JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/

http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2021.27321.1370

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال هشتم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱٤۰۰؛ صفحات ۵۰-٤٤

Open Access

مقاله پژوهشی

اثر تعاملی تمرین‌هوازی و مکمل کورکومین بر بیان ژن NRF-1 و NRF-2 میتوکندری در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی نر مدل سکته قلبی

علیرضا نیکوزاده*[۱]، رقیه پوزش جدیدی[۲]، علیرضا نورآذر[۳]، مسعود اصغرپور ارشد[٤]، جبار بشیری[۵]

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰٤/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۷/۲۷

چکیده

هدف: تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر تعاملی تمرین‌هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان‌ژن NRF-1 و NRF-2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های صحرایی نر مدل سکته قلبی انجام شد. **روش شناسی:** ۳۲ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، تمرین‌هوازی، مصرف مکمل و تمرین‌هوازی + مصرف مکمل تقسیم شدند. گروه‌های تمرین و تمرین + مکمل به مدت ۸ هفته در برنامه تمرین‌هوازی شرکت کردند. تمرین روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی به صورت ۵ روز در هفته انجام شد و در این زمان گروه کنترل و مصرف مکمل برنامه تمرینی نداشتند. همچنین، مکمل کورکومین پنج روز در هفته و به صورت گاواژ به گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل داده شد. پس از جراحی، بیان‌ژن‌های NRF-1 و NRF-2 کاردیومیوسیت با استفاده از روش Real-time PCR به‌دست آمد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها آزمون‌های شاپیرو-ویلک و تحلیل واریانس دوطرفه مورد استفاده قرار گرفت. **یافته‌ها:** هر دو متغیر تمرین و مکمل کورکومین به صورت معنی‌داری بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 کاردیومیوسیت‌ها را افزایش دادند. همچنین نتایج نشان داد که بین این دو متغیر اثر تعاملی مثبت و معنی‌داری وجود دارد، به طوری که افزایش بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 در گروه تمرین + مکمل از سایر گروه‌ها بیشتر بود. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد هر دو عامل تمرین و مصرف مکمل کورکومین به تنهایی و در تعامل با هم می‌توانند باعث افزایش بیان ژن برخی عوامل محرک بیوژنز میتوکندریایی در کاردیومیوسیت موش‌های نر مبتلا به سکته قلبی شوند.

واژه‌های کلیدی: تمرین‌هوازی، کورکومین، سکته قلبی، بیوژنز میتوکندری، NRF-1، NRF-2.

با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/. مشاهده کنید.

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزش، گروه علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. تبریز، ایران.

۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

(نویسنده مسئول):

poozesh2016@gmail.com

۳. استادیار ، گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

٤. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران.

۵. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

نحوه ارجاع: علیرضا نیکوزاده، رقیه پوزش جدیدی، علیرضا نورآذر، مسعود اصغرپور ارشد، جبار بشیری. اثر تعاملی تمرین‌هوازی و مکمل کورکومین بر بیان ژن NRF-1 و NRF-2 میتوکندری در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی نر مدل سکته قلبی. مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۰: ۸(۲)، ۴۴-۵۰.

این مقاله با تبعیت از مجوز CC By 4.0 با دو شرط استناد به نویسنده و استفاده برای مقاصد غیرتجاری به طور رایگان در دسترس می‌باشد. استفاده، توزیع، بازتولید محتوای آن فقط برای اهداف غیرتجاری مجاز است و در غیر این صورت باید از سازنده اثر اجازه گرفته شود.

حق چاپ متعلق به نویسندگان و امتیاز انتشار آن متعلق به مجله "مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش" است که توسط دانشگاه شهید مدنی آذربایجان منتشر می‌شود.

شاپای الکترونیکی: ۲۶۷۶-۶۵۰۷

DOI: 10.22049/JAHSSP.2021.27321.1370

DOR: 20.1001.1.26766507.1400.8.2.6.2

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2021.27321.1370

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Volume 8, Number 2
Autumn/Winter 2021

Original Article **Open Access**

Interactive Effect of Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Mitochondrial Cardiomyocyte Nrf1 and Nrf2 Gene Expression in Myocardial Infraction Male Rat Model

Alireza Nikoozadeh[1], Roghayeh Pouzesh Jadidi[2], Mir Alireza Nourazar[3], Masoud Asgharpour Arshad[4], Jabbar Bashiri[5]

Received 22 July 2021; Accepted 19 October 2021

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the interactive effect of aerobic training and curcumin supplementation on mitochondrial NRF-1 and NRF-2 gene expression of cardiomyocytes in infarction model male rats. **Methods**: 32 male rats were randomly divided into four groups: control, aerobic training, supplementation, and aerobic training + supplementation. The training and training + supplementation groups participated in an aerobic training program for 8 weeks. The training was performed on an intelligent animal electronic treadmill 5 days a week, and at this time the control and supplementation groups did not have an training program. Also, curcumin supplementation was given to the supplementation and training + supplementation groups five days a week by gavage. After surgery, the expression of NRF-1 and NRF-2 genes in cardiomyocytes was evaluated using real-time PCR method. Shapiro-Wilk and two-way analysis of variance were used for the analysis of data. **Results:** Both training and curcumin supplementation variables significantly increased the expression of NRF-1 and NRF-2 in cardiomyocytes. The results also showed that there is a positive and significant interaction between two variables, so that the increase in expression of NRF-1 and NRF-2 genes in the training + supplement group was more than the other groups. **Conclusions:** It seems that both training and curcumin supplementation alone and in interaction with each other can increase the gene expression of some factors that stimulate mitochondrial biogenesis in cardiomyocytes of male rats with myocardial infarction.

Keywords: Aerobic Training, Curcumin, Myocardial Infarction, Mitochondrial Biogenesis, NRF-1, NRF-2

.

Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. PHD student of Exercise Physiology, Department of Physical Education, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Assistant Prof., Department of Exercise Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. (Corresponding Author): Email: poozesh2016@gmail.com
3. Assistant Prof., Department of Vet, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4. Assistant Prof. Department of Physical Education, Basic Sciences Education Center, Amin University of Law Enforcement Sciences, Tehran, Iran
5. Associate Prof., Department of Exercise Physiology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Cite as: Alireza Nikoozadeh, Roghayeh Pouzesh Jadidi, Mir Alireza Nourazar, Masoud Asgharpour Arshad, Jabbar Bashiri "Interactive effect of aerobic training and curcumin supplementation on mitochondrial cardiomyocyte Nrf1 and Nrf2 gene expression in myocardial infraction male rat model". Applied Health Studies in Sport Physiology. 2021: 8 (2), 44-50.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. © 2021 The Authors. JAHSSP published by Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507
DOI: 10.22049/JAHSSP.2021.27321.1370
DOR: 20.1001.1.26766507.1400.8.2.6.2

Copyright ©The authors Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

http://jahssp.azaruniv.ac.ir/
http://dx.doi.org/10.22049/JAHSSP.2021.27321.1370

مقدمه

انفارکتوس میوکارد[۱]، با انهدام و مرگ سلولی غیر قابل برگشت بخشی از عضله قلب که به علت از بین رفتن جریان و وقوع یک ایسکیمی شدید در آن قسمت از قلب و در نتیجه انسداد عروق تغذیه کننده قلب روی می‌دهد، همراه است و علاوه بر عضله‌ی قلبی بر عضله اسکلتی هم تاثیر می‌گذارد (۱). یکی از عوارض آنفارکتوس میوکارد افزایش تغییر فنوتیپ عضلات اسکلتی کند انقباض به تند انقباض در اثر کاهش تراکم میتوکندری می‌باشد (۲).

میتوکندری به عنوان مرکز متابولیسم عضلانی، اندامکی پویا با تغییرپذیری بسیار زیاد است که نقشی فراتر از تولید انرژی در سلول ایفا می‌کند و عملکرد صحیح این اندامک برای سلامت سلول بسیار مهم و ضروری می‌باشد (۲). به‌طور کلی، عملکرد ناقص میتوکندری موجب استرس اکسایشی و در نتیجه افزایش کلسیم سلولی، افزایش تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و همچنین فعال شدن مسیرهای آپوپتوزی می‌شود (۳). بیوژنز میتوکندریایی[۲] با توانایی خود در ایجاد میتوکندری جدید و افزایش تراکم میتوکندری می‌تواند این عوارض را به حداقل برساند (۴). مهمترین عاملی که اغلب به‌عنوان نشانه‌ای از بیوژنز میتوکندریایی سنجیده می‌شود PGC-1α[۳] است که تنظیم کننده استرس اکسایشی و فعال‌کننده نسخه‌برداری و فاکتور اصلی در بیوژنز میتوکندریایی است (۵). افزایش PGC-1α رونویسی عامل تنفس هسته‌ای[۴] (NRF-1) و (NRF-2) را تحریک کرده و منجر به افزایش بیان عامل رونویسی میتوکندریایی A[۵](TFAM) و سایر زیر واحدهای میتوکندریایی زنجیره انتقال الکترون می‌شود (۶). TFAM ژن هدفNRF-1 است که نقش مهمی را در انسجام واکنش‌های متقابل بین میتوکندری و هسته ایفا می‌کند (۷). این ژن نیز یک فاکتور رونویسی میتوکندری است که فعال‌کننده کلیدی در رونویسی میتوکندری می‌باشد (۸). NRF ها و مخصوصاً NRF-1 محرک‌های قوی بیان ژن‌های هسته‌ای مورد نیاز برای تنفس میتوکندری هستند. NRF-1 بیان چندین ژن رونویسی هسته که در بیان، مونتاژ و عملکرد زنجیره‌ی تنفسی دخیل هستند را به صورت مستقیم و ژن‌های زیر واحد سیتوکروم c اکسیداز (COX) را با فعال کردن TFAM به صورت غیر مستقیم تنظیم می‌کند. بنابراین مفهوم گسترده‌ای برای NRF-1 در سازماندهی رویدادهای بیوژنز میتوکندریایی در نظر گرفته می‌شود (۹). NRF-2 نیز به صورت هماهنگ با NRF-1 بیوژنز میتوکندریایی را تحریک می‌کند. ژن‌های هدف زیادی برای NRF-2 شناسایی شده است که فراتر از زیر واحدهای تنفسی به سایر گروه‌های ژنی نیز گسترش می‌یابد (۱۰). همچنین، گزارش شده است که NRF-2 برای حفظ سطوح طبیعی رونویسی ژن TOMM20 بسیار مهم است (۱۱).

مطالعات کمی به بررسی تاثیر تمرینات‌ورزشی و مصرف کورکومین بر بیوژنز میتوکندریایی عضله قلبی پرداخته‌اند و اکثر تحقیقات بر روی عضلات اسکلتی یا هیپوکامپ بوده و یا به بررسی تاثیر یک جلسه فعالیت‌ورزشی بر فاکتورهای بیوژنز میتوکندری پرداخته‌اند (۱۲). میزان بیان ایزوفرم‌های ژن PGC-1α در پاسخ یه یک جلسه فعالیت‌ورزشی در شدت‌های مختلف حتی تا ۲۴ ساعت پس از آن نیز ادامه یافته و بعد از یک دوره فعالیت استقامتی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۷). در مطالعه‌ی دیگری مشخص شد که بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 عضله‌ی قلبی موش‌های صحرایی نر در پاسخ به یک جلسه شنای شدید به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد (۱۳). نکته‌ای که باید یادآوری کرد این است که علی‌رغم تاثیر این فاکتور و همچنین فعالیت‌بدنی بر بافت و ساختار قلب، تعداد پژوهش‌هایی که تاثیر فعالیت استقامتی بر میزان بیان ژن‌های بیوژنز میتوکندری در بافت قلبی را ارزیابی کرده‌اند نسبتاً کم می‌باشد. در همین راستا، تایو و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دادند که سه هفته فعالیت‌ورزشی شنا، وسعت ناحیه آنفارکتوس شده را به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان بیوژنز میتوکندریایی را افزایش می‌دهد (۱۴). لین و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که هشت هفته تمرین سبک باعث افزایش غیر معنی‌دار و هشت هفته تمرین با شدت متوسط باعث افزایش معنی‌دار سطوح PGC-1α در عضله‌ی قلبی موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۱۵). برخی تحقیقات نیز تاثیر تمرینات ورزشی و مصرف کورکومین را بر بیوژنز میتوکندریایی در بافت‌هایی به جز قلب مورد بررسی قرار داده‌اند. تبری و محبی (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای نشان دادند که پس از ۱۲ هفته تمرین‌تناوبی با شدت بالا و متوسط، سطوح NRF-1 عضله اسکلتی در گروه‌های تمرین به صورت غیر معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود (۱۶). کوین شورت و همکاران (۲۰۰۳) در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که ۱۶ هفته تمرین‌هوازی باعث افزایش معنی‌دار بیان‌ژن‌های درگیر در بیوژنز میتوکندریایی شامل NRF-1 به میزان ۱۵ درصد و PGC-1α به میزان ۸۵ درصد می‌شود (۱۷). ژائو[۶]و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه خود گزارش کردند که دو هفته تمرین شنا با و بدون دریافت مکمل کورکومین بیان‌ژن PGC-1α در بافت هیپوکامپ موش‌های صحرایی را به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد. اما مصرف کورکومین باعث تغییر معنی‌دار نشد (۱۸).

مشخص شده است که تمرینات‌ورزشی و مصرف مکمل کورکومین به صورت جداگانه باعث ارتقای سلامتی دستگاه قلبی عروقی می‌شود و می‌تواند پس از ابتلا به سکته قلبی نیز موثر باشد(۱۹-۲۱). ولی با توجه به محدود بودن اطلاعات در زمینه‌ی تغییرات عوامل محرک بیوژنز میتوکندریایی در اثر سکته قلبی(۲۲) و همچنین ابهام‌های موجود در ساز و کار احتمالی تاثیر تمرین‌های هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر این فرآیند و نیز عدم بررسی اثر هم‌زمان تمرین-هوازی و مصرف کورکومین بر NRF-1 و NRF-2 به عنوان عوامل پایین دستی موثر در بیوژنز میتوکندریایی در هیچ کدام از تحقیقات پیشین، ضرورت انجام چنین پژوهش‌هایی بیشتر آشکار می‌شود و انتظار می‌رود تحقیقات مشابه در توسعه دانش بشری و آشنایی بیشتر با عوامل موثر بر بهبود عملکرد میتوکندری در مبتلایان به سکته قلبی کمک کننده باشد.

۱- Myocardial infarction
۲- Mitochondrial biogenesis
۳- Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
۴- respiratory Nuclear factor
۵- Mitochondrial transcription factor
۶- Xhao

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

لذا، به‌منظور پاسخ به ابهامات موجود، به بررسی اثر تعاملی تمرین‌هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان‌ژن NRF-1 و NRF-2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی پرداخته شد.

روش پژوهش

مطالعه تجربی حاضر بر روی ۳۲ سر موش صحرایی نر هفت ماهه ویستار ۱۴۸۴۸ که از مؤسسه پاستور ایران خریداری شده بود انجام شد. شرایط نگهداری برای همه‌ی نمونه‌ها یکسان بود و دما، رطوبت محیط و چرخه‌ی روشنایی- تاریکی نیز به صورت ۱۲:۱۲ کنترل شد. جهت جلوگیری از فشار و تغییر شرایط فیزیولوژیک، موش‌ها به مدت دو هفته در حیوانخانه مرکزی آزمایشگاه، تحت شرایط جدید قرار گرفتند. در پژوهش حاضر کلیه قوانین و نحوه رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان بر اساس دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی مستخرج از دستورهای هیلسینکی (NIH) رعایت گردید. جهت ایجاد آنفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق درون صفاقی ایزوپروترنول به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به صورت محلول در نرمال سالین در دو روز متوالی و با فاصله ۲۴ ساعت استفاده شد. برای اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، از اندازه‌گیری تروپونین I قلبی (cTnI) استفاده شد، چون بالا رفتن آنزیم‌های قلبی از قبیل تروپونین قلبی I به عنوان نشانه‌های بالینی آنفارکتوس میوکارد پیشنهاد می‌شود (۲۳). دو روز پس از آخرین تزریق، ۵ سر موش صحرایی مبتلا به سکته و ۵ سر موش صحرایی سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و نمونه‌ی خونی آن‌ها با قطره چکان روی نوار اندازه‌گیری ریخته شد. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد که سطح سرمی تروپونین I در موش‌های صحرایی مبتلا به سکته‌ی قلبی (۱۹/۴۹±۵۷۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های سالم (۸/۹۴±۸۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) بود (P<۰/۰۰۱). پس از اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد، موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۴ گروه (هر گروه ۸ سر) کنترل، تمرین، مکمل (مصرف کورکومین) و تمرین + مکمل تقسیم شدند. موش‌های صحرایی دو گروه تمرین و تمرین + مکمل جهت آشنایی با نحوه فعالیت روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی در برنامه آشنایی شرکت داده شدند. ابتدا موش‌های صحرایی به‌مدت یک هفته در طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸ تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان به فعالیت پرداختند.

تجویز کورکومین: کورکومین خالص از شرکت سیگمای آلمان تهیه و در اتانول ۹۶ درجه حل گردید. مقدار ۱۵ میلی‌گرم کورکومین به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن پنج روز در هفته و به صورت گاواژ به گروه‌های مکمل و تمرین + مکمل داده شد. برای خنثی‌سازی اثرات حلال، دوز مشابه حلال به صورت گاواژ به همه حیوانات دو گروه دیگر نیز داده شد (۱۸).

پروتکل تمرین‌هوازی: موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین و تمرین + مکمل بعد از برنامه‌ی آشنایی با تمرین به مدت هشت هفته در برنامه‌ی تمرینی هوازی روی نوارگردان الکترونیکی هوشمند حیوانی شرکت کردند که در حوالی ساعت ۱۶، انجام می‌شد. در طی دو هفته اول، دویدن به مدت ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بود که در ادامه هر دو هفته، شدت و مدت فعالیت به تدریج افزوده شد تا اینکه در دو هفته‌ی آخر شدت فعالیت‌هوازی به ۲۵ متر بر دقیقه و مدت تمرین به ۵۰ دقیقه رسید. شیب تردمیل از ابتدا تا انتهای دوره‌ی تمرین در صفر درجه ثابت ماند. در ضمن در هر جلسه تمرین، پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت پنج تا ده متر بر دقیقه انجام می‌شد. سپس برای رسیدن به سرعت مورد نظر به ازای هر دقیقه، چهار متر به سرعت نوارگردان اضافه شد تا به سرعت مورد نظر برسد (۲۴).

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه: در این تحقیق سعی بر آن بود تا حیوانات مورد مطالعه در کمترین زمان ممکن و با حداقل درد و آزار کشته شوند. تمامی موش‌های صحرایی، ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، توسط تزریق درون‌صفاقی کتامین (۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش، جراحی انجام و موش-های صحرایی تشریح شدند و در ادامه پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، بافت قلب خارج شد. استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه-های هموژن به‌مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتریفوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه نگه‌داری شد. بافت عضله قلبی نمونه‌برداری شده پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور گردیده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان‌ژن‌های فاکتورهای مورد نظر از بافت عضله قلبی به وسیله تکنیک Real PCR–time سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان‌ژن با استفاده از فرمول ctΔΔ تجزیه و تحلیل شد (۲۵). واکنش PCR با استفاده از PCRmaster mix (Applied Biosystems) و SYBR Green در دستگاه (Applied Biosystems, Sequence ABI Step One Detection Systems. Foster City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. درون هر جایگاه از Rotor 32 خانه‌ای مخلوطی به حجم ۱۰ مایکرولیتر متشکل از ۵ مایکرولیتر مخلوط اصلی سایبرگرین ، ۱ مایکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی هر ژن، یک مایکرولیتر از cDNA هرگروه (کنترل یا تحت تیمار) و ۲/۵ مایکرولیتر آب بدون RNase تهیه شد.

برنامه زمانی و دمایی واکنش Real-Time PCR انجام شده در دستگاه عبارت است از: ابتدا در یک چرخه به‌منظور فعال‌سازی آنزیم Taq پلیمراز شروع داغ و واسرشتی اولیه DNA الگو با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دوم به‌صورت متناوب در طول ۳۵-۴۰ چرخه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه به منظور واسرشتی و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه به‌منظور اتصال پرایمرها به رشته الگو و طویل شدن رشته اعمال شد. برای بررسی عملکرد و ویژگی پرایمرها و بررسی میزان تغییر در الگوی بیان-ژن‌ها، واکنش‌ها به‌صورت دوتایی به همراه یک واکنش بدون DNA الگو (NTC) نیز یک واکنش بدون آنزیم الگو (noRT) برای هر ژن انجام شد. واکنش‌ها به صورت سه تکرار تکنیکال برای هر گروه و سه تکرار واکنش Real Time در هر آزمایش انجام شد. در پایان میانگین چرخه‌های آستانه (Ct) برای هر ژن محاسبه شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول۱ ارائه شده است.

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

داده‌های جمع‌آوری شـده با اسـتفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپیرو–ویلک و تحلیل واریانس دوطرفه تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده

Gene	Primer	Products size (bp)
Gapdh (Housekeeping)	Forward	5'-CTCATGACCACAGTCCATGC -3'
	Reverse	5'-TTCAGCTCTGGGATGACCTT -3'
NRF-1	Forward	5'-AGCCCATCTCGTACCATCAC -3'
	Reverse	5'-TCGTCTGGATGGTCATTTCA -3'
NRF-2	Forward	5'-ACTCATCGATCCCCTCACTG -3'
	Reverse	5'-CTAATGGCAGCAGAGGAAGG -3'

یافته‌ها

بررسی شاخص‌های فیزیکی موش‌های صحرایی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف در وزن بدن، وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن وجود ندارد (P>۰/۰۵). با این حال بیشترین مقدار میانگین این شاخص‌ها در گروه تمرین ثبت گردید که برای وزن بدن، وزن قلب و نسبت وزن قلب به وزن بدن به ترتیب برابر ۳۳۰/۸۳ گرم، ۰/۹۱ گرم و ۲/۷۵ گرم در کیلوگرم بود. کمترین مقدار وزن بدن و وزن قلب در گروه کنترل (به ترتیب ۳۱۵ و ۰/۸۷ گرم) و کمترین مقدار نسبت وزن قلب به وزن بدن نیز در گروه تمرین + مکمل (۲/۶۳ گرم در کیلوگرم) به دست آمد.

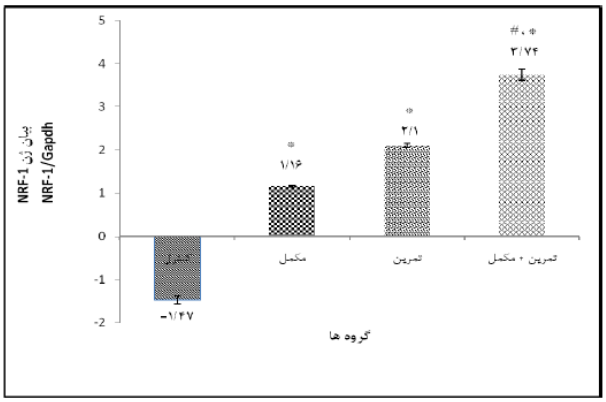
نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه در مطالعه حاضر نشان داد که تمرین-هوازی و مصرف مکمل کورکومین به‌طور معنی‌داری بیان ژن NRF-1 کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی را افزایش داده است (برای هردو عامل P<۰/۰۰۱). همچنین، اثر تعاملی معنی‌داری نیز بین تمرین‌هوازی و مصرف مکمل کورکومین مشاهده گردید (P<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

به‌طور مشابه، تمرین‌هوازی و مصرف مکمل کورکومین بیان ژن NRF-2 کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی را نیز به‌طور معنی‌داری افزایش داده است (برای هردو عامل P<۰/۰۰۱). به علاوه، در زمینه تاثیر بر NRF-2، اثر تعاملی معنی‌داری بین مصرف مکمل کورکومین و تمرین هوازی وجود داشت (P<۰/۰۰۱) (جدول ۲).

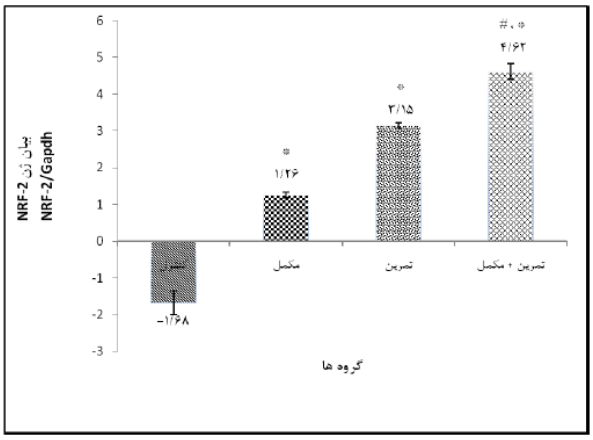
در مجموع می‌توان گفت که هر دو عامل تمرین و مصرف مکمل کورکومین به تنهایی و در تعامل با هم تاثیر معنی‌داری بر بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 میوکارد دارند.

در مرحله پس آزمون، تغییر معنی داری در نسبت لپتین پلاسما به درصد چربی بدن در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل در نتیجه ۸ هفته تمرین ورزشی ترکیبی مشاهده نشد (P = ۰/۲۴؛ t = −۱/۱۷۹).

تمرین ورزشی ترکیبی باعث کاهش معنی دار (۷/۳۱ درصد) نسبت لپتین به درصد چربی بدن در گروه تجربی شد (P = ۰/۰۰۳، t = ۳/۲۲۳). اما، مقادیر نسبت لپتین پلاسما به درصد چربی بدن قبل و پس از برنامه تمرینی در گروه کنترل معنی دار نبود (P = ۰/۵۱، t = − ۰/۶۷۲) (شکل ۵).



شکل ۱. میانگین بیان ژن NRF-1 گروه‌های مورد مطالعه (*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح معنی‌داری P<۰/۰۱، #: تفاوت معنی‌دار با گروه‌های تمرین و مکمل در سطح معنی‌داری P<۰/۰۱)



شکل ۲. میانگین بیان ژن NRF-2 گروه‌های مورد مطالعه (*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح معنی‌داری P<۰/۰۱، #: تفاوت معنی‌دار با گروه‌های تمرین و مکمل در سطح معنی‌داری P<۰/۰۱)

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس دوطرفه

شاخص		میانگین مجذورات	F	P	مجذور اتا
بیان ژن NRF-1 (NRF-1/actin)	تمرین هوازی	۵۵/۱۶۳	۸۳۲۸/۶۴۴	<۰/۰۰۱	۰/۹۹۷
	مصرف مکمل کورکومین	۲۶/۷۰۸	۴۰۳۲/۴۴۴	<۰/۰۰۱	۰/۹۹۵
	تمرین هوازی× مصرف مکمل	۱/۴۲۲	۲۱۴/۷۵۰	<۰/۰۰۱	۰/۹۱۱
بیان ژن NRF-2 (NRF-2/actin)	تمرین هوازی	۹۷/۸۱۱	۲۹۴۲/۶۹۴	<۰/۰۰۱	۰/۹۹۳
	مصرف مکمل کورکومین	۲۸/۳۰۵	۸۵۱/۵۵۵	<۰/۰۰۱	۰/۹۷۶
	تمرین هوازی× مصرف مکمل	۳/۱۶۰	۹۵/۰۷۳	<۰/۰۰۱	۰/۸۱۹

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار بیان‌ژن NRF-1 و NRF-2 کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های تمرین کرده با و بدون مصرف کورکومین نسبت

به گروه مکمل و کنترل بود. به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر سازگاری با هشت هفته تمرین استقامتی باعث القای عوامل موثر در افزایش بیان ژن‌های NRF-1و NRF-2 قلب شده است. مطالعات انجام شده قبلی نشان دادند که اختلالات متابولیکی همراه با نارسایی‌های قلبی با اختلال عملکرد میتوکندری میوکارد مرتبط هستند. علاوه بر این، کاهش ژن‌های درگیر در فسفوریالسیون اکسیداتیو میتوکندریایی در نمونه‌های حیوانی مبتلا به انفارکتوس قلبی نیز گزارش شده است. همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، کاهش بیان PGC-1αنیز به میزان قابل توجهی در عضلات بیماران قلبی گزارش شده است، بنابراین با توجه به اختلال عملکرد میتوکندری و تنظیم کاهشی بیان و سطوح پروتئینی PGC-1α ممکن است که افزایش بیوژنز و بازسازی عملکرد میتوکندری به بیماران قلبی کمک کند تا وضعیت متابولیکی خود را بهبود بخشند (۲۶). همچنین، افزایش PGC-1α، NRF-1 و NRF-2 نشان می‌دهد که تمرین‌هوازی می‌تواند سوخت و ساز انرژی را از طریق افزایش تنظیم‌کننده‌های بیوژنز میتوکندریایی بهتر نموده و آسیب میوکارد ایجاد شده به وسیله‌ی انفارکتوس میوکارد را بهبود بخشد (۲۷). احتمالاً تنش ناشی از تمرین‌هوازی به عنوان محرکی قوی باعث اتساع عروق و افزایش جریان خون میوکارد شده و با تاثیر بر بهتر شدن رهایش کلسیم در اثر کاهش غلظت میتوکندری، علاوه بر افزایش کلسیم سیتوزولی، غلظت کلسیم ماتریکس میتوکندری را نیز سبب شده که سطح کلسیم را به حد کافی افزایش داده و دهیدروژنازهای ماتریکس را فعال می‌کند (۱۳). یک کیناز اثرگذار فرو دست بر مسیر پیام‌رسانی کلسیم یعنی پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین نسخه برداری از DNA میتوکندری به همراه پیش تنظیمی آنزیم‌های میتوکندری را افزایش می‌دهد (۱۰). برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که افزایش محتوای DNA میتوکندری می‌تواند ناشی از افزایش NRF-1 و NRF-2 باشد. افزایش محتوای DNA میتوکندری ممکن است بخشی از یک پاسخ سازگارانه باشد که به سلول کمک می‌کند تا افت عملکرد میتوکندری مربوط به افزایش سن و بیماری‌هایی مثل انفارکتوس میوکارد را جبران نماید (۲۸). در این زمینه، عوامل مختلفی مانند فعالیت‌بدنی و ترکیبات فیتوشیمیایی بر بیان بسیاری از ژن‌ها تأثیر دارند (۱۰). نشان داده شده است که فعالیت‌بدنی بیوژنز میتوکندریایی را از طریق افزایش بیان PGC-1α به واسطه مسیر گیرنده بتا آدرنرژیک/ cAMP افزایش داده و باعث بازیابی عملکرد میتوکندری از طریق مهار تغییر شکل پاتولوژیک[۱] دینامیک میتوکندری می‌شود که می‌تواند با فعال-سازی پیام‌رسانیERK1/2-JNK-P53 مرتبط باشد (۱۱). به‌طور کلی افزایش مقادیر CaMK و سطوح کلسیم شبکه اندوسارکوپلاسمی با تاثیر بر عوامل بالادستی بیوژنز میتوکندریایی، میتوژنز فعال شده با پروتئین کینازهایی از قبیل PGC-1α را توسط NRF-1 و NRF-2 افزایش می‌دهد. PGC-1αفعال شده توسط تمرین استقامتی به فاکتور رونویسی متصل شده و بیان ژن‌های میتوکندری که در هسته واقع شده‌اند را تنظیم می‌کند و همچنین در فعال‌سازی NRF-1,2 و Tfam موثر است (۱۲). البته نتایج برخی مطالعات فرضیه‌ای را مطرح می‌کند که نشان می‌دهد افزایش مشاهده شده در NRF-1، NRF-2 و Tfam مستقل از فعال سازی PGC-1α و گونه‌های فعال اکسیژن است که احتمالاً نشان دهنده‌ی دخالت مکانیزم‌های تنظیمی دیگری می‌باشد (۲۸) که نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

از طرف دیگر نشان داده شده برخی پلی فنول‌ها،[۲] آدنوزین مونو فسفات حلقوی (cAMP) را فعال می‌کنند و در حال حاضر به عنوان القا کننده ذاتی بیوژنز میتوکندریایی تحت بررسی هستند. یکی از این پلی فنول‌ها کورکومین[۳] است که می‌تواند از آسیب ناشی از ایسکمی- خون‌رسانی بافت قلبی جلوگیری نموده و بیوژنز میتوکندریایی را افزایش دهد (۱۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مکمل کورکومین به صورت معنی‌داری بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2کاردیومیوسیت‌ها را افزایش می‌دهد. در همین راستا گزارش شده است که استفاده طولانی مدت از کورکومین به عنوان مکمل غذایی در رت‌ها، بیان پروتئین PGC-1α را افزایش داده و پتانسیل غشای میتوکندری و سطوح ATP را بهبود بخشیده است (۱۳). متاسفانه تحقیقات محدودی در این زمینه انجام شده است. مهم‌ترین یافته‌ی تحقیق حاضر این بود که اگرچه ما پس از هشت هفته تمرین استقامتی و مصرف مکمل کورکومین شاهد افزایش بیان ژن‌های عوامل تنفسی هسته بودیم، اما میزان تغییرات در گروه تمرین + مکمل نسبت به گروه‌های تمرین و مکمل افزایش بیشتری داشت. این یافته ها نشان دهنده تاثیر تمرین هوازی در محافظت از بروز نقص میتوکندریایی در دوران سکته قلبی است. اگرچه دلیل اصلی آن هنوز کامل مشخص نیست، اما این احتمال وجود دارد که سطح بالای PGC-1α در دوره تمرین ورزشی بتواند از کیفیت میتوکندریایی در این دوران محافظت کند (۲۹) که عدم اندازه‌گیری PGC-1α و برخی دیگر از شاخص‌های بیوژنز میتوکندریایی جز محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌باشد و پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آتی مورد مطالعه قرار بگیرند.

در نهایت این که شواهد زیادی نشان می‌دهند که افزایش فعالیت جسمانی یا یک سبک زندگی فعال تأثیر مثبتی بر سلامت قلب و عروق در انسان‌ها دارد (۱۵). ورزش می‌تواند به عنوان یک جایگزین مؤثر و بی‌خطر برای داروها جهت بهبود نارسایی‌های قلبی بعد از انفارکتوس قلبی در نظر گرفته شود (۳۰). به‌طور جالب، تمامی فرایندهای رگ‌زایی، نورون‌زایی و سیناپس‌زایی که در بهبود نارسایی‌های قلبی عروقی به واسطه ورزش نقش دارند، نیازمند تأمین انرژی فراوان از سوی میتوکندری‌های سلول‌های قلبی می‌باشند. در واقع، اختلالات میتوکندریایی به عنوان یکی از فرضیه‌های رایج در فرایند بیماری‌های قلبی مطرح بوده و شواهد زیادی نشان می‌دهند که اختلال در پویایی میتوکندریایی و عدم تعادل بین شکافت و هم‌جوشی میتوکندریایی در پیری و بیماری‌های قلبی دخیل است (۳۰). نتایج پژوهش حاضر نیز برای اولین بار اثر تعاملی مثبت و معنی‌دار تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر عوامل تنفسی هسته را در موش‌های صحرایی مبتلا به سکته قلبی مورد تایید قرار داد، ولی با این حال در این زمینه نیاز به مطالعات بیشتر و بررسی شاخص‌های دیگری از بیوژنز میتوکندریایی لازم به نظر می‌رسد که به خاطر برخی محدودیت‌ها در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار نگرفته است.

نتیجه‌گیری

۱- Pathological deformity
۲- Polyphenols
۳- Curcumin

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

تمرین و مصرف مکمل کورکومین به تنهایی و در تعامل با هم موجب افزایش بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 میوکارد گردیده است که تاثیر عامل تمرین بیشتر از مصرف کورکومین بوده است.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که در این پژوهش ما را همراهی کردند، سپاسگزاری می-شود پژوهش حاضر با کد پژوهشی (۱۰۲۴۸۱۵۸۰۲۰۱۲۷۱۱۳۹۸۱۶۲۲۸۰۸۲۴) در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تایید و انجام گرفته است.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

منابع

1. Weinberg F, Hamanaka R, Wheaton WW, Weinberg S, Joseph J, Lopez M, et al. Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(19):8788-93.
2. Gibellini L, Bianchini E, De Biasi S, Nasi M, Cossarizza A, Pinti M. Natural compounds modulating mitochondrial functions. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2015;2015.
3. Halling JF, Ringholm S, Olesen J, Prats C, Pilegaard H. Exercise training protects against aging-induced mitochondrial fragmentation in mouse skeletal muscle in a PGC-1α dependent manner. Experimental Gerontology. 2017;96:1-6.
4. Faheem NM, El Askary A. Neuroprotective role of curcumin on the hippocampus against the structural and serological alterations of streptozotocin-induced diabetes in Sprague Dawely rats. Iranian journal of basic medical sciences. 2017;20(6):690.
5. Irrcher I, Adhihetty PJ, Sheehan T, Joseph A-M, Hood DA. PPARγ coactivator-1α expression during thyroid hormone- and contractile activity-induced mitochondrial adaptations. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2003;284(6):C1669-C77.
6. Iqbal S, Ostojic O, Singh K, Joseph AM, Hood DA. Expression of mitochondrial fission and fusion regulatory proteins in skeletal muscle during chronic use and disuse. Muscle & nerve. 2013;48(6):963-70.
7. Kang C, Chung E, Diffee G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1α. Experimental gerontology. 2013;48(11):1343-50.
8. Adhihetty PJ, Uguccioni G, Leick L, Hidalgo J, Pilegaard H, Hood DA. The role of PGC-1α on mitochondrial function and apoptotic susceptibility in muscle. American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2009;297(1):C217-C25.
9. Taherzadeh-Fard E, Saft C, Akkad DA, Wieczorek S, Haghikia A, Chan A, et al. PGC-1alpha downstream transcription factors NRF-1 and TFAM are genetic modifiers of Huntington disease. Molecular neurodegeneration. 2011;6(1):1-8.
10. He Z, Hu Y, Feng L, Lu Y, Liu G, Xi Y, et al. NRF2 genotype improves endurance capacity in response to training. International journal of sports medicine. 2007;28(09):717-21.
11. Blesa JR, Prieto-Ruiz JA, Hernández JM, Hernández-Yago J. NRF-2 transcription factor is required for human TOMM20 gene expression. Gene. 2007;391(1-2):198-208.
12. Fabregat-Andres O, Tierrez A, Mata M, Estornell-Erill J, Ridocci-Soriano F, Monsalve M. Induction of PGC-1α expression can be detected in blood samples of patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. PloS one. 2011;6(11):e26913.
13. de Oliveira MR, Jardim FR, Setzer WN, Nabavi SM, Nabavi SF. Curcumin, mitochondrial biogenesis, and mitophagy: Exploring recent data and indicating future needs. Biotechnology advances. 2016;34(5):813-26.
14. Tao L, Bei Y, Lin S, Zhang H, Zhou Y, Jiang J, et al. Exercise training protects against acute myocardial infarction via improving myocardial energy metabolism and mitochondrial biogenesis. Cellular Physiology and Biochemistry. 2015;37(1):162-75.
15. Lin J, Handschin C, Spiegelman BM. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. Cell metabolism. 2005;1(6):361-70.
16. Dixit S. Can moderate intensity aerobic exercise be an effective and valuable therapy in preventing and controlling the pandemic of COVID-19? Medical hypotheses. 2020.
17. Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Rizza RA, Coenen-Schimke JM, et al. Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity. Diabetes. 2003;52(8):1888-96.
18. Zhao Y-C, Fu J-M, Gao B-H. Effects of different intensity exercise training on apoptosis-related microRNAs and the targeted proteins in cardiomyocytes. Zhongguo ying yong sheng li xue za zhi= Zhongguo yingyong shenglixue zazhi= Chinese journal of applied physiology. 2018;34(1):93-6.
19. Alabaf yousefi F, Pouzesh Jadidi R, BASHIRI J, Azali Alamdari K, Vakili J. The Effects of HIIT and Curcumin Supplementation on CD31+ Capillary Cell Count and the Expression of VEGF and MMP9 of Left Ventricle in Isoproterenol Induced Myocardial Infraction Model Rats %J Journal of Sport Biosciences. 2021;13(2):179-94.
20. Majidi A, Poozesh Jadidi R, Nourazar MAR, Bashiri J, Azali Alamdari KJSP. Effects of Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Cardiomyocyte Apoptosis and MiRNAs Expression in Rats Exposed to Arsenic. 2020;12(48):39-60.
21. Pouzesh Jadidi G, Seifi-Skishahr F, Bolboli L, Azali Alamdari K, Pourrahim Ghouroghch A. Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventriclular miR-133 and miR-1 gene expression levels in isoproterenol induced myocardial infarction rat model %J Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport. 2021:-.
22. Ebadi B, Damirchi A, Alamdari K, Darbandi-Azar A, Naderi N. Cardiomyocyte mitochondrial dynamics in health and disease and the role of exercise training: A brief review. 2018;7(3):107-15.
23. Afroz R, Tanvir E, Karim N, Hossain M, Alam N, Gan SH, et al. Sundarban honey confers protection against isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. BioMed Research International. 2016;2016.
24. Medicine ACoS. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
25. Sun J, Brown TT, Samuels DC, Hulgan T, D'Souza G, Jamieson BD, et al. The role of mitochondrial DNA variation in age-related decline in gait speed among older men living with human immunodeficiency virus. Clinical Infectious Diseases. 2018;67(5):778-84.
26. Pace C, Dagda R, Angermann J. Antioxidants protect against arsenic induced mitochondrial cardio-toxicity. Toxics. 2017;5(4):38.
27. Ping Z, Zhang L-f, Cui Y-j, Chang Y-m, Jiang C-w, Meng Z-z, et al. The protective effects of salidroside from exhaustive exercise-induced heart injury by enhancing the PGC-1α–NRF1/NRF2 pathway and mitochondrial respiratory function in rats. Oxidative medicine and cellular longevity. 2015;2015.
28. Koltai E, Hart N, Taylor AW, Goto S, Ngo JK, Davies KJ, et al. Age-associated declines in mitochondrial biogenesis

and protein quality control factors are minimized by exercise training. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2012;303(2):R127-R34.
29. Gorzi A, Ekradi S. The effect of intake duration of curcumin supplementation during strenuous endurance training on GPX activity and MDA levels of liver, heart and skeletal muscle in male Wistar rats. Sport Physiology. 2020;12(46):139-56.
30. Yan B, Wang H, Tan Y, Fu W. microRNAs in cardiovascular disease: small molecules but big roles. Current topics in medicinal chemistry. 2019;19(21):1918-47.

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University