



Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventricular of miR-133 and miR-1 gene expression in isoproterenol-induced myocardial infarction rat model

Jabraeel Pouzesh Jadidi¹, Farnaz Seifi-Skishahr^{2*}, Lotfali Bolboli², Karim Azali Alamdari³, Ameneh Pourrahim Ghoroughchi⁴

1. Ph.D Student of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.
4. Assistant Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Abstract

Background and Aim: Imbalance of some microRNAs and its cell apoptosis has an important role in myocardial infarction. Based on the role of curcumin supplementation and high-intensity interval training (HIIT) on myocardial infarction, the aim of this study was to investigate the effects of these types of training and supplementation on left ventricular gene expression levels of miR-133 and miR-1 in the isoproterenol-induced myocardial infarction (MI) rat model. **Materials and Methods:** Forty male Wistar rats were randomly divided into four groups as: HIIT, curcumin, HIIT+curcumin and control groups, following induction of MI via intraperitoneal injection of isopretrenol (100 mg/kg/day) within two consecutive days. The HIIT protocol was performed during eight weeks (five sessions per week), each session was consisted of 10 bouts of running occasions (each for four min) at 85 - 90% of $v\dot{V}O_{2max}$ with two min rest intervals at 50 to 60% of $v\dot{V}O_{2max}$. Moreover, Curcumin (15 mg/kg) was administered daily via gavage. The gene expression levels of miR-1 and miR-133 were evaluated using Real-Time PCR method and the data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey post hoc test at the significance level of $p < 0.05$. **Results:** Although, in all three intervention groups of HIIT, curcumin and HIIT+curcumin, the cardiomyocytes miR-1 gene expression level was significantly lower ($p = 0.001$), while miR-133 expression level was higher ($p = 0.001$) than control group. However, gene expression in both variables after HIIT+curcumin showed more changes than curcumin group ($p = 0.006$ and $p = 0.01$ respectively). **Conclusion:** Probably, curcumin supplementation along with HIIT training after myocardial infarction is associated with improvement of cardiac function; but due to research limitations, more research is needed.

Keywords: High intensity interval training, Curcumin, miR-1 & miR-133 gene expression, Myocardial infarction.

Cite this article:

Pouzesh Jadidi, J., Seifi-Skishahr, F., Bolboli, L., Azali Alamdari, K., & Pourrahim Ghoroughchi, A. (2023). Effect of high intensity interval training and curcumin supplementation on left ventricular of miR-133 and miR-1 gene expression in isoproterenol-induced myocardial infarction rat model. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 11(25), 8-20.

* Corresponding Author, Address: Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran;

E-mail: f.seify@uma.ac.ir

doi <https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.4337.1638>



تأثیر تمرین تناوبی شدید و مکمل کورکومین بر بیان ژن miR-133 و miR-1 بطن چپ موش صحرائی مدل انفارکتوس میوکارد ناشی از ایزوپروترونول

جبرئیل پوزش جدیدی^۱، فرناز سیفی اسگ شهر^{۲*}، لطفعلی بلبلی^۲، کریم آزاللی علمداری^۳، آمنه بوررحیم قورقچی^۴

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، اردبیل، ایران.
۲. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳. دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.
۴. استادیار گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: عدم تعادل برخی میکرو-ریبونوکلئیک اسیدها و آپوپتوزیس ناشی از آن‌ها، نقش مهمی در انفارکتوس میوکارد دارد. با توجه به نقش مکمل کورکومین و تمرینات تناوبی شدید (HIIT) بر این عوامل، هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر HIIT و کورکومین بر بیان ژن miR-133 و miR-1 بطن چپ موش‌های صحرائی نر مدل انفارکتوس میوکارد ناشی از ایزوپروترونول بود. روش تحقیق: تعداد ۴۰ سر موش صحرائی نر پس از القای انفارکتوس میوکارد از طریق تحت تزریق درون صفاقی ایزوپروترونول (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بد در دو روز متوالی)، به طور تصادفی در چهار گروه HIIT، کورکومین، HIIT + کورکومین و کنترل تقسیم شدند. HIIT شامل هشت هفته متشکل از پنج جلسه تمرین در هر هفته بود که هر جلسه شامل ۱۰ وهله چهار دقیقه‌ای دویدن با سرعتی در حد ۸۵ تا ۹۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی ($\dot{V}O_{2max}$) و دو دقیقه بازگشت به حالت اولیه فعال با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد $\dot{V}O_{2max}$ در بین وهله‌ها بود. کورکومین روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوژ خورانده شد. بیان ژن‌های miR-133 و miR-1 با استفاده از روش Real-Time PCR بررسی گردید و داده‌ها با استفاده از روش تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تحلیل شدند. یافته‌ها: در هر سه گروه مداخله شامل HIIT، کورکومین و مداخله توأم، بیان miR-1 کاردیومیوسیت‌ها به طور معنی‌دار کمتر ($p = 0.001$) و بیان miR-133 ($p = 0.001$) بیشتر از گروه کنترل بود. با این حال، بیان ژن در هر دو متغیر مورد بررسی پس از HIIT + مکمل نسبت به مکمل تنها، با تغییر معنی‌دار بیشتری (به ترتیب با $p = 0.006$ و $p = 0.01$) همراه بود. نتیجه‌گیری: احتمالاً تجویز مکمل کورکومین به همراه HIIT پس از انفارکتوس میوکارد، با بهبود عملکرد قلبی همراه می‌باشد؛ اما به دلیل محدودیت‌های تحقیق، به تحقیقات بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی: تمرین تناوبی شدید، کورکومین، بیان ژن miR-133 و miR-1، انفارکتوس میوکارد.

مقدمه

انفارکتوس حاد میوکارد^۱ (AMI)، شرایطی است که در آن خون رسانی میوکارد مختل می‌شود و یکی از مهم‌ترین دلایل بیماری‌های قلبی و مرگ و میر در سراسر جهان به شمار می‌رود (هی و^۲ و دیگران، ۲۰۱۸). آپوپتوزیس^۳ میوکارد نوع عمده مرگ کاردیومیوسیت‌ها در حین انفارکتوس میوکارد^۴ (MI) است که در آن، سلول‌های قلبی زنده مانده، از دست می‌روند و میوکارد به تدریج دچار نارسایی می‌شود. پس از MI، آپوپتوزیس در میوکارد تشدید می‌شود که با افزایش قطر بطن چپ و کاهش عملکرد قلب همراه است (تونسی^۵ و دیگران، ۲۰۱۵). مهار آپوپتوزیس در MI عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد (وانگ^۶ و دیگران، ۲۰۲۰). بنابراین، مهار آپوپتوزیس میوکارد، تغییر شکل بطن چپ و کاهش بروز حوادث قلبی - عروقی پس از MI؛ یک استراتژی درمانی مهم برای بهبود عملکرد قلب محسوب می‌شود (هو^۷ و دیگران، ۲۰۱۰). با این حال، مکانیسم‌های سلولی زمینه‌ساز آپوپتوزیس ناشی از انفارکتوس حاد میوکارد در کاردیومیوسیت‌ها پیچیده و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. در این راستا، میکرو-ریبونوکلیک اسیدها^۸ (miR) مولکول‌های تک رشته‌ای کوتاه با اندازه‌ای در حدود ۱۸ تا ۲۵ نوکلئوتید هستند که با مهار ترجمه mRNA یا شکافت mRNA هدف، باعث خاموش شدن ژن پس از رونویسی می‌شوند (هی و دیگران، ۲۰۱۸).

شواهد نشان از آن دارند که miRها در آسیب زایی بیماری‌های قلبی - عروقی از جمله آسیب قلبی (سانگ^۹ و دیگران، ۲۰۱۴؛ سان^{۱۰} و دیگران، ۲۰۱۷)، آریتمی^{۱۱} (یانگ^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۱)، هایپرتروفی قلب (بنگ^{۱۳} و دیگران، ۲۰۱۴)، نارسایی قلبی (توتولوموندو^{۱۴} و دیگران، ۲۰۱۶) و غیره نقش دارند. طبق تحقیقات بالینی و آزمایش‌های حیوانی، miRها نشانگرهای زیستی بالقوه و اهداف درمانی برای ایسکمی قلب بشمار می‌روند (گوپتا^{۱۵} و دیگران، ۲۰۱۶؛ ریچونی^{۱۶} و دیگران، ۲۰۱۳). عوامل miR-1 و miR-133 عمدتاً در قلب بیان می‌شوند (پینچی^{۱۷} و دیگران، ۲۰۱۹؛ ینگ^{۱۸} و دیگران، ۲۰۱۸) و در فرآیندهای پاتولوژیکی مانند هایپرتروفی میوکارد نقش دارند (ایزارا^{۱۹} و دیگران، ۲۰۱۴؛ ماتکوویچ^{۲۰}

و دیگران، ۲۰۱۰) و تغییر مقادیر آن‌ها در پلاسما یا سرم، می‌تواند نشانگر احتمال ایجاد MI قبل از حادث شدن آن باشد (چنگ^{۲۱} و دیگران، ۲۰۱۴). یک مطالعه نشان داده که با افزایش شدت نارسایی قلبی، بیان miR-133 به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد؛ اما تغییر معنی‌داری برای miR-1 گزارش نشده است (دانوسکی^{۲۲} و دیگران، ۲۰۱۳). علاوه بر این، گزارش شده است که miR-133a در پاسخ به هایپرتروفی پاتولوژیک میوکارد و بعد از MI در موش، خوک، و انسان؛ کاهش می‌یابد. مطالعه‌ای نشان داده که miR-1 و miR-133 اثرات متضادی بر آپوپتوزیس ناشی از فشار اکسایشی در قلب موش ایجاد می‌کنند، به گونه‌ای که miR-1 نقش پروآپوپتوزی و miR-133 نقش ضد آپوپتوزی دارد (یو و لی^{۲۳}، ۲۰۱۰). علاوه بر این، میزان miR-1 با بیان پروتئین ضد آپوپتوتیک Bcl-2^{۲۴} در سلول‌های قلبی موش صحرایی مدل سخته قلبی رابطه معکوس داشته است. در واقع، داده‌های تجربی دال بر آن است که miR-1 از طریق سرکوب Bcl2 پس از رونویسی، آپوپتوزیس قلب را تنظیم می‌کند (تانگ^{۲۵} و دیگران، ۲۰۰۹).

انواع مداخلات درمانی نوآورانه در سال‌های اخیر برای درمان MI بررسی شده است که یکی از آن‌ها، مداخلات تغذیه‌ای است. کورکومین^{۲۶} یا دی فرولوئیل متان^{۲۷} جزء فعال ادویه زردچوبه است که دارای خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد (وانگ و دیگران، ۲۰۱۲). همچنین اثرات محافظتی آن در سیستم قلبی - عروقی شناخته شده است (بوریسکو^{۲۸} و دیگران، ۲۰۱۹). بر اساس تحقیقات انجام شده، کورکومین اثر آپوپتوزیس ناشی از عوامل مختلف را از طریق چندین مسیر پیام‌دهی تعدیل می‌کند. کاهش سطوح پروتئینی Fas/FasL به عنوان یکی از مسیرهای ایجاد آپوپتوزیس (یو و دیگران، ۲۰۱۵)، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش بیان ژن وابسته به عامل هسته‌ای کاپا بی^{۲۹} (NF-KB) که خود کنترل کننده روند بقای سلولی است (تائو و دیگران، ۲۰۱۴) را بر عهده دارد. به علاوه، اثر مهاری بر فعال شدن مسیر پروتئین کینازهای JNKs^{۳۰} و آزاد شدن سیتوکرم c به عنوان فعال کننده‌های آپوپتوزیس (سوماساندارم^{۳۱} و دیگران، ۲۰۰۲) دارد

1. Acute myocardial infarction
2. He
3. Apoptosis
4. Myocardial infarcti
5. Tony
6. Wang
7. Hu
8. Micro ribonucleic acids
9. Song
10. Sun
11. Arrhythmia

12. Yang
13. Bang
14. Tuttolomondo
15. Gupta
16. Recchioni
17. Pinchi
18. Ying
19. Izarra
20. Matkovich
21. Cheng
22. Danowski

23. Yu & Li
24. B-cell lymphoma 2
25. Tang
26. Curcumin
27. Diferuloyl methan
28. Boarescu
29. Nuclear factor kappa B
30. C-Jun N-terminal kinases
31. Somasundaram

سازگاری‌های قلبی به فعالیت ورزشی مزمن و تمرین ورزشی، نشان از افزایش ظرفیت تنفسی میتوکندریایی دارد (آبل و دیگران، ۲۰۱۱؛ ریمبود^۱ و دیگران، ۲۰۰۹). در مورد تاثیر فعالیت بدنی به تنهایی و یا در ترکیب با سایر مداخلات بر آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها هم اخیراً تحقیقاتی صورت گرفته است (علی‌همتی و دیگران، ۲۰۱۹؛ قاجاری و دیگران، ۲۰۱۹؛ یوان^{۱۰} و دیگران، ۲۰۱۸) که همه آن‌ها عمدتاً حاکی از آن هستند که انواع مختلف تمرین بدنی، نقش قابل ملاحظه‌ای در کاهش آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها دارند. با این حال، تاکنون، تاثیر همزمان و مستقیم مصرف مکمل کورکومین و HIIT و اثرات هم‌افزایی آن‌ها بر بیان ژن‌های miR-133 و miR-1 قلبی بندرت بررسی شده است؛ بنابراین به نظر می‌رسد که این موضوع ضمن دارا بودن نوآوری، می‌تواند زمینه ساز انجام تحقیقات بیشتر آینده با هدف شناسایی بهترین دوز مصرف کورکومین همراه با تعیین مناسب‌ترین جزئیات مربوط به پروتکل‌های HIIT باشد. بدین ترتیب، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر HIIT و کورکومین بر بیان ژن miR-133 و miR-1 بطن چپ موش‌های مدل سکتة قلبی ناشی از ایزوپروتونول بود.

روش تحقیق

تحقیق حاضر از نوع تجربی است. طرح مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با شناسه اخلاق IR.TABRIZU. REC.1399.054 مصوب و اجرا گردید. تعداد ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، تعداد سه سر موش صحرایی در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری شدند. موش‌ها ابتدا تحت تزریق ایزوپروتونول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن، به صورت درون صفاقی در طی دو روز متوالی قرار گرفتند و دو هفته بعد از تزریق، بروز انفارکتوس میوکارد در موش‌ها تایید شد. بدین منظور از ارزیابی شاخص‌های زیستی قلبی کراتین کیناز-^{۱۱}MB (CK-MB)، تروپونین قلبی^{۱۲} (CTnI) و لاکتات دهیدروژناز^{۱۳} (LDH) با روش اسپکتروفتومتری و کیت‌های تشخیصی مربوطه استفاده شد. سپس، موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه ۱۰ تایی شامل گروه HIIT، مکمل کورکومین، HIIT + مکمل کورکومین و کنترل تقسیم شدند.

و تضعیف مسیر p53^۱ به عنوان یک مهار کننده چرخه سلولی (بولکو^۲ و دیگران، ۲۰۱۲)، اثر بر مسیر پیام‌دهی PI3K/Akt^۳ به عنوان یک تنظیم کننده بقای سلولی (یو و دیگران، ۲۰۱۶) و توقف بیان بیش از حد کاسپازها (بولکو و دیگران، ۲۰۱۲)؛ از جمله کارکردهای این دو عامل هستند. با این حال، در مورد نقش کورکومین در بیان انواع مختلف miR در قلب اطلاعات کافی وجود ندارد.

امروزه به‌خوبی روشن است که فعالیت ورزشی منظم دارای اثرات مثبتی بر اکثر سیستم‌های بدن و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن مانند دیابت نوع دو، سرطان و بیماری‌های قلبی - عروقی می‌باشد. این مهم، موجب تجویز تمرینات ورزشی برای پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی گردیده است (الیسون^۴ و دیگران، ۲۰۱۲؛ معینی و دیگران، ۲۰۲۰). به علاوه، تمرینات تناوبی شدید^۵ (HIIT) به دلیل دارا بودن فواصل استراحت مناسب، توجه زیادی به خود جلب کرده‌اند و حجم کمتر و بهره‌وری زمانی بهتر این تمرینات سبب شده است که چه در درمان‌های بالینی و چه در برنامه‌های بازتوانی قلبی (وانگ و دیگران، ۲۰۲۰)، بر تمرینات تداومی سنتی ترجیح داده شوند. البته در برخی تحقیقات، HIIT خیلی زود هنگام و فقط یک روز بعد از القای سکتة قلبی در موش‌ها شروع شده است که بدون افزایش مرگ و میر، با کاهش قابل ملاحظه وسعت ناحیه دچار سکتة و افزایش آنژیوژنیزیس^۶ در ناحیه مجاور بخش سکتة کرده همراه بوده است (لیائو و دیگران، ۲۰۱۹). در یک تحقیق دیگر نیز تاثیر محافظتی زود هنگام HIIT بر ساختار و عملکرد قلب به دنبال یک هفته پس از سکتة، تایید شده است (وانگ و دیگران، ۲۰۲۰) که حاکی از ایمن بودن این نوع تمرینات برای موش‌های مدل سکتة قلبی می‌باشد. از سوی دیگر، در حالی که در یک مطالعه، اجرای HIIT در بیماران نارسایی قلبی، به طور قابل توجهی اوج اکسیژن مصرفی و اختلال عملکرد دیاستولیک بطن چپ را بهبود بخشیده است (ژنگ^۷ و دیگران، ۲۰۱۴)، در مطالعه دیگری، اثر HIIT در تغییر بازسازی بطن چپ و ظرفیت هوازی تایید نشده است (وانگ و دیگران، ۲۰۲۰) که خود حاکی از وجود ناهم‌سویی در این زمینه می‌باشد و عموماً دال بر محدود بودن و شناخت ناکافی (موجود) از مکانیسم‌های زیربنایی مداخله HIIT بر ساختار و عملکرد قلب می‌باشد (آبل^۸ و دیگران، ۲۰۱۱).

1. Tumor protein P53
2. Bulku
3. Phosphatidylinositol 3-kinase
4. Ellison
5. High-intensity interval training

6. Angiogenesis
7. Zheng
8. Abel
9. Rimbaud
10. Yuan

11. Creatine kinase myocardial band
12. Cardiac troponin I
13. Lactate dehydrogenase

آمریکا، شرکت applied biosystems به تمام نمونه‌های سرم اضافه شد. سپس یک آنالیز اسپکتوفتومتری در طیف ۲۶۰ نانومتر برای ارزیابی غلظت نهایی ریبونوکلیئیک اسید موجود در هر نمونه، انجام شد و سپس نمونه‌های موجود در دمای ۸۰- فریز شدند. مقدار بیان هر یک از انواع miR ها در زمان تحلیل با استفاده از معرفها (ساخت آمریکا، شرکت applied biosystems) و پرایمرهای TaqMan miRNA qRT-PCR تعیین شد. نمونه‌های جداسازی شده RNA، بر اساس واکنش نسخه‌برداری معکوس و تولید cDNA با استفاده از کیت TaqMan®miRNA Reverse Transcription Kit و پرایمرهای ویژه miRNA-specific stem-loop primers طبق دستورالعمل شرکت سازنده؛ نسخه‌برداری شدند. در ادامه، عمل Real-Time PCR با استفاده از پرایمرها و کیت ویژه انجام شد. سپس مقدار هر یک از miRها طبق جزئیات روش رویز^{۱۱} و دیگران (۲۰۱۹) اندازه‌گیری شدند. ارزش‌های Ct به دست آمده برای miR هر نمونه با استفاده از کنترل درونی U6 snRNA (cat#4373381, Abmion) طبیعی سازی شدند. به طور ویژه، میزان بیان mRNA نسبی از حاصل تفریق Ct مربوط به U6 snRNA از Ct مربوط به mRNA مورد نظر به دست آمد؛ و باز از مقدار به دست آمده در نمونه مرجع (کنترل)، کسر شد. چند برابر تغییر^{۱۱} با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد. همه اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شدند (وو^{۱۲} و دیگران، ۲۰۱۴).

برای استخراج نتایج، ابتدا از طبیعی بودن توزیع داده‌ها به کمک آزمون شاپیرو - ویلک^{۱۳} اطمینان حاصل شد. در بخش آمار توصیفی، داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند. در ادامه، برای مقایسه بین گروهی داده‌ها، از روش تحلیل واریانس عاملی^{۱۴} 2×2 استفاده شد. در صورت معنی‌دار شدن یکی از عامل‌ها و یا تاثیر تعاملی آن‌ها در تحلیل واریانس عاملی (۲×۲)، مقایسه بین گروهی داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس یک راهه^{۱۵} انجام شد. در ادامه برای مقایسه دو به دو گروه‌ها، از آزمون تعقیبی توکی^{۱۶} و یا جیمز هاول^{۱۷} (بسته به نتایج آزمون لون^{۱۸}) بهره‌برداری گردید. در تمام آزمون‌ها، سطح اطمینان آماری برابر با ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱ میانگین و انحراف معیار وزن بدن، وزن قلب، نسبت وزن قلب به وزن بدن و شاخص‌های آسیب بافتی

ابتدا آزمون ظرفیت ورزشی برای برآورد VO_{2max} انجام شد. بدین‌منظور، موش‌های صحرایی ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه، با سرعت ۱۰ متر بر دقیقه و شیب ۱۰ درجه؛ گرم کردند. سپس آزمون فزاینده ورزشی آغاز شد، بدین صورت که شیب نوارگردان ۲۵ درجه (ثابت) بود و هر دو دقیقه، سرعت نوارگردان 0.03 متر بر ثانیه (حدود ۲-۱/۸ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا زمانی که دیگر موش‌های صحرایی قادر به ادامه فعالیت ورزشی نباشند (ملاک سه بار افتادن روی شوکر یا خروج از نوار گردان بود). سرعت رسیدن به واماندگی تحت عنوان سرعت $v Vo_{2peak}$ ثبت شد (رودریگوز^۱ و دیگران، ۲۰۰۷).

پروتکل HIIT مورد استفاده در این پژوهش، به مدت هشت هفته، پنج جلسه در هفته بر روی نوارگردان اجرا شد، به گونه‌ای که در هر جلسه ۱۰ وهله فعالیت چهار دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵ تا ۹۰ درصد vVO_{2max} و با دوره‌های استراحتی فعال دو دقیقه‌ای با شدت ۵۰ تا ۶۰ درصد vVO_{2max} اجرا گردید. شدت تمرین به صورت پیش‌رونده تا هفته هشتم (با تغییر سرعت نوارگردان به میزان 0.02 متر بر ثانیه) افزایش یافت، اما شیب نوارگردان در تمام طول دوره تمرینی بدون تغییر (صفر) باقی ماند (وارینگ^۲ و دیگران، ۲۰۱۲). در هر جلسه قبل از شروع فاز تمرین اصلی، به مدت پنج دقیقه و با سرعت پنج متر در دقیقه، گرم کردن انجام شد.

کورکومین روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (بیسواز^۳ و دیگران، ۲۰۱۰) به صورت حل شده در چهار میلی‌لیتر آب مقطر به صورت گاوآژ به موش‌ها خوراندند، به گونه‌ای که در دو وهله و هر وهله نصف دوز به حیوانات داده شد.

حیوانات با کتامین^۴ (۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین^۵ (۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و سپس کشته شدند و قلب آن‌ها پس از تزریق سالین سرد^۶، از خون پاک سازی شد و سپس توزین گردید. در ادامه، بطن چپ جداسازی و با فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و برای آنالیز بافت شناسی و ایمونوهیستولوژیک^۷ مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری مقدار miR ابتدا معرف تریزول^۸ برای به دست آوردن ریبونوکلیئیک اسید از نمونه سرم (۲۵۰ میکرو لیتر در هر نمونه) مورد استفاده قرار گرفت. سپس مقدار پنج نانومول بر لیتر از کرم الگانس^۹ miR-39 ساخت

1. Rodrigues
2. Waring
3. Biswas
4. Ketamine
5. Xylazine
6. Cold saline

7. Immunohistological
8. Trizol
9. Caenorhabditis elegans
10. Ruiz
11. Fold change
12. Wu

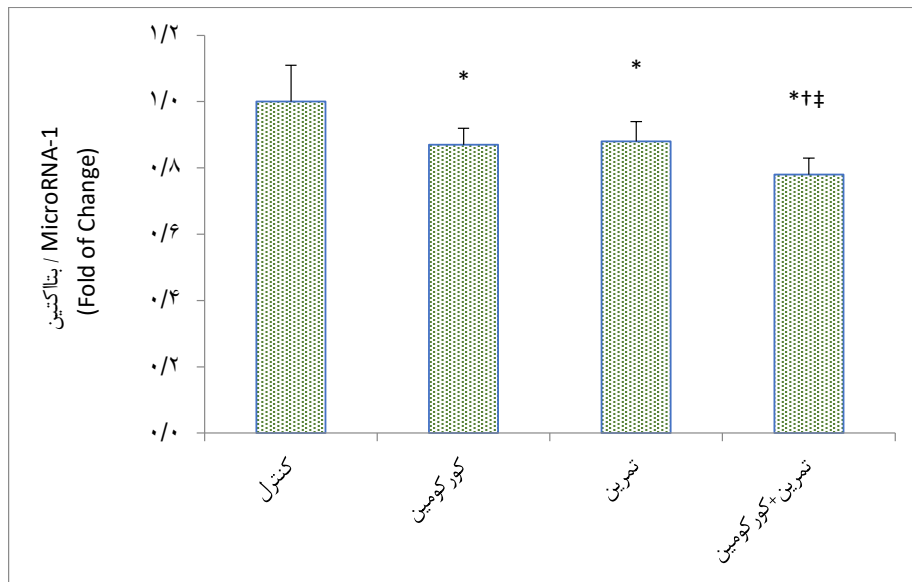
13. Shapiro-Wilk
14. Factorial analysis of variance
15. One-way ANOVA
16. Tukey
17. Games-Howell
18. Levene

نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تزریق درون صفاقی ایزوپروترنول باعث القاء انفارکتوس میوکارد در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار گردید. کل موش‌های صحرائی نر دوره مداخله را بدون تلفات تکمیل کردند.

جدول ۱. متغیرهای دموگرافیک و شاخص‌های آسیب قلبی موش‌های صحرائی

شاخص / گروه	وزن بدن (گرم)	وزن قلب (گرم)	نسبت وزن قلب به وزن بدن	تروپونین I قلبی (نانوگرم بر میلی لیتر)	کراتین کیناز (واحد بین الملل بر لیتر)	لاکتات دهیدروژناز (واحد بین الملل بر لیتر)
کنترل	234/06 ± 16/54	1/93 ± 0/21	0/82 ± 0/09	0/78 ± 0/12	286/4 ± 15/61	248/3 ± 13/83
کورکومین	237/82 ± 14/36	1/88 ± 0/18	0/79 ± 0/08	0/76 ± 0/11	282/9 ± 15/23	244/7 ± 17/78
تمرین	238/20 ± 16/04	1/91 ± 0/22	0/80 ± 0/08	0/75 ± 0/11	286/7 ± 12/39	246/3 ± 15/81
تمرین + کورکومین	239/24 ± 16/40	1/89 ± 0/14	0/79 ± 0/06	0/77 ± 0/12	281/5 ± 14/08	245/1 ± 16/78

در مورد متغیرهای miR-133 و miR-1، نتایج تحلیل واریانس عاملی (۲×۲) حاکی از وجود تاثیر معنی دار عاملی و یا تعاملی بود. بنابراین در ادامه مقایسه بین گروهی داده‌ها با استفاده از تحلیل واریانس تک راهه و آزمون تعقیبی توکی دنبال شد که نتایج آن‌ها در قالب شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.



شکل ۱. مقایسه بیان ژن miR-1 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرائی پس از مداخله؛ * نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کنترل در سطح $p=0/001$ ؛ † نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه کورکومین در سطح $p=0/001$ ؛ ‡ نشانه تفاوت معنی دار نسبت به گروه تمرین + کورکومین در سطح $p=0/001$.

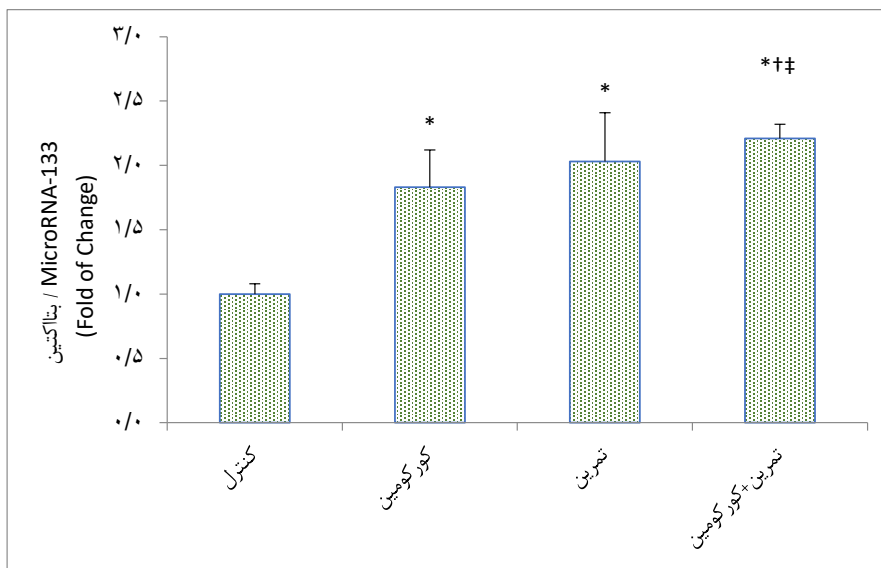
اما اثر تعاملی ($F=16/62$, $p=0/001$) معنی داری بین این دو مشاهده شد. به عبارت دیگر، تمرین + کورکومین نسبت به تمرین ($F=44/7$, $p=0/001$) و کورکومین ($F=44/7$, $p=0/001$) در افزایش مقدار بیان ژن miR-133 کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرائی تاثیر بیشتری داشت.

بحث

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که هم HIIT، هم کورکومین و هم اثر توأم آن‌ها (تمرین + کورکومین)، موجب کاهش معنی دار بیان ژن miR-1 و افزایش معنی دار

در مورد miR-1، اثر عامل‌های وضعیت تمرین ($p=0/18$)، و مصرف مکمل ($F=4/00$, $p=0/29$) معنی دار نبود؛ اما اثر تعاملی ($F=4/72$, $p=0/03$) معنی داری بین این دو مشاهده شد. به عبارت دیگر، تمرین + کورکومین نسبت به تمرین ($F=24/85$, $p=0/001$) و کورکومین ($F=24/85$) در کاهش مقدار بیان ژن miR-1 کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرائی تاثیر بیشتری داشت.

در مورد miR-133 نیز اثر عامل‌های وضعیت تمرین ($p=0/27$)، و مصرف مکمل ($F=2/73$, $p=0/36$) معنی دار نبود؛



شکل ۲. مقایسه بیان ژن miR-133 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی پس از مداخله؛ * نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح $p=0/001$ ‡ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین + کورکومین در سطح $p=0/001$ *‡‡ نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه تمرین در سطح $p=0/001$.

با تمرینات خیلی شدید، جابه‌جایی و انتقال کلسیم بهبود یافته و سطوح SERCA2 قلبی افزایش می‌یابد (گورود^۱ و دیگران، ۲۰۱۲). علاوه بر این، حساسیت میوفیبرهای قلبی به کلسیم پس از HIIT افزایش یافته و همین تغییر، موجب فعال شدن کینازهای وابسته به کلسیم- کالمودولین^۲ (CaMK) می‌گردد. فعال شدن CaMK خود نیز HDAC^۳ را فعال می‌کند (گورود و دیگران، ۲۰۱۲) و با مهار کاسپاز ۳ و کاهش آپوپتوزیس، RNA پلیمراز III افزایش پیدا کرده و در نهایت، بیان ژن‌های miR-133 و miR-1 تغییر می‌کند؛ روندی که در نهایت، موجب مهار کاسپاز ۳ و کاهش آپوپتوزیس می‌شود (قربانی و دیگران، ۲۰۱۸).

در زمینه مکمل کورکومین، نتایج حاضر با یافته‌های خیائو^۴ و دیگران (۲۰۱۶) و لیو و دیگران (۲۰۱۷) همسو است؛ این در حالی است که گزارش‌های ناهمسوئی در ارتباط با مکمل کورکومین یافت نشد. اثر تمرین و مکمل کورکومین احتمالاً بسته به تفاوت در آزمودنی‌ها (انسان یا موش)، پروتکل تمرینی (استقامتی، مقاومتی، تناوبی خیلی شدید کوتاه‌مدت و با شدت و مدت متفاوت)، بافت مورد سنجش (عضله اسکلتی، عضله قلبی یا پلاسما)، وضعیت قلبی آزمودنی‌ها (سالم یا مبتلا به آنفارکتوس میوکارد، تمرین کرده یا بدون تمرین)، دوز و مدت زمان مصرف مکمل کورکومین، شکل مصرف مکمل کورکومین (کپسول، تزریق درون صفاقی و گاواژ) و نیز زمان نمونه‌گیری؛ می‌تواند متفاوت باشد. خیائو و دیگران (۲۰۱۶) نشان داده‌اند که

بیان ژن miR-133 در کاردیومیوسیت موش‌های صحرایی می‌شود. با این حال، در مورد هر دو متغیر بررسی شده، اثر تمرین + کورکومین نسبت به تمرین و کورکومین به تنهایی، بهبودی بیشتری ایجاد می‌کند.

در این راستا، دلفان و دیگران (۲۰۲۱) نشان داده‌اند که هشت هفته HIIT موجب کاهش معنی‌دار miR-1 موش‌های دیابتی می‌شود. قربانی و دیگران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند که شش هفته HIIT کوتاه‌مدت منجر به افزایش بیان ژن miR-133a و miR-1 در عضله قلبی موش‌های مبتلا به انفارکتوس قلبی می‌شود. از سوی دیگر، فتحی و دیگران (۲۰۲۰) نشان داده‌اند که ۱۴ هفته تمرین استقامتی (با شدت ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، شش روز در هفته و هر جلسه به مدت ۶۰ دقیقه در موش‌های نر سالم؛ موجب افزایش بیان miR-133 و miR-1 بطن چپ قلب می‌گردد. نتایج مطالعه حاضر در زمینه تأثیر HIIT بر بیان ژن‌های miR-133 و miR-1 با یافته‌های دلفان و دیگران (۲۰۲۱) همسو است، اما با یافته‌های قربانی و دیگران (۲۰۱۸) و فتحی و دیگران (۲۰۲۰) ناهمسو می‌باشد.

احتمال دارد HIIT با تأثیر بر عوامل مؤثر در miRها، از قبیل RNA پلیمراز III، جابجایی کلسیم، کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹، باعث کاهش بیان ژن miR-1 و افزایش بیان ژن miR-133 شده باشد و با متعهد شدن سلول‌های بنیادی جنینی به رده مزودرمی پیش‌ساز قلبی، در ترمیم بافت قلب پس از MI مؤثر واقع شده باشد. به نظر می‌رسد بر اثر سازگاری

1. Guiraud

3. Histone deacetylase

2. Ca²⁺-calmodulin

4. Xiao

با مکمل کورکومین هم در نظر گرفته شود. برنامه فعالیت بدنی جزء همیشگی برنامه‌های توانبخشی قلبی است و حتی در موش‌ها یک روز پس از بروز انفارکتوس نیز فعالیت بدنی با آثار سودمند قابل ملاحظه‌ای همراه بوده است (لیائو و دیگران، ۲۰۱۹). با این حال، باید در نظر داشت که miR-1 در تنظیم آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها نقش دارد و مقدار آن در پاسخ به آپوپتوزیس ناشی از فشار اکسایشی، به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (تانگ و دیگران، ۲۰۰۹). با توجه به این که مکانیسم انفارکتوس میوکارد از طریق تزریق حاد ایزوپرتنول، عمدتاً از مسیر فشار اکسایشی قابل توجهی است (سیدیکو^{۱۱} و دیگران، ۲۰۱۶)؛ کاهش مشاهده شده پس از دریافت کورکومین، اجرای HIIT و مداخله همزمان این دو، می‌تواند دال بر کاهش آپوپتوزیس متعاقب بروز سکتة قلبی در قلب موش‌ها باشد. اگرچه در تحقیق حاضر انواع مرگ سلولی از جمله نکروز شدن اندازه‌گیری نشده است، اما از این نکته نباید غفلت کرد که به دنبال آپوپتوزیس میوکارد، نکروزی شدن هم در طی ایسکمی پایدار و شدید رخ می‌دهد (یو و دیگران، ۲۰۱۰). در یک تحقیق اشاره شده است که فعال‌سازی آپوپتوزیس از مسیر داخلی (کاسپاز نه و سپس کاسپاز سه) در مراحل اولیه ایسکمی قلبی نیز رخ می‌دهد، اما این آپوپتوزیس تا قبل از ایسکمی قلبی شدید کمتر از ۲۵ دقیقه، در گسترش وسعت ناحیه انفارکتوس شده، مشارکت ندارد (مک‌کولی^{۱۲} و دیگران، ۲۰۰۴). این نکته می‌تواند به معنی آن باشد که احتمالاً تنها هدف فعال‌سازی آپوپتوزیس در کاردیومیوسیت‌ها، همواره در جهت پیش راندن ماشین مرگ سلولی قلب نیست؛ موضوعی که قبلاً هم توسط سایر محققین (مجیدی و دیگران، ۲۰۲۰) بیان شده است. با این حال، مشارکت نکروزی شدن بافت در گسترش وسعت ناحیه دچار سکتة در ایسکمی‌های قلبی شدید ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه‌ای؛ بیشتر از آپوپتوزیس بوده است (مک‌کولی و دیگران، ۲۰۰۴). در تحقیق حاضر، مشارکت میزان نکروزی شدن و آپوپتوزی شدن بافت در بروز مرگ سلولی ناشی از ایزوپرتنول تعیین نگردیده و این یک محدودیت مهم محسوب می‌شود. علیرغم این باید توجه نمود که معمولاً نکروزی شدن ناشی از تزریق ایزوپرتنول در ناحیه زیر اندوکارد (داخلی‌ترین لایه قلب) بطن چپ و دیواره میانی آن، بیش از همه رخ می‌دهد. چندین مکانیسم به

مصرف کورکومین به میزان روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و در طی هفت روز، موجب بهبود فیروز قلبی ناشی از انفارکتوس میوکارد می‌شود. لیو^۱ و دیگران (۲۰۱۷) نیز دریافته‌اند که مصرف کورکومین به میزان روزانه ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن طی ۲۰ روز، می‌تواند به طور قابل توجهی آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها را مهار کند.

کورکومین می‌تواند با جلوگیری از هاپیرتروفی قلبی ناشی از نورآدرنالین (آهوجا^۲ و دیگران، ۲۰۱۱) یا آنژوتنسنین II (با مهار کردن گیرنده-۱ لیپوپروتئین با چگالی پایین اکسید شده شبه لکتین^۳ یا LOX-1 توسط کورکومین) (کانگ^۴ و دیگران، ۲۰۱۰)، یا جبران آسیب‌های ناشی از ایسکمی تزریق مجدد (دوان^۵ و دیگران، ۲۰۱۲)، مهار فعالیت هیستون استیل ترانسفراز^۶ p300 (موریموتو^۷ و دیگران، ۲۰۰۸)، بازداری از استرس اکسایشی کاردیومیوسیت‌ها (حسین‌زاده و دیگران، ۲۰۱۱) و میتوکندری‌های آن‌ها (ناصرزاده و دیگران، ۲۰۱۸)، تاثیر بر مسیره‌های نسخه‌برداری (موریموتو و دیگران، ۲۰۱۰)، فسفوریلاسیون JNK (پان و دیگران، ۲۰۱۴)، تغییر روند آپوپتوزیس از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt، و نهایتاً، کاهش ناقل‌های فسفات (جان‌کون^۸ و دیگران، ۲۰۱۶)؛ از مرگ کاردیومیوسیت‌ها جلوگیری نماید. بر این اساس، احتمالاً مکمل کورکومین با دست‌کاری و مهار برخی مسیرهای درگیر و کاهش بیان ژن miR-1 و افزایش بیان ژن miR-133؛ در کاهش آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها و بهبود عملکرد قلب موش‌های صحرایی مطالعه حاضر پس از انفارکتوس؛ موثر واقع شده است. معمولاً در قلبی که دچار انفارکتوس شده، بیان miRهای قلبی تغییر محسوسی پیدا می‌کند؛ به طوری که منجر به اثرات زیان‌آور ناشی از نارسایی قلب، آریتمی، افزایش آپوپتوزیس، فیروز، و هیپرتروفی می‌شود (چیستیاکوف^۹ و دیگران، ۲۰۱۶). یافته‌های بدست‌آمده حکایت از آن دارد که ترکیب تمرین و مکمل کورکومین از نظر تغییر در بیان ژن‌های miR-1 و miR-133 کاردیومیوسیت‌های قلبی موش‌های صحرایی نر (مدل انفارکتوس میوکارد حاد)، مزیت اضافی نسبت به تمرین به تنهایی ندارد؛ اما نسبت به دریافت کورکومین تنها، نوعی اثر سینرژیستی^{۱۰} را نشان می‌دهد و حداقل می‌تواند دال بر این باشد که در نمونه‌های دچار انفارکتوس میوکارد، اصولاً نباید فقط به آثار احتمالی مورد انتظار از کورکومین بسنده کرد، بلکه بهتر است برنامه‌های فعالیت‌بدنی همراه

1. Liu

2. Ahuja

3. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1

4. Kang

5. Duan

6. Histone Acetyltransferase

7. Morimoto

8. Junkun

9. Chistiakov

10. Synergistic

11. Siddiqui

12. McCully

بروز واقعی مرگ سلولی کاردیومیوسیت‌ها، و عدم تفکیک نوع دقیق مرگ سلولی؛ نشان داده شد که تقریباً هر سه مداخله انجام شده با بهبود بیان ژنی miRهای درگیر در آپوپتوزیس کاردیومیوسیت‌ها به دنبال القای سکتة قلبی حاد ناشی از تزریق درون صفاقی ایزوپروتینول (بازتاب دهنده شرایط آسیب قلبی مدل ایسکمی - خون رسانی مجدد)؛ همراه هستند. نتیجه مهم حاصل از تحقیق حاضر این بود که عموماً مقدار اثرات مشاهده شده پس از مداخله همزمان HIIT و مکمل کورکومین، بیشتر است و بدین ترتیب، با وجود کمبود شواهد تحقیقی مشابه و محدودیت‌های تحقیق حاضر که هنوز نیاز به انجام تحقیقات خیلی بیشتر در این زمینه را تایید می‌کند، به نظر می‌رسد که اطلاعات این تحقیق می‌تواند زمینه ساز تجویز مکمل کورکومین در کنار برنامه‌های تمرین بدنی پس از انفارکتوس میوکارد باشد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

پژوهشگران بدین‌وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولان محترم آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و کسانی که در اجرای پروتکل تحقیق ما را یاری کردند، اعلام می‌دارند.

عنوان القای مرگ سلولی از طریق تزریق ایزوپروتینول در کاردیومیوسیت‌ها پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به عدم توازن در مقدار مورد نیاز و میزان فراهمی اکسیژن کاردیومیوسیت‌ها (به دلیل فعالیت بیش از حد کاردیومیوسیت‌ها ناشی از افزایش خاصیت اینوتروپیک^۱ و کرونوتروپیک^۲ قلب)، کاهش در فشار خون بستر عروق کرونری، افزایش شارژ بیش از حد یون کلسیم در داخل سلول‌ها، فعال‌سازی آنزیم آدنیلات سیکلاز و تخلیه ATP، و افزایش استرس اکسایشی ناشی از چندین فرآورده مشتق از ایزوپروتینول؛ اشاره کرد (سیدیکو و دیگران، ۲۰۱۶). در کل، به نظر می‌رسد که آثار سودمند HIIT و مکمل کورکومین بر کاهش مرگ سلول کاردیومیوسیت‌های تحت تزریق ایزوپروتینول، احتمالاً همه مسیرهای فوق را تا اندازه‌ای تحت تأثیر قرار داده است؛ اما بروز فشار اکسایشی در قلب، محتوای ATP یا فعالیت آنزیم آدنیلات سیکلاز، مقدار کلسیم درون سلولی، و میزان نیاز اکسیژن موش‌ها بررسی نشده است، تا بر اساس آن‌ها بتوان نتیجه‌گیری روشن و قطعی داشت. بررسی این عوامل در تحقیقات آینده درک روشن‌تری از موضوع فراهم خواهد ساخت.

نتیجه‌گیری: با وجود محدودیت‌هایی از قبیل عدم بررسی مستقیم شاخص‌های عملکرد قلبی موش‌ها، عدم بررسی تفکیکی سلول‌های انفارکتوس شده و فاقد انفارکتوس در قلب، عدم بررسی سرنوشت جذب کورکومین، عدم تایید

منابع

- Abel, E.D., & Doenst, T. (2011). Mitochondrial adaptations to physiological vs. pathological cardiac hypertrophy. *Cardiovascular Research*, 90(2), 234-242.
- Ahuja, S., Kohli, S., Krishnan, S., Dogra, D., Sharma, D., & Rani, V. (2011). Curcumin: A potential therapeutic polyphenol, prevents noradrenaline-induced hypertrophy in rat cardiac myocytes. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(12), 1604-1612.
- Alihemmati, A., Ebadi, F., Moghadaszadeh, M., Asadi, M., Zare, P., & Badalzadeh, R. (2019). Effects of high-intensity interval training on the expression of microRNA-499 and pro-and anti-apoptotic genes in doxorubicin-cardiotoxicity in rats. *Journal of Electrocardiology*, 55, 9-15.
- Bang, C., Batkai, S., Dangwal, S., Gupta, S.K., Foinquinos, A., Holzmann, A., ... & Zeug, A. (2014). Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(5), 2136-2146.
- Biswas, J., Roy, S., Mukherjee, S., Sinha, D., & Roy, M. (2010). Indian spice curcumin may be an effective strategy to combat the genotoxicity of arsenic in Swiss albino mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 11(1), 239-47.

- Boarescu, P.M., Chirilă, I., Bulboacă, A.E., Bocşan, I.C., Pop, R.M., Gheban, D., & Bolboacă, S.D. (2019). Effects of curcumin nanoparticles in isoproterenol-induced myocardial infarction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 7847142.
- Bulku, E., Stohs, S.J., Cicero, L., Brooks, T., Halley, H., & Ray, S.D. (2012). Curcumin exposure modulates multiple pro-apoptotic and anti-apoptotic signaling pathways to antagonize acetaminophen-induced toxicity. *Current Neurovascular Research*, 9(1), 58-71.
- Cheng, C., Wang, Q., You, W., Chen, M., & Xia, J. (2014). MRNAs as biomarkers of myocardial infarction: a meta-analysis. *PloS One*, 9(2), e88566.
- Chistiakov, D.A., Orekhov, A.N., & Bobryshev, Y.V. (2016). Cardiac-specific miRNA in cardiogenesis, heart function, and cardiac pathology (with focus on myocardial infarction). *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 94, 107-121.
- Danowski, N., Manthey, I., Jakob, H.G., Siffert, W., Peters, J., & Frey, U.H. (2013). Decreased expression of miR-133a but not of miR-1 is associated with signs of heart failure in patients undergoing coronary bypass surgery. *Cardiology*, 125(2), 125-130.
- Delfan, M., Kordi, M.R., Ravasi, A.A., Safa, M., Nasli Esfahani, E., & Rambod, K. (2021). The effect of high intensity interval training and continuous endurance training on gene expression of mir-1 and IGF-1 in cardiomyocyte of diabetic male rats. *Journal of Sport Biosciences*, 13(1), 1-13. [In Persian]
- Duan, W., Yang, Y., Yan, J., Yu, S., Liu, J., Zhou, J., ... & Yi, D. (2012). The effects of curcumin post-treatment against myocardial ischemia and reperfusion by activation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Basic Research in Cardiology*, 107(3), 263.
- Ellison, G.M., Waring, C.D., Vicinanza, C., & Torella, D. (2012). Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart*, 98(1), 5-10.
- Fathi, M., Gharakhanlou, R., & Rezaei, R. (2020). The changes of heart miR-1 and miR-133 expressions following physiological hypertrophy due to endurance training. *Cell Journal*, 22(Suppl 1), 133-140.
- Ghajari, H., Hosseini, S.A., & Farsi, S. (2019). The effect of endurance training along with cadmium consumption on Bcl-2 and Bax gene expressions in heart tissue of rats. *Annals of Military and Health Sciences Research*, 17(1), e86795.
- Ghorbani, P., Kordi, M.R., Gaeini, A., Noori, R., & Karbalaieifar, S. (2018). Effect of high intensity interval training on miR-1, miR133-a gene expression in rats with myocardial infarction. *Sport Physiology*, 10(37), 87-98. [In Persian]
- Guiraud, T., Nigam, A., Gremeaux, V., Meyer, P., Juneau, M., & Bosquet, L. (2012). High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports Medicine (Auckland, NZ)*, 42(7), 587-605.
- Gupta, S.K., Foinquinos, A., Thum, S., Remke, J., Zimmer, K., Bauters, C., ... Preissl, S. (2016). Preclinical development of a microRNA-based therapy for elderly patients with myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(14), 1557-1571.
- He, F., Liu, H., Guo, J., Yang, D., Yu, Y., Yu, J., ... & Du, Z. (2018). Inhibition of MicroRNA-124 reduces cardiomyocyte apoptosis following myocardial infarction via targeting STAT3. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 51(1), 186-200.
- Hosseinzadeh, L., Behravan, J., Mosaffa, F., Bahrami, G., Bahrami, A., & Karimi, G. (2011). Curcumin potentiates doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 cardiac muscle cells through generation of reactive oxygen species. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1102-1109.

- Hu, S., Huang, M., Li, Z., Jia, F., Ghosh, Z., Lijkwan, M.A., ... & Wu, J.C. (2010). MicroRNA-210 as a novel therapy for treatment of ischemic heart disease. *Circulation*, 122(11_suppl_1), S124-S131.
- Izarrar, A., Moscoso, I., Levent, E., Cañón, S., Cerrada, I., Díez-Juan, A., ... & Ruíz-Sauri, A. (2014). miR-133a enhances the protective capacity of cardiac progenitors cells after myocardial infarction. *Stem Cell Reports*, 3(6), 1029-1042.
- Junkun, L., Erfu, C., Tony, H., Xin, L., Sudeep, K.C., Mingliang, Z., ... & XiangQian, Q. (2016). Curcumin downregulates phosphate carrier and protects against doxorubicin induced cardiomyocyte apoptosis. *BioMed Research International*, 2016, 1-6.
- Kang, B.Y., Khan, J.A., Ryu, S., Shekhar, R., Seung, K.B., & Mehta, J.L. (2010). Curcumin reduces angiotensin II-mediated cardiomyocyte growth via LOX-1 inhibition. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 55(4), 417-424.
- Liao, Z., Li, D., Chen, Y., Li, Y., Huang, R., Zhu, K., ... & Cai, D. (2019). Early moderate exercise benefits myocardial infarction healing via improvement of inflammation and ventricular remodelling in rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(12), 8328-8342.
- Liu, H., Wang, C., Qiao, Z., & Xu, Y. (2017). Protective effect of curcumin against myocardium injury in ischemia reperfusion rats. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1144-1148.
- Majidi, A., Poozesh Jadidi, R., Azali Alamdari, K., Bashiri, J., & Nourazar, M.A.R. (2020). Effects of aerobic training and curcumin supplementation on cardiomyocyte apoptosis and MiRNAs expression in rats exposed to arsenic. *Sport Physiology*, 12(48), 39-60. [In Persian]
- Matkovich, S.J., Wang, W., Tu, Y., Eschenbacher, W.H., Dorn, L.E., Condorelli, G., . . . & Dorn, G.W. (2010). MicroRNA-133a protects against myocardial fibrosis and modulates electrical repolarization without affecting hypertrophy in pressure-overloaded adult hearts. *Circulation Research*, 106(1), 166-175.
- McCully, J.D., Wakiyama, H., Hsieh, Y.J., Jones, M., & Levitsky, S. (2004). Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 286(5), H1923-H1935.
- Moeini, M., Behpoor, N., & Tadibi, V. (2020). The effect of 8 weeks high intensity interval training on the expression of PI3K in the left ventricle and insulin resistance of male Wistar rats with type 2 diabetes. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport*, 8(16), 48-58. [In Persian]
- Morimoto, T., Sunagawa, Y., Kawamura, T., Takaya, T., Wada, H., Nagasawa, A., ... & Hasegawa, K. (2008). The dietary compound curcumin inhibits p300 histone Acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(3), 868-878.
- Morimoto, T., Sunagawa, Y., Fujita, M., & Hasegawa, K. (2010). Novel heart failure therapy targeting transcriptional pathway in cardiomyocytes by a natural compound, curcumin. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*, 74(6), 1059-1066.
- Naserzadeh, P., Mehr, S.N., Sadabadi, Z., Seydi, E., Salimi, A., & Pourahmad, J. (2018). Curcumin protects mitochondria and cardiomyocytes from oxidative damage and apoptosis induced by hemiscorpius lepturus venom. *Drug Research*, 68(2), 113-120.
- Pan, Y., Wang, Y., Zhao, Y., Peng, K., Li, W., Wang, Y., ... & Liang, G. (2014). Inhibition of JNK phosphorylation by a novel curcumin analog prevents high glucose-induced inflammation and apoptosis in cardiomyocytes and the development of diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*, 63(10), 3497-3511.

- Pinchi, E., Frati, P., Aromatario, M., Cipolloni, L., Fabbri, M., La Russa, R., . . . & Scopetti, M. (2019). miR-1, miR-499 and miR-208 are sensitive markers to diagnose sudden death due to early acute myocardial infarction. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(9), 6005-6016.
- Recchioni, R., Marcheselli, F., Olivieri, F., Ricci, S., Procopio, A. D., & Antonicelli, R. (2013). Conventional and novel diagnostic biomarkers of acute myocardial infarction: a promising role for circulating microRNAs. *Biomarkers*, 18(7), 547-558.
- Rimbaud, S., Garnier, A., & Ventura-Clapier, R. (2009). Mitochondrial biogenesis in cardiac pathophysiology. *Pharmacological Reports*, 61(1), 131-138.
- Rodrigues, B., Figueroa, D.M., Mostarda, C.T., Heeren, M.V., Irigoyen, M.C., & De Angelis, K. (2007). Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology*, 6(1), 1-7.
- Ruiz-Vera, T., Ochoa-Martinez, A.C., Zarazua, S., Carrizales-Yañez, L., & Pérez-Maldonado, I.N. (2019). Circulating miRNA-126,-145 and-155 levels in Mexican women exposed to inorganic arsenic via drinking water. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 67, 79-86.
- Siddiqui, M., Ahmad, U., Khan, A., Ahmad, M., Badruddeen, K.M., & Akhtar, J. (2016). Isoprenaline: a tool for inducing myocardial infarction in experimental animals. *International Journal of Pharmacy*, 6(2), 138-144.
- Somasundaram, S., Edmund, N.A., Moore, D.T., Small, G.W., Shi, Y.Y., & Orlowski, R.Z. (2002). Dietary curcumin inhibits chemotherapy-induced apoptosis in models of human breast cancer. *Cancer Research*, 62(13), 3868-3875.
- Song, C.-L., Liu, B., Diao, H.-Y., Shi, Y.-F., Li, Y.-X., Zhang, J.-C., ... & Yu, Y.-P. (2014). The protective effect of microRNA-320 on left ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury in the rat model. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10), 17442-17456.
- Sun, C., Liu, H., Guo, J., Yu, Y., Yang, D., He, F., & Du, Z. (2017). MicroRNA-98 negatively regulates myocardial infarction-induced apoptosis by down-regulating Fas and caspase-3. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Tang, Y., Zheng, J., Sun, Y., Wu, Z., Liu, Z., & Huang, G. (2009). MicroRNA-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting Bcl-2. *International Heart Journal*, 50(3), 377-387.
- Tony, H., Meng, K., Wu, B., Yu, A., Zeng, Q., Yu, K., & Zhong, Y. (2015). MicroRNA-208a dysregulates apoptosis genes expression and promotes cardiomyocyte apoptosis during ischemia and its silencing improves cardiac function after myocardial infarction. *Mediators of Inflammation*, 2015, 479123.
- Tuttolomondo, A., Simonetta, I., & Pinto, A. (2016). MicroRNA and receptor mediated signaling pathways as potential therapeutic targets in heart failure. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 20(11), 1287-1300.
- Wang, B., Zhou, R., Wang, Y., Liu, X., Shou, X., Yang, Y., ... & Wu, Q. (2020). Effect of high-intensity interval training on cardiac structure and function in rats with acute myocardial infarct. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110690.
- Wang, N.P., Wang, Z.F., Tootle, S., Philip, T., & Zhao, Z.Q. (2012). Curcumin promotes cardiac repair and ameliorates cardiac dysfunction following myocardial infarction. *British Journal of Pharmacology*, 167(7), 1550-1562.
- Waring, C.D., Vicinanza, C., Papalamprou, A., Smith, A.J., Purushothaman, S., Goldspink, D.F., ... & Ellison, G. M. (2012). The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *European Heart Journal*, 35(39), 2722-2731.

- Winbanks, C.E., Ooi, J.Y., Nguyen, S.S., McMullen, J.R., & Bernardo, B.C. (2014). Micro RNAs differentially regulated in cardiac and skeletal muscle in health and disease: Potential drug targets?. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 41(9), 727-737.
- Wu, X.D., Zeng, K., Liu, W.L., Gao, Y.G., Gong, C.S., Zhang, C.X., & Chen, Y.Q. (2014). Effect of Aerobic Exercise on miRNA-TLR4 Signaling in Atherosclerosis. *International Journal of Sports Medicine*, 35(4), 344-350.
- Yang, B., Lin, H., Xiao, J., Lu, Y., Luo, X., Li, B., ... & Wang, H. (2011). The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nature Medicine*, 17(12), 1693-1694.
- Yi-Yuan, L., Chen, J.S., Wu, X.B., Shyu, W.C., Chaunchaiyakul, R., Xian-Li, Z., ... & Lee, S.D. (2018). Combined effects of 17 β -estradiol and exercise training on cardiac apoptosis in ovariectomized rats. *PLoS One*, 13(12), e0208633.
- Ying, S.Y., Chang, D.C., & Lin, S.L. (2018). The MicroRNA. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 1733, 1-25.
- Yu, L., Fan, Y., Ye, G., Li, J., Feng, X., Lin, K., ... & Wang, Z. (2015). Curcumin inhibits apoptosis and brain edema induced by hypoxia-hypercapnia brain damage in rat models. *The American Journal of the Medical Sciences*, 349(6), 521-525.
- Yu, S., & Li, G. (2010). MicroRNA expression and function in cardiac ischemic injury. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 3(3), 241-245.
- Yu, W., Zha, W., Ke, Z., Min, Q., Li, C., Sun, H., & Liu, C. (2016). Curcumin protects neonatal rat cardiomyocytes against high glucose-induced apoptosis via PI3K/Akt signalling pathway. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 4158591.
- Xiao, J., Sheng, X., Zhang, X., Guo, M., & Ji, X. (2016). Curcumin protects against myocardial infarction-induced cardiac fibrosis via SIRT1 activation in vivo and in vitro. *Drug Design, Development and Therapy*, 10, 1267-1277.
- Zheng, H., Xie, N., Xu, H., Huang, J., Xie, X., & Luo, M. (2014). Effects of 4 month exercise on left ventricular remodeling and autonomic nervous system in hypertensive patients. *Panminerva Medica*, 58(1), 1-7.