Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

Effect of Aerobic Training with Curcumin Supplementation on Cardiomyocyte MFN2 and Drp1 Gene Expression level in Rat Model of Myocardial Infarction

Majid Seifi Azar Nezhad[1], Roghayeh Pouzesh Jadidi[2]✉, Jabbar Bashiri[3], Masoud Asgharpour-Arshad[4]

1. Department of Physical Education, Faculty of Education and Humanities, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.Mobile Phone:09144146676,E-mail: majid.seifiazar@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Physical Education, Faculty of Education and Humanities, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Mobile Phone: 09141084045, E-mail: poozesh@iaut.ac.ir
3. Department of Physical Education, Faculty of Education and Humanities, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Mobile Phone:09141081309,E-mail: bashiri.jabbar@iaut.ac.ir
4. Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Basic Sciences, Amin Police University, Tehran, Iran. Mobile Phone: 09141041599, E-mail: masoud.asgharpour@uma.ac.ir

Article Info

Article type:
Research

Article history:
Received:
23 October 2022
Received in revised form:
23 October 2022
Accepted:
23 October 2022
Published online:
23 October 2022

Keywords:
Aerobic training,
Curcumin,
Drp1
MFN2.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this research was to investigate the effect of 8 weeks of aerobic training and curcumin supplementation on mitochondrial Drp1 and MFN2 genes expression in cardiomyocytes of male myocardial infarction (MI) model rats.

Methods: In the present experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups of control (MI), training (MI), curcumin (MI), and Concomitant (MI) following intraperitoneal injection of isoproterenol (100 mg/kg) for two consecutive days to induce myocardial infarction. Aerobic exercise was performed for eight weeks of moderate-intensity running on a treadmill, and Curcumin was administrated through oral gavage 15 mg/kg a day. At the end of the intervention, Drp1 and MFN2 genes expression in cardiomyocytes was measured by Real-time PCR method. The data were analyzed using two way and one way ANOVA respectively at $p<0.05$.

Results: In training (MI), curcumin (MI), and Concomitant (MI) groups, Drp1 gene expression was lower and MFN2 gene expression was higher than the control (MI) group ($p<0.05$ in all cases). In the Concomitant (MI) group, compared to both curcumin (MI) and training (MI) groups, the effect value on both variables MFN2 ($p=0.006$ and $p=0.019$) and DRP1 ($p=0.006$ and $p=0.011$) p) was more. **Conclusion**: Aerobic training and curcumin consumption can probably increase the fusion and decrease the fission of mitochondria in cardiomyocytes of male myocardial infarction model rats. However, due to research limitations, further investigation is still needed.

Cite this article: Seifi Azar Nezhad M; Pouzesh Jadidi R; Azali Alamdari K; Bashiri J, Asgharpour-Arshad M. Effect of 8 Weeks of Aerobic Training with Curcumin Supplementation on Mitochondrial Cardiomyocyte Drp1 and MFN2 Genes Expression in Myocardial Infarction Male Rats Model. *Journal of Sport Biosciences*. 2023; 16 (3): 5-20.
DOI: http//doi.org/10.22059/JSB.2024.366233.1610.

Journal of Sport Biosciences by University of Tehran Press is licensed under CC BY-NC 4.0. | Web site: https://jsb.ut.ac.ir/ | Email: jsb@ut.ac.ir.

© The Author(s). Publisher: University of Tehran Press.

Journal of Sport Biosciences
University of Tehran Press
Online ISSN: 2676-4148

Extended Abstract

Introduction

Myocardial infarction (MI) is the main cause of heart failure in adults, and the most important strategy today for MI patients is to open the closed coronary arteries (reperfusion). However, following ischemia-reperfusion (I/R), cell death, tissue damage, and cardiac muscle dysfunction are likely (1) and are still a completely effective treatment to protect the heart against myocardial I/R-induced injury in MI patients. There is no (2). Therefore, identifying and developing new methods to prevent these injuries are very necessary. In animal samples, the study of molecular signaling pathways of various processes is usually done through the study of MI models caused by peritoneal injection of isopretrenol, which with ease, high reproducibility and low mortality risk (3), leads to stroke-like necrosis (4) and many failures. The morphological and metabolic features of the heart tissue are similar to the conditions of obstructive heart attack in humans (5). But the I/R created in the conditions following MI is usually associated with changes in the dynamics of cardiac mitochondria (1, 6, 7).

In this regard, it should be mentioned that the heart is an organ with a very high energy requirement and more than 90% of its ATP is provided by mitochondria. Mitochondria occupy 30-40% of the volume of each adult mammalian cardiomyocyte and apart from providing energy, they participate in a wide range of biological functions such as regulating calcium and reactive oxygen species messages (8), but mitochondria, especially in the heart, are responsible for the response To different stimuli, they are constantly restructuring themselves (mitochondrial dynamics) and also move through the cytoskeleton (9). During this dynamic active transformation (mitochondrial dynamics), mitochondria are constantly fusing and fissioning, through fusion a network of interconnected and elongated mitochondria is created (with the aim of compensating for each other's defects and deficiencies) and through fission, fragmented mitochondria and separate is created, which will lead to the removal of damaged mitochondria by mitophagy (10). In general, mitochondrial dynamics is coordinated with the bioenergetics and messaging functions of mitochondria. Generally, fusion leads to increased efficiency of mitochondrial respiration (more ATP production) and resistance to stress-induced dysfunction, whereas fission has the opposite effects (11).

Methods

In the present experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups of control (MI), training (MI), curcumin (MI), and Concomitant (MI) following intraperitoneal injection of isoproterenol (100 mg/kg) for two consecutive days to induce myocardial infarction. Aerobic exercise was performed for eight weeks of moderate-intensity running on a treadmill, and Curcumin was administrated through oral gavage 15 mg/kg a day. At the end of the intervention, Drp1 and MFN2 genes expression in cardiomyocytes was measured by Real-time PCR method. The data were analyzed using two way and one way ANOVA respectively at $p<0.05$.

Results

In training (MI), curcumin (MI), and Concomitant (MI) groups, Drp1 gene expression was lower and MFN2 gene expression was higher than the control (MI) group ($p<0.05$ in all cases). In the Concomitant (MI) group, compared to both curcumin (MI) and training (MI) groups, the effect value on both variables MFN2 ($p=0.006$ and $p=0.019$) and DRP1 ($p=0.006$ and $p=0.011$) p) was mor.

Conclusion

Aerobic training and curcumin consumption can probably increase the fusion and decrease the fission of mitochondria in cardiomyocytes of male myocardial infarction model rats. However, due to research limitations, further investigation is still needed.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines: The present study follows the ethical principles approved by the research ethics committee of medical studies with the ethics code:
IR.TABRIZU.REC.1399.054

Funding: The present study is extracted from a doctoral dissertation and received no funding.

Authors' contribution: All authors have equally contributed to the article

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

علوم زیستی ورزشی
انتشارات دانشگاه تهران
شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۴۱۴۸

اثر تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های Drp1 و MFN2 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های مدل سکتهٔ قلبی

مجید سیفی آذرنژاد[۱]، رقیه پوزش جدیدی[۲]✉، جبار بشیری[۳]، مسعود اصغرپور ارشد[۴]

۱. گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی و تربیتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: majid.seifiazar@gmail.com
۲. نویسندهٔ مسئول، گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی و تربیتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: poozesh@iaut.ac.ir
۴. گروه تربیت بدنی، دانشکده علوم انسانی و تربیتی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: bashiri.jabbar@iaut.ac.ir
۵. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران. رایانامه: masoud.asgharpour@uma.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/ ۱۱/۰۳
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۹/۳۰

کلیدواژه‌ها:
تمرین هوازی،
کورکومین،
Drp1،
MFN2.

چکیده

مقدمه: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Drp1 و MFN2 میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکتهٔ قلبی بود.

روش پژوهش: در مطالعهٔ تجربی حاضر ۳۲ سر موش صحرایی نر پس از القای سکتهٔ قلبی توسط تزریق ایزوپروترنول (100 mg/kg.day) در دو روز متوالی به‌صورت تصادفی به چهار گروه سکته کنترل، سکته تمرین، سکته کورکومین، و سکته توأم تقسیم شدند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته به‌صورت دویدن با شدت متوسط روی نوار گردان انجام شد و کورکومین نیز روزانه با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت گاواژ مصرف شد. در پایان مداخله، بیان ژن‌های Drp1 و MFN2 کاردیومیوسیت‌ها با روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد. داده‌ها به‌ترتیب با تحلیل واریانس دوراهه و تکراهه در سطح اطمینان P<۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه‌های سکته تمرین، سکته کورکومین و سکته توأم، بیان ژن Drp1 کمتر و بیان ژن MFN2 بیشتر از گروه سکته کنترل بود (P<۰/۰۵ در همهٔ موارد). در گروه سکته توأم به‌ترتیب نسبت به هر دو گروه سکته کورکومین و سکته تمرین، مقدار اثرگذاری بر هر دو متغیر MFN2 (P=۰/۰۰۶ و P=۰/۰۱۹) و DRP1 (P=۰/۰۰۶ و P=۰/۰۱۱) بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: تمرین هوازی و مصرف کورکومین احتمالاً می‌تواند سبب افزایش همجوشی و کاهش شکافت میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های موش‌های نر مدل سکتهٔ قلبی شود. با این حال، به‌دلیل محدودیت‌های تحقیق، همچنان نیاز به بررسی بیشتر باقی است.

استناد: سیفی آذرنژاد، مجید؛ پوزش جدیدی، رقیه؛ آزالی علمداری، کریم؛ بشیری، جبار؛ اصغرپور ارشد، مسعود. اثر تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های Drp1 و MFN2 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های مدل سکتهٔ قلبی. *نشریهٔ علوم زیستی ورزشی*. ۱۴۰۲، (۳)۱۶، ۲۰-۵.

DOI: http//doi.org/10.22059/JSB.2024.366233.1610.

دسترسی به این نشریه علمی، رایگان است و حق مالکیت فکری خود را بر اساس لایسنس کریتیو کامنز (CC BY-NC 4.0) به نویسندگان واگذار کرده است.| آدرس نشریه: https://jsb.ut.ac.ir/ | ایمیل: jsb@ut.ac.ir

ناشر: انتشارات دانشگاه تهران. © نویسندگان

مقدمه

سکتهٔ قلبی (MI) عامل اصلی نارسایی قلبی در بزرگسالان است که مهم‌ترین استراتژی امروزی برای بیماران MI، باز کردن شریان‌های کرونری بسته‌شده (تزریق مجدد) است. اما به‌دنبال تزریق مجدد متعاقب ایسکمی (I/R)، مرگ‌ومیر سلولی، آسیب بافتی و اختلال عملکرد عضلهٔ قلبی محتمل است [۱] و هنوز درمان کاملاً مؤثری برای حفاظت از قلب در برابر آسیب ناشی I/R میوکارد در بیماران MI وجود ندارد [۲]. بنابراین شناسایی و توسعهٔ روش‌های جدید جلوگیری از این آسیب‌ها بسیار ضروری است. در نمونه‌های حیوانی به‌طور معمول مطالعهٔ مسیرهای مولکولی پیام‌رسانی فرایندهای مختلف از طریق مطالعهٔ مدل‌های MI ناشی از تزریق صفاقی ایزوپرترنول انجام می‌گیرد که با سهولت، قابلیت تکرارپذیری بالا و خطر مرگ‌ومیر پایین [۳]، به ایجاد نکروز شبه‌سکته منجر می‌شود [۴] و بسیاری از نارسایی‌های مورفولوژیک و متابولیکی بافت قلب را مشابه با شرایط سکتهٔ قلبی انسدادی در انسان نمایش می‌دهد [۵]. اما I/R ایجادشده در شرایط متعاقب MI، به‌طور معمول با تغییر در دینامیک میتوکندری‌های قلبی نیز همراه می‌شود [۱، ۶، ۷].

در این زمینه باید گفت قلب اندامی با نیاز انرژی بسیار بالاست و بیش از ۹۰ درصد ATP آن توسط میتوکندری‌ها تأمین می‌شود. میتوکندری‌ها ۳۰ تا ۴۰ درصد از حجم هر کاردیومیوسیت پستانداران بزرگسال را اشغال کرده‌اند و به‌غیر از تأمین انرژی، در دامنهٔ گسترده‌ای از عملکردهای زیستی مانند تنظیم پیام‌های کلسیم و گونه‌های فعال اکسیژن مشارکت می‌کنند [۸]، اما میتوکندری‌ها به‌ویژه در قلب برای پاسخ به محرک‌های مختلف، پیوسته در حال تجدید ساختار خود (دینامیک میتوکندری) هستند و همچنین از طریق اسکلت سلولی جابه‌جا می‌شوند [۹]. طی این تغییر شکل فعال پویا (دینامیک میتوکندری)، میتوکندری‌ها پیوسته همجوشی[۲] و شکافت[۳] می‌یابند که از طریق همجوشی شبکه‌ای از میتوکندری‌های به‌هم‌پیوسته و طویل ایجاد می‌شود (با هدف جبران نقص‌ها و کمبودهای یکدیگر) و از طریق شکافت، میتوکندری‌های قطعه‌قطعه و مجزا ایجاد می‌شود که به حذف میتوکندری‌های دچار آسیب توسط میتوفاژی[۴] منجر خواهد شد [۱۰]. در کل دینامیک میتوکندری با بیوانرژی و عملکردهای پیام‌رسانی میتوکندری‌ها هماهنگی دارد. اغلب همجوشی به افزایش کارایی تنفس میتوکندریایی (تولید ATP بیشتر) و مقاومت به اختلال عملکرد ناشی از استرس منجر می‌شود، درحالی‌که شکافت تأثیرات معکوسی دارد [۱۱].

شایان ذکر است که Drp- 1[۵] و Mfn 2[۶] به‌ترتیب مهم‌ترین پروتئین‌های دخیل در شکافت و همجوشی میتوکندری‌ها هستند [۱۲]. این پروتئین‌ها در بازسازی کریستای میتوکندریایی نقش دارند و در زمان آسیب و استرس سلولی قادرند خود را جمع کنند و به شکل حلقه به دور میتوکندری بپیچند تا تجزیهٔ قسمت آسیب‌دیده توسط فرایند تقسیم یا تکه‌تکه شدن میتوکندری را انجام دهند یا اینکه سبب همجوشی بین میتوکندری‌های کوچک‌تر شوند [۱۳]. اصولاً تقسیم نهایی توسط Drp 1 کنترل شده و همجوشی غشایی به‌واسطهٔ MFN تسهیل می‌شود (۱۰). بنابراین بررسی این دو پروتئین و بیان ژن‌های آنها می‌تواند اطلاعات مناسبی از دینامیک میتوکندری‌ها فراهم کند [۹].

از سویی، دینامیک میتوکندری و به‌ویژه شکافت بیشتر میتوکندری‌ها نقش مهمی در آسیب ناشی از I/R قلبی دارد و تغییر در دینامیک میتوکندری حتی به آسیب قلب نیز منجر می‌شود [۱۴]. به‌طور معمول افزایش شکافت میتوکندری‌های قلبی، علت اصلی اختلال عملکرد قلب است. بنابراین بیان شده است که راهبردهای درمانی صحیح باید برای مبارزه با آسیب‌های ناشی از I/R، به تنظیم توازن دینامیک میتوکندری‌ها متمرکز شوند [۱]. افزون بر این باید اشاره شود که بیان عوامل مربوط به دینامیک میتوکندری تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارد. تمرین ورزشی سبب بازیابی عملکرد میتوکندری از طریق مهار تغییر شکل پاتولوژیک[۷] دینامیک میتوکندری می‌شود که می‌تواند با فعال‌سازی سیگنالینگ ERK1/2-JNK-P53 و افزایش بیان PGC-1α[۸] مرتبط باشد [۱۵]. در این زمینه بین ظرفیت تنفسی میتوکندری

1. Ischemia/Reperfusion (I/R)
2. Fusion
3. Fission
4. Mitophagy
5. Dynamin related protein-1
6. Mitofusin-2
7. Pathological deformity
8. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

با سطوح mRNA پروتئین‌های Mfn2 وDrp1 آزمودنی‌ها در اثر تمرین، همبستگی مشاهده شده است که نشان از نقش بارز دینامیک میتوکندریایی بر بهبود ظرفیت تنفسی دارد [۱۶].

اما در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر دینامیک میتوکندری‌های قلبی بیماران ایسکمی قلبی نیز اطلاعات مستدلی وجود دارد [۱۷] و حتی در موش‌های مدل MI نیز مشاهده شده است که تمرین هوازی می‌تواند تأثیرات مثبتی بر دینامیک میتوکندری‌های قلبی ایجاد کند [۱۸]. عبادی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند که در موش‌های دچار MI، تنها تمرین تداومی با شدت متوسط به بهبود همجوشی میتوکندری و افزایش پروتئین‌های مسئول آن منجر می‌شود و تمرین تناوبی با شدت بالا و پایین با وجود افزایش MFN2 و PGC-1α و کاهش DRP1، قادر به تغییر مفید در همجوشی و شکاف میتوکندری‌ها نبود [۱۹]. بنابراین به‌نظر می‌رسد که استفاده از تمرینات هوازی مداوم و با شدت متوسط از لحاظ بهبود دینامیک میتوکندری‌های قلبی در شرایط متعاقب MI، از اولویت برخوردار باشد.

علاوه بر این در سال‌های اخیر تأثیر انواع مداخلات مختلف از جمله مکمل‌های غذایی بر درمان MI بررسی شده است. در این خصوص شواهد بسیاری از قابلیت‌های محافظت‌کنندهٔ قلبی کورکومین (فراوردهٔ زردرنگ گیاه زردچوبه [۲۰] حمایت کرده‌اند [۲۱، ۲۲] و اخیراً نقش کورکومین در آسیب‌های ناشی از I/R در میوکارد نیز تأیید شده است [۲۳].

اما اگرچه شواهد مربوط به سایر بافت‌های بدن و در شرایط غیر سکته، از تأثیر کورکومین بر دستکاری دینامیک میتوکندری‌های کلیه [۲۴] شبکیهٔ چشم [۲۵] و نورون‌ها [۲۶] حمایت کرده‌اند و تأثیر کورکومین بر بهبود دینامیک میتوکندری بعد از سپزیس (عفونت خون)[1]نیز تأیید شده است که به تنظیم فعالیت پروتئین‌های درگیر در دینامیک میتوکندری از جمله DRP1 از طریق افزایش SIRT1 ربط داده شده است که می‌تواند سبب و همچنین افزایش PGC-1α منجر شود که در فرودست خود از طریق افزایش بیوژنز میتوکندری، به سنتز میتوکندری‌های سالم جدید و بهبود کیفیت میتوکندری‌ها منجر خواهد شد [۲۷]، ولی هنوز هم تأثیر مصرف مکملی آن بر تغییر دینامیک میتوکندری‌های قلبی پس از MI تعیین نشده است که نیز به بررسی مستقیم در این زمینه را مطرح می‌کند.

با توجه به انتظار اثرگذاری تمرینات هوازی و کورکومین بر بهبود دینامیک میتوکندری‌های قلبی در شرایط متعاقب MI، در این تحقیق به بررسی اثر همزمان تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر بیان ژن‌های درگیر در دینامیک میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های قلبی شامل Drp1 و MFN2 در موش‌های نر مدل سکتهٔ قلبی ناشی از ایزوپرترنول پرداخته شد و انتظار می‌رود که نتایج آن بتواند در حوزهٔ بالینی از اهمیت کاربردی برخوردار باشد.

روش‌شناسی پژوهش

پژوهش حاضر از نوع کاربردی و به روش تجربی بود. ۴۰ سر موش صحرایی نر ۱۶ هفته‌ای در شرایط دمایی ۲±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد تحت چرخهٔ خواب و بیداری (۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. تمامی قوانین و نحوهٔ رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بی‌هوشی و کشتن حیوان بر اساس (NIH) رعایت شده و روش آن توسط کمیتهٔ اخلاق دانشگاه تبریز با شناسهٔ IR.TABRIZU.REC.1399.054 تأیید شد.

ابتدا موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به پنج گروه (هشت‌تایی) شامل سالم کنترل، سکته کنترل، سکته تمرین، سکته کورکومین و سکتهٔ توأم (شامل تمرین و مکمل) تقسیم شدند و به‌غیر از گروه سالم کنترل (که فقط برای تأیید سکته در نظر گرفته شده بود)، بقیهٔ موش‌های

[1] Sepsis

صحرایی شامل ۳۲ سر طی دو روز متوالی تحت تزریق درون‌صفاقی ایزوپروترنول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در روز قرار گرفتند. دو روز پس از تزریق ایزوپرترنول، مشابه با مطالعات گذشته [۲۸، ۲۹] از گوشهٔ چشم گروه‌های کنترل سالم و کنترل سکته نمونهٔ خونی اخذ شد و تأیید بروز سکته از طریق مقایسهٔ بین‌گروهی سطوح تروپونین و همچنین فعالیت آنزیم‌های کراتین‌کیناز و لاکتات‌دهیدروژناز قلبی گردش خون انجام شد.

جدول ۱. فعالیت آنزیم‌های قلبی جهت تأیید بروز آنفارکتوس میوکارد

گروه	فعالیت کراتین کیناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	فعالیت لاکتات دهیدروژناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	تروپونین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
کنترل سالم	۲۸۶/۳۷ ± ۱۶/۲۰	۲۳۶/۷۵ ± ۱۳/۰۶	۰/۷۷ ± ۰/۱۰
کنترل سکته	۳۲۴/۵ ± ۱۶/۵۱	۲۸۶/۸۷ ± ۱۶/۰۷	۰/۹۰ ± ۰/۱۲
P بین‌گروهی	٭ ۰/۰۰۱	٭ ۰/۰۰۱	٭ ۰/۰۳۹

٭: تفاوت معنادار (P<۰/۰۵).

در ادامه موش‌های صحرایی گروه‌های تمرین سکته تمرین و سکته توأم با پروتکل ورزشی در طی یک هفته (شامل پنج جلسه دویدن روی نوار گردان با سرعت پنج تا ۱۰متر بر دقیقه) آشنا شدند. سپس برنامهٔ تمرین به مدت هشت هفته آغاز شد که پنج روز در هفته حوالی ساعت ۱۶ انجام می‌شد. طی دو هفتهٔ اول، دویدن به مدت ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه بود که در ادامهٔ هر دو هفته، شدت و مدت فعالیت به‌تدریج افزوده شد تا اینکه در دو هفتهٔ آخر شدت فعالیت هوازی به ۲۵ متر بر دقیقه و مدت فعالیت به ۵۰ دقیقه رسید (جدول ۲). شیب تردمیل از ابتدا تا انتهای دورهٔ تمرین در صفر درجه ثابت ماند. در ضمن در هر جلسهٔ تمرین، پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت پنج تا ۱۰ متر بر دقیقه انجام می‌شد [۳۰].

جدول ۲. جزئیات برنامهٔ تمرین در دورهٔ مداخله

شاخص	هفته								
	آشنایی	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم	هشتم
سرعت (متر در دقیقه)	۵–۱۰	۱۰	۱۰	۱۵	۱۵	۲۰	۲۰	۲۵	۲۵
مدت (دقیقه)	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
شیب (درصد)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

گروه‌های سکته کورکومین و سکته توأم، مکمل کورکومین را روزانه با دوز ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن [۲۲] به‌صورت حل‌شده در ۴ میلی‌لیتر آب مقطر) طی دو وهله (که در هر وهله نصف دوز به‌صورت گاواژ خوراکی دریافت کردند [۳۱].

سپس حیوانات ۲۴ ساعت پس از آخرین مداخله با آورتین بی‌هوش (۰/۲ میلی‌لیتر در هر کیلو وزن بدن) و کشتار شدند و قلب پس از تزریق سالین سرد، از خون پاکسازی شده، استخراج و وزن شد. در ادامه بطن چپ جداسازی و با فرمالین ده درصد تثبیت شده و برای آنالیز استفاده شد.

استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموژن به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتریفیوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰ –درجه نگهداری شد. بافت عضلهٔ قلبی نمونه‌برداری‌شده پس از شست‌وشو در سرم فیزیولوژیک در میکروتیوب‌های ۱/۸ حاوی مایع RNAlaterTM با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور شده و جهت انجام آزمایش‌های ژنتیک به آزمایشگاه انتقال داده شد. اندازه‌گیری بیان ژن‌های فاکتورهای موردنظر از بافت عضلهٔ قلبی به‌وسیلهٔ تکنیک PCR–time Real سنجش و پس از کمی‌سازی مقادیر بیان ژن با استفاده از فرمول ctΔΔ تجزیه‌وتحلیل شد. واکنش PCR با استفاده از master 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. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

برای سنجش کمی بیان ژن‌های موردنظر از کیت (SYBR-green Real Time RT-PCR, TAKARA) (ژاپن) استفاده شد. غلظت‌های ۱/۲۰، ۱/۱۰ و ۱/۵۰ میکرولیتر از cDNA سنتزشده تهیه شد. غلظت ۱/۲۰ به‌عنوان الگو برای Real-time PCR استفاده شد. cDNA با پرایمرهای مخصوص برای ژن‌های Drp1 و MFN2 تکثیر شد. طبق دستورالعمل کیت، واکنش تکثیری در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد که مشتمل بر ۱۰ میکرولیتر از محلول اصلی (Master Mix)، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Forward، ۰/۳ میکرولیتر از پرایمر Reverse، دو میکرولیتر از cDNA سنتزشده و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر است. در ادامه دو میکرولیتر از cDNA رقیق‌سازی‌شده داخل میکروتیوب‌های مخصوص RT-PCR ریخته شد. سپس ۰/۶ میکرولیتر از مخلوط پرایمر حاوی ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Forward و ۰/۳ میکرولیتر پرایمر Reverse به داخل میکروتیوب اضافه شده و در نهایت ۱۰ میکرولیتر Syber green master mix و ۷/۴ میکرولیتر آب مقطر به محلول نهایی ریخته شد. سپس میکروتیوب به مدت ۳۰ ثانیه روی دستگاه Shacker تکان داده شده و میکروتیوب به مدت ۳۰ ثانیه میکروفیوژ شد و داخل دستگاه RT-PCR قرار گرفت. الگوی دمایی PCR برای ژن‌های مربوطه به‌صورت ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه برای سیکل اول بود که با ۴۵ سیکل به‌صورت دومرحله‌ای ۹۵ درجه به مدت ۲۰ ثانیه و ۶۰ درجه به مدت ۶۰ ثانیه ادامه یافت. با استفاده از رنگ SYBR Green، میزان آمپلی فیکاسیون (Amplification) در هر چرخه دنبال شد. پس از اتمام واکنش تکثیر، برای هر واکنش PCR یک نمودار رسم و سپس بر این اساس CT تعیین شد. در پایان پیش از آنالیز داده‌ها، منحنی ذوب (Melting curve) به‌دست‌آمده از هر واکنش Real-time PCR بررسی شد تا پیک مربوط به ژن موردنظر و فقدان پرایمر دایمر تأیید شود [۳۲].

توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۳. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Gene	Forward/ Reverse	Primer(5 to3)	Tm	Product length	Accession Number
Drp1	Forward	5’- ATGCCTGTGGGCTAATGAAC -3’	58.32	168	XM_007745872.3
	Reverse	5’- CTCCAATTCGACCACCATCT -3’	59.12		
MFN2	Forward	5’- TACGTGTATGAGCGGCTGAC -3’	60.28	229	XM_018558741.2
	Reverse	5’- CTTTCTTGTTCATGGCAGCA -3’	61.09		

روش آماری

پس از بررسی توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیروویلک، برای تعیین اختلاف بین سطوح متغیرها از تحلیل واریانس عاملی ۲×۲ (دارای عامل‌های وضعیت تمرین (تمرین در برابر کنترل) و وضعیت مصرف مکمل (کورکومین در برابر عدم مصرف مکمل) استفاده شد. همچنین ترتیبی داده شد تا با مشاهدهٔ تأثیر معنادار یکی از عامل‌ها یا تأثیر تعاملی آنها در تحلیل واریانس عاملی (۲×۲)، مقایسهٔ بین‌گروهی داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس تکراهه انجام گیرد که در صورت نیاز به مقایسه‌های تعقیبی برای مقایسهٔ دوبه‌دوی گروه‌ها، در صورت معنادار

نبودن آزمون لون، از آزمون تعقیبی توکی و در صورت معنادار شدن آن از آزمون تعقیبی جیمز هاول استفاده شد. تمامی محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۲ انجام گرفت.

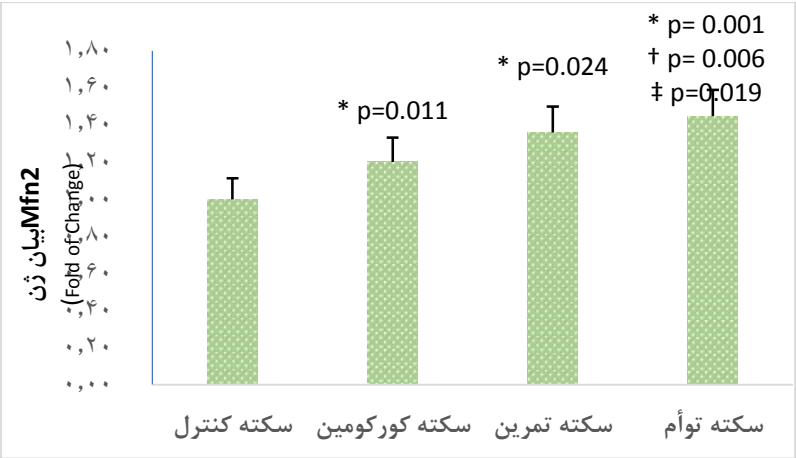
یافته‌های پژوهش

طبق نتایج آزمون شاپیروویلک توزیع داده‌ها در همهٔ متغیرها طبیعی بود.

جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس عاملی(۲×۲) در مورد تأثیر هریک از عامل‌های وضعیت تمرین (تمرین در برابر عدم فعالیت (کنترل) و وضعیت مصرف مکمل (کورکومین در برابر عدم مصرف) یا اثر تعاملی آنها بر مقدار بیان ژن‌های MFN2 و DRP1 کاردیومیوسیت‌ها

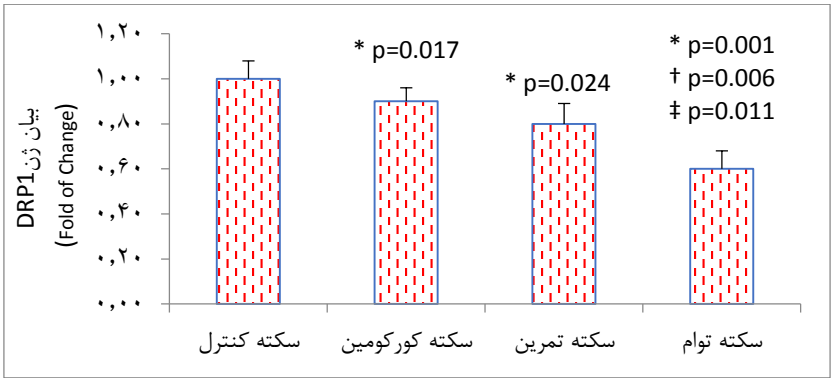
شاخص مورد بررسی	اثر مورد مقایسه	F	sig
MFN2	اثر وضعیت تمرین	۲/۸۵	۰/۳۴
	اثر وضعیت مصرف مکمل	۴/۹۲	۰/۲۷
	اثر تعاملی وضعیت مصرف مکمل×وضعیت تمرین	۶/۰۹	۰/۰۱۸ *
DRP1	اثر وضعیت تمرین	۶/۸۳	۰/۰۸۱
	اثر وضعیت مصرف مکمل	۵/۱۷	۰/۲۶
	اثر تعاملی وضعیت مصرف مکمل×وضعیت تمرین	۲۴/۳۵	۰/۰۰۱ *

نتایج بررسی بیان ژن‌های MFN2 و DRP1 کاردیومیوسیت‌ها توسط تحلیل واریانس عاملی ۲×۲ به‌دلیل مشاهدهٔ تأثیرات تعاملی در مورد هر دو متغیر بر نیاز به بررسی بیشتر داده‌ها (مقایسهٔ بین‌گروهی) توسط تحلیل واریانس یکراهه (ANOVA) دلالت داشت. در این زمینه در ادامه مقایسهٔ بین‌گروهی داده‌ها با آزمون ANOVA نشان داد که بین میانگین بیان ژن Drp1 (P=۰/۰۰۱) و MFN2 (P=۰/۰۰۱) میتوکندریایی کاردیومیوسیت‌های موش‌های نر مدل سکتهٔ قلبی در چهار گروه تفاوت معناداری وجود دارد. در هر سه گروه مورد مداخله، بیان ژن Drp1 کمتر و بیان ژن MFN2 بیشتر از گروه سکته کنترل بود. با اینکه در مورد هر دو متغیر، تفاوتی در بین گروه‌های سکتهٔ تمرین و سکتهٔ کورکومین مشاهده نشد، اما در گروه سکتهٔ توأم اثرگذاری بر هر دوی MFN2 و DRP1، به‌طور معناداری بیشتر از هر دو گروه سکته کورکومین و سکته تمرین بود (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱. بیان ژن MFN2 کاردیومیوسیت‌ها متعاقب MI

*، † و ‡: به‌ترتیب نشانهٔ تفاوت معنادار نسبت به گروه‌های سکته کنترل، سکته کورکومین و سکته تمرین (P<۰/۰۰۱)



شکل ۲. بیان ژن DRP1 کاردیومیوسیت‌ها متعاقب MI

*، † و ‡: به‌ترتیب نشانهٔ تفاوت معنادار نسبت به گروه‌های سکته کنترل، سکته کورکومین و سکته تمرین (P<۰/۰۰۱)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که به‌دنبال تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین، در کاردیومیوسیت‌های موش‌های نر مدل MI، بیان ژن Drp1 کمتر و بیان ژن MFN2 بیشتر از سایر گروه‌ها شد. اولاً این یافته‌ها بر تضعیف دینامیک میتوکندری کاردیومیوسیت‌ها به‌دنبال MI اشاره دارد و ثانیاً بر اثر مفید تمرین هوازی و مکمل کورکومین و به‌علاوه هم‌افزایی آنها در این خصوص دلالت می‌کند.

باید توجه شود که میتوکندری‌ها دارای یک سیستم کنترل کیفیت هستند که از طریق تنظیم شکافت، همجوشی، بیوژنز، تجزیه و مرگ، سبب حفظ و احیای ساختار و عملکرد آنها می‌شود. در پاسخ به آسیب‌های مختصر مانند هیپوکسی مختصر و یا استرس اکسایشی خفیف (که هر دو در حین سکته‌های قلبی کوچک متداول هستند)، سوخت‌وساز میتوکندری‌ها به‌منظور کاهش مصرف اکسیژن و حفظ برونده تولید ATP از فسفوریلاسیون اکسایشی به سمت گلیکولیز منحرف می‌شود. همچنین دینامیک میتوکندری‌ها از طریق افزایش یا کاهش تودهٔ میتوکندریایی از طریق تغییر شکل و ساختار میتوکندری‌ها فعال می‌شود تا نیازهای انرژی کاردیومیوسیت‌ها را برآورده کند. اما در زمانی‌که میتوکندری‌های آسیب‌دیده قادر به ترمیم نباشند، میتوکندری‌های دارای ساختار ضعیف از طریق میتوفاژی (فرایندی که همواره با بیوژنز همزمان میتوکندری‌ها همراهی می‌شود) تجزیه می‌شود. بنابراین، در صورت بالا بودن شدت آسیب برای ایجاد آسیب مرگ‌آور در میتوکندری‌ها و سلول، فعال‌سازی مسیر مرگ میتوکندریایی یک پیامد محتمل است و آپوپتوز یا نکروز برای حذف سلول‌های آغاز خواهد شد. با اینکه کنترل کیفیت میتوکندری‌ها یک سیستم ارثی برای حفظ عملکرد مناسب میتوکندری‌ها در محافظت از قلب در برابر استرس است، اما ناتوانی این سیستم یک از عوامل مهم پاتولوژیکی در MI است [۶]. بنابراین این یافته‌ها نشان‌دهندهٔ تأثیر تمرین هوازی و مکمل کورکومین در محافظت از بروز نقص میتوکندریایی در دورهٔ متعاقب MI است.

اما در هر حال، کاهش همجوشی و افزایش شکافت میتوکندری‌ها متعاقب MI، پیش‌زمینهٔ اختلال عملکرد تنفسی میتوکندری‌های قلبی است و اختلال در توازن بین این دو فرایند، به بیماری‌های مختلف قلبی منجر می‌شود. در کل، بسیاری از بیماری‌ها و از جمله بیماری‌های قلبی– عروقی از نارسایی عملکرد میتوکندری منشأ می‌گیرد [۳۳]. عدم توازن بین همجوشی و شکافت میتوکندری می‌تواند به نارسایی عملکرد میتوکندری و دست دادن پتانسیل غشایی میتوکندری، کاهش مصرف اکسیژن و افزایش تولید گونه‌های فعال از قبیل

ROS[1] منجر می‌شود. در مورد داینامیک میتوکندری کاردیومیوسیت‌ها در شرایط پس از MI، اطلاعات زیادی وجود ندارد و طبق یک تحقیق بسیار جدید [۳۴] برای بهینه‌سازی روند درمان بیماری‌های قلب، مطالعات آینده باید بر شناسایی جزئیات دستکاری داینامیک میتوکندری‌های قلب متمرکز شوند.

از سویی، در مورد سازوکارهای مسئول تغییر داینامیک میتوکندری‌ها در شرایط متعاقب MI، اطلاعات چندان شفافی وجود ندارد. با این حال، طبق نتایج تحقیقی کاهش بیان mfn1/2 بعد از تخلیهٔ PGC-1α [۳۵] پیشنهاد می‌کند که احتمالاً PGC-1α یک عامل کلیدی افزایش همجوشی [۳۶] و کاهش شکافت میتوکندری است [۳۷]. در تحقیقی نیز نشان داده شده است که فعال‌سازی پیام‌رسانی JNK/ERK-P53 ممکن است به افزایش شکاف میتوکندری در شرایط متعاقب MI بینجامد [۱۸].

اما تمرین ورزشی سبب حفظ توازن همجوشی و شکافت میتوکندریایی [۳۸، ۳۹] می‌شود و داینامیک میتوکندری کاردیومیوسیت‌ها را در مدل‌های MI (۱۸، ۱۹) و هایپرتروفی قلبی مرضی [۴۰] بهبود می‌دهد. این تأثیر تمرین ورزشی بر بهبود داینامیک میتوکندری‌های قلبی پس از MI، به قابلیت آنتی‌اکسیدانی ورزش، بهبود فعالیت واگی، افزایش PGC-1α، افزایش فراهمی نیتریک اکساید در عروق قلب نسبت داده شده است [۱۸]. باید اشاره شود که افزایش NO سبب کاهش شکافت میتوکندری در اثر DRP1 می‌شود [۴۱]. همچنین عصب پاراسمپاتیک از طریق تنظیم بیان Drp1، Fis1، OPA1 و MFN1/2، قادر به احیای داینامیک میتوکندری‌های موش‌های دچار ایسکمی میوکارد بوده که به افزایش محتوای ATP و بهبود ساختار و اندازه و عملکرد میتوکندری‌ها منجر شده است [۴۲]. اما چگونگی و جزئیات دقیق دستکاری همجوشی و شکافت میتوکندری‌ها در اثر فعالیت واگی هنوز مشخص نشده است [۴۰].

ولی تأثیر کورکومین بر بهبود داینامیک میتوکندری به غیر قابلیت آنتی‌اکسیدانی کاملاً مسلم آن، به افزایش SIRT1 نیز ربط داده شده است که می‌تواند سبب تنظیم فعالیت پروتئین‌های درگیر در داینامیک میتوکندری و از جمله افزایش PGC-1α منجر شود که در افزون بر این نشان داده شده است که در بیماران دیابتی دچار MI، کاهش SIRT1 میوکارد می‌تواند سبب کاهش فعال شدن AKT و افزایش بیان DRP1 در میتوکندری‌های آنها منجر می‌شود [۴۳]. احتمالاً در تحقیق حاضر افزایش SIRT1 میوکارد ناشی از کورکومین و تمرین در نهایت سبب کاهش بیان ژن DRP1 در میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های آنها شده است که به معنای کاهش احتمال شکافت است.

اما با اینکه تأثیر کورکومین بر دستکاری داینامیک میتوکندری در سایر بافت‌های بدن شامل کلیه [۲۴]، شبکیه [۲۵] و نورون‌ها [۲۶] حمایت شده است، ولی تاکنون تأثیر آن در کاردیومیوسیت‌ها در شرایط پس از MI تعیین نشده بود. بنابراین این یافته‌های ما از این لحاظ کاملاً نوآوری دارد و بی‌شک می‌تواند زمینه‌ساز تحقیقات بیشتر آینده با رویکرد بهینه‌سازی دوز مصرفی و شکل مولکولی کورکومین در آینده باشد. به بیان دیگر چون نانوکورکومین‌ها دارای فراهمی زیستی و پایداری بیشتری هستند و جذب بالاتری از روده نیز دارند [۴۴]، بنابراین به‌دلیل حل‌پذیری پایین کورکومین در محلول‌های آبی و جذب پایین از روده شاید در صورت استفاده از اشکال محصورشدهٔ کورکومین در قالب نانوپارتیکل‌ها، نتیجهٔ بهتری از مصرف این مکمل کورکومین بر داینامیک میتوکندری‌های قلبی فراهم شود که برای تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود.

همچنین باید توجه شود که اگرچه میتوکندری‌های سایر بافت‌های بدن از نظر موقعیت درون‌سلولی و ریخت ظاهری (اندازه، شکل و اتصال با میتوکندری‌های دیگر) در وضعیت بسیار دینامیک (پویا) قرار دارد، اما در عوض میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های پستانداران بالغ استاتیک (راکد) به‌نظر می‌رسند و به‌ندرت شواهد مورفولوژیک شکافت یا همجوشی را به نمایش می‌گذارند و همچنین خیلی آهسته تغییر می‌یابند. بنابراین اگرچه طبق شواهد اخیر کاردیومیوسیت‌های بالغ شاید به همان اندازه که قبلاً تصور می‌شد، استاتیک نباشند [۴۵]، اما در هر حال دلیل کند بودن داینامیک میتوکندری‌های قلبی در شرایط طبیعی[2] بیان می‌کند مشاهدهٔ تغییر بیان ژن‌های مرتبط با داینامیک میتوکندری در اثر تمرین هوازی و مکمل کورکومین در قلب دچار MI، می‌تواند منشأ آغاز شناسایی

[1] Reactive Oxygen Species

[2] Normal cardiomyocyte mitochondrial dynamism is sluggish

سازوکارهای و راهکارهای جدیدی برای بازتوانی قلبی متعاقب MI باشد [۴۶]. ولی باید اشاره شود که همجوشی میتوکندری در کاردیومیوسیت‌های بالغ برای حفظ ریخت طبیعی و عملکرد تنفسی و انقباضی بسیار ضروری است و هرگونه اختلال در همجوشی میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌ها سبب نارسایی‌های قلبی مرگبار خواهد شد [۴۷]. بنابراین اشاره شده است که برای بیماری‌های قلبی، افزایش همجوشی میتوکندریایی بیشتر می‌تواند از جنبهٔ درمانی امیدبخش باشد و شکافت اهمیت کمتری دارد [۴۸]. با این حال ما فقط یک پروتئین منعکس‌کنندهٔ همجوشی میتوکندریایی کاردیومیوسیت‌های موش‌های دچار MI را بررسی کردیم و عملاً از مقدار بروز همجوشی به روش مستقیم [۴۹] اطلاع حاصل نکردیم و تغییر در بقیهٔ متغیرها مانند MFN1 (که به‌همراه MFN2 در همجوشی غشای خارجی میتوکندری نقش دارد) و پروتئین Opa1[1] (که در همجوشی غشای داخلی میتوکندری نقش دارد)، در نظر گرفته نشده است. بنابراین پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده بررسی این متغیرها همراه با بررسی مستقیم رخداد همجوشی در سلول‌های زنده در نظر گرفته شود.

با این حال شاید مهم‌ترین نکتهٔ تحقیق این است که در مورد تأثیرات تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بهبود دینامیک میتوکندری‌های قلبی در شرایط متعاقب MI، حالت تجمعی وجود دارد و با در نظر گرفتن فقدان عوارض جانبی خاص و وجود سایر آثار بالقوه مفید حاصل از تمرین هوازی و مکمل کورکومین، به‌نظر می‌رسد که تجویز مواد غذایی سرشار از کورکومین از جمله زردچوبه در کنار تمرین هوازی برای بازتوانی بیماران MI بسیار کمک‌کننده باشد. ولی باید توجه شود با اینکه معمولاً دینامیک میتوکندری با فراهمی انرژی و پیام‌رسانی بهتر میتوکندری‌ها همراه است و همجوشی به افزایش عملکرد میتوکندری منجر می‌شود و شکافت تأثیرات معکوسی دارد [۱۱] اما این مسئله شاید در مورد کاردیومیوسیت‌های بالغ همواره صحیح نباشد. برای مثال میتوکندری‌ها در کاردیوسیت‌های بالغ ریخت ظاهری قطعه‌قطعه دارند (متمایل به شکافت) و در مقایسه با میتوکندری‌های سایر سلول‌ها، تحرک و شبکهٔ شدن کمتری دارند. در کل میتوکندری‌های قلبی دارای محتوای بیشتری از پروتئین‌های درگیر در دینامیک میتوکندری هستند و این نقش‌های غیرکانونی پروتئین‌های دینامیک میتوکندری[2] در دامنهٔ کنترل ارتباطات بین اندامک‌ها تا تنظیم حیات و بقای سلولی در شرایط استرس متابولیک پراکنده‌اند [۱۱]. بنابراین شاید تمام تغییرات مشاهده شده در بیان ژن‌های DRP1 و MFN2، به بهبود عملکرد تنفسی میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌ها دلالت نکند و برای مثال به تنظیم بقای سلول مرتبط باشد. در این صورت اگر تغییر مثبتی در عملکرد تنفسی روی نداده باشد، با انباشت میتوکندری‌های دارای اختلال عملکرد در کاردیومیوسیت‌ها قطعاً قلب به‌سوی نارسایی پیشرفت خواهد نمود. اگرچه در این تحقیق به دلایل تکنیکی بررسی عملکرد تنفسی میتوکندری‌ها میسر نشده است، اما به‌نظر می‌رسد که در تحقیقات آینده بررسی این مسئله مثلاً از طریق سنجش فعالیت آنزیم‌های هوازی کاردیومیوسیت‌ها، بررسی ریخت هیستولوزیک میتوکندری‌ها، سنجشMTP۳ و یا سنجش مقدار تحول[4]فسفات قلب موش‌ها قبل از کشتار با تکنیک NMRI بتواند در این خصوص اطلاعات مستقیم فراهم کند.

در هر حال، تغییر در بیان ژن‌ها نمی‌تواند به معنای تغییر واقعی در بیان پروتئین‌های رمز شونده و فعال‌سازی نهایی آنها باشد، بنابراین هرگونه افزایش مشاهده‌شده در بیان ژن‌های مورد بررسی در این تحقیق، شاید لزوماً بر بهبود واقعی در دینامیک کاردیومیوسیت‌های موش‌های دچار MI، دلالت نکند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات آینده سنجش بیان پروتئین‌ها و متغیرهای قابل اعتمادتری در مورد رخداد حتمی شکافت و همجوشی میتوکندری‌ها مورد نیاز باشد. در پایان باید اشاره شود که شاید اصلی‌ترین پیامد سکتهٔ قلبی فقط به تغییر در دینامیک میتوکندری‌ها و افت کیفیت آنها در تولید انرژی مربوط نباشد و اصولاً برقراری سریع تزریق مجدد، رفع افت برونده قلبی و کسر تزریقی، فیبروز، پاره شدن دیواره قلب، شل شدگی (کاردیومیوپاتی) و نارسایی قلبی، درمان ضدپلاکتی لخته و مدیریت انواع آریتمی‌ها و ... از اولویت درمانی بیشتری برخوردارند. در هر حال، به‌دنبال افت کیفیت میتوکندری‌ها و به‌ویژه اختلال و عدم رویداد همجوشی

[1] Optic Atrophy 1

[2] These “non-canonical” roles of mitochondrial dynamics proteins

[3] mitochondrial transmembrane potential

[4] Turnover

میتوکندری‌های قلبی در طی سه تا چهار دورهٔ متوالی در شرایط مختلف از جمله MI، حتماً مهلک و مرگبار خواهد بود [۴۷] و نتایج این تحقیق از نظر احتمال بهبود همجوشی و کاهش شکافت میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های موش‌های مدل MI به‌دنبال تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین یا اثر توأم آنها، برای بازتوانی این بیماران بسیار نویدبخش است.

در کل ممکن است که بهبود داینامیک میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌ها در اثر تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین برای بهبود ساختار و عملکرد قلب در دورهٔ بازتوانی متعاقب MI کمک‌کننده باشد و احتمالاً بین این دو اثر هم‌افزایی موجود است که بر اهمیت بالینی تجویز توأم این دو برای بیماران دچار MI دلالت می‌کند. با این حال، به‌دلیل بررسی بیان ژن به‌جای شکل فعال پروتئین‌های رمزشوندهٔ نهایی توسط آنها، عدم بررسی تمام عوامل درگیر در شکافت و همجوشی میتوکندریایی، عدم اندازه‌گیری فاکتورهای ساختاری و عملکردی قلب و تأیید مستقیم بروز سکته در ابتدا و عدم بررسی بیوژنز و محتوا و ظرفیت فسفوریلاسیون میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌ها، عدم اطمینان از مقدار سرنوشت جذب واقعی کورکومین در روده و متغیرهای بالقوهٔ مرتبط با آن از جمله مقدار SIRT1 و ROS و بسیاری از محدودیت‌های تحقیقی دیگر، همچنان نیاز به بررسی‌های بیشتر باقی است.

تقدیر و تشکر

از تمامی افرادی که ما را در انجام این پروژه یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

[1]. Mui D, Zhang YJJor, transduction s. Mitochondrial scenario: roles of mitochondrial dynamics in acute myocardial ischemia/reperfusion injury. 2021;41(1):1-5. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32583708/

[2]. Forte E, Panahi M, Ng FS, Boyle J, Branca J, Bedard O, et al. Myocardial damage induced by a single high dose of isoproterenol in C57Bl/6J mice triggers a persistent adaptive immune response against the heart. BioRxiv. 2020. https://doi.org/10.1101/2020.02.27.962696

[3]. Grimm D, Elsner D, Schunkert H, Pfeifer M, Griese D, Bruckschlegel G, et al. Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: role of the renin-angiotensin system. Cardiovascular research. 1998;37(1):91. https://doi.org/10.1016/S0008-6363(97)00212-5

[4]. Khedr NF, El-Feky OA, Werida RH. l-Carnitine mitigates trazadone induced rat cardiotoxicity mediated via modulation of autophagy and oxidative stress. Cardiovascular Toxicology. 2022 Sep;22(9):831-41. https://doi.org/10.1007/s12012-022-09759-1

[5]. Nirmala C, Puvanakrishnan R. Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. Molecular and cellular biochemistry. 1996;159(2):85-93. https://doi.org/10.1007/BF00420910

[6]. Zhu H, Toan S, Mui D, Zhou HJAp. Mitochondrial quality surveillance as a therapeutic target in myocardial infarction. 2021;231(3):e13590. https://doi.org/10.1111/apha.13590

[7]. Maneechote C, Palee S, Chattipakorn SC, Chattipakorn NJJoC, Medicine M. Roles of mitochondrial dynamics modulators in cardiac ischaemia/reperfusion injury. 2017;21(11):2643-53. https://doi.org/10.1111/jcmm.13330

[8]. Cao Y-P, Zheng M. Mitochondrial dynamics and inter-mitochondrial communication in the heart. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2019;663:214-9. https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.01.017

[9]. Li A, Gao M, Jiang W, Qin Y, Gong GJFiC, Biology D. Mitochondrial dynamics in adult cardiomyocytes and heart diseases. 2020;8:584800. https://doi.org/10.3389/fcell.2020.584800

[10]. Ikeda Y, Sciarretta S, Nagarajan N, Rubattu S, Volpe M, Frati G, et al. New insights into the role of mitochondrial dynamics and autophagy during oxidative stress and aging in the heart. Oxidative medicine and cellular longevity. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/210934

[11]. Wang W, Fernandez-Sanz C, Sheu S-S. Regulation of mitochondrial bioenergetics by the non-canonical roles of mitochondrial dynamics proteins in the heart. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease. 2018;1864(5, Part B):1991-2001. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.09.004

[12]. Givvimani S, Pushpakumar S, Metreveli N, Veeranki S, Kundu S, Tyagi S. Role of Mitochondrial fission and fusion in cardiomyocyte contractility. International journal of cardiology. 2015;187:325-33. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.03.352

[13]. Aoi W, Naito Y, Mizushima K, Takanami Y, Kawai Y, Ichikawa H, et al. The microRNA miR-696 regulates PGC-1α in mouse skeletal muscle in response to physical activity. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2010;298(4):E799-E806. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00448.2009

[14]. Sharp WW, Fang YH, Han M, Zhang HJ, Hong Z, Banathy A, et al. Dynamin-related protein 1 (Drp1)-mediated diastolic dysfunction in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic benefits of Drp1 inhibition to reduce mitochondrial fission. The FASEB Journal. 2014;28(1):316-26. https://doi.org/10.1096/fj.12-226225

[15]. 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. https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.08.004

[16]. Hadidi V, Kordi M, Gaeini A, Nekoi A, Shafie A, Hajati Modaraie M. Effect of eight weeks high intensity interval training on gene expression of PGC-1α, in male healthy rats fast-slow twitch muscles. Journal of Sport Biosciences. 2015;7(4):661-73. https://doi.org/10.22059/jsb.2015.57290. (In Persian).

[17]. Viloria MAD, Li Q, Lu W, Nhu NT, Liu Y, Cui Z-Y, et al. Effect of exercise training on cardiac mitochondrial respiration, biogenesis, dynamics, and mitophagy in ischemic heart disease. 2022;9:949744. https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.949744

[18]. Jiang H-K, Wang Y-H, Sun L, He X, Zhao M, Feng Z-H, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. 2014;15(4):5304-22. https://doi.org/10.3390/ijms15045304

[19]. Ebadi B, Damirchi AJIJoAEP. Effect of exercise training intensity on mitochondrial dynamics and mitophagy in post myocardial infarction rats. 2018;7(2):46-53. https://doi.org/10.22631/ijaep.v7i2.278

[20]. Ghosh SS, Salloum FN, Abbate A, Krieg R, Sica DA, Gehr TW, et al. Curcumin prevents cardiac remodeling secondary to chronic renal failure through deactivation of hypertrophic signaling in rats. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2010;299(4):H975-H84. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00154.2010

[21]. Moieni A, Hosseini SA. Effect of Resistance Training Combined with Curcumin Supplementation on Expression of Regulatory Genes Related to Myocardial Remodeling in Obese Rats. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2020;7(2):45-52. https://doi.org/10.22049/JAHSSP.2021.26706.1283. (In Persian)

[22]. Majidi A, Poozesh Jadidi R, Azali Alamdari K, Bashiri J, Nourazar MAR. Effects of Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Cardiomyocyte Apoptosis and MiRNAs Expression in Rats Exposed to Arsenic. Sport Physiology. 2020;12(48):39-60. https://doi.org/10.22089/spj.2020.8706.2012. (In Persian)

[23]. Wang NP, Wang ZF, Tootle S, Philip T, Zhao ZQ. Curcumin promotes cardiac repair and ameliorates cardiac dysfunction following myocardial infarction. Br J Pharmacol. 2012;167(7):1550-62. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02109.x

[24]. Aparicio-Trejo OE, Tapia E, Molina-Jijón E, Medina-Campos ON, Macías-Ruvalcaba NA, León-Contreras JC, et al. Curcumin prevents mitochondrial dynamics disturbances in early 5/6 nephrectomy: Relation to oxidative stress and mitochondrial bioenergetics. 2017;43(2):293-310. https://doi.org/10.1002/biof.1338

[25]. Xu D, Zhang K, Qu X-H, Wang T, Yang P, Yang Y, et al. Curcumin protects retinal neuronal cells against oxidative stress-induced damage by regulating mitochondrial dynamics. 2022;224:109239. https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109239

[26]. Bagheri H, Ghasemi F, Barreto GE, Rafiee R, Sathyapalan T, Sahebkar AJB. Effects of curcumin on mitochondria in neurodegenerative diseases. 2020;46(1):5-20. https://doi.org/10.1002/biof.1566

[27]. Liu R, Hao S, Hou D, Tian H, Hong W, Huang H, et al. Curcumin synergistically improves mitochondrial dynamics and myocardial cell bioenergy after sepsis through the SIRT1-Drp1/PGC-1α pathway. 2023. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3210579/v1

[28]. Zhou Y, Li M, Song J, Shi Y, Qin X, Gao Z, et al. The cardioprotective effects of the new crystal form of puerarin in isoproterenol-induced myocardial ischemia rats based on metabolomics. Scientific

reports. 2020;10(1):1-18. https://doi.org/10.1038/s41598-020-74246-y

[29]. Li H, Xie Y-H, Yang Q, Wang S-W, Zhang B-L, Wang J-B, et al. Cardioprotective effect of paeonol and danshensu combination on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. PloS one. 2012;7(11):e48872. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048872

[30]. Medicine ACoS. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. ISBN-13 978-1609139551

[31]. Hosseinlou A, Pouzesh Jadidi R, Bashiri J, Nourazar MAR, Azali- Alamdari K. Effects of High Intensity Interval Training and Curcumin Supplementation on Hippocampal Total Antioxidant Capacity, GRP78 and Caspase 3 Level in Male Rats Exposed to Arsenic. Journal of Applied Exercise Physiology. 2020;16(32):15-29. https://doi.org/10.22080/JAEP.2020.18555.1943

[32]. Powers SK, Wiggs MP, Duarte JA, Zergeroglu AM, Demirel HA. Mitochondrial signaling contributes to disuse muscle atrophy. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2012;303(1):E31-E9. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00609.2011

[33]. Hamilton DJ. Mechanisms of disease: is mitochondrial function altered in heart failure? Methodist Debakey Cardiovasc J. 2013;9(1):44-8. https://doi.org/10.14797/mdcj-9-1-44

[34]. Von Hardenberg A, Maack C. Mitochondrial therapies in heart failure. Heart Failure: Springer; 2016. p. 491-514. https://doi.org/10.1007/164_2016_123

[35]. St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S, et al. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. 2006;127(2):397-408. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.024

[36]. Garnier A, Fortin D, Zoll J, N'Guessan B, Mettauer B, Lampert E, et al. Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. 2005;19(1):43-52. https://doi.org/10.1096/fj.04-2173

[37].Wu S, Zhou F, Zhang Z, Xing DJTFj. Mitochondrial oxidative stress causes mitochondrial fragmentation via differential modulation of mitochondrial fission–fusion proteins. 2011;278(6):941-54. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08010.x

[38]. Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. Exerc Sport Sci Rev. 2012;40(3):159-64. https://doi.org/10.1097/JES.0b013e3182575599

[39]. Ding H, Jiang N, Liu H, Liu X, Liu D, Zhao F, et al. Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle. Biochimica et biophysica acta. 2010;1800(3):250-6. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.08.007

[40]. Ma M, Chen W, Hua Y, Jia H, Song Y, Wang Y. Aerobic exercise ameliorates cardiac hypertrophy by regulating mitochondrial quality control and endoplasmic reticulum stress through M2AChR. Journal of Cellular Physiology. 2021;236(9):6581-96. https://doi.org/10.1002/jcp.30342

[41]. De Palma C, Falcone S, Pisoni S, Cipolat S, Panzeri C, Pambianco SJCD, et al. Nitric oxide inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission is critical for myogenic differentiation. 2010;17(11):1684-96. https://doi.org/10.1038/cdd.2010.48

[42]. Xue RQ, Sun L, Yu XJ, Li DL, Zang WJJJoC, Medicine M. Vagal nerve stimulation improves mitochondrial dynamics via an M3 receptor/Ca MKK β/AMPK pathway in isoproterenol-induced myocardial ischaemia. 2017;21(1):58-71. https://doi.org/10.1111/jcmm.12938

[43]. Tao A, Xu X, Kvietys P, Kao R, Martin C, Rui T. Experimental diabetes mellitus exacerbates ischemia/reperfusion-induced myocardial injury by promoting mitochondrial fission: Role of down-regulation of myocardial Sirt1 and subsequent Akt/Drp1 interaction. The international journal of biochemistry & cell biology. 2018;105:94-103. https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.10.011

[44]. Zhang S, Asghar S, Yu F, Hu Z, Ping Q, Chen Z, et al. The enhancement of N-acetylcysteine on intestinal absorption and oral bioavailability of hydrophobic curcumin. European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences. 2020;154:105506. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105506

[45]. Eisner V, Cupo RR, Gao E, Csordás G, Slovinsky WS, Paillard M, et al. Mitochondrial fusion dynamics is robust in the heart and depends on calcium oscillations and contractile activity. 2017;114(5):E859-E68. https://doi.org/10.1073/pnas.161728811

[46]. G WD. Mitochondrial fission/fusion and cardiomyopathy. Current opinion in genetics & development. 2016;38:38-44. https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.03.001

[47]. Chen Y, Liu Y, Dorn GW. Mitochondrial Fusion is Essential for Organelle Function and Cardiac Homeostasis. Circulation Research. 2011;109(12):1327-31. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.258723

[48]. Qin Y, Li A, Liu B, Jiang W, Gao M, Tian X, et al. Mitochondrial fusion mediated by fusion promotion and fission inhibition directs adult mouse heart function toward a different direction. FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2020;34(1):663-75. https://doi.org/10.1096/fj.201901671R

[49]. Valente AJ, Maddalena LA, Robb EL, Moradi F, Stuart JA. A simple ImageJ macro tool for analyzing mitochondrial network morphology in mammalian cell culture. Acta histochemica. 017;119(3):315-26. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.03.001