



اثر تمرین هوازی بر مسیر سیگنالینگ $\text{MMP-2} / \text{miR-21}$ فیروز قلبی در موش‌های نر سالمند

فاطمه قلمبر: دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
حسین عابد نطنزی: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول) abednazari@gmail.com
ماندانا غلامی: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
فرشاد غزالیان: گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

فیروز قلبی،
تمرین هوازی،
miR-21
MMP-2
کلاژن

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱

تاریخ چاپ: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰

زمینه و هدف: فیروبولاست‌های قلبی مسئول ایجاد فیروز قلبی و برقراری تعادل در ماتریکس خارج سلولی هستند و با تولید متالوپروتئین خارج سلولی در این فرآیند دخالت دارند. هدف این پژوهش مطالعه اثر هشت هفته تمرین هوازی بر مسیر پیام‌رسانی miR-21/MMP-2 فیروز قلبی در رت‌های سالمند بود.

روش کار: در این پژوهش آزمایشی ۱۸ سر موش صحرایی آزمایشگاهی نژاد ویستار با سن (۲۴ ماه) و میانگین وزن (۵۱۱/۱۱ گرم) به طور تصادفی به دو گروه کنترل ($n=9$) و تمرین هوازی ($n=9$) تقسیم شدند. پس از دو هفته سازگاری با محیط، موش‌ها با شیوه تمرین که پنج جلسه تمرین به مدت یک هفته، با شدت ۵ متر بر دقیقه و هر جلسه به مدت ۱۰ دقیقه، آشنا شدند. سپس گروه تمرین هوازی برنامه اصلی خود را روی نوارگردان با شیب ثابت صفر درجه و با سرعت ثابت ۱۲ متر بر دقیقه به مدت هشت هفته انجام دادند. زمان تمرین از ۱۰ دقیقه در هفته اول به ۵۲ دقیقه در هفته هشتم رسید. گروه کنترل در این مدت هیچ تمرینی انجام ندادند. متغیرهای تحقیق با روش RT-PCR سنجش شد. از آزمون تی مستقل برای سنجش و تحلیل داده‌ها استفاده شد و سطح معناداری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: داده‌ها نشان داد تمرین هوازی موجب افزایش معنادار بیان ژن miR-21 و کاهش معنادار بیان کلاژن بین سلولی و بیان ژن MMP-2 در گروه تمرین شد. به نظر می‌رسد تمرین هوازی با افزایش miR-21 از مسیر پیام‌رسان PTEN، موجب کاهش بیان MMP-2 و مقدار رسوب کلاژن در فضای بین سلولی بطن چپ موش‌های سالمند شده است.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد هشت هفته تمرین هوازی در موش‌های صحرایی سالمند موجب کاهش فیروز قلبی و هاپروتروپی در بطن چپ می‌شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به مقاله:

Ghalambor F, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazaliyan F. The Effect of Aerobic Exercise on $\text{MMP-2} / \text{miR-21}$ Signaling Pathway of Cardiac Fibrosis in Elderly Rats. Razi J Med Sci. 2025(31 May);32.33.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.

The Effect of Aerobic Exercise on MMP-2 / miR-21 Signaling Pathway of Cardiac Fibrosis in Elderly Rats

Fatemeh Ghalambor: PhD Student of Sport Physiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Hossein Abednatanzi: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (* Corresponding Author) abednazari@gmail.com

Mandana Gholami: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Farshad Ghazaliyan: Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aim: The concept of survival has changed since the twentieth century to guarantee quality of life in the twenty-first century(1). Aging is associated with a certain degree of interstitial fibrosis, which progresses to heart failure. Therefore, finding new and practical methods is an important and necessary help to reduce heart tissue fibrosis in the elderly(2). Providing mechanisms by which exercise can benefit the cardiovascular system may provide a picture of a healthy heart, and this process provides new ways to prevent and treat heart disease.

The most common heart disease associated with aging is diastolic dysfunction and is referred to as heart failure along with the maintenance of the injection fraction. Heart failure increases stiffness and myocardial fibrosis and is associated with poor endothelial function. Fibrosis is a complex reactive tissue that occurs due to excessive accumulation of compounds, especially collagen, and is one of the biological causes of changes in the heart. The findings show that fibrosis occurs in the hearts of older mice and humans(3). In mammals, the structure of the extracellular matrix (ECM) of the heart is 85% collagen and 11% collagen. The ability to make ECM compounds depends on its cell type. For example, fibroblasts and smooth muscle cells make type I and collagen, while myocytes and endothelial cells make type I collagen. Changes in ECM protein profiles can affect heart function and shape(4). MicroRNAs (miRNAs) are small, non-coding RNAs of 18 to 25 nucleotides that regulate gene expression at the post-transcriptional level in physiological and pathological conditions(5). MicroRNAs are partially and regionally complemented by target mRNA, thereby inhibiting its translation or degradation (14). miR-21 is overexpressed during fibrosis and can regulate the fibrogenic process in different organs and tissues from different pathways. MiR-21 has been shown to directly target phosphate and tensin homologue (PTEN) and It can regulate the fibrosis process from the phosphoinositide 3-kinase / AKT pathway by targeting PTEN(6). Matrix metalloproteins (MMPs) are zinc-dependent endonucleases (Zn) that are capable of degrading various extracellular matrix (ECM) compounds and are made and stored in the form of pre-enzymes. MMP-2- Collagenase A is a 72 kDa protein whose gene is located on chromosome 16 in humans and arm 12.2 q and in mice on chromosome 8. Kwak showed 12 weeks of training significantly reduced age-induced intercellular space collagen in mice(2). Eight weeks of regular swimming in male diabetic rats significantly reduced TGF- β and normalized cardiac MMP-2. miR-21 has multiple functions related to exercise and heart disease and Significantly, miR-21 is highly dependent on the target genes it regulates(7). In the study of SAP et al., Eight weeks of high-intensity and endurance training performed on a statistical population and the amount of miR-21 in the plasma of 10 pre-test athletes were measured by RT-QPC method. After eight weeks and one hour of rest after the test, a decrease in miR-21 was observed in the intense exercise group (17).

Methods: The present study is an experimental and basic study with a post-test design with a control group. All stages of the research were carried out in accordance with the ethical

Keywords

Cardiac fibrosis,
Aerobic exercise,
miR-21,
MMP-2,
Collagen

Received: 01/03/2025

Published: 31/05/2025

principles of working with laboratory animals approved by Shahid Beheshti University of Medical Sciences in accordance with the 2006 Helsinki Protocol.

In this experimental study, 18 Wistar rats with age (24 months) and mean weight (537 ± 5 g) were randomly divided into control ($n = 9$) and aerobic exercise ($n = 9$) groups. After getting acquainted with the environment and training method, the training group performed their program on a treadmill with a constant slope of zero degrees and a constant speed of 12 meters per minute for eight weeks and 5 days a week. Training time increased from 10 minutes in the first week to 52 minutes in the eighth week. The control group did not perform any exercises during this period. At the end of every session warm up were performed. Research variables were measured by RT-PCR. To make the cDNA pattern, miRNA-21 MMP-2 Takara Master Mix Kit was used and the instructions were followed. Independent t-test was used to measure and analyze the data and a significance level of $p < 0.05$ was considered (8, 9).

Results: The results of data analysis using independent t for ventricular collagen percentage showed that there was a significant difference between the control and exercise groups ($P = 0.001$, $t = 506.5$). data analysis using independent t for expression of miR-21 gene showed that there is a significant difference between the control and exercise groups ($P = 0.006$, $t = 131.3$) and data analysis using independent t for MMP-2 gene showed that there is a significant difference between the control and exercise groups ($P = 0.027$, $t = 441.2$).

Conclusion: Sub-maximal intensity aerobic exercise significantly increased miR-21 followed by downstream suppression of MMP-2 and decreased collagen deposition in the left ventricle of healthy elderly mice. Collagen is known as one of the markers of fibrosis and physical activity can reduce its deposition and formation (2). Suppress collagen production is a way to reduce the expression of the MMP-2 gene by the PTEN I. It should be noted that the signal pathways for fibrosis are interconnected, for example, the PI3K pathway positively regulates Smad3 transcription and increases collagen production (10). One way to reduce collagen production is to reduce the expression of the MMP-2 gene. Exercise with moderate intensity of FGF-2 expression and downstream uPA / tPA and MMP-2 expression in elderly rats significantly reduce and increase collagen expression significantly. It is important to note that a decrease in MMP-2 may also be due to an increase in TIMP-2 after physical activity. Physical activity increases TIMP-2 and its affinity for MMP-2 is dramatically high. These pathways affect the production of miR-21 and, in contrast to miR-21, regulate these pathways by targeting target proteins. In other words, miR-21 plays a key role in this network. Many of these proteins have an inhibitory role on metalloproteins: MMP-2 destroys the extracellular matrix and suppresses the PTEN pathway in cardiac fibroblasts (6). The results showed that aerobic exercise significantly increased miR-21 gene expression and significantly decreased intercellular collagen expression and MMP-2 gene expression. It seems that aerobic exercise with increased miR-21 decreased the expression of MMP-2 and the amount of collagen deposition in the intercellular space.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Ghalambor F, Abednatanzi H, Gholami M, Ghazaliyan F. The Effect of Aerobic Exercise on MMP-2 / miR-21 Signaling Pathway of Cardiac Fibrosis in Elderly Rats. Razi J Med Sci. 2025(27 Apr);32.13.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

***This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.**

مقدمه

مفهوم زنده ماندن از قرن بیستم به تضمین کیفیت زندگی در قرن بیست و یک تغییر یافته است. پیری مدت‌ها است فقط به عنوان یک پدیده زوال داخل سلولی مطالعه نمی‌شود و اساساً به علت بی‌ثباتی ژنوم - کوتاه شدن تلومر و تبدیل و تغییر مناطق اپی ژنیک مورد مطالعه قرار می‌گیرد (۱).

پیری طبیعی با یک درجه خاصی از فیبروز بینابینی (Interstitial fibrosis) همراه است که در صورت پیشرفت به نارسایی قلبی تبدیل می‌شود. لذا یافتن روش‌های جدید و عملی، کمکی مهم و ضروری برای کاهش فیبروز پس بافت قلب افراد سالمند است (۲). سالمندی به روش‌های متفاوتی بر عملکرد قلب اثر می‌گذارد. رایج ترین بیماری قلبی همراه سالمندی نقص عملکرد دیاستولیک است و با عنوان نارسایی قلبی همراه با حفظ کسر تزریقی، بیان می‌شود. نارسایی قلبی موجب افزایش سفتی و فیبروز میوکارد و با کارکرد پد لندوتلیال همراه است (۳). پیش بینی می‌شود تعداد جمعیت سالمندی که در معرض اختلال عملکردی دیاستولیک هستند تا چهل سال آینده دو برابر شود. سالمندی به تنهایی تغییرات متعددی را در قلب انسان در سطح مولکولی و عملکردی پدید می‌آورد. مهم‌ترین تغییرات وابسته به سن در هیپرتروفی بطن چپ و فیبروز و از دست رفتن اعصاب و وقایع مخربی است که منجر به اختلال عملکرد دیاستولیک می‌شود و این رخداد تلاش حداکثری سالمندان را محدود می‌کند (۴).

اهمیت این موضوع زمانی مشخص می‌شود که افزایش کیفیت زندگی به افزایش تعداد سالهای زندگی و به طبع آن امید به زندگی منجر می‌شود. سالمندی هندسه ساختار بافت همبند و خطی بودن کلاژن بین میوسیت‌های قلب را تغییر می‌دهد. فیبروبلاست‌های قلبی نقش اساسی و کلیدی در ثبات داربست و ترمیم آسیب و زخم دارند (۵). این سلول‌ها در تعادل بافت قلب نقش دارند به شکلی که با مشارکت در ساخت ماتریکس خارج سلولی (ECM- extracellular matrix) و حذف یا تخریب آن (توسط ترشح فعال محتویات ECM و تغییر آنزیم‌های ECM) و یا با تغییر سلول‌های مجاور خود (با ترشح فاکتورهای رشد و سیتوکاین‌ها) و

تغییر وضعیت التهابی (با ترشح سیتوکاین‌ها و کموکاین‌ها) ایفای نقش می‌کنند (۶). برخی فیبروبلاست‌های فعال می‌توانند به میو فیبروبلاست تبدیل شوند و بلوغ پیدا کنند. یکی از برجسته ترین محرک‌های این تمایز کشش مکانیکی توأم با سفتی ECM است (۷). فیبروز (fibrosis) یک بافت واکنشی پیچیده است که به علت تجمع بیش از حد ترکیبات به خصوص کلاژن پدید می‌آید و یکی از علل بیولوژیکی مؤثر در تغییر شکل قلب است. افزایش محتویات و تمرکز کلاژن که منجر به سفتی و بدی عملکرد قلب شده و فرآیند چند عاملی است که در نتیجه پیری، ایسکمی قلب و التهاب، هورمون و دیابت پدید می‌آید. یافته‌ها نشان می‌دهند که فیبروز در قلب پیر موش و انسان رخ می‌دهد (۸). ماتریکس خارج سلولی یا ECM شامل صدها ترکیب از کلاژن و فیبرونکتین و گلیکوپروتئین و گلیکوزآمینوگلیکان (GAGs) مانند هیالورونیک اسید و پروتئوگلیکان است. غالباً کلاژن I و III و V و الاستین در این فضای غیر مایع وجود دارد و شبکه لانه زنبوری تشکیل می‌دهد (۹). در پستانداران ساختار ماتریکس خارج سلولی قلب ۸۵٪ کلاژن I و ۱۱٪ کلاژن III است. کلاژن بالغ با داشتن پیوند متقابل با آنزیم‌های لیزیل اکسیداز نامحلول و مقاوم در برابر شکستن و تفکیک است (۱۰). توانایی ساخت ترکیبات ECM بستگی به نوع سلول‌های آن دارد مثلاً فیبروبلاست‌ها و سلول‌های ماهیچه صاف، کلاژن نوع I و III را می‌سازند، در حالی که میوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال کلاژن نوع IV را می‌سازند. تغییرات نیمرخ پروتئین‌های ECM بر عملکرد و شکل قلب می‌تواند اثر بگذارد (۱۱). میکرو RNA (miRNA) دسته‌ای از RNA های کوچک غیر کد کننده ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتیدی هستند که بیان ژن را در سطح پس از رونویسی در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک تنظیم می‌کنند (۱۲). miRNAs (microRNAs) در طی تکامل به شدت حفاظت شده و نقش تثبیت‌شده‌ای در تکثیر سلولی، نمو، متابولیسم، آپوپتوز، تکامل و پیری و در شکل پاتولوژیک در بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و اختلالات عصبی بازی می‌کنند (۱۳). میکرو RNA ها به شکل جزئی و

ناحیه‌ای با mRNA هدف مکمل شده و از این راه منجر به مهار ترجمه یا تجزیه آن می‌شوند (۱۴).
 میر ۲۱ (miR-21) یک RNA غیر کد کننده کوچک به طول ۲۲ نوکلئوتید است که می‌تواند بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم کند. مطالعات اخیر بیانگر این مطلب است که miR-21 در طی فیبروز بیش از حد بیان می‌شود و می‌تواند پروسه فیبروزیک را در ارگان‌ها و بافت‌های مختلف از مسیرهای متفاوتی تنظیم کند. این میکرو RNA یک RNA تنظیمی کوچک ولی بسیار حیاتی است که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک حضور دارد. miR-21 انسانی یک میرنای پلی سیسترونیک است که ژن آن روی کروموزوم ۱۷ بازوی ۱۷q23.2 قرار دارد و به نام TMEM49 شناخته می‌شود (۱۵) ثابت شده است miR-21 به طور مستقیم فسفات و تنسین همولوگ (phosphatase and tensin homologue-) (PTEN) را مورد هدف قرار می‌دهد و به طور خلاصه miR-21 فرآیند فیبروز را از مسیر فسفواینوزیتید ۳- کیناز (PI3K/AK) 3-phosphoinositide kinase/AKT) با هدف قرار دادن PTEN می‌تواند تنظیم کند. شایان ذکر است فاکتور رشدی تغییر شکل دهنده بتا (transforming growth factor beta -TGF-β) به عنوان تنظیم کننده بالا دستی miR-21 شناخته شده است. مسیر TGF-β Smad3 نقش مهمی در رونویسی miR-21 دارند و پروتئین‌های Smad بلوغ و تکامل miR-21 را از پیش ساز این میرنا کنترل می‌کنند (۶). ماتریکس متالوپروتئین‌ها (MMPs) لندونوکلئازهای وابسته به روی (Zn) هستند که قادر به تخریب ترکیبات گوناگون ماتریکس خارج سلولی (ECM) می‌باشند و به شکل پیش آنزیم ساخته و ذخیره می‌شوند. این آنزیم‌های اندوژن با تخریب و نوسازی پروتئین‌های ECM، مسئول تغییر شکل ECM در فرآیندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک هستند. ماتریکس متالوپروتئیناز-۲ (MMP-2) یا کلاژناز A پروتئینی به وزن ۷۲ کیلو دالتون است که ژن آن در انسان روی کروموزوم ۱۶ و بازوی ۱۲.۲ q و در موش روی کروموزوم ۸ قرار دارد

(۱۵). شکل فعال این متالوپروتئین توسط ۴۱ و TIMP مهار می‌شود. این متالوپروتئین به دو شکل پیش ساخت یا MMPPRO- و فرم فعال وجود دارد و توالی ژنتیکی آن در انسان و موش ۹۶٪ تا ۹۷٪ یکی است. MMP-۲ به همراه MMP-۹ یا ژلاتیناز B، کلاژن ۴ را که ماده اصلی غشاء پایه است را دنا توره می‌کند. همچنین می‌تواند کلاژن‌های V و VII و X و الاستین و فیبرونکتین را تقلیب کند (۸).
 از این مفهوم جذاب که فعالیت بدنی مانع گسترش بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شود، مدت‌ها است که حمایت می‌شود. مشخص است که مسیرهای عملکردی مهم در پاسخ قلب به تمرین سرشار از آبشارها و مسیرهای پیام‌رسانی هستند که توانایی کاهش رخ‌مانه بیماری را دارند (۱۶). مطالعه کاوک نشان داد ۱۲ هفته تمرین میزان کلاژن فضای بین سلولی ناشی از سن را در موش‌ها به شکل معنا دار کاهش می‌دهد (۸). شواهد نشان می‌دهد برنامه تمرینی شنا با شدت متوسط در رت‌های سالمند از راه تنظیم منفی بر عوامل التهابی و فیبروز قلبی ناشی از سالمندی، از مسیر فاکتور رشد فیبروبلاست-۲/ یوروکیناز فعال شده/ پلاسمینوژن نوع بافتی (fibroblast growth factor - urokinase/tissue-type plasminogen activator 2/ FGF2/UPA/tPA) ایجاد شده در گروه تمرینی کاهش داشته است (۱۷). درباره اثر تمرین بر عوامل ایجاد کننده فیبروز قلبی گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد (۱۰). هشت هفته شنای منظم در موش‌های نر دیابتی موجب کاهش معنادار TGF-β و نرمال شدن MMP-2 قلبی شد (۱۸). miR-21 عملکرد چندگانه‌ای در رابطه با ورزش و بیماری‌های قلبی دارد (۱۹) و رفتار معنادار miR-21 به مقدار زیادی وابسته به ژن‌های هدفی است که تنظیم می‌کند. PTEN یک ژن هدف miR-21 است و همچنین یک فسفاتاز پروتئینی - لیپیدی است که دومین پیام‌رسان واسطه یعنی PI3K را دفسفریله کرده و فعالیت Akt در پایین دست متوقف می‌کند (۲۰). مطالعات فراوانی نشان دادند که فعالیت بدنی هوازی موجب افزایش miR-21 و هایپرتروفی قلب می‌شود (۱۶). روی و همکاران

مشخص کردند MMP-2 ترانس ژنیک ویژه قلب مستقیماً به انقباض پذیری آسیب رسانده و موجب نقص عملکرد میتوکندریایی می‌شود و همچنین MMP-2 پروتئین α -اکتینین را در آسیب میوکاردی تجزیه می‌کند. با افزایش سن ECM عضلات اسکلتی و قلبی متحمل تغییرات فیبروزی می‌شوند که منجر به افزایش سفتی عضلات، کاهش قدرت و مستعد آسیب پذیری می‌گردند (۲۱). بیشتر مطالعات حاضر در زمینه فیبروز به بیماری‌های قلبی مانند نارسایی قلبی و آنفارکتوس و فیبروز ناشی از آن پرداخته‌اند و بررسی‌ها در حوزه فیبروز قلبی سالمندان سالم و تأثیر فعالیت بدنی محدود می‌باشد. این پژوهش آزمایشی قصد دارد قابلیت تمرین هوازی و فعالیت بدنی را بروی تحریک برخی ژن‌های مرتبط با تغییر ساختاری ECM در قلب سالمندان را بررسی کند.

روش کار

این مطالعه حاضر از نوع بنیادی می‌باشد که به روش تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل انجام شد. همه مراحل پژوهش آزمایشی با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مطابق با پروتکل هلسینکی سال ۲۰۰۶ و با اخذ کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.098 از پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، اجرا شد. در این پژوهش آزمایشی ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار (۲۲)، با میانگین سنی (۲۴) ماه (۲۳) و دامنه وزنی (5 ± 537 گرم) از پژوهشگاه رویان تهیه و به مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاه رازی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران انتقال یافت. دمای محیط نگهداری ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، دوره روشنایی- تاریکی ۱۲:۱۲، با دسترسی آزاد به آب و غذا، در قفس‌های پلی اتیلنی و در هر قفس ۳ سر رت نگهداری شدند. بعد از آشنایی با محیط جدید، گروه تمرین برنامه آشناسازی با پروتکل تمرینی را آغاز و هفته بعد برنامه اصلی تمرین را مطابق جدول زیر شروع کردند. آشنا سازی یک هفته، با زمان ۱۰ دقیقه و سرعت ۵ متر بر

دقیقه، با تردمیل ویژه جوندگان بود. برای ارزیابی توان هوازی با شدت کمتر از ۷۵ درصد، رت‌ها ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰ متر در دقیقه مرحله گرم کردن را انجام می‌دهند. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز و هر دو دقیقه سرعت تردمیل ۰/۳ متر بر ثانیه به صورت خودکار افزایش یافت تا زمانی که رت‌ها قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشند با توجه به سرعت نهایی به دست آمده در انتهای آزمون بیشینه سرعت مورد نظر در برنامه تمرینی به دست آمد (۲۴). در این پژوهش آزمایشی از هیچ شوکی الکتریکی و بادی استفاده نشد.

پروتکل تمرین هوازی زیر بیشینه: برنامه تمرینی به مدت هشت هفته و پنج روز انجام شد. یک هفته پیش از اجرای برنامه اصلی برای آشنا سازی حیوانات با نحوه حرکت روی تردمیل، یک هفته با پنج جلسه، سرعت ۵ متر بر دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه تمرین انجام دادند. در آغاز هر جلسه تمرین به عنوان گرم کردن، نمونه‌ها ۳ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه و سپس ۲ دقیقه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه حرکت کردند. بعد از آن برنامه اصلی تمرین به این شکل ادامه پیدا کرد. در هفته اول ۱۰ دقیقه و مدت تمرین به صورت تدریجی هر هفته ۶ دقیقه طبق پروتکل برنامه ریزی شده افزوده گردید تا در هفته هشتم به ۵۶ دقیقه رسید. شدت تمرین براساس سرعت نوار گردان ۱۲ متر بر دقیقه از هفته اول تا هفته هشتم ثابت ماند. شیب نوار گردان در تمام مدت تمرین صفر باقی می‌ماند. در انتهای هر جلسه تمرین به منظور سرد کردن ۵ دقیقه با سرعت ۸ متر بر دقیقه حرکت و جلسه تمرین به اتمام می‌رسد (۲۴، ۲۵).

جمع آوری نمونه‌ها: ۴۸ ساعت بعد از آخرین جلسه تمرین همه موش‌ها با ترکیبی از داروی کتامین ۳۰ - ۵۰ (میلی گرم/ کیلوگرم) و زیلازین ۵-۳ گرم (میلی گرم/ کیلوگرم) به صورت صفاقی بی‌هوش شدند. سپس قفسه سینه شکافته، قلب برداشته شده و با سرم فیزیولوژیک شسته و وزن آن اندازه گیری شد. بطن چپ جدا و به میکروتیوپ منتقل گردید و

جدول ۱- شیوه تمرین گروه تمرین هوازی

هفته	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
تمرین								
زمان (دقیقه در روز)	۱۰	۱۶	۲۲	۲۸	۳۴	۴۰	۴۶	۵۲
شدت (متر بر دقیقه)	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲

جفت پرایمر اختصاصی برای هر ژن انتخاب شد که شامل پرایمر مستقیم (Forward) و معکوس (Reverse) است. پرایمرها توسط نرم افزار Allel ID V.6 طراحی شدند. پس از طراحی، با استفاده از وب سایت NCBI و www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast توالی پرایمرهای طراحی شده با کل ژنوم رت، بلاست می شدند و از ویژگی پرایمرها برای نواحی مکمل خود اطمینان کامل حاصل گردید. برای ساخت الگوی cDNA از miRNA-21 و MMP-2 کیت مستر میکس تاکارا مورد استفاده قرار گرفت و مطابق دستور العمل آن اقدام شد. در آغاز برای هر ژن غلظت بهینه cDNA و پرایمرهای ژن های مورد نظر با استفاده از سریال غلظت مشخص شد. پرایمرهای ژن های هدف و همچنین پرایمر مربوط به رفرنس ژن که در این پژوهش آزمایشی ژن های Sno234 و ACTB در نظر گرفته شدند. پرایمرهای طراحی شده در جدول ۲ درج شده اند.

تنظیمات دستگاه RT-PCR برای ژن miR-21 شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و برای ژن MMP-2 ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه با پرایمر طراحی شده بود. برای کمی سازی بیان ژن ها از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد (۳۳).

تجزیه و تحلیل آماری: داده ها توسط نرم افزار SPSS ۲۶ بررسی و تحلیل شدند. از آزمون شاپیرو ویلک و لوین برای نرمال بودن توزیع داده ها و از آزمون تی مستقل برای بررسی تغییرات بیان ژن های MMP-

بلافاصله در ازت مایع منجمد و سپس در دمای -۸۰ درجه سانتی گراد برای مراحل بعد نگهداری شدند.

رنگ آمیزی تری کروم ماسون: برای رنگ آمیزی ویژه کلاژن و تحلیل فیبروز میوکارد روش رنگ آمیزی تری کروم ماسون به کار رفت. در دمای ۱۵- درجه سانتی گراد برش های $10(\mu m)$ میکرومتری از بافت بطن چپ برش داده شد و روی لام قرار گرفتند. در این روش به مدت ۱۵ دقیقه محلول هماتوکسیلین را روی بافت ریخته و با آب جاری شستشو میدهم سپس ۵ دقیقه در بیرج اسکارلت قرار می دهیم و بعد با آب شسته و ۵ دقیقه محلول اسید فسفوتنگستیک یا اسید فسفومولیبیدیک و سپس می شویم. در این مرحله محلول آنیلین بلو به مدت ۵ دقیقه گذاشته و بعد شسته، اجازه می دهیم تا لام خشک شده و آن را می چسبانیم.

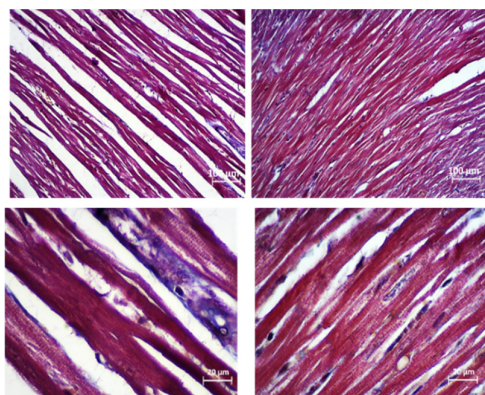
اندازه گیری بیان ژن به روش Real time PCR: RNA تام مطابق دستور العمل کیت کپاژن و استفاده از تریزول از بافت قلب جمع آوری گردید، کمیت RNA تام و خلوص آن با دستگاه اسپکتروفتومتر نانو دراپ (A_{260nm}) اندازه گیری شد. برای استخراج miR-21 بعد از افزودن تریزول یک شبانه روز در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای سنتز مستر میکساز کیت تاکارای ژاپنی و رنگ Cyber green استفاده شد. بر اساس جذب خوانده شده توسط دستگاه نانو دراپ، حجم RNA و پرایمر هگزامر تصادفی Random Hexamer و آب فاقد نوکلئاز ترکیب شده و در دمای ۷۰ درجه قرار می گیرد تا اتصال پرایمر به RNA به خوبی صورت بگیرد. باید توجه شود که همه مراحل با وسایل و محلول های عاری از RNase انجام شود. با اطمینان از غلظت RNA، از آن برای ساخت c-DNA استفاده گردید. به منظور تکثیر هر قطعه ژنی، یک

جدول ۲- توالی پرایمری ژن های مورد مطالعه و مرجع

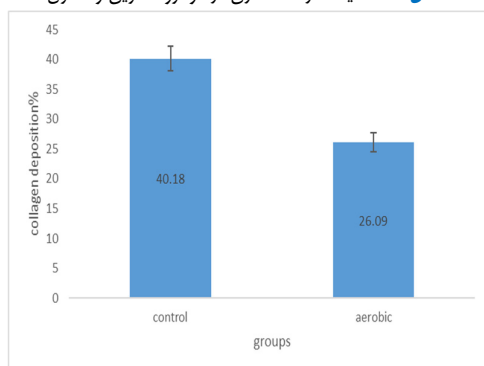
GENE	Forward	Reverse
MIR-21	TGCAGTAGCTTATCAGACTGATG	GTGCAGGGTCCGAGGT
SNO234	GCGGCGGCTTTTGGAACCTGAAT	GTGCAGGGTCCGAGGT
MMP-2	AATGCCATCCCTGATAACCTGG	TTGATGCTTCCAAACTTCACGC
ACTB	CTTCTTTCAGCTCCTTCGTT	AGCCGGCTTTGCACATG

بحث

ما دانش کافی درباره آن چه باعث سلامت قلب می شود نداریم، بنابراین ترسیم کردن مکانیسم هایی که ورزش به واسطه آن ها موجب منفی برای دستگاه قلب و عروق شود، ممکن است تصویری از قلب سالم ارائه کند و این روند راهکارهایی نوین در پیشگیری و درمان بیماری قلبی فراهم می کند. اکثریت مسیرهای



شکل ۱- مقایسه درصد کلژن در دو گروه تمرین و کنترل



نمودار ۱- نسبت درصد رسوب کلژن در بطن چپ رت های سالمند در دو گروه

2 و miR-21 و درصد کلژن در بطن چپ با در نظر گرفتن سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده شد.

یافته ها

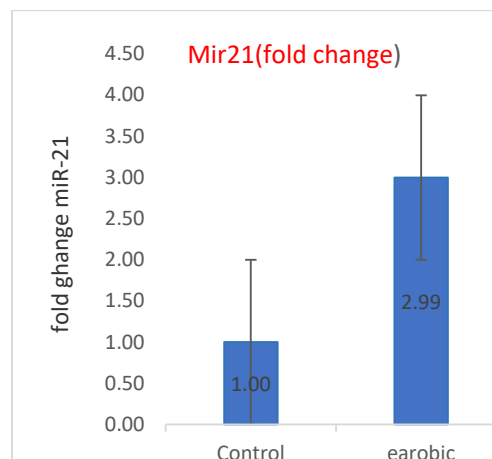
نتایج تحلیل داده ها با استفاده از t مستقل و نرم افزار ImageJ برای درصد کلژن در بطن چپ موش های سالمند نشان داد پس از ۸ هفته تمرین هوازی استقامتی میانگین درصد رسوب کلژن در بطن چپ دو گروه هوازی (26.09 ± 3.4) و کنترل (40.18 ± 5.4) اختلاف معنی داری وجود دارد ($P = 0.001$ ، $t = 5.506$) که نشان دهنده کاهش در صد کلژن در بافت قلب گروه تمرین هوازی است. تفاوت بین گروه ها در شکل و نمودار ۱ نشان داده شده است.

نتایج تحلیل داده ها با استفاده از t مستقل برای بیان ژن miR-21 نشان داد بین میانگین دو گروه کنترل (1 ± 0.34) و تمرین هوازی (2.99 ± 0.76) اختلاف معنی داری وجود دارد ($P = 0.006$ ، $t = 3.131$). تفاوت بین گروه ها در نمودار ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهند بیان miR-21 در بافت قلب به صورت معناداری در گروه تمرین هوازی بیشتر از گروه کنترل بوده است.

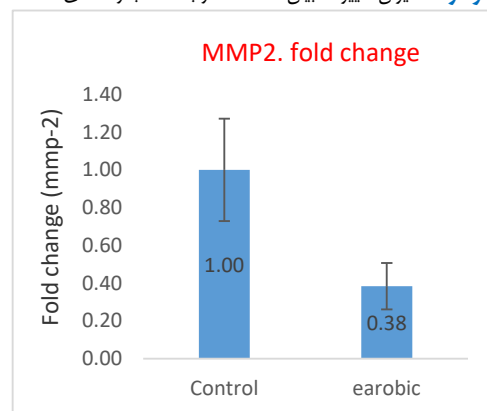
نتایج تحلیل داده ها با استفاده از t مستقل برای ژن MMP-2 نشان داد بین میانگین دو گروه کنترل (1 ± 0.27) و گروه تمرین هوازی (0.38 ± 0.12) اختلاف معناداری وجود دارد ($P = 0.027$ ، $t = 2.441$). نتایج حاصل از داده ها نشان می دهد بیان ژن MMP-2 به شکل معناداری در بافت قلب گروه تمرین هوازی کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ۳).

($P=0/006$) در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل شد. تحقیقات ما نشان داد تمرین هوازی باعث کاهش مقدار کلاژن بطن چپ در گروه تمرین هوازی نسبت به گروه کنترل شده است. یکی از بارزترین نشانه های فیروز تجمع کلاژن در بافت است، مطالعه کاوک نشان داد ۱۲ هفته تمرین میزان کلاژن فضای بین سلولی ناشی از سن را در موش ها به شکل معنا دار کاهش و موجب هایپرتروفی کاردیومیوسیت ها شد (۸). در تحقیق لیاو (۱۷) تمرین هوازی شش باعث کاهش مقدار درصد کلاژن در بطن چپ رت های نر شد، که با یافته های ما مطابقت دارد. در سال ۲۰۰۱ توماس و همکاران دریافتند ۱۰ هفته تمرین ترمیم، افزایش بیان مقدار کلاژن ناشی از سالمندی کاهش را کاهش داد. درصد کلاژن در دیواره سپتوم بطن چپ و پیوندهای عرضی کلاژن بین دیواره بطن چپ به طور معنا داری در موش های تمرین کرده کمتر از موش های بی تحرک بود (۲۶).

در مطالعه روی و همکاران مشخص شد نوسانات miR-21 بیان MMP-2 را از مسیر PTEN کنترل می کند. همچنین اشاره کردند در بخش مبتلا شده به آنفاکتوس، کاهش معنا دار PTEN دیده می شود و این کاهش موجب افزایش بیان مقدار MMP-2 در این منطقه بود (۲۰). پروتئین MMP-2 درپاتوژن طیف گسترده ای از اختلالات قلبی به عنوان یک واسطه مستقیم در تغییر ساختار بطن و اختلالات سیستمی شناخته می شود (۱۸). یافته ها نشان می دهند در فیبروبلاست قلبی miR-21 بیان PTEN را به شکل منفی تنظیم کرده و بیان MMP-2 القایی توسط miR-21 به میزان معنا داری در پاسخ به سرکوب PTEN، افزایش یافت. اکبری و همکاران (۱۳۹۸) در یک تحقیق تجربی روی ۲۱ سر موش دیابتی اثر تمرینات هوازی تداومی و تناوبی شدید را بررسی کردند. ۸ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های MMP-2 / TIMP-2 در میوکارد موش های صحرایی اثر داشت و نسبت TIMP_2 به MMP-2 در گروه HIIT نسبت به گروه کنترل و هوازی تداومی بیشتر بود. در گروه تمرین تناوبی شدید نسبت به دو گروه دیگر تأثیر بالاتری بر



نمودار ۲- میزان تغییرات بیان mir21 در بافت قلب رت های سالمند



نمودار ۳- میزان تغییر بیان MMP-2

شناخته شده کنونی که در پاسخ قلب به ورزش با اهمیت هستند، می توانند از قلب در برابر فشارها و استرس های پاتولوژیک محافظت کنند. مشخص است که مسیر های عملکردی مهم در پاسخ قلب به تمرین سرشار از آبشارهایی هستند که توانایی کاهش رخمانه بیماری را دارند (۱۶).

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر ۸ هفته تمرین هوازی بر بیان ژن های miR-21 و MMP-2 و مقدار کلاژن در فیروز قلبی رت های سالمند بود. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد هشت هفته تمرین هوازی باعث کاهش معنا دار مقدار کلاژن ($P=0/001$)، MMP-2 ($P=0/027$) و افزایش معنا دار miR-21

ساخته شود و یا به شکل اگزوزوم وارد کاردیومیوسیت شود نتایج گوناگونی دارد که به شکل هایپررتروپی یا مرگ سلولی کاردیومیوسیت بروز می کند و در فیبروبلاست قلبی با سرکوب PTEN موجب افزایش MMP-2 و تکثیر فیبروبلاست می شود (۱۷). یک مطالعه در موش صحرایی با MI نشان داده است miR-21 بیان MMP-2 در فیبروبلاست ها از مسیر PTEN تنظیم کرده و منجر به هایپررتروپی و بیان پروتئین های ماتریکس در ناحیه آسیب دیده شده است (۳۰). گوستاو و همکاران در یک تمرین ورزشی نشان دادند ۶۰ دقیقه شنا ۵ روز در هفته و به مدت ۸ هفته باعث افزایش بیان miR-21 شده و با هدف قرار دادن PTEN موجب هایپررتروپی قلب موش ها شده است (۲۰).

بگیش و همکاران اثر دو نوع تمرین قایقرانی و دوچرخه سواری با شدت بالا تا سرحد واماندگی را روی دانشجویان ورزشکار مطالعه کردند. برنامه قایقرانی ۹۰ روز، تا ۳ روز در هفته تعیین شده بود. نمونه برداری از پلاسما بلافاصله و ۱ ساعت پس از تمرین افزایش miR-21 و چند میرنای دیگر نشان داد که پاسخ اندوتلیال عروق در پاسخ به تمرین بود. مطالعات فراوانی نشان دادند که فعالیت بدنی هوازی موجب افزایش miR-21 و هایپررتروپی قلب می شود (۳۱). یافته ها نشان می دهند در فیبروبلاست قلبی miR-21 بیان PTEN را به شکل منفی و MMP-2 و فسفوت AKT را تنظیم مثبت می کند و بیان MMP-2 القایی توسط miR-21 به میزان معنا داری در پاسخ به سرکوب PTEN، افزایش داشته است. چندین مسیر برای فعالیت miR-21 تعریف شده است. یکی از این مسیرها مسیر پیام رسان ERK/MAPK است که فیبروبلاست ها را تحریک می کند و اثر مهاری بر تولید MMPs دارد. مسیر دیگر مسیر پیام رسان PI3K/AKT است. miR-21 می تواند آبخار PI3K/AKT را با مهار کردن فسفاتاز و تنسین همسان (PTEN)، به شکل پایین دستی تنظیم منفی کند در این مسیر هم متالوپروتئین ها و هم فیبروز کنترل می شوند. مسیر سوم اثر miR-21 بر Smad7 می باشد که میانجی های

کاهش MMP-2 و افزایش TIMP-2 داشته و بدتنظیمی ژنی را تعدیل کردو احتمالاً کاردیومیوپاتی دیابتی و فیبروز قلبی را بهبود بخشید. مطالعه کارملی نشان داد شدت تمرین یک عامل تأثیر گذار بر MMPs می باشد (۲۷). همچنین یکی از عوامل کاهش MMP-2 سرم در پاسخ به فعالیت ورزشی، کاهش mRNA-MMP-2 می باشد و در نتیجه کاهش ترجمه MMP-2 می باشد (۲۸). تحقیق لیائو و همکارانش نشان داد یکی از مسیرهای فعال کننده فیبروز، مسیر فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲ (FGF-2) است که، یوروکیناز/فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (uPA/tPA) و MMP-2 را در سلول های کاردیومیوبلاست فعال و باعث فیبروز می شود. طبق همین گزارش، فعالیت ورزشی با شدت متوسط بیان FGF-2 و به شکل پایین دستی بیان uPA/tPA و MMP-2 را در قلب رت های سالمند کاهش و از فیبروز پیشگیری کرد (۲۹). گومپنبرگ نشان داد تمرین مقاومتی در ۲۶ مرد سالم موجب پاسخ کند MMP-2 و پاسخ سریع MMP-9 می شود ولی همبستگی نزدیک با سنتز کلاژن نوع I ($r=0.78$) نقش MMP-2 را در این رابطه برجسته تر می کند. وی بیان کرد یک جلسه تمرین دویدن بر مقدار MMP-2 سرم تغییر قابل اندازه گیری نداشت و مکانیسم بیان بستگی به نوع تمرین و سن آزمودنی ها دارد (۱۷).

این یافته ها با مطالعه ما همسو بودند. همچنین گزارش هایی متفاوت با نتایج بالا وجود دارند که به افزایش MMP-2 اشاره کرده است. لیائو (۲۱) در تحقیق دیگری عنوان کرده است تمرین ورزشی باعث کاهش هایپررتروپی پاتولوژیک قلب ناشی از اضافه بار شد. در مطالعه ساپ و همکاران هشت هفته تمرین با شدت بالا و استقامتی که روی یک جامعه آماری صورت گرفت و مقدار miR-21 در پلاسما ۱۰ ورزشکار پیش از آزمون با روش RT-QPC اندازه گیری شد. بعد از هشت هفته و یک ساعت استراحت بعد از آزمون در گروه تمرینات شدید کاهش miR-21 مشاهده شد (۱۷). همانطور که گفته شد شدت تمرین بر بروز بیان ژن MMP-2 اثر دارد. سرنوشت miR-21 بسته به این که در فیبروبلاست قلبی یا کاردیومیوسیت

به شکل پیش آنزیم pro-MMP-2 در فیبروبلاست‌ها قرار دارد که شدت تمرین استقامتی و مدت آن، رشد مویرگ‌ها را در هایپرتروفی قلب رت‌های سالمند تنظیم می‌کند. باید توجه داشت مسیرهای سیگنالی ایجاد فیبروز به هم وصل هستند، مثلاً مسیر PI3K رونویسی Smad3 را به شکل مثبت تنظیم و افزایش تولید کلاژن را به دنبال دارد. این مسیرها بر تولید miR-21 اثر داشته و درمقابل miR-21 این مسیرها را با هدف قرار دادن پروتئین‌های هدف تنظیم می‌کنند. به عبارتی miR-21 نقش کلیدی در این شبکه دارد و بسیاری از این پروتئین‌های شبکه نقش مهمی بر متالوپروتئین‌ها دارند (۳۳).

شبکه وسیعی از سیگنال‌ها و آبشارها در بروز فیبروز قلبی ناشی از سالمندی مشارکت دارند. مطالعه دقیق هر مسیر نیازمند اندازه‌گیری همه پروتئین‌ها و اهداف آن‌ها، است. در این پژوهش آزمایشی سعی شد مانند یک الگوریتم عوامل کلیدی یک مسیر از فیبروز ناشی از سالمندی انتخاب و اثر فعالیت بدنی روی خروجی این مسیر بررسی شود. سالمندی به تنهایی تغییرات متعددی را در قلب انسان در سطح مولکولی و عملکردی پدید می‌آورد. مهم‌ترین تغییرات وابسته به سن در هایپرتروفی بطن چپ و فیبروز ناشی از کلاژن است (۶).

محدودیت‌ها

مطالعه مسیرهای پیام‌رسان مستلزم سنجش پروتئین‌های بسیاری در یک آبشار است و نیازمندکیت‌های متعدد و استفاده از روش‌هایی مانند لوسیفراز اسی و وسترن بلات و ژلاتین زیموگراف برای ردیابی پروتئین‌های واسطه در مسیر بود و محدودیت‌های مالی مانع آن می‌شد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش آزمایشی حاضر نشان داد هشت هفته تمرین هوازی با شدت متوسط موجب افزایش بیان miR-21 و کاهش درصد کلاژن و مقدار بیان MMP-2 در بطن چپ رت‌های نر سالمند و کاهش فیبروز قلبی

پروتئینی فیبروتیک TGF- β T شامل فیبرونکتین و کلاژن را تنظیم می‌کند. TGF- β مسیر m-TOR را که یک پروتئین پایین دستی است، در جهت افزایش هایپرتروفی سلول تنظیم می‌کند. همچنین می‌تواند با هدف قرار دادن PTEN مسیر PI3K/AKT را فعال کند. ثابت شده است miR-21 به طور مستقیم PTEN را مورد هدف قرار می‌دهد و به طور خلاصه فرآیند فیبروز را از مسیر PI3K/AKT و با هدف قرار دادن PTEN می‌تواند تنظیم کند (۶). زوچا در یک مطالعه نشان داد شنا در رت‌ها باعث افزایش بیان میر-۲۱ به مقدار ۱۵۲ درصد و افزایش PIK3 α و کاهش PTEN به مقدار ۳۷ درصد از مسیر PI3K/AKT /mTOR شده است و هایپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرین منجر به افزایش فعالیت PI3K می‌شود. این مشاهدات با گزارش‌های قبلی که PTEN سرکوب کننده MMP-2 است، همسو می‌باشد. اما در مطالعه روی و همکاران فرضیه‌ای که Akt موجب افزایش بیان MMP-2 می‌شود مورد بحث است. با توجه به تحقیقات بیان شده که موافق پژوهش آزمایشی ما است می‌توان نتیجه گرفت تمرینات هوازی با شدت زیر بیشینه موجب افزایش معنادار miR-21 و با مهار مسیر PTEN موجب کاهش فیبروز در بطن چپ موش‌های سالمند سالم می‌شود. کلاژن به عنوان یکی از نشانه‌های فیبروز شناخته می‌شود (۱۶) و برای ساخت کلاژن فیبروبلاست‌های قلبی اولین منابع تولید MMPs هستند و فعالیت بدنی می‌تواند رسوب و تشکیل آن را کاهش دهد. یکی از راه‌های کاهش تولید کلاژن، کاهش بیان ژن MMP-2 است و فعالیت ورزشی با شدت متوسط بیان FGF-2 و به شکل پایین دستی بیان uPA/tPA و MMP-2 را در قلب رت‌های سالمند کاهش و افزایش بیان کلاژن را به شکل معناداری کاهش دهد. توجه به این نکته مهم است که کاهش MMP-2 به دلیل افزایش TIMP-2 بعد از فعالیت بدنی نیز می‌تواند باشد. فعالیت بدنی باعث افزایش TIMP-2 شده و میل ترکیبی آن به MMP-2 به طور چشمگیری زیاد است و می‌تواند کاهش معنادار آن را توجیه کند (۳۲). همچنین بخشی از این پروتئین

DA, Lawler JM. Exercise Training Reduces Fibrosis And Matrix Metalloproteinase Dysregulation In The Aging Rat Heart. *FASEB J*. 2010;25(3):1106-17.

3. Horn Ma TA. Aging And The Cardiac Collagen Matrix: Novel Mediators Of Fibrotic Remodeling. *J Mol Cell Cardiol*. 2016;175-85.

4. De Lucia Claudio KK, Borghetti G, Femminella Grazia D, Bencivenga L, Cannavo A, Corbi G, et al. Microna In Cardiovascular Aging And Age-Related Cardiovascular Diseases. *Front Med*. 2017;4:74.

5. Movahhed A, Abbasi Z. The Role Of Psychological Empowerment In The Prediction Of Psychological Well-Being In Health Care Workers. *Healthcare Management Research*. 2018;10(2):61-72.

6. Trial J Cieslik K. Changes In Cardiac Resident Fibroblast Physiology And Phenotype In Aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018 Oct 1;315(4):H745-H755.

7. Dugina V, Fontao L, Chaponnier C, Vasiliev J, & Gabbiani G. Focal Adhesion Features During Myofibroblastic Differentiation Are Controlled By Intracellular And Extracellular Factors. *J Cell Sci*. 2001:3285-3296.

8. Hyo-Bum K. Aging, Exercise, And Extracellular Matrix In The Heart. *J Exerc Rehabil*. 2013;9(3):338-347.

9. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Blaxall BC. Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. *Circul Res*. 2016;118(6):1021-1040.

10. Kwak Hb K.J., Joshi K, Yeh A, Martinez Da, Lawler Jm, Exercise Training Reduces Fibrosis And Matrix Metalloproteinase Dysregulation In The Aging Rat Heart. *Faseb*, 2011. 25(3): P. 1106-1117.

11. Bellafiore, M., Battaglia, G., Bianco, A., Farina, F., Palma, A., & Paoli, A, The Involvement Of Mmp-2 And Mmp-9 In Heart Exercise-Related Angiogenesis. *Journal Of Translational Medicine*, 2013. 11: P. 283.

12. Liu, R.H., Ning, B., Ma, X. E., Gong, W. M., & Jia, T. H, Regulatory Roles Of Microna-21 In Fibrosis Through Interaction With Diverse Pathways (Review). *Molecular Medicine Reports*, 2016. 13(3): P. 2359-2366.

13. Lin, C.C., Chang, Y. M., Pan, C. T., Chen, C. C., Ling, L., Tsao, K. C., Yang, R. B., & Li, W. H, Functional Evolution Of Cardiac Micronas In Heart Development And Functions. *Molecular Biology And Evolution*, 2014. 31(10): P. 2722-2734.

14. Mohammadi Esmat, R.S., Ghaedi Kamran, Micronas, Structure, Function And Implications For Cancer. *Genetics In The 3rd Millennium*, 1390: P. 2489 -2498.

15. Daniel R Zerbino, Premanand Achuthan, Wasiu Akanni, M Ridwan Amode, Daniel Barrell, Jyothish

در بطن چپ شد. به نظر می‌رسد کاهش درصد مقدار کلاژن در نتیجه کاهش بیان MMP-2 و افزایش بیان miR-21 و کاهش فیبروز در سلول‌های قلبی بوده است. پیشنهاد می‌شود از منافع تمرینات هوازی باشد متوسط به عنوان درمان غیر دارویی برای کاهش فیبروز در بخش‌های گوناگون قلب و عروق و دیگر اعضاء بدن در سالمندان و کسانی که در آستانه سالمندی قرار دارند، استفاده شود.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری بود و در این پژوهش آزمایشی سعی شد تمام نکات اخلاقی و اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردد و تمام مراحل پروتکل زیر نظر و دخالت استاد راهنما و توسط افراد متخصص و آموزش دیده انجام شد و پروتکل‌ها با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1399.098 در کمیته اخلاق پزشکی پژوهشگاه تربیت بدنی وزارت علوم تایید شد و نویسندگان این مقاله هیچ گونه تعارض منافی نداشتند. از تمام همکاران پژوهشی و پرسنل آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌شود.

مشارکت نویسندگان

درصد مشارکت نویسندگان اول فاطمه قلمبر در اجرای پروتکل‌ها و نگارش رساله و مقاله حدود ۴۰ درصد و نویسنده دوم استاد راهنما و نویسنده مسئول مقاله دکتر حسین عابد نطنزی در ویراستاری رساله و مقاله و تحلیل آماری حدود ۳۰ درصد و نویسنده سوم دکتر ماندانا غلامی در ویراستاری رساله و مقاله ۱۵ درصد و نویسنده چهارم دکتر فرشاد غزالیان در ویراستاری رساله و مقاله ۱۵ درصد بود.

References

1. Loffredo F, Steinhauer ML, Jay SM, Gannon J, Pancoast JR, Yalamanchi P, et al. Growth Differentiation Factor 11 Is A Circulating Factor That Reverses Age-Related Cardiac Hypertrophy. *Cell*. 2013;153(4):828-839.
2. Kwak HB, Kim JH, Joshi K, Yeh A, Martinez

- Bhai, Ensembl 2018, and et.al Nucleic Acids Research, Volume 46, Issue D1, 4 January 2018, Pages D754–D761, <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1098>
16. Liu, X., C. Platt, And A. Rosenzweig, The Role Of Micrnas In The Cardiac Response To Exercise. Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine, 2017. 7(12).
 17. Liao Po-Hsian, D.H.J.-Y., Kuo Chia-Hua, Day Cecilia-Hsuan, Shen Chia-Yao, Chao-Hung Lai, Ray-Jade Chen, V. Vijaya Padma, Wei- Wen Kuo⁸, And Chih-Yang Huang, Moderate Exercise Training Attenuates Aging-Induced Cardiac Inflammation, Hypertrophy And Fibrosis Injuries Of Rat Hearts. Oncotarget, 2015.
 18. Khosravi Mearaj, H.M., The Effect Of 8 Weeks Regular Swimming Exercise On The Cardiac Levels Of Matrix Mettaloproteinase-2 And Transforming Growth Factor-B1 In Diabetic Rats. Journal Of Diabetes And Metabolic Disorders, 1394. 2(15): P. 67-74.
 19. Li Y, Y.M., Zhou Q, Cheng Y, Che L, Xu J, Xiao J, Shen Z And Bei Y, Dynamic Regulation Of Circulating Micrnas During Acute Exercise And Long-Term Exercise Training In Basketball Athletes. Front. Physiol, 2018. 9: P. 282.
 20. Roy Sashwati, K.S., Hussain Syed-Rehan A., Biswas Sabyasachi, Azad Ali., Micrna Expression In Response To Murine Myocardial Infarction: Mir-21 Regulates Fibroblast Metalloprotease-2 Via Phosphatase And Tensin Homologue. Cardiovascular Research, 2009. 82: P. 21-29.
 21. Gumpenberger, M., Wessner, B., Graf, A., Narici, M. V., Fink, C., Braun, S., Hoser, C., Blazeovich, A. J., & Csapo, R, Remodeling The Skeletal Muscle Extracellular Matrix In Older Age-Effects Of Acute Exercise Stimuli On Gene Expression. International Journal Of Molecular Sciences, 2020. 21(19): P. 7089.
 22. Ahmadi Noorbakhash, S., Sample Size Calculation For Animal Studies -With Emphasis On The Ethical Principles Of Reduction Of Animal Use. Research In Medicine, 2018. 42(3): P. 144-153.
 23. Quinn, R., Comparing Rat's To Human's Age: How Old Is My Rat In People Years? Nutrition, 2005. 21(6): P. 775-777.
 24. Choi, S., Chang, H., Choi, S., Kim, K., Cho, Y., Youn, T., Chung, W., Chae, I., Choi, D., Kim, H., Kim, C., Oh, B., & Kim, M, Long-Term Exercise Training Attenuates Age-Related Diastolic Dysfunction: Association Of Myocardial Collagen Cross-Linking. Journal Of Korean Medical Science, 2009. 24: P. 32-39.
 25. Iwamoto J, T.T., Ichimura S, Effect Of Exercise Training And Detraining On Bone Mineral Density In Postmenopausal Women With Osteoporosis. J Orthop Sci, 2001. 6(2): P. 128-132.
 26. Thomas, D.P., Cotter, T. A., Li, X., McCormick, R. J., & Gosselin, L. E., Exercise Training Attenuates Aging-Associated Increases In Collagen And Collagen Crosslinking Of The Left But Not The Right Ventricle In The Rat. European Journal Of Applied Physiology, 2001. 85(1-2): P. 164–169.
 27. Akbari, N; Peeri, Maghsoud; Azarbayjani, Mohammad Ali; Delfan, Maryam, Comparison of the effect of 8 weeks of continuous and high intensity interval training on the gene expression of TIMP-2 and MMP-2 in male diabetic rats. Razi Journal Of Medical Sciences (Journal Of Iran University Of Medical Sciences, 2020. 26(10):P. 107-116
 28. Carmeli, E.H., T, The Expression Of Mmp-2 Following Immobilisation And Hiegh Intensity Running In Plantaris Muscle Fiber Rats. Scienti World J, 2006: P. 452 – 450.
 29. Bridget, E., Et Al., “Effect Of Acute Resistant Exercise And Sex On Human Patellar Tendon Structural And Regulatory Mrna Expression. J App Physiol, 2009: P. 468–475.
 30. Burcu Duygu, P.A.D.C.M., Mir-21: A Star Player In Cardiac Hypertrophy. Cardiovascular Research, 2015. 105(3): P. 235–237.
 31. Silva, G.J.J., Et Al., Micrnas As Important Regulators Of Exercise Adaptation. progress in cardiovascular diseases, 2017. 60: P. 130-151.
 32. Parente Jm, C.M., Matrix Metalloproteinase In The Cardiovascular Remodeling Of Hypertension: Current Insights And Therapeutic Potential. Metalloproteinases In Medicine, 2018. 5: P. 1-11.
 33. P Parto, N.M., The Expansion Of Micro-Rna 21 (Mir-21) In The Serum Of Patients With Gastric Cancer. Journal Of Ilam University Of Medical Sciences, 2016. 23(6): P. 10-19.