen isoforms, it can be concluded that rising miR29_{a,c} in physiological hypertrophy induced by endurance training directly regulates extracellular matrix and ventricular compliance.

Keywords: Continuous training, MicroRNAs-29 family, Gene expression, Cardiac muscle.

Cite this article as: Nekouei A, Kordi, Choobineh S, Soleimani M, Shafiee A, Hadidi V. The effect of eight week continuous training on expression of MicroRNAs29 mRNA, in healthy male rat's cardiac muscle. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 17(6): 113-120.

***Corresponding author:**

Exercise Physiology Dept., Tehran University, Tehran, I.R. Iran; Tel: 00989107839143,
E-mail: a.shafiee@ut.ac.ir