



外源性 agomir-133 在跑台运动改善心脏病理性重塑中的作用

邢正, 陈雪飞, 张玉寒, 张靖博, 张靓*

(北京师范大学 体育与运动学院, 北京 100089)

摘要:目的:在腹主动脉缩窄(abdominal aortic coarctation, AAC)诱导的心脏病理性重塑大鼠模型上,观察运动对内源性 miR-133 表达的调节作用;通过外源性给予 agomir-133 后,观察运动对心脏病理性重塑及心肌凋亡的影响,探讨 miR-133 在跑台运动改善心脏病理性重塑中的作用及可能机制。方法:SD 大鼠随机分为 4 组:假手术组(CON 组)、腹主动脉缩窄组(AAC 组)、腹主动脉缩窄+跑台运动+agomir-NC 给药组(A+E+NC 组)以及腹主动脉缩窄+跑台运动+agomir-133 给药组(A+E+agomir-133 组)。术后 4 周, A+E+NC 组和 A+E+agomir-133 组大鼠开始进行为期 4 周的跑台运动,并分别给予 agomir-NC 和 agomir-133。末次训练后采用超声心动检测心功能。苏木素-伊红染色观察心肌和腓肠肌形态;天狼星红染色观察心肌纤维化;TUNEL 检测心肌细胞凋亡;ELISA 法检测血浆中肌肉生长抑制素(myostatin, MSTN)浓度;Real-time PCR 检测血浆和心肌中 miR-133 表达、心肌心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)和 MSTN 的表达、I 型胶原蛋白(collagen I)和 III 型胶原蛋白(collagen III)的表达以及凋亡相关基因 Bcl2 相关 X 基因(Bcl2-Associated X, Bax)和 B 淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的表达。结果:AAC 组大鼠发生心脏病理性重塑,心功能有所降低,心肌出现肥大,心肌细胞横截面积增大、纤维化和凋亡增加,心肌 miR-133 表达降低而血浆表达水平升高;4 周跑台运动后心脏病理性重塑得到改善,心功能恢复,心肌肥大得到改善,心肌细胞横截面积降低、纤维化和凋亡减少,心肌 miR-133 表达升高而血浆表达降低;agomir-133 给予后,运动改善大鼠心脏病理重塑的作用被抵消,心功能有所下降,心肌出现肥大,心肌纤维化和凋亡增多,骨骼肌出现明显萎缩。结论:跑台运动能够显著改善心肌肥大和纤维化,抑制心肌细胞凋亡,同时增加心肌 miR-133 表达,降低循环中 miR-133 水平;外源性的 agomir-133 给药抵消了运动对心脏病理性重塑的改善和抗凋亡效应,其作用可能与外周机制相关。

关键词:跑台运动;心脏病理性重塑;腹主动脉缩窄;微小核糖核酸-133

中图分类号:G804.2 **文献标识码:**A

miR-133 由 Chen 等(2006)在《自然》杂志(*Nature*)上首次报道发现,并证实其在成年人心肌和骨骼肌组织中特异性的高表达,被称为肌源性 miRNA(myo-miR)。miR-133 在肌肉的增殖分化、细胞凋亡、血管生成、脂肪组织褐色化等过程中发挥重要的生物学作用,广泛参与多种疾病的病理生理过程。有研究提示,miR-133 与心肌肥大、心肌梗死和心衰等多种心脏疾病的发生和发展密切相关。在人和动物模型中均观察到病理性心脏重塑以及心肌肥大时,心肌 miR-133 的表达水平显著降低。当心脏重塑发展成心力衰竭后,有临床研究表明心肌中 miR-133a 的表达水平与心衰的严重程度呈反比(Danowski et al., 2013)。miR-133 可通过抑制其靶蛋白 ras 同源物家族成员 A(ras homolog family member A, RhoA)、细胞分裂周期蛋白 42(cell division cycle 42, Cdc42)和活化 T 细胞核因子 c4(nuclear factor c4 of activated T cells, NFATc4)等表达,发挥强大的抑制心肌肥大的作用(Li et al., 2010)。miR-133 还能通过抑制结缔组织

生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)(Duisters et al., 2009)、锌指转录因子 Snail(zinc finger transcription factor snail)(Muraoka et al., 2014)、I 型胶原 A1(collagen I A1, Col1A1)(Castoldi et al., 2012)和转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)(Shan et al., 2009)的表达进而抑制心肌纤维化,改善心脏重塑。miR-133 抑制心肌细胞凋亡是其发挥心肌保护作用的主要机制。Xu 等(2007)研究证实 miR-133 能够使大鼠 H9c2 心室细胞凋亡基因天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 9(Cysteiny as-

收稿日期:2021-12-30; 修订日期:2022-10-03

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31871207)。

第一作者简介:邢正(1996-),男,在读博士研究生,主要研究方向为运动生物化学与代谢性疾病, E-mail: 202231070009@mail.bnu.edu.cn。

*通信作者简介:张靓(1976-),女,教授,博士研究生导师,主要研究方向为运动生物化学、运动与代谢调控, E-mail: zhangjing@bnu.edu.cn。

partate specific protease-9, Caspase-9) 的总蛋白水平降低 89%, 降低基础 Caspase-9 的活性, 阻止了氧化应激诱导的 Caspase-9 活性的增加, 并通过抑制 Caspase-9 间接下调 Caspase-3 活性, 提高了细胞活力和生存能力, 抑制细胞凋亡的发生。

长期规律的有氧运动能够有效降低心血管疾病的发病率, 减轻疾病症状, 对心血管疾病具有良好的预防和治疗作用。近年来研究发现, 运动可以通过调节 miRNA 的表达, 发挥心肌保护效应。在心肌缺血再灌注损伤、心肌梗死、糖尿病性心肌病、心衰等心脏疾病中, 均发现有 miRNA 参与了运动的心肌保护作用 (Fernandes et al., 2018; Liu et al., 2015)。

有氧运动及抗阻运动均能调节 miR-133 的表达。研究表明, 有氧运动可提高循环中 miR-133a 的表达以及心肌中 miR-133b 的表达 (Melo et al., 2014; Ramasamy et al., 2015), 而抗阻运动对 miR-133 前体的表达有显著影响 (Drummond et al., 2008)。但运动对病理性心肌肥大时内源性 miR-133 表达的影响以及 miR-133 在运动改善心脏重塑中发挥的作用均鲜见报道。综上, 本研究通过腹主动脉缩窄 (abdominal aortic coarctation, AAC) 建立大鼠病理性心脏重塑模型, 进行 4 周的跑台运动干预和 agomir-133 给药后, 观察病理性心脏重塑和心肌细胞凋亡的变化, 检测心肌和循环中 miR-133 表达情况, 探讨 miR-133 在运动改善心脏重塑中的作用及机制。

1 实验对象与方法

1.1 实验动物与材料

所有的动物维持和实验方案均符合北京师范大学伦理与动物委员会的要求 (批准号 CLS-EAW-2015-002)。5 周龄雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体质量 190~230 g, 共 24 只, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(京)2014-0001。动物分笼饲养, 室内温度 (22±5)℃, 湿度 50%±10%, 明暗交替周期为 12 h, 自由进食和饮水。所有动物饲料及垫料均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 苏木素-伊红染液和天狼星红染液购自北京中杉金桥生物技术有限公司, agomir-133 过表达试剂 (micrON rno-miR-133a-3p agomir, 产品编号 miR40000839-4-5) 及 agomir 阴性对照 (micrON agomir NC #22, 产品编号 miR4N000001-4-5) 购自广州市锐博生物科技有限公司, TUNEL 试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司, 血浆肌肉生长抑制素 (myostatin, MSTN) 浓度测定酶联免疫 (ELISA) 试剂盒购自 R&D(美国)。实验中所用其他试剂均为市售分析纯试剂。

1.2 实验动物分组与心脏病理性重塑模型制备

实验动物分组: 大鼠随机分为假手术组 (CON 组, $n=6$)、腹主动脉缩窄手术 (abdominal aortic coarctation, AAC) 组

(AAC 组, $n=6$)、AAC+运动+agomir-NC 组 (A+E+NC 组, $n=6$) 以及 AAC+运动+agomir-133 组 (A+E+agomir-133 组, $n=6$)。

心脏病理性重塑模型制备: 使用腹主动脉缩窄构建大鼠心脏病理性重塑模型。5 周龄 SD 大鼠适应性饲养 1 周后准备手术, 术前禁食 12 h, 并在手术前自由饮水。通过腹腔注射 50 mg/kg 的戊巴比妥钠 (Sigma, 美国) 进行麻醉, 然后仰卧位固定。大鼠左腹部备皮, 3% 碘伏消毒; 在左肋弓下缘和腹部中线旁各 0.5 cm 处纵向切开 1.5~2.0 cm, 逐层分离皮下组织、进入腹腔; 在左肾动脉上方分离腹主动脉, 用银夹造成腹主动脉部分狭窄 (银夹内径 0.7 mm); 在缝合伤口前, 将适量的青霉素 (400 000 U/mL) 滴入腹腔, 然后逐层缝合、关腹。假手术组仅打开腹腔, 分离腹主动脉, 不用银夹缩窄, 所有其他步骤与手术组相同。术后正常饮食, 密切观察动物反应。

1.3 跑台运动方案及 agomir-133 注射方案

跑台运动方案: AAC 手术 4 周后, A+E+NC 组及 A+E+agomir-133 组大鼠进行跑台训练。第 1 周, 大鼠每天以 5 m/min 的速度运动 15 min, 进行适应性训练; 第二周开始, 大鼠以 12 m/min 的速度跑步 40 min。所有训练均在下午 (15:00—18:00) 进行, 每周进行 5 天训练 (周一至周五), 共进行 4 周训练。

agomir-133 注射方案: AAC 手术 4 周后, 在每周一和周四进行跑台训练前 1 h 进行注射, A+E+agomir-133 组大鼠于右后肢腓肠肌多点注射 agomir-133, A+E+NC 组大鼠在相同部位注射 agomir-NC, 每只每次注射量均为 20 μ L, 浓度 12.5 nmol/mL, 共注射 4 周。

1.4 超声心动检测

大鼠末次运动 24 h 后, 进行超声心动检测, 使用 VisualSonics Vevo@2100 小动物超声成像系统 (Fujifilm VisualSonics, 加拿大)。测定前, 通过腹腔注射戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉大鼠, 胸部备皮, 仰卧位将头部及四肢固定在木板上, 将探头置于左前胸, 与前正中线呈 30° 左右夹角, 显示胸骨旁左室长轴切面, 探头顺时针旋转 90° 可显示左室短轴切面图像。于胸骨旁左室长轴切面二维测量左室室壁厚度等, 通过顺时针旋转探头 90° 显示左心室短轴截面图像, 在胸骨旁左心室纵轴上测量左心室壁厚度。在二维图像的引导下, 将取样线置于左室腱索水平, 取 M 型曲线, 进行心功能测量。超声心动图测量指标包括: 左室舒张末期内径 (left ventricular inner dimension diastolic, LVID; d)、左室舒张末期前壁厚度 (left ventricular anterior wall diastolic, LVAW; d)、左室舒张末期后壁厚度 (left ventricular posterior wall diastolic, LVPW; d) 和左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)。所有测量数据为 3 个心动周期的平均值。

1.5 动物取材

动物禁食过夜,自由饮水,腹腔注射 50 mg/kg 的戊巴比妥钠进行麻醉。经腹主动脉取血,用于各种生化指标的测定,分离心脏组织和腓肠肌进行后续的检测。

1.6 心肌病理组织学观察

心肌、腓肠肌组织置于 10% 的多聚甲醛溶液,然后于 20% 蔗糖溶液中浸泡过夜,石蜡包埋,用于石蜡切片,切片厚度为 5 μm。用苏木素-伊红(hematoxylin and eosin, H&E)染色心肌细胞,切片脱蜡复水。苏木素染色 15 s,蒸馏水漂洗 2 次,再用伊红染色 20 s,蒸馏水漂洗 2 次。脱水,透明,封片,观察结果。每组切片随机选取 5 个不重复视野,并使用 Image J 1.8.0 软件分析测定各视野中平均肌细胞横截面积(cross-sectional area)。制备 6 μm 的心肌石蜡切片用于胶原纤维的天狼星红染色,切片脱蜡复水,天狼星红染色液滴染 1 h,流水稍冲洗,去除切片表面染液,Mayer 苏木素染色液染细胞核 10 min,流水冲洗 10 min。脱水,透明,封片,观察结果。

1.7 TUNEL 检测

心肌组织石蜡切片脱蜡至水,滴加 Proteinase K 工作液,37 °C 孵育 20 min, PBS 溶液浸润清洗样本 3×5 min。滴加破膜液,室温处理 20 min,破膜处理完成后 PBS 溶液润洗样本 35 min;滴加 3% 的 H₂O₂ (PBS 配制),室温处理 20 min,然后使用 PBS 溶液润洗样本 3×5 min;滴加 Equilibration Buffer,室温孵育 10 min,而后加入 TdT 孵育缓冲液,37 °C 避光孵育 1 h,立即用 PBS 清洗 4×5 min;滴加 Streptavidin-HRP 反应液,37 °C 孵育 30 min, PBS 清洗 3×5 min。DAB 显色 10 min,纯水洗涤;苏木素染液染色 15 s,纯水洗涤。而后脱水,透明,封片,观察结果。

1.8 ELISA 法

腹主动脉取血 10 mL 缓慢注入含有 10% EDTA-2Na 100 μL、抑酞酶 50 μL (500 KIU/mL 血浆)(sigma, 美国)的试管中,混匀后 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,按试剂盒步骤进行如下测定。取出所需 96 孔板,每孔加入 50 μL 稀释剂 RD1-17;每孔加入 50 μL 标准品、对照品,胶条覆盖,摇床室温孵育 2 h。每孔洗涤 4 次,在最后一次洗涤后,去除剩余的洗涤液,晾干,每孔加入 GDF-80 200 μL,用新的胶条覆盖。摇床室温孵育 2 h,每孔洗涤 4 次,每孔加 200 μL 底物溶液,室温避光孵育 30 min,每孔加 50 μL 终止液。在反应结束后 15 min 内用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔光密度值,并计算血浆中 MSTN 的浓度。MSTN 的 ELISA 试剂盒灵敏度 0.922~5.32 pg/mL,曲线范围 0~2 000 pg/mL,批内变异系数 < 1.8%,批间变异系数 < 3.1%。

1.9 Real-time PCR

使用动物组织总 RNA 提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)提取腓肠肌和心肌组织的总 RNA,并使用天根 FASTKING 一步法除基因组 cDNA 第一链合成预混试剂(天根生化科技有限公司,北京)进行反转录。Real-time

PCR 反应体系共 20 μL: Super Real Pre Mix Plus (SYBR Green) 体系(全式金生物技术有限公司,北京) 15 μL、10 mmol/L 的上下游引物各 0.5 μL、cDNA 模板 5 μL,所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。经 94 °C、30 s, 94 °C、5 s, 60 °C、34 s,热循环 40 次,Real-time PCR 于 Light Cycler 96 荧光定量 PCR 仪(Roche, 瑞士)中进行,以 GAPDH 作为内参。所用引物序列详见表 1。

表 1 Real-time PCR 测定的基因表达引物序列
Table 1 The Primer Sequence of Target Genes

基因	序列(5'-3')
GAPDH	Forward 5'-ACA GCA ACA GGG TGG TGG AC-3'
	Reverse 5'-TTT GAG GGT GCA GCG AAC TT-3'
miR-133	Forward 5'-ATG GTT CGT GCG TTTGGTCCCCTT CAACC-3'
	Reverse 5'-GCA GGG TCC GAG GTA TTC-3'
ANP	Forward 5'-CTG ATG GAT TTC AAG AAT TTG CTG-G-3'
	Reverse 5'-TCA TTC GGC TCA CTG AGC ACT T-3'
BNP	Forward 5'-TAC AGG AGC AGC GCAACC ATT-3'
	Reverse 5'-CCG CCT CAG CAC TTT GCA G-3'
Myostatin	Forward 5'-CCT CAG TAAACT CCG CCT GG-3'
	Reverse 5'-TTG TTT CCG TGG TAG CGT GA-3'
U6	Forward 5'-GCT TCG GCA GCA CAT ATA CTAAAA T-3'
	Reverse 5'-CGC TTC ACG AAT TTG CGT GTC AT-3'
collagen I	Forward 5'-ATCAAGGTCTACTGCAACAT-3'
	Reverse 5'-CAGGATCGGAACCTTCGCTT-3'
collagen III	Forward 5'-TGCCACCCTGAACTCAAGAGC-3'
	Reverse 5'-AGCACCAGCATCTGTCCACCA-3'

1.10 统计方法

实验数据采用 PRISM 9.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA), Newman-Keuls 检验组间差异。检验置信区间 0.05, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性, $P < 0.01$ 表示差异具有非常显著性, $P < 0.001$ 表示差异具有极显著性。实验结果均用平均值±标准差($M \pm SD$)表示。

2 实验结果与分析

2.1 跑台运动对 AAC 大鼠的心脏病理性重塑的影响

与 CON 组相比, AAC 大鼠的心脏质量/体质量显著升高(图 1A, $P < 0.001$), 二维超声心动图(图 1B)及超声心动检测数据表明 AAC 大鼠的 LVAW; d、LVPW; d 以及 LVID; d 均显著增加(图 1C、D、E, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$), LVEF 呈降低趋势(图 1F)。而运动后大鼠的心脏质量/体质量显著降低(图 1A, $P < 0.05$)。与 AAC 组相比, A+E+NC 组大鼠 LVAW; d、LVPW; d 以及 LVID; d 显著降低(图 1C、D、E, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$), LVEF 出现了升高的趋势, 但无显著差异(图 1F)。提示 AAC 导致大鼠心功能有所降低, 心肌出现病理性肥大, 而跑台运动使心功能和心肌病理性肥大得到改善。

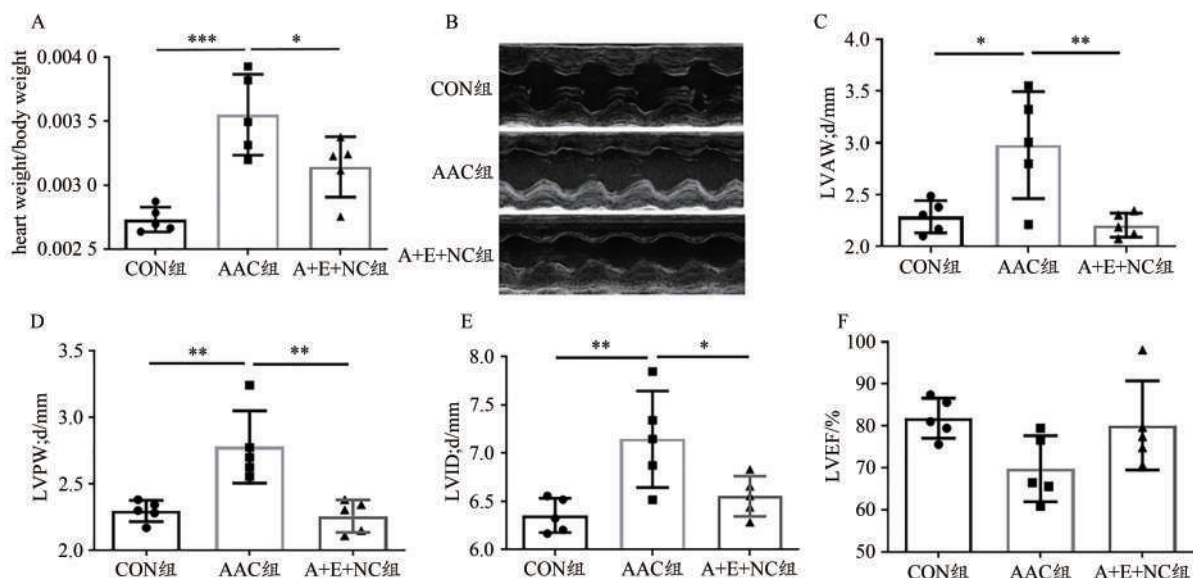


图1 腹主动脉缩窄及跑台运动对大鼠心脏结构和功能的影响

Figure 1. Effects of Abdominal Aortic Coarctation and Treadmill Exercise on Cardiac Structure and Function in Rats

注: $n=5$, *表示 $P<0.05$, **表示 $P<0.01$, ***表示 $P<0.001$, 下同。

HE染色结果(图2A)表明,与CON组相比,AAC大鼠心肌细胞横截面积显著增大(图2B, $P<0.0001$),天狼星红阳性染色(红色)面积明显增大(图2A),心肌纤维化标志物I型胶原蛋白(collagen I)(图2C, $P<0.01$)和III型胶原蛋白(collagen III)(图2D, $P<0.01$) mRNA的表达均显著升高。对心脏病理性重塑相关基因进行检测后发现,与CON组相比,AAC大鼠心肌心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)、脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)以及MSTN的mRNA表达均显著升高(图2E、F、G,均为 $P<$

0.01)。4周的跑台运动干预后大鼠的心肌细胞横截面积显著降低(图2B, $P<0.001$),天狼星红阳性染色面积减小(图2A),collagen I(图2C, $P<0.001$)和collagen III(图2D, $P<0.05$)的表达显著降低,心肌ANP、BNP和MSTN的mRNA表达显著下降(图2E、F、G, $P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.01$)。以上结果表明,AAC大鼠心肌发生了病理性肥大和纤维化,而跑台运动后心肌病理性肥大和纤维化均得到了明显改善。

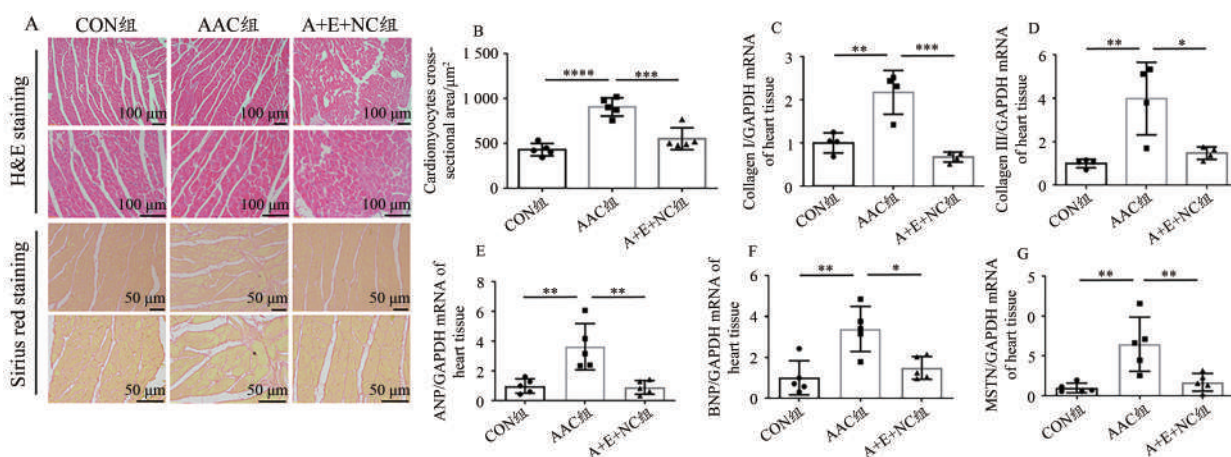


图2 腹主动脉缩窄和跑台运动对心脏病理性重塑的影响

Figure 2. Effects of Abdominal Aortic Coarctation and Treadmill Exercise on Cardiac Pathological Remodeling

注: $n=5$, ****表示 $P<0.0001$, 下同。

2.2 跑台运动对心肌和血浆中 miR-133 表达的影响

与CON组相比,AAC大鼠血浆中miR-133的表达显著升高,在4周跑台运动干预后其表达显著回落(图3A,

$P<0.0001$, $P<0.05$);与此相反的是,在心肌组织中检测到AAC大鼠miR-133的表达显著低于CON组,而运动干预后其表达又显著回升(图3B,均为 $P<0.01$)。

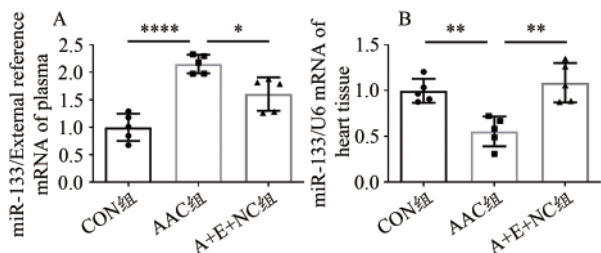


图3 跑台运动对AAC大鼠血浆和心肌组织miR-133表达的影响
Figure 3. Effect of Treadmill Exercise on the Expression of miR-133 in Plasma and Myocardial Tissue of AAC Rats

注:n=5。

2.3 agomir-133 给予在运动改善心肌重塑中的作用

agomir-133 给药后,与A+E+NC组相比,大鼠心脏质量/体质量显著增加(图4A, $P < 0.05$),二维超声心动图像(图4B)及超声心动结果表明LVAW;d和LVPW;d显著升高(图4C、D, $P < 0.05$, $P < 0.01$),LVID;d和LVEF有下降趋势,但无显著差异,提示agomir-133给药部分抵消了运动对病理性心肌重塑的改善作用。

HE染色结果(图5A)表明,与A+E+NC组相比,A+E+agomir-133组大鼠心肌细胞横截面积显著增大(图5B, $P < 0.05$),天狼星红阳性(红色)染色面积明显增多(图5A),提示心肌出现肥大和纤维化,同时心肌纤维化指标collagen I和collagen III的表达显著升高(图5C、D,均为

$P < 0.05$),心脏病理性重塑相关基因BNP、MSTN的表达显著升高(图5F、G,均为 $P < 0.05$)。以上结果表明agomir-133给药部分抵消了运动对病理性心肌重塑的改善作用。

agomir-133 给药后,与阴性对照组(A+E+NC组)相比,血浆中miR-133的表达出现升高的趋势,但并无显著差异(图6A),而心肌组织中miR-133的表达在给药后出现了显著的降低(图6B, $P < 0.01$)。

2.4 miR-133 给药对心肌细胞凋亡的影响

对心肌进行TUNEL检测后发现(图7A),与CON组相比,AAC组大鼠阳性染色细胞核(紫色箭头)明显增多,在跑台运动后其数量显著降低,并在agomir-133给药后又出现增多。同样地,对心肌组织的凋亡相关基因进行检测后发现,与CON组相比,AAC组大鼠Bcl2相关X基因(BCL2-associated X, Bax)表达显著升高(图7B, $P < 0.01$)且B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)显著降低(图7C, $P < 0.01$),Bcl-2/Bax显著降低(图7D, $P < 0.01$);与AAC组相比,运动干预使大鼠Bax表达显著降低(图7B, $P < 0.05$);agomir-133给药后与阴性对照组(A+E+NC组)相比,Bax显著升高(图7B, $P < 0.01$),Bcl-2和Bcl-2/Bax均显著降低(图7C、D, $P < 0.001$, $P < 0.05$)。提示AAC导致大鼠发生了心肌细胞凋亡,在运动干预后得到改善,而agomir-133给药使运动对心肌细胞凋亡的改善作用消失。

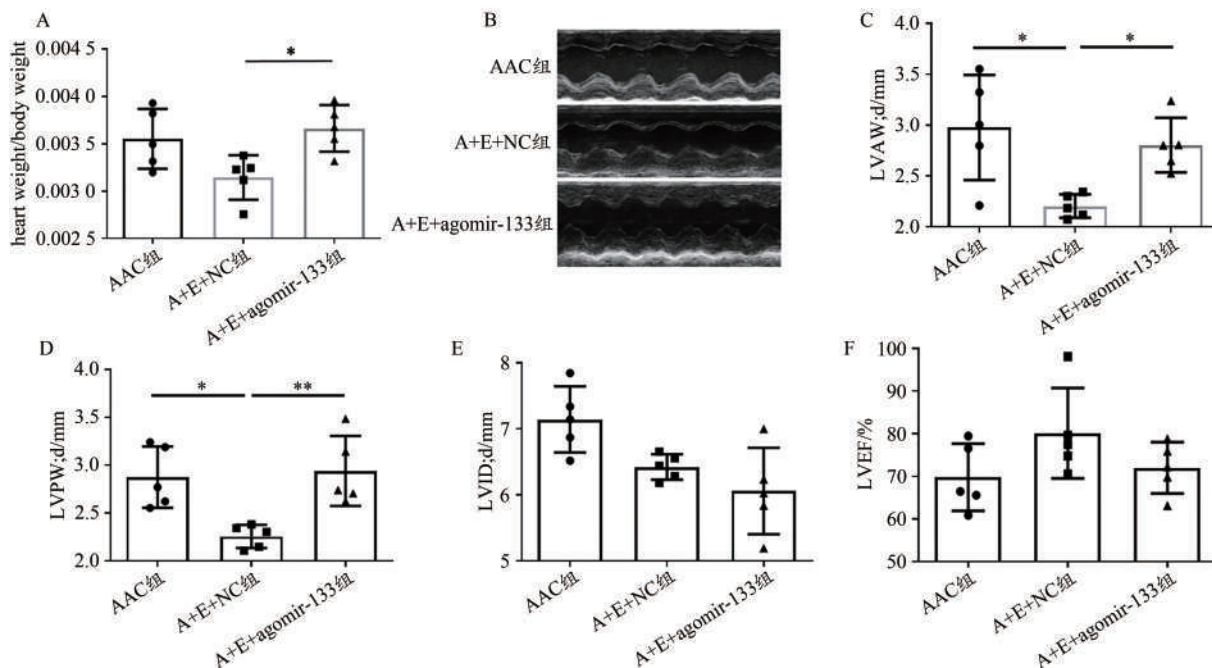


图4 agomir-133 给药合并跑台运动对AAC大鼠心功能的影响
Figure 4. Effects of Agomir-133 Administration Combined with Treadmill Exercise on Cardiac Function in AAC Rats

注:n=5。

2.5 agomir-133 合并跑台运动对腹主动脉缩窄诱导的肌肉萎缩的影响

与CON组相比,AAC大鼠腓肠肌重量显著降低,并在运

动干预后显著回升,但agomir-133给药又导致腓肠肌重量显著降低(图8A, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$)。AAC导致腓肠肌中MSTN的表达显著升高,在运动干预后其表达显著降

低,并在 agomir-133 给药后显著升高(图 8B, $P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$)。血浆中 MSTN 的浓度也表现出相同的变化趋势(图 8C, 均为 $P < 0.01$)。腓肠肌 H&E 染色(图 8E)结果表明, AAC 导致肌细胞横截面积显著减小,运动干预又使肌

细胞横截面积显著增大,而 agomir-133 给药抵消了运动的改善作用(图 8D, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$)。以上结果提示, AAC 可引起骨骼肌萎缩,运动后得到显著改善,而 miR-133 在肌肉内的过表达又可导致骨骼肌的萎缩。

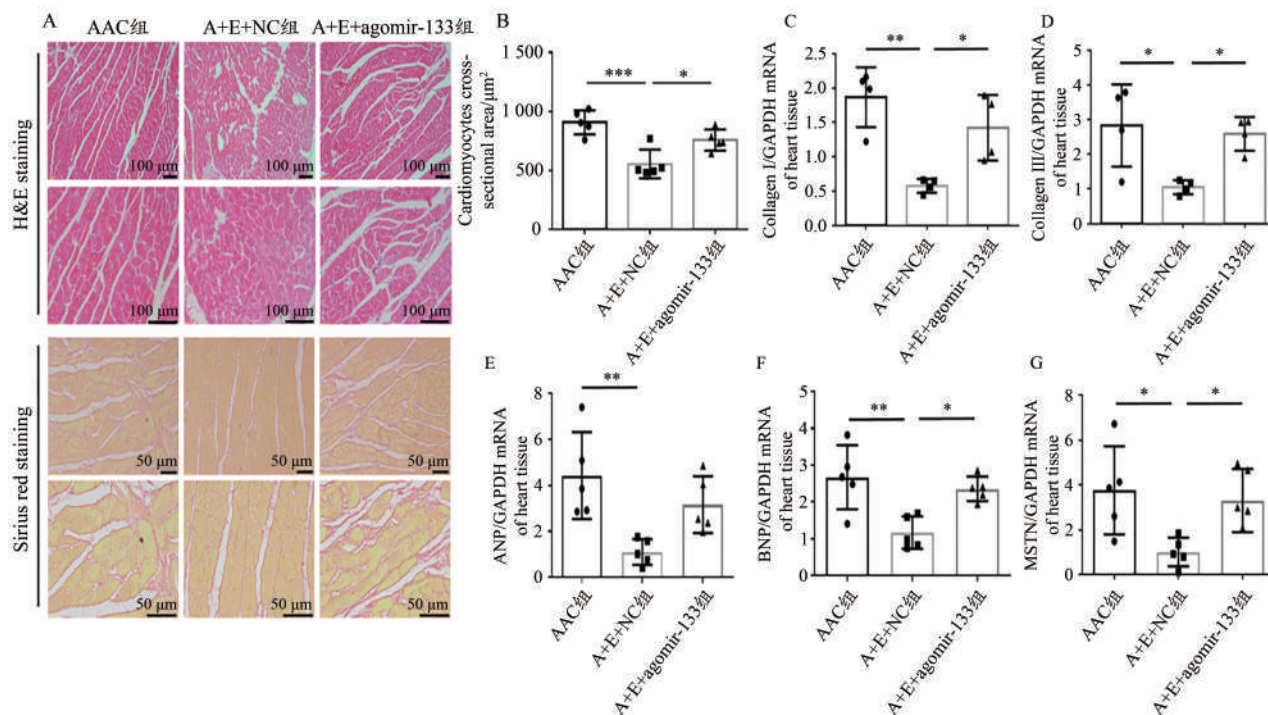


图5 agomir-133 合并跑台运动对心脏病理性重塑的影响

Figure 5. Effect of Agomir-133 Combined with Treadmill Exercise on Cardiac Pathological Remodeling

注: $n=5$ 。

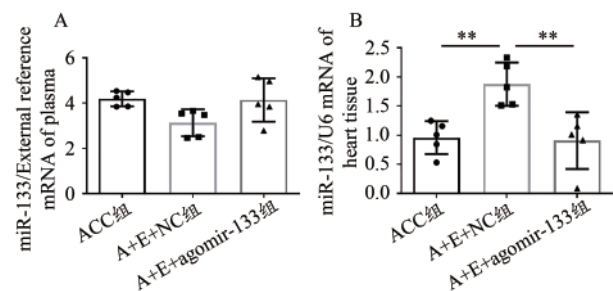


图6 agomir-133 合并跑台运动对循环和心肌 miR-133 表达的影响
Figure 6. Effects of Agomir-133 Combined with Treadmill Exercise on Endogenous Circulation and Myocardial miR-133 Expression

注: $n=5$ 。

3 讨论

本研究使用 AAC 构建了大鼠心脏病理性重塑模型, AAC 导致大鼠心脏质量/体质量增加,左室壁增厚,心肌发生纤维化, ANP、BNP 以及 MSTN 的表达显著升高,表明心脏病理性重塑模型成立。 AAC 大鼠循环中 miR-133 的表达显著升高,而心肌中 miR-133 的表达则显著降低。 4 周的跑台运动干预明显改善了大鼠的心脏病理性重塑,并使循环中 miR-133 的表达显著降低而心肌中 miR-133 的表达升高。为了进一步验证 miR-133 在运动改善心肌重

塑中的作用,本研究对 AAC 运动大鼠外源性的补充了 agomir-133,发现运动对大鼠病理性心肌重塑的改善作用消失,同时心肌细胞的凋亡显著增加。以上结果表明,运动通过促进心肌 miR-133 表达,减少循环 miR-133 水平,产生心脏保护效应,外源性 miR-133 给予抵消了运动的保护作用。

由于 miRNA 在细胞的各个生命活动环节均发挥重要调控作用,所以近年来 miRNA 备受关注。目前发现有数千种 miRNA,它们在机体中的表达有着明显的组织特异性(Lagos-Quintana et al., 2002)。 miR-133 被证实在成年人心肌和骨骼肌组织中特异性高表达,因此被称为肌源性 miRNA。近年来研究发现 miR-133 与某些心脏疾病的关系较为密切。有研究表明在多种因素诱导的病理性心脏重塑时,心肌中 miR-133 的表达水平显著降低。在肥大性心肌病患者中,心房和心室肌的 miR-133a 表达下调。在腹主动脉缩窄(Hua et al., 2012)和主动脉弓缩窄诱导的心肌肥大小鼠模型(Carè et al., 2007)中,心肌 miR-133 的表达显著下调,在血管紧张素 II(Castoldi et al., 2012)和高血压诱导(Duisters et al., 2009)的心肌肥大的模型中,心肌、心脏成纤维细胞 miR-133 的表达也显著下降。有临床研究表明,心肌中 miR-133a 的表达水平与心衰的严重程

度呈反比(Danowski et al., 2013)。心肌梗死患者心肌中的miR-133a表达显著降低(Emanuela et al., 2010),在心肌梗死的动物模型上同样观察到心肌miR-133的表达出现显著降低(Sun et al., 2020; Zhang et al., 2019)。但血液中miR-133的表达变化与心肌中不一致,不论是心衰患者

(Ben-Zvi et al., 2020),还是心梗患者(Peng et al., 2014),循环中miR-133的表达均显著升高。与前期研究结果一致,在本研究中,AAC诱导的病理性心脏重塑大鼠心肌中miR-133的表达显著降低,而血液中miR-133的水平则显著升高。

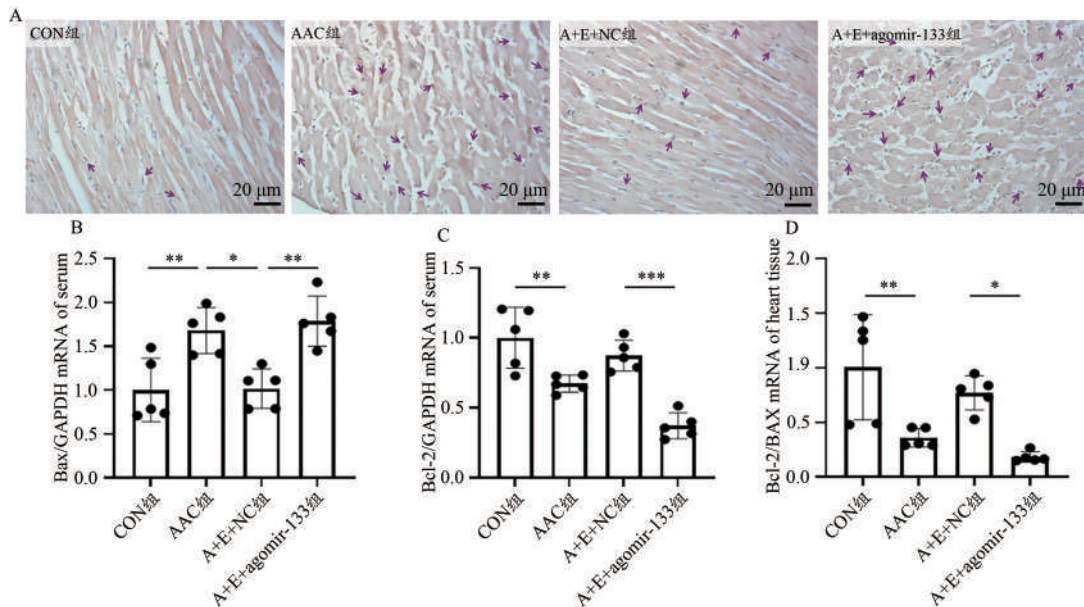


图7 跑台运动、agomir-133合并跑台运动对腹主动脉缩窄导致的心肌细胞凋亡的影响

Figure 7. Effects of Treadmill Exercise Alone and Agomir-133 Combined with Treadmill Exercise on Cardiomyocyte Apoptosis Induced by Abdominal Aortic Coarctation

注:心肌细胞凋亡的影响A为心肌组织石蜡切片的TUNEL检测,紫色箭头显示凋亡细胞核,n=5。

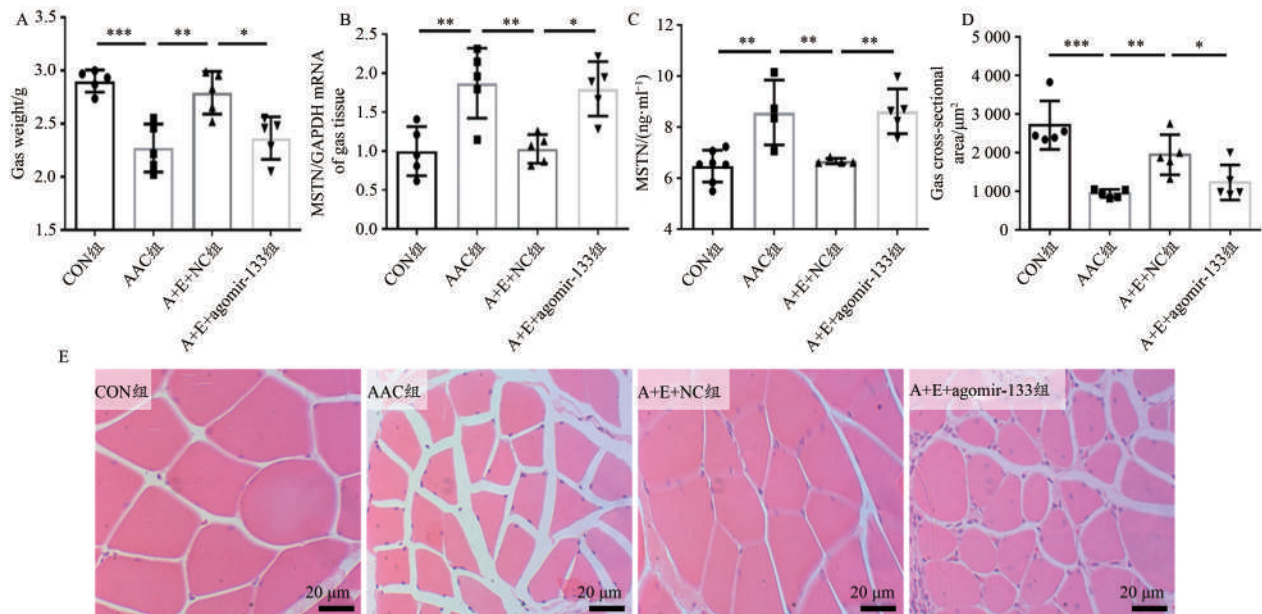


图8 跑台运动、agomir-133合并跑台运动对腹主动脉缩窄诱导的肌肉萎缩的影响

Figure 8. Effects of Treadmill Exercise Alone and Agomir-133 Combined Treadmill Exercise on Muscle Atrophy Induced by Abdominal Aortic Coarctation

注:肌肉萎缩的影响E为腓肠肌石蜡切片的H&E染色,n=5。

运动对miRNA的表达具有显著的调节作用,但与运动方式、运动强度和运动结束后的测定时间有关。成年男性马

拉松比赛后血清miR-133a水平显著升高(Mooren et al., 2014),健康的成年男性在经过急性耐力运动后3h,骨骼肌

活检发现 miR-133a/b 的表达分别上调 35% 和 40% (Russell et al., 2013)。Nielsen 等 (2010) 研究也证实骨骼肌 miR-133a 的表达在 60 min 有氧运动后明显升高, 而经过 12 周耐力训练后, 骨骼肌 miR-133a 的表达水平在运动前后未发生明显变化。抗阻运动则上调了 pre-miR-133 的表达, 但成熟 miR-133 表达降低或不变。也有研究报道了运动对心肌中 miR-133 表达的影响。Palabiyik 等 (2019) 研究表明 8 周的游泳运动使大鼠心室肌中 miR-133 的表达显著升高; Fathi 等 (2020) 也发现 14 周的耐力训练使大鼠出现生理性心肌肥大, 且左心室 miR-133 表达显著增加。但在病理性心脏重塑时, 运动对 miR-133 的调节尚未见报道。本实验结果表明, 4 周跑台运动使 AAC 大鼠心肌 miR-133 表达水平显著升高, 同时循环中 miR-133 的水平显著降低, 提示跑台运动调节 miR-133 的表达可能是运动防治心血管疾病的机制之一。根据已有研究提示, 运动调节肌源性 miR-133 的表达可能与转录因子 MyoD、myogenin、PI3K/AKT/mTOR 信号通路等作用机制相关 (Pegoraro et al., 2020; Soplińska et al., 2020)。

miR-133 抑制心肌细胞凋亡是其发挥心脏保护作用的重要机制。在 $\beta 1$ 肾上腺素受体持续激活诱导的心肌细胞凋亡时, miR-133 能显著抑制凋亡的发生, miR-133 可以下调 60% $\beta 1$ 肾上腺素受体 mRNA 表达, 抑制受体通路的激活, 发挥抗心肌凋亡的作用 (Nader et al., 2021)。miR-133 还通过抑制 caspase-9 的表达, 抑制尼古丁诱导的心肌凋亡 (Jan et al., 2012)。本研究发现 AAC 大鼠的心肌细胞凋亡数量显著增加, 4 周跑台运动干预后, 细胞凋亡得到显著改善, 上述改变与心肌 miR-133 的表达变化同步, 提示心肌组织中的 miR-133 可能通过抗细胞凋亡发挥心肌保护作用。

为了验证 miR-133 在运动改善心脏病理性重塑中的作用, 本研究对运动干预大鼠同时外源性给予了 agomir-133, 结果与多数 miR-133 发挥心脏保护作用的研究结果不同, 本研究发现腓肠肌注射 agomir-133 并没有发挥对心脏病理性重塑的改善作用。与以往研究相比, 本研究的给药部位以及靶向性有所不同。Chen 等 (2017) 将过表达 miR-133 的间充质干细胞直接注射到心肌梗死大鼠的心肌组织中, Sun 等 (2020) 对大鼠尾静脉注射携带 miR-133 的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸三肽 (RGD) 修饰的聚乙二醇 (PEG)-聚乳酸 (PLA) 纳米粒 (PEG-PLA/miR-133), 对心肌组织具有较高的靶向性。本研究采用了肌肉注射, 并选取了目前应用较为广泛的 agomir 实现过表达。agomir 是人工合成并经过特殊化学修饰的 miRNA 片段, 通过模拟内源性 miRNA 来调节靶基因 mRNA 的表达而发挥作用 (Mai et al., 2019)。与其他过表达试剂相比, agomir 在动物体内具有更高的稳定性和活性, 作用时间长, 不依赖载体, 对各种器官组织均可发挥作用。但有研究提示, 局部注射 agomir 可能无法到达外周组织发挥作用。Zhang 等 (2021) 将 0.25 nmol/g 体质量的 agomir-30b 注射到小鼠的褐色脂肪组织中, 发现心脏、肝脏等外周组织中

miR-30b 的表达无显著升高, 表明局部 agomir-30b 给药对其其他组织不产生影响。本研究以局部给药的方式对腓肠肌进行了多点注射, 并检测了血浆和心肌 miR-133 表达的变化, 发现注射 agomir-133 后心肌 miR-133 表达显著降低, 在血浆中也未发生显著变化。由于腓肠肌以快肌纤维为主, 血管数量较少, 推测 agomir-133 注射后难以进入循环及外周组织发挥作用。

本研究发现, 肌肉 agomir-133 给予不但没有发挥心脏的保护作用, 还抵消了运动对心脏病理性重塑的改善作用。进一步研究发现, 肌肉 agomir-133 给予后, 骨骼肌出现严重萎缩, 推测 miR-133 过表达导致的肌肉萎缩通过外周机制加重心脏病理性重塑。以往研究也证实 miR-133 与肌肉萎缩有关 (Cacchiarelli et al., 2011; Ringholm et al., 2011; Williams et al., 2009), 并将 miR-133 作为临床上肌病的诊断指标。目前研究提示, 骨骼肌质量与心血管疾病的发生及预后密切相关。流行病学研究发现骨骼肌质量的减少增加了冠心病患者的死亡风险 (Nichols et al., 2019), 骨骼肌质量与心血管疾病风险呈正对数线性相关 (Knowles et al., 2021), 肌少症患者骨骼肌质量的减少会对心衰病人的预后产生不良影响 (Emami et al., 2018; Von, 2018)。研究表明骨骼肌和心肌之间存在交互作用。肌肉萎缩时其胰岛素样生长因子 1 (insulin like growth factor-1, IGF-1)、神经调节蛋白 1 (Neuregulin, NRG1)、机械生长因子 (mechano growth factor, MGF) 以及卵泡抑素样蛋白 1 (Follistatin-like protein 1, FSTL1) 的表达显著降低, 与心功能的减弱及心梗的发展有关 (Cai et al., 2016; Xi et al., 2021)。MSTN 是肌肉生长的负性调控因子, 主要由骨骼肌分泌, 有研究报道肌肉萎缩合并心衰小鼠血浆 MSTN 明显增加 (Heineke et al., 2010), 且 MSTN 可引起心肌纤维化和心衰等症状 (Yoshida et al., 2013)。本研究中腓肠肌注射 agomir-133 后发生萎缩, 腓肠肌以及血浆中 MSTN 的表达均显著升高。提示 agomir-133 给药引起的肌肉萎缩可能诱导肌源性 MSTN 及其他外周机制作用于心脏, 加重了心脏病理性重塑。但具体机制如何还需进一步探究。

4 结论

AAC 诱导大鼠发生心脏病理性重塑, 心肌中 miR-133 表达降低, 循环中 miR-133 水平增加。4 周的跑台运动显著改善了 AAC 诱导的心肌肥大和纤维化, 抑制了心肌细胞凋亡, 同时增加了心肌 miR-133 表达, 降低了循环中 miR-133 的水平。外源性的 agomir-133 给药使心肌内源性 miR-133 表达降低, 抵消了运动对心脏病理性重塑的改善和抗凋亡作用, 并引起骨骼肌萎缩。miR-133 在运动改善心脏病理性重塑中发挥重要作用, 其在骨骼肌内的过表达可引起肌肉萎缩, 并可通过外周机制抵消运动对心脏病理性重塑的改善作用。

参考文献:

- BEN-ZVI I, VOLINSKY N, GROSMAN-RIMON L, et al., 2020. Cardiac-peripheral transvenous gradients of microRNA expression in systolic heart failure patients[J]. *ESC Heart Fail*, 7(3):835-843.
- CACCHIARELLI D, LEGNINI I, MARTONE J, et al., 2011. miRNAs as serum biomarkers for Duchenne muscular dystrophy [J]. *Embo Mol Med*, 3(5):258-265.
- CAI M X, SHI X C, CHEN T, et al., 2016. Exercise training activates neuregulin 1/ErbB signaling and promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model[J]. *Life Sci*, 15:1-9.
- CARÈ A, CATALUCCI D, FELICETTI F, et al., 2007. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy[J]. *Nat Med*, 13(5):613-618.
- CASTOLDI G, DI GIOIA C R, BOMBARDI C, et al., 2012. MiR-133a regulates collagen 1A1: Potential role of miR-133a in myocardial fibrosis in angiotensin II-dependent hypertension [J]. *J Cell Physiol*, 227(2):850-856.
- CHEN J F, MANDEL E M, THOMSON J M, et al., 2006. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation[J]. *Nat Genet*, 38(2):228-233.
- CHEN Y, ZHAO Y, CHEN W, et al., 2017. MicroRNA-133 overexpression promotes the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells on acute myocardial infarction[J]. *Stem Cell Res Ther*, 8(1):268.
- DANOWSKI N, MANTHEY I, JAKOB H G, et al., 2013. Decreased expression of miR-133a but not of miR-1 is associated with signs of heart failure in patients undergoing coronary bypass surgery[J]. *Cardiology*, 125(2):125-130.
- DRUMMOND M J, MCCARTHY J J, FRY C S, et al., 2008. Aging differentially affects human skeletal muscle microRNA expression at rest and after an anabolic stimulus of resistance exercise and essential amino acids [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295 (6) : E1333-E1340.
- DUISTERS R F, TIJSEN A J, SCHROEN B, et al., 2009. miR-133 and miR-30 regulate connective tissue growth factor: Implications for a role of microRNAs in myocardial matrix remodeling[J]. *Circ Res*, 104(2):170-178.
- EMAMI A, SAITOH M, VALENTOVA M, et al., 2018. Comparison of sarcopenia and cachexia in men with chronic heart failure: Results from the studies investigating co-morbidities aggravating heart failure (SICA-HF)[J]. *Eur J Heart Fail*, 20(11):1580-1587.
- EMANUELA B, NINA Z, DUSAN S, et al., 2010. MicroRNAs miR-1, miR-133a, miR-133b and miR-208 are dysregulated in human myocardial infarction[J]. *Cardiology*, 115(3):163-169.
- FATHI M, GHARAKHANLOU R, REZAEI R, 2020. The changes of heart miR-1 and miR-133 expressions following physiological hypertrophy due to endurance training[J]. *Cell J*, 22(Suppl 1):133-140.
- FERNANDES T, BARRETTI D L, PHILLIPS M I, et al., 2018. Exercise training prevents obesity-associated disorders: Role of miRNA-208a and MED13[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 15(476):148-154.
- HEINEKE J, AUGER-MESSIER M, XU J, et al., 2010. Genetic deletion of myostatin from the heart prevents skeletal muscle atrophy in heart failure[J]. *Circulation*, 121(3):419-425.
- HUA Y, ZHANG Y, REN J, 2012. IGF-1 deficiency resists cardiac hypertrophy and myocardial contractile dysfunction: Role of microRNA-1 and microRNA-133a[J]. *J Cell Mol Med*, 16(1):83-95.
- JAN W K, JENS C B, 2012. MyomiRs-133a/b turn off the heat[J]. *Nat Cell Biol*, 14(12):1248-1249.
- KNOWLES R, CARTER J, JEBB S A, et al., 2021. Associations of skeletal muscle mass and fat mass with incident cardiovascular disease and all-cause mortality: A prospective cohort study of UK biobank participants[J]. *Am Heart Assoc*, 10(9):e019337.
- LAGOS-QUINTANA M, RAUHUT R, YALCIN A, et al., 2002. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse [J]. *Curr Biol*, 12(9):735-739.
- LI Q, LIN X, YANG X S, et al., 2010. NFATc4 is negatively regulated in miR-133a-mediated cardiomyocyte hypertrophic repression [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 298(5):H1340- H1347.
- LIU P, QIU C G, LI B F, et al., 2014. Clinical impact of circulating miR-133, miR-1291 and miR-663b in plasma of patients with acute myocardial infarction [J]. *Diagn Pathol*, doi: 10.1186/1746-1596-9-89.
- LIU X J, XIAO J J, ZHU H, et al., 2015. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling[J]. *Cell Metab*, 21(4):584-595.
- MAI H, FAN W H, WANG Y, et al., 2019. Intranasal administration of miR-146a agomir rescued the pathological process and cognitive impairment in an AD mouse model [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 6 (18):681-695.
- MELO S F, FERNANDES T, BARAUNA V G, et al., 2014. Expression of MicroRNA-29 and collagen in cardiac muscle after swimming training in myocardial-infarcted rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 33(3):657-669.
- MOOREN F C, VIREECK J, KRÜGER K, et al., 2014. Circulating microRNAs as potential biomarkers of aerobic exercise capacity[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 306(4):H557-H563.
- MURAOKA N, YAMAKAWA H, MIYAMOTO K, et al., 2014. MiR-133 promotes cardiac reprogramming by directly repressing Snail and silencing fibroblast signatures [J]. *EMBO J*, 33 (14) : 1565-1581.
- NADER D, HAMED S, GUIVE S, et al., 2021. Non-coding RNAs modulate function of extracellular matrix proteins[J]. *Biomed Pharmacother*, doi: 10.1016/j.biopha.2021.111240.
- NICHOLS S, O'DOHERTY A F, TAYLOR C, et al., 2019. Low skeletal muscle mass is associated with low aerobic capacity and increased mortality risk in patients with coronary heart disease: A CARE CR study[J]. *Clin Physiol Funct Imaging*, 39(1):93-102.
- NIELSEN S, SCHEELE C, YFANTI C, et al., 2010. Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle[J]. *J Physiol*, 588(20):4029-4037
- PALABIYIK O, TASTEKIN E, DOGANLAR Z B, et al., 2019. Alteration in cardiac PI3K/Akt/mTOR and ERK signaling pathways with the use of growth hormone and swimming, and the roles of miR21 and miR133[J]. *Biomed Rep*, doi: 10.3892/br.2018.1179.
- PEGORARO V, CUDIA P, BABA A, et al., 2020. MyomiRNAs and myostatin as physical rehabilitation biomarkers for myotonic dystrophy[J]. *Neurol Sci*, 41(10):2953-2960.
- RAMASAMY S, VELMURUGAN G, SHANMUGHA RAJAN K, et al., 2015. MiRNAs with apoptosis regulating potential are differentially expressed in chronic exercise-induced physiologically hypertrophied hearts[J]. *PLoS One*, 10(3):e0121401.
- RINGHOLM S, BIENSØ R S, KIILLERICH K, et al., 2011. Bed rest reduces metabolic protein content and abolishes exercise-induced mRNA responses in human skeletal muscle[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 301(4):E649-E658.
- RUSSELL A P, LAMON S, BOON H, et al., 2013. Regulation of miR-

- NAs in human skeletal muscle following acute endurance exercise and short-term endurance training[J]. *J Physiol*, 591(18):4637-4653.
- SHAN H L, ZHANG Y, LU Y J, et al., 2009. Downregulation of miR-133 and miR-590 contributes to nicotine-induced atrial remodeling in canines[J]. *Cardiovasc Res*, 83(3):465-472.
- SOPLINSKA A, ZAREBA L, WICIK Z, et al., 2020. MicroRNAs as biomarkers of systemic changes in response to endurance exercise: A comprehensive review[J]. *Diagnostics (Basel)*, doi: 10.3390/diagnostics10100813.
- SOUZA R W, FERNANDEZ G J, CUNHA J P, et al., 2015. Regulation of cardiac microRNAs induced by aerobic exercise training during heart failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 309(10):H1629-1641.
- SUN B X, LIU S W, HAO R B, et al., 2020. RGD-PEG-PLA delivers MiR-133 to infarct lesions of acute myocardial infarction model rats for cardiac protection[J]. *Pharmaceutics*, doi: 10.3390/pharmaceutics12060575.
- VON H S, 2018. Muscle wasting and sarcopenia in heart failure: A brief overview of the current literature[J]. *ESC Heart Fail*, 5(6):1074-1082.
- WILLIAMS A H, VALDEZ G, MORESI V, et al., 2009. MicroRNA-206 delays ALS progression and promotes regeneration of neuromuscular synapses in mice[J]. *Science*, 326(5959):1549-1554.
- XI Y, HAO M L, LIANG Q Q, et al., 2021. Dynamic resistance exercise increases skeletal muscle-derived FSTL1 inducing cardiac angiogenesis via DIP2A-Smad2/3 in rats following myocardial infarction[J]. *Sport Health Sci*, 10(5):594-603.
- XU C Q, LU Y J, PAN Z W, et al., 2007. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes[J]. *J Cell Sci*, 120(17):3045-3052.
- YOSHIDA T, TABONY A M, GALVEZ S, et al., 2013. Molecular mechanisms and signaling pathways of angiotensin II-induced muscle wasting: Potential therapeutic targets for cardiac cachexia[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 45(10):2322-2332.
- ZHANG X G, WANG L Q, GUAN H L, 2019. Investigating the expression of miRNA-133 in animal models of myocardial infarction and its effect on cardiac function[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 23(13):5934-5940.
- ZHANG Y D, CAI Y Y, ZHANG H B, et al., 2021. Brown adipose tissue transplantation ameliorates diabetic nephropathy through the miR-30b pathway by targeting Runx1 [J]. *Metabolism*, doi: 10.1016/j.metabol.2021.154916.

The Role of Exogenous Agomir-133 in the Improvement of Cardiac Pathological Remodeling Induced by Treadmill Exercise

XING Zheng, CHEN Xuefei, ZHANG Yuhan, ZHANG Jingbo, ZHANG Jing*

College of P. E and Sports, Beijing Normal University, Beijing 100089, China

Abstract: Objective: To observe the regulatory effect of exercise on the expression of endogenous miR-133 in cardiac pathological remodeling rats induced by abdominal aortic coarctation (AAC); and then to investigate the effects of exercise on cardiac pathological remodeling and myocardial apoptosis through exogenous agomir-133 and explore the possible mechanisms. Methods: SD rats were randomly divided into four groups: sham operation group (CON), abdominal aortic coarctation group (AAC), abdominal aortic coarctation+treadmill exercise+agomir-NC group (A+E+NC) and abdominal aortic coarctation+treadmill exercise+agomir-133 group (A+E+agomir-133), there were 5 rats in each group. The CON group only opened the abdominal cavity to separate the intestinal canal, but did not ligate. Four weeks after operation, A+E+NC and A+E+agomir-133 groups were beginning to run on the treadmill for four weeks with the exogenous injection of agomir-NC and agomir-133, respectively. Cardiac function was detected by echocardiography at the next day after the last training; blood samples, heart and gastrocnemius muscle samples were collected for the following detections. The H&E staining was used to observe the morphological changes of myocardium and gastrocnemius muscle fibers; myocardial fibrosis was observed by Sirius red staining; myocardial apoptosis was observed by TUNEL; ELISA method was used to detect the concentration of myostatin (MSTN) in plasma; Real-time PCR was used to measure the expression of miR-133, atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), MSTN, collagen I and III, Bcl2-associated X (Bax) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) in serum and myocardium. Results: In AAC group, the cardiac pathological remodeling was occurred, the cardiac function was decreased, the cross-sectional area of cardiomyocytes, fibrosis and apoptosis were increased, the expression of myocardial miR-133 was decreased in myocardium but increased in plasma. After 4 weeks of treadmill exercise, cardiac pathological remodeling was improved, cardiac function was recovered, the cross-sectional area of cardiomyocytes was decreased, fibrosis and apoptosis was decreased, the expression of miR-133 was increased in myocardium and decreased in plasma. After administration of agomir-133, the effect of exercise on cardiac pathological remodeling was disappeared, cardiac function was decreased, myocardial fibrosis and apoptosis was increased, and the muscle atrophy was occurred in rats. Conclusions: Treadmill exercise can significantly improve myocardial hypertrophy and fibrosis, inhibit cardiomyocyte apoptosis, increase the expression of myocardial miR-133 and reduce the level of miR-133 in circulation. Exogenous administration of agomir-133 counteracted the improvement of cardiac pathological remodeling and anti apoptotic effect of exercise, which may be related to peripheral mechanisms.

Keywords: treadmill exercise; cardiac pathological remodeling; abdominal aortic coarctation; miR-133