

8周负重爬梯抗阻训练对小鼠右心室心肌特定 miRNAs 的影响

宋彦霖¹, 张海鹏¹, 徐琳², 白荣雁¹, 徐盛嘉³, 马继政³

(1.南京体育学院 运动健康学院, 江苏 南京 210014; 2.江苏司法警官高等职业学校, 江苏 镇江 212000; 3.陆军工程大学 军事运动科学研究中心, 江苏 南京 211101)

摘要: **目的** 在剧烈运动期间, 右心室会承受更多的后负荷和室壁应力, 本研究评定 8 周抗阻训练对小鼠右心室心肌特定 miRNAs 的表达产生的影响, 是否参与调控右心室心肌肥大。 **方法** 12 只 C57BL/6J 雄性小鼠, 依据体重随机分为对照组(CON 组)和抗阻训练组(LRT 组), 每组 6 只。两组在预适应、抓力测试和最大自愿承载力测试后, LRT 组进行 8 周的尾部负重爬梯训练, CON 组正常饲养不进行爬梯训练。记录两组小鼠 1 到 9 周的体重、第 9 周的体脂率以及第 1、5、9 周的抓力和最大自愿承载力测试成绩, 在所有测试结束 48h 后, 取小鼠右心室心肌, 利用实时荧光定量 PCR 检测心肌组织特异的 miRNAs 及其他 miRNAs 的表达变化情况。使用免疫印迹检测 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白表达量变化情况。 **结果** 训练 8 周后, LRT 组小鼠心脏湿重显著升高($p<0.01$); 抓力和最大自愿承载力测试成绩显著上升 ($p<0.05$; $p<0.01$); 与 CON 组相比, LRT 组右心室 miR-208a、miR-21、miR-222、miR-486 表达显著上升($p<0.01$; $p<0.01$; $p<0.05$; $p<0.001$), 分别升高了 0.9 倍、0.8 倍、0.5 倍和 0.7 倍。其中, miR-208a 和 miR-222 与心脏湿重呈正相关($r=0.8391$, $p<0.05$; $r=0.8147$, $p<0.05$)。miR-208b、miR-499、miR-1、miR-17-3p、miR-133a 和 miR-133b 在抗阻训练后的右心室心肌中没有显著变化($p>0.05$)。抗阻训练不影响这些 miRNAs 的表达。LRT 组小鼠右心室心肌中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白表达量显著升高 ($p<0.01$; $p<0.05$; $p<0.05$)。 **结论** 8 周尾部负重抗阻训练能够诱导小鼠心脏右心室肥大且激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路; miR-208a 和 miR-222 可能参与调控抗阻运动引起的心脏右心室肥大。

关键词: miRNAs; 右心室心肌; 抗阻训练; 小鼠实验

中图分类号: G804.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-983X(2023)02-0106-06

Effects of 8-week Loading Ladder Resistance Training on Specific miRNAs in Right Ventricular Myocardium of Mice

SONG Yanlin¹, ZHANG Haipeng¹, XU Lin², BAI Rongyan¹, XU Shengjia³, MA Jizheng³

(1.School of Exercise Health, Nanjing Sport Institute, Nanjing Jiangsu, 210014; 2.Jiangsu Provincial Judicial Police Officer Higher Vocational and Technical School, Zhenjiang Jiangsu, 212000; 3.The Research Center of Military Exercise Science, The Army Engineering University of PLA, Nanjing Jiangsu, 211101)

Abstract: **Objective** During strenuous exercise, the right ventricle will bear more afterload and wall stress. It evaluated the effect of 8 weeks of resistance training on the expression of specific miRNAs in the right ventricular myocardium of mice, and whether it was involved in the regulation of right ventricular myocardial hypertrophy. **Methods** Twelve male C57BL/6J mice were randomly divided into control group (CON group) and resistance training group (LRT group) according to body weight, with 6 mice in each group. After pre-acclimation, grip test and maximum voluntary carrying capacity test, LRT group was trained with tail load climbing for 8 weeks, while CON group was fed normally without ladder climbing exercise. The body weight of mice from 1 to 9 weeks, the body fat percentage of mice at 9 weeks, and the grip and maximum voluntary carrying capacity of mice at 1, 5 and 9 weeks were recorded. After 48 hours of all tests, the right ventricular myocardium of mice was taken, and the expression changes of myocardial tissue specific miRNAs and other miRNAs were detected by real-time PCR. Western blotting was used to detect the expression of PI3K, Akt and mTOR proteins. **Results** After 8 weeks of training, the wet heart weight of mice in LRT group was significantly increased

收稿日期: 2022-11-23

基金项目: 2021 年基础加强计划技术领域基金项目(2021-JCJQ-JJ-1021); 2021 年江苏省自然科学基金(Bk20211228); 2021 年江苏省普通高校学术学位研究生科技创新计划项目(KYCX20_1983); 2021 年陆军工程大学基础前沿科技创新基础研究类项目。

第一作者简介: 宋彦霖(1998~), 男, 山东烟台人, 在读硕士, 研究方向: 运动生物化学。

通讯作者简介: 马继政(1971~), 男, 江苏新沂人, 博士, 教授, 研究方向: 军事运动训练, E-mail: mjz_mjj@sina.com。

($p<0.01$). The test scores of grip and maximum voluntary carrying capacity were significantly increased ($p<0.05$; $p<0.01$). Compared with the CON group, the expressions of miR-208a, miR-21, miR-222 and miR-486 in the right ventricle of the LRT group were significantly increased ($p<0.01$; $p<0.01$; $p<0.05$; $p<0.001$), increased 0.9 times, 0.8 times, 0.5 times and 0.7 times, respectively, miR-208a and miR-222 were positively correlated with heart wet weight ($r=0.8391$, $p<0.05$; $r=0.8147$, $p<0.05$), miR-208b, miR-499, miR-1, miR-17-3p, miR-133a and miR-133b had no significant changes in right ventricular myocardium after resistance training ($p>0.05$). Resistance training did not affect the expression of these miRNAs. The protein expressions of PI3K, Akt and mTOR in right ventricular myocardium of mice in LRT group were significantly increased ($p<0.01$; $p<0.05$; $p<0.05$). **Conclusion** 8-week tail weight-bearing resistance training can induce right ventricular hypertrophy and activate PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in mice. miR-208a and miR-222 may be involved in the regulation of right ventricular hypertrophy induced by resistance exercise.

Keywords: miRNAs; right ventricular myocyte; resistance training; mice experiment

随着“运动是良医”理念的推广,人们开始热衷于通过体育锻炼来改善生活质量和预防慢性病。目前,有氧训练诱导的特殊的心脏保护表型已被用来预防和治疗心血管疾病。与有氧训练相比,抗阻训练诱导的心脏适应多年来一直被忽视,但许多研究表明,抗阻训练也可以引起心脏的生理性肥大,即为“运动员心脏”^[1-2]。与有氧训练引起的“运动员心脏”不同,抗阻训练引起的心脏肥大是向心性肥大。“运动员心脏”对运动的反应动员快,可以最充分地动用心脏的机能储备,使心肌收缩力增加,心输出量大大提高^[3]。因此,了解运动诱导的心脏适应有重要的生理意义。

微小 RNA (microRNAs, miRNAs) 是一类小分子非编码 RNA, 近年来在运动引起的适应性变化中因其能够成为潜在的生物标志物而被研究^[4]。主要通过与靶信使 RNA (message RNA, mRNA) 的 3'-非编码区 (3'-UTR) 的特异性序列碱基互补配对结合, 产生转录后抑制, 从而调控基因的表达^[5]。miRNAs 参与正常的心脏生长过程, 并且参与调控心血管细胞凋亡、自噬、增殖和分化等生理过程^[5-6]。目前, 大部分对于运动诱导的心脏适应研究集中在左心室。为了满足运动的需要, 左心室和右心室的每搏输出量均会增加, 在有氧运动为主的运动员中发现了运动引起的左心室重构, 同时也发现右心室也存在运动诱导的重构^[7]。有氧运动诱导的心脏肥大主要涉及到磷酸酰肌醇-3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路的激活, PI3K/Akt/mTOR 信号通路是生理性心肌细胞肥大的经典通路, 研究表明, PI3K/Akt/mTOR 信号通路可以通过调节细胞体积对细胞生长起调节作用^[8-9], 进而引起心脏的肥大。与有氧运动相似, 抗阻运动也会引起心脏的适应性变化, 因此, 本研究选择了肌肉组织特异的 MyomiRs 家族 (miR-208a、miR-208b 和 miR-499) 以及其他在心肌中发现有重要作用的 miR-1、miR-21、miR-222、miR-17-3p、miR-486a、miR-133a 以及 miR-133b^[5-6, 10-11], PI3K/Akt/mTOR 信号通路中的 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白, 观察长期抗阻训练右心室心肌中这些 miRNAs 和蛋白的表达变化, 为合理的抗阻训练提供依据。

1 研究材料与方法

1.1 动物实验

取 12 只健康的 8 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 (SPF 级), 小鼠置于光照/黑暗

周期 12 小时, 温度为 (22±2℃), 湿度为 45%~50% 的屏障环境中, 不限制饮食。实验程序经由南京大学动物保护和使用委员会批准 (编号: IACUC-2006025-1)。小鼠按照体重随机划分为对照组 (CON 组, $n=6$) 和长期力量训练组 (LRT 组, $n=6$)。两组在第 0 周进行爬梯的预适应、抓力测试和最大自愿承载力 (Maximal Voluntary Carrying Capacity, MVCC) 测试后 LRT 组进行 8 周的负重爬梯抗阻训练, CON 组正常饲养不进行爬梯训练。动物于下午 1 点至 5 点在明亮室内进行负重爬梯训练或运动能力测试。

1.2 测试方法

1.2.1 MVCC 测试

LRT 组小鼠使用高度为 33cm 的爬梯进行抗阻训练, 抗阻训练方式为尾部负重爬梯^[12]。适应阶段 CON 组与 LRT 组小鼠均在尾巴上固定空气球, 使其连续 3 次自主完成攀爬。剔除无法适应 (不愿进行爬梯运动) 的小鼠, 并于最后一次适应 24h 后进行 MVCC 测试, 测试方案为: 小鼠均从爬梯底部统一位置出发, 攀爬到顶部休息平台, 测试成功。在每次小鼠到达休息平台后均会在单独的鼠笼里休息 5min, 直至下次实验开始。小鼠的负重重量依次为 25%、50%、75%、90%、100% 的小鼠体重, 在超过小鼠体重后, 每次攀爬成功后增加 3g 的负荷, 直至小鼠无法完成攀爬, 则最后 1 次完成攀爬的负荷为小鼠的 MVCC。

1.2.2 抓力测试

将小鼠放置于大小鼠抓力测定仪 (型号: YLS-13A, 济南益延) 上, 抓住鼠尾向后轻拉, 待小鼠抓牢抓力板后匀力向后拉, 当小鼠松开抓力板时可以得到小鼠的最大抓力, 重复 3 次, 取 3 次最大抓力的均值。

1.2.3 体脂率测试

在完成 8 周抗阻训练方案后, 使用双能 X 线骨密度分析仪 [QDR™ Series X-Ray Bone Densitometer (Hologic, 美国)] 对两组小鼠进行体成分测试。将小鼠麻醉固定在检测台上, 通过双能 X 线骨密度分析仪测得小鼠体脂率。

1.2.4 抗阻训练方案和表现评估

本实验中所使用的抗阻训练方案参照 Minuzzi 等^[12]采用的 70% MVCC 尾部负重爬梯方案并稍加改动。在实行方案期间每周的第 6 天记录小鼠的体重。在适应周, 第 5 周和第 9 周抗阻训练结束后 48h 对 2 组小鼠进行抓力测试; 从适应周至第 9 周每周对 LRT 组小鼠进行 MVCC 能力测试, 在 1~8 周每

周进行训练前根据每周测得的 MVCC 调整负重量,CON 组小鼠在适应周、第 5 周和第 9 周对 CON 组小鼠进行 MVCC 测试。CON 组和 LRT 组均在适应周、第 5 周和第 9 周进行抓力测试。在完成 8 周抗阻训练方案后,对两组小鼠进行体成分检测,观察小鼠的运动表现并进行评估和记录。

1.3 心肌样本提取

于第 8 周完成所有测试 48h 后,通过三氟溴氯乙烷吸入的方式麻醉两组所有小鼠并处死。在无菌无 RNA 酶的条件下,将小鼠心脏完整取下,称取小鼠心脏湿重,在称重结束后将小鼠心脏右心室取下并置于液氮中速冻,存于-80℃中后续进行处理检测。

1.4 H&E 染色

将石蜡切片浸入二甲苯(I)和(II)(10023418,化学试剂国药控股有限公司,北京,中国)20min 用于脱蜡。然后,将样品浸泡在梯度酒精溶液(100092683,国药集团化学试剂有限公司,北京,中国)中 5min,并用自来水冲洗。用苏木精染色液(G1003,塞维尔,武汉,中国)对组织切片染色 5min,然后用流水彻底冲洗,浸入分化液中 30s。切片脱水透明后,用中性树脂胶(10004160,国药集团化学试剂有限公司,北京,中国)封片。随机选择 CON 组和 LRT 组小鼠的心肌组织切片,于 40 倍光学显微镜下,选择细胞膜结构完整的心肌细胞进行观察。使用 Image J 作为图像分析软件。每个心脏组织进行 5 个视野的分析。

1.5 RNA 提取

使用 Trizol(15596-018,Ambion,美国)提取小鼠右心室心肌组织中的总 RNA。随后进行定量聚合酶链式反应(RT-qPCR),所有的样品均为同一批次处理。使用 miRNA 逆转录试剂盒(MR101-02,诺维赞,中国)进行 RT-qPCR,得到相应的 cDNA 产物。使用 qRT-PCR 反应试剂盒(MR101-03,诺维赞,中国)和 Roche LightCycler®96(Roche,瑞士)进行 qPCR 检验。qPCR 条件为 95℃预变性 5min,95℃ 10s、60℃ 30s 共 40 个循环,最后 95℃ 15s、60℃ 60s、95℃ 15s 获得溶解曲线。本实验所用 qRT-PCR 引物的核苷酸序列如表 1 所示。将右心室心肌中 miRNAs 的相对 snRNAU6 表达归一化表达,并使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 Ct 值。

表 1 qRT-PCR 引物的核苷酸序列

基因	引物序列
snRNAU6	F:CAAATTCGTGAAGCGTTCCA
miR-1a-3p	F:GCGCGTGAATGTAAAGAAGT
miR-133a-3p	F:GCGTTTGCTCCCTTCAAC
miR-133b-3p	F:GCGTTTGCTCCCTTCAAC
miR-208a-3p	F:CGCGATAAGACGAGCAAAAA
miR-208b-3p	F:GCGCGATAAGACGAACAAAAG
miR-499-5p	F:GCGCGTTAAGACTTGCAGTG
miR-486a-5p	F:GCGCTCCTGTACTGAGCTGC
miR-21a-5p	F:GCGCGTAGCTTATCAGACTGA
miR-155-5p	F:GCGCGTTAATGCTAATTGTGAT
miR-17-3p	F:GCGACTGCAGTGAGGGCAC
miR-222-3p	F:CGCGAGCTCATCTGGCTACT R:AGTGCAGGGTCCGAGGTATT

1.6 蛋白质免疫印迹

使用含有 1%蛋白酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解缓冲液(G2002-100ML,塞维尔,中国)提取小鼠右心室组织中的总蛋白。提取总蛋白后使用 BCA 蛋白定量检测试剂盒(G2026-1000T,塞维尔,中国)测试蛋白浓度,浓度测试后加入 1/4 总蛋白体积的 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(20315ES05,翊圣,中国),99℃金属浴 5min。使用 4%-20%的商用化预制胶进行电泳,使用 TBST 配置的 5%BSA 溶液室温封闭 1h,并在 4℃冰箱中一抗孵育过夜。使用以下抗体进行一抗孵育:PI3K(#4257S,Cell Signaling,1:1000),Akt(#9272S,Cell Signaling,1:1000),mTOR(#2983T,Cell Signaling,1:1000)。用 TBST 缓冲液洗涤膜,每次 10min,洗涤 4 次。使用 anti-rabbit IgG(1:2000)室温孵育二抗 1h。于暗室中使用 ECL 化学发光检测试剂盒(36222ES76,翊圣,中国)配备发光试剂反应液,压片、感光、显影、定影。

曝光底片用 Tanon 全自动化学发光图像分析系统(型号: Tanon-5200,中国)拍照,用 Image J 图像分析系统分析。将每个条带与相应样本的 GAPDH 条带光密度值进行比较,计算出目的条带的相对含量值。

1.7 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0 对所有数据进行统计分析,数据的正态分布检验使用 Kolmogorov-Smirnov test 进行检验。计量资料使用均值±标准差表示。若符合正态分布,使用独立样本 t 检验来分析 CON 组和 LRT 组心脏湿重、体脂率、心肌细胞平均表面积、qRT-PCR 和蛋白免疫印迹数据;对体重变化、MVCC 测试成绩和抓力测试成绩使用多因素方差分析,若不符合正态分布则使用非参检验, $p<0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 8 周抗阻训练小鼠体重、体脂率及心脏湿重变化

在 8 周抗阻训练期间,如图 1a 和表 2 所示,LRT 组小鼠体重在第 3 周至第 9 周均低于 CON 组,但两组间无统计学意义($p>0.05$)。在 8 周爬梯抗阻训练结束后,LRT 组小鼠心脏湿重显著高于 CON 组($p<0.01$,图 1b)、体脂率降低了 57.6%(图 1c),如表 3 所示。

表 2 8 周抗阻训练中小鼠每周体重变化($\bar{x}\pm s$,n=6)

周数	CON(g)	LRT(g)
0	22.63 ± 1.34	23.7 ± 1.06
1	24.9 ± 1.4	25.25 ± 1.01
2	24.05 ± 1.69	24.65 ± 1.15
3	25.17 ± 1.48	24.62 ± 1.12
4	26.18 ± 1.56	25.63 ± 1.08
5	26.78 ± 1.37	25.93 ± 1.15
6	27.13 ± 1.76	26.22 ± 1.45
7	28.07 ± 1.43	26.95 ± 1.42
8	28.87 ± 1.24	26.70 ± 1.38
9	29.15 ± 1.47	28.25 ± 1.44

表 3 8 周抗阻训练后小鼠心脏湿重和体脂率变化($\bar{x} \pm s, n=6$)

	心脏湿重(g)	体脂率(%)
CON	0.177 68 $\pm$ 0.01	16.03 $\pm$ 7.36
LRT	0.191 16 $\pm$ 0.02**	6.80 $\pm$ 3.66*

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; 下表、图同

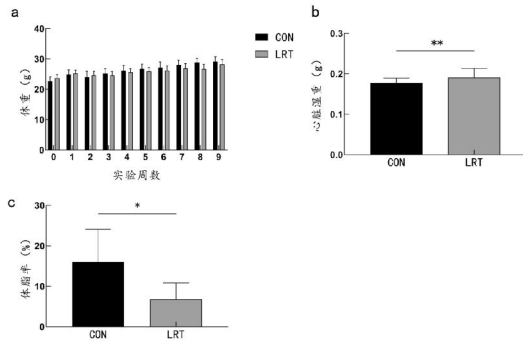


图 1 8 周爬梯抗阻训练后 CON 组和 LRT 组小鼠体重、体脂率及心脏湿重变化

2.2 8 周抗阻训练小鼠抓力测试、MVCC 测试结果

2.2.1 8 周抗阻训练小鼠抓力测试结果

如图 2a 所示, CON 组小鼠抓力在第 9 周与第 1 周相比, 有显著下降 ($p < 0.05$); 而 LRT 组小鼠随着抗阻训练方案的实施, 抓力在不断提高, 与第 1 周抓力比较, 第 9 周抓力提升了 45% ($p < 0.05$)。CON 组与 LRT 组相比, LRT 组小鼠在第 9 周的抓力 (89 ± 18.4)g 显著高于 CON 组小鼠在第 9 周的抓力 (54 ± 7.1 g, $p < 0.05$)。

2.2.2 8 周抗阻训练小鼠 MVCC 率测试结果

第 1 周时 CON 组和 LRT 组的 MVCC 差异无统计学意义 ($p > 0.05$); 在进行 5 周的爬梯抗阻训练后, LRT 组 MVCC (74.3 ± 11.4)g 显著高于 CON 组 (42.3 ± 8.4 g, $p < 0.05$); 在第 9 周的 MVCC 测试中, LRT 组 (69.17 ± 10.95)g 仍显著高于 CON 组 (43 ± 8.42 g, $p < 0.05$)。LRT 组在第 5 周和第 9 周与第 1 周相比增加了 45.8% ($p < 0.001$) 和 35.6% ($p < 0.01$)。见图 2b。

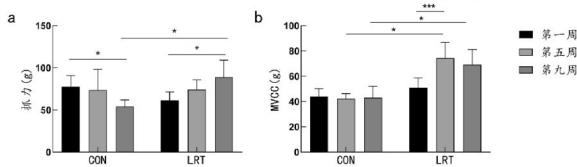


图 2 CON 组和 LRT 组小鼠第 1、5 和 9 周的 MVCC 测试和抓力测试成绩

2.3 H&E 染色结果

图 3 中, 图 3a 和图 3b 分别为 40 倍光学显微镜下显示的具有典型代表性的 CON 组和 LRT 组小鼠的右心室组织切片, 图中心肌细胞着色正常, 结构完整。如图 3c 所示, LRT 组小鼠的右心室壁心肌细胞平均面积 (665 ± 57) μm^2 显著高于 CON 组 (510 ± 15 μm^2 , $p < 0.05$), 表明小鼠右心室出现了心肌的肥厚。

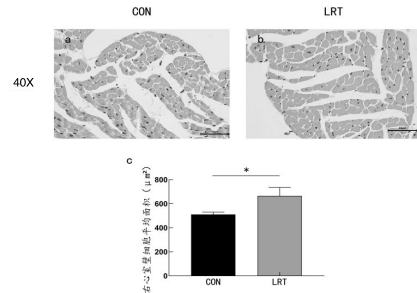


图 3 H&E 染色结果, 两组小鼠抗阻训练后右心室壁细胞平均面积

2.4 8 周抗阻训练后小鼠右心室心肌中蛋白表达量变化

如图 4 所示, 与 CON 组相比, LRT 组在进行 8 周尾部负重抗阻训练后右心室心肌中的 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白表达量有了显著的提升 ($p < 0.01$; $p < 0.05$; $p < 0.05$), LRT 组与 CON 组相比 PI3K、Akt 和 mTOR 的蛋白表达量分别增加了 31%、25% 和 35%。

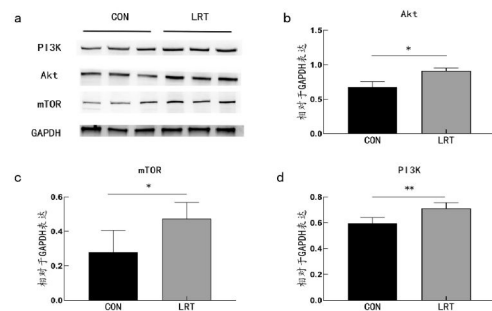


图 4 8 周尾部负重抗阻训练后小鼠右心室心肌 PI3K、Akt、mTOR 蛋白水平和 PI3K、Akt、mTOR 在两组中蛋白表达变化

2.5 8 周抗阻训练小鼠右心室组织中 miRNAs 的变化

2.5.1 肌组织特异 miRNAs 的变化

如图 5a 所示, 与 CON 组比较, LRT 组中右心室心肌 miR-208a 水平显著上升了 0.9 倍 ($p < 0.01$); MyomiRs 家族的另外两个 miRNAs, miR-208b 和 miR-499 在 CON 组和 LRT 组右心室心肌组织中表达的差异无统计学意义 ($p > 0.05$, 见图 5b 和图 5c)。

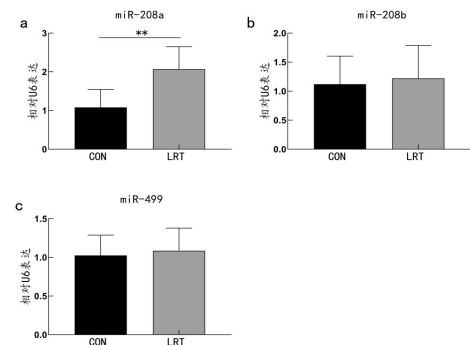


图 5 心肌组织特异性 miRNAs 在两组小鼠右心室心肌中的表达变化

2.5.2 右心室心肌组织中其他心肌相关的 miRNAs 的变化

如图 6 所示,与 CON 组相比,LRT 组右心室心肌 miR-21、miR-222 和 miR-486 表达均显著升高($p<0.01$; $p<0.05$; $p<0.001$),分别升高了 0.8 倍、0.5 倍和 0.7 倍。而 miR-1、miR-17-3p、miR-133a 和 miR-133b 在两组右心室心肌中表达差异均无统计学意义($p>0.05$)。

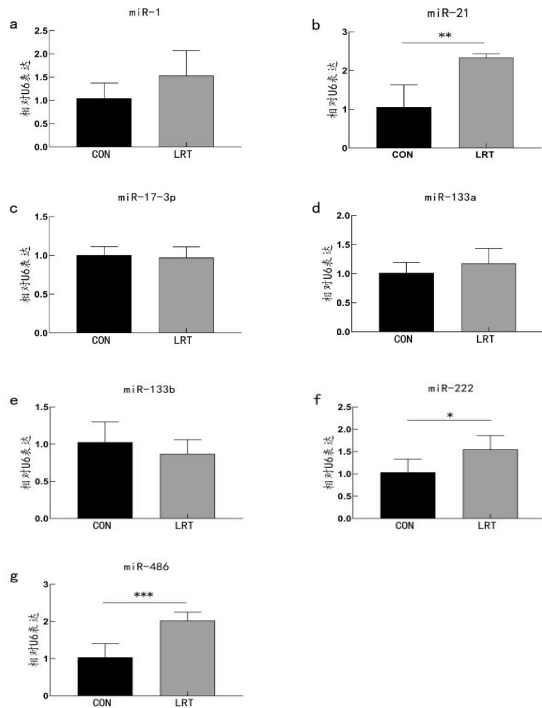


图 6 其他 miRNAs 在两组小鼠右心室心肌中的表达变化

2.6 心脏湿重与抗阻训练后右心室心肌中差异表达的 miRNAs 相关性分析

如图 7a 和图 7b 所示,抗阻训练后右心室心肌差异表达的 miR-208a 和 miR-222 与心脏湿重呈显著正相关($r=0.8391$, $p<0.05$; $r=0.8147$, $p<0.05$)。另外两个在抗阻训练后右心室心肌中差异表达的 miR-486 和 miR-21 和心脏湿重之间无相关性($p>0.05$)。

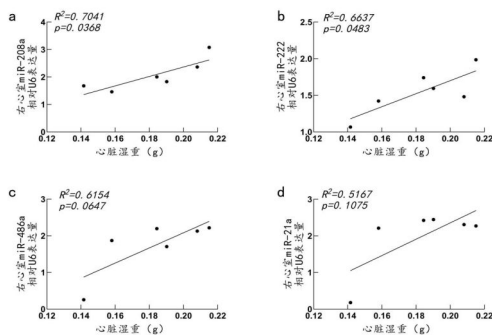


图 7 心脏湿重与抗阻训练后右心室心肌中差异表达的 miRNAs 相关性分析

3 讨论

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是细胞生长、代谢、存活和分化

等生命活动的主要调节者,与运动性心脏肥大密切相关^[13-15]。一些因子在运动产生刺激时能够与细胞膜上的受体结合激活 PI3K 启动这一信号通路。PI3K 能够充分激活 Akt,活化的 Akt 通过促进 mTOR 的表达,能够发挥调节细胞的生长、代谢等生理作用。研究表明,PI3K、Akt 能够引起心脏的生理性肥大而不是病理性的心脏肥大^[16-17]。mTOR 会被抗阻训练激活进而引起肌肉的肥大^[18],而心脏组织中 mTOR 表达的增加同样会引起心肌细胞、组织的肥大。PI3K、Akt 和 mTOR 在运动性心肌肥大中表达均会升高^[15]。在本研究中,小鼠进行 8 周尾部负重爬梯训练后,右心室心肌中的 PI3K/Akt/mTOR 通路被激活,能够进一步表明该训练方案诱导了小鼠心脏右心室的肥大。

在剧烈运动期间,右心室会承受更多的后负荷和室壁应力,在长期运动过程中可能会更加明显^[19],且 miRNAs 能够参与运动引起的心脏适应性的变化。通过进行游泳训练的小鼠研究发现,miR-222 是运动诱导的心脏生长所必需的,且 miR-222 可作为运动后心肌细胞增殖的潜在标志物^[4]。在本研究中,8 周负重爬梯抗阻训练后小鼠右心室心肌 miR-222 的表达水平升高,且 miR-222 的表达水平与心脏湿重呈正相关,在进行抗阻训练后小鼠的心脏湿重有所增加,可以进一步证明 miR-222 可以受到运动刺激表达上升,进而诱导心脏生长。

MyomiRs 家族即肌球蛋白基因内含子编码的 miRNA 家族,包括 miR-208a、miR-208b 和 miR-499^[20]。MyomiRs 家族可调节多个 mRNA 靶标,这些靶标能够反向调节心脏肥大和代谢途径^[21]。研究表明,游泳训练可以改善大鼠的心脏舒张功能,诱导心脏肥大并降低 miR-208a 和 miR-208b 的表达^[21]。但在本研究中,8 周尾部负重爬梯抗阻训练后,小鼠右心室心肌的 miR-208a 表达显著上升,但 miR-208a 在临床上已被证实是心脏缺陷的一种非侵入性诊断生物标志物^[22],在本研究中 miR-208a 的表达上升可能是训练方式不同引起的差异表达,也可能是抗阻训练量较大且重复次数较多引起的心肌的微损伤^[23]。当机体受到较强的运动刺激时,心肌细胞耐受缺氧损伤的能力强受损,细胞多以凋亡形式出现较少发生坏死,但此时心肌组织结构完整、炎症反应较轻,凋亡发生比率较高,有利于受损细胞的清除以及心肌结构与功能的恢复^[23]。Tony 等人证实,miR-208a 可以通过下调 GATA4 以增加细胞凋亡^[24]。因此,本实验中出现的右心室心肌中 miR-208a 表达的上调可能是实验进行的抗阻训练强度激活了 miR-208a 的表达以清除受损的细胞达到保护心脏的目的。Callis 等人的研究表明,心脏中 miR-208a 足够表达也可以诱发心脏肥厚^[25],引起心脏肥大增重,这与实验中右心室心肌 miR-208a 表达量升高与心脏肥厚表型相关结果一致,对于不同类型运动引起的心肌中的 miR-208a 的相应表达变化出现不一致结果的原因还应有进一步的探索。

抗阻运动期间,每当心脏处于舒张期充盈状态,心室心肌细胞每次心跳都会被拉伸。miR-486 是一种拉伸反应性 miRNA,可以增加机体内心室的生长,引导心肌细胞增殖^[11]。miR-486 在体外和体内通过拉伸上调,可以在左心发育不良综合征患者的右心室中表达增加^[11]。在本研究中可以观察到在抗阻训练后小鼠右心室心肌 miR-486 表达上调,但在 miR-486 与心脏湿重的相关性分析中并没有发现两者之间存在相关关系,说明抗阻运动能够使小鼠右心室心肌中的 miR-486 表达上升,并不是通过引导心肌细胞增殖的方式来诱导心肌

的肥厚。此外,研究发现游泳运动可以增加 miR-21 的表达,miR-21 可以靶向张力蛋白同源物 (phosphatase and tensin homolog, PTEN), 进而可以激活心肌细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,引起心脏肥大^[26]。本研究中,也发现了小鼠右心室心肌 PI3K/Akt/mTOR 信号通路被激活,可能说明抗阻训练引起的心脏肥厚也有可能是通过抗阻训练增加 miR-21 的表达进而促进心脏的肥大。

8 周的尾部负重爬梯抗阻训练能够引起小鼠右心室心肌中 miR-208a、miR-21、miR-222、miR-486 表达上升,其中 miR-21、miR-222、miR-486 的表达上升证实了抗阻训练诱导的心脏肥厚对于机体的有益效应,miR-208a 表达的上升对于心脏表型的变化是否有益还需要进一步证实,可在今后探究 miR-208a 是否在抗阻训练过程中会出现通过诱导心脏细胞凋亡以清除受损细胞的心脏保护机制以及在不同训练模式下 miR-208a 表达变化出现不同的原因。miR-208a 和 miR-222 在心脏中的表达变化均与心脏湿重的变化呈现正相关,也说明 miR-208a 和 miR-222 可能参与调控抗阻训练诱导的心脏右心室肥大。

在运动过程中右心室承受的负荷和室壁压力大于左心室^[19]。但是,如果运动强度过大或者运动时间过长,则可能会导致右心室心肌的微损伤^[23],最终引起心脏的病理性病变。认识和了解抗阻训练诱导的心脏适应,可以实时监控运动强度和运动时长,以防止出现运动引起的心肌损伤以及病变。

4 结论

8 周尾部负重抗阻训练能够诱导小鼠心脏右心室肥大且激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路;miR-208a 和 miR-222 可能参与调控抗阻运动引起的心脏右心室肥大。

参考文献:

- [1] WEINER R B, WWANG F, ISAACS S K, et al. Blood pressure and left ventricular hypertrophy during American-style football participation[J]. *Circulation*, 2013, 128(5):524-531.
- [2] PLUIM B M, ZWINDERMAN A H, VAN DER LAARSE A, et al. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function[J]. *Circulation*, 2000, 101(3):336-344.
- [3] 曾庆欣, 余菁, 王志丽. 论运动对心脏的影响[J]. *河北建筑科技学院学报(社科版)*, 2003(04):55-56.
- [4] LIU X, XIAO J, ZHU H, et al. miR-222 is necessary for exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling[J]. *Cell Metab*, 2015, 21(4):584-595.
- [5] SKOMMER J, RANA I, MARQUES F Z, et al. Small molecules, big effects: the role of microRNAs in regulation of cardiomyocyte death[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(7):e1325.DDI: 10.1038/cddis.2014.287.
- [6] 徐桂娥, 王丽君, 肖俊杰. 运动对心脏的保护作用及其机制的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(1):1-5.
- [7] SCHARHAG J, SCHNEIDER G, URHAUSEN A, et al. Athlete's heart: right and left ventricular mass and function in male endurance athletes and untrained individuals determined by magnetic resonance imaging[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 40(10):1856-1863.
- [8] SHIOI T, MCMULLEN J R, KANG P M, et al. Akt/protein kinase B promotes organ growth in transgenic mice[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(8):2799-8209.
- [9] WEINKOVE D, NEUFELD T P, TWARDZIK T, et al. Regulation of imaginal disc cell size, cell number and organ size by Drosophila class I(A) phosphoinositide 3-kinase and its adaptor[J]. *Curr Biol*, 1999, 9(18):1019-1029.
- [10] XIAO J, CHEN Y H. MicroRNAs: Novel Regulators of the Heart[J]. *J Thorac Dis*, 2010, 2(1):43-47.
- [11] LANGE S, BANERJEE I, CARRION K, et al. miR-486 is modulated by stretch and increases ventricular growth[J]. *JCI Insight*, 2019, 4(19).DOI:10.1172/jci.insight.125507.
- [12] MINUZZI L G, KUGA G K, BREDA L, et al. Short-term Resistance Training Increases APPL1 Content in the Liver and the Insulin Sensitivity of Mice Fed a Long-term High-fat Diet[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2020, 128(1):30-37.
- [13] AOYAGI T, MATSUI T. Phosphoinositide-3 kinase signaling in cardiac hypertrophy and heart failure[J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(18):1818-1824.
- [14] 李奕, 曾凡星, 吴迎, 等. 不同强度运动诱导 Akt/mTOR 信号对心肌肥大的作用研究[J]. *北京体育大学学报*, 2013, 36(6):49-54.
- [15] 温宝驹. PI3K/Akt/mTOR 信号在运动性心肌肥大中的作用研究[D]. 扬州大学, 2013.
- [16] MCMULLEN J R, SHIOI T, ZHANG L, et al. Phosphoinositide 3-kinase (p110alpha) plays a critical role for the induction of physiological, but not pathological, cardiac hypertrophy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(21):12355-12360.
- [17] DEBOSCH B, TRESKOV I, LUPU T S, et al. Akt1 is required for physiological cardiac growth[J]. *Circulation*, 2006, 113(17):2097-2104.
- [18] OGASAWARA R, JENSEN T E, GOODMAN C A, et al. Resistance Exercise-Induced Hypertrophy: A Potential Role for Rapamycin-Insensitive mTOR[J]. *Exerc Sport Sci Rev*, 2019, 47(3):188-194.
- [19] SANZ-DE LA GARZA M, CARRO A, CASELLI S. How to interpret right ventricular remodeling in athletes[J]. *Clin Cardiol*, 2020, 43(8):843-851.
- [20] VAN ROOIJ E, QUIAT D, JOHNSON B A, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance[J]. *Dev Cell*, 2009, 17(5):662-673.
- [21] SOCI U P R, FERNANDES T, BARAUNA V G, et al. Epigenetic control of exercise training-induced cardiac hypertrophy by miR-208[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(22):2005-2015.
- [22] JI X, TAKAHASHI R, HIURA Y, et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury[J]. *Clin Chem*, 2009, 55(11):1944-1949.
- [23] 常芸, 袁箭峰, 祁永梅, 等. 运动心脏重塑与微损伤发生中的细胞凋亡现象[J]. *中国运动医学杂志*, 2003(04):344-349.
- [24] TONY H, YU K, QIUTANG Z. MicroRNA-208a Silencing Attenuates Doxorubicin Induced Myocyte Apoptosis and Cardiac Dysfunction[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015.DOI:https://doi.org/10.1155/2015/597032.
- [25] CALLIS T E, PANDYA K, SEOK H Y, et al. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(9):2772-2786.
- [26] MA Z, QI J, MENG S, et al. Swimming exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves microRNAs and synergistic regulation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2013, 113(10):2473-2486.