

The effect of eight-week of aerobic training and curcumin supplementation on Bnip3 and Parkin gene expression in cardiomyocytes of male mice in a myocardial infarction model

Majid Seifi Azar Nezhad¹ , Roghayeh Pouzesh Jadidi² , Karim Azali Alamdari³ , Jabbar Bashiri⁴ , Masoud Asgharpour-Arshad⁵ 

- 1- PhD Student in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
- 2- Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
- 3- Associate Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
- 4- Professor at Department of Exercise Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
- 5- Assistant Professor at Department of Physical Education and Sport Sciences, Faculty of Basic Sciences, Amin Police University, Tehran, Iran.

Extended Abstract

Background and Aim: Cardiovascular diseases remain a leading cause of global mortality, with myocardial infarction (MI) significantly contributing to premature death and disability. MI triggers a cascade of pathophysiological events, including oxidative stress and calcium dysregulation, which severely impair mitochondrial function. Mitochondrial quality control, particularly mitophagy, is crucial for post-ischemic recovery. The PINK1 (PTEN-induced putative kinase 1)/Parkin (Parkinson disease protein 2, PARK2) pathway facilitates the removal of damaged mitochondria, whereas the expression of Bnip3 (BCL2 interacting protein 3) plays a dual role, potentially promoting mitophagy or inducing apoptosis depending on its expression levels. While aerobic exercise and curcumin are known for their cardioprotective effects through mitochondrial biogenesis and antioxidant pathways, their synergistic impact on the fine-tuning of the Parkin/Bnip3 balance remains unexplored. Therefore, this study aims to investigate the synergistic effects of chronic aerobic exercise and curcumin supplementation on the expression of Bnip3 and Parkin genes in the myocardium of male rats following MI.

Materials and Methods: This was an experimental study. Forty male Wistar rats (16 weeks old) were housed under standard conditions (22±2°C, 12:12h light/dark cycle) following a two-week acclimatization period. Sample size per group was determined via G*Power analysis. Rats were randomly assigned to five groups: healthy control, MI control, MI+exercise, MI+curcumin, and MI+exercise+curcumin. MI was induced in 32 rats via intraperitoneal injection of isoproterenol (100 mg/kg/day) for two consecutive days. Forty-eight hours post-injection, serum cardiac markers—Troponin, Creatine Kinase (CK), and Lactate Dehydrogenase (LDH)—were measured using Pars Azmoon kits to verify MI induction. All procedures strictly adhered to international ethical guidelines for animal research.

Following MI induction, rats in the exercise-based groups underwent a one-week acclimatization period (5 sessions/week, 5–10 m/min) to familiarize them with the treadmill. The main training program lasted eight weeks, performed five days per week at approximately 16:00 o'clock. The protocol followed a progressive intensity model: the first two weeks consisted of 15-minute sessions at 10 m/min, followed by biweekly increases in speed and duration. By the final two weeks, sessions reached 50 minutes at 25 m/min. All sessions included a 5-minute warm-up and a 5-minute cool-down (5–10 m/min) on a zero-degree incline.

Curcumin (Sigma-Aldrich, Germany) was administered daily (15 mg/kg) via oral gavage in two divided doses. Twenty-four hours after the final dose/exercise, rats were anesthetized (Ketamine, 400 mg/kg, i.p.) and euthanized via overdose. Heart tissues were harvested; left ventricles were fixed in 10% formalin for histology, while others were homogenized in lysis buffer (100 mg/1 mL) and stored at -80°C. For mRNA analysis, tissues were preserved in RNAlater™. Relative gene expression was quantified via qPCR using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method, normalized to β -actin. Primers were validated via NCBI Primer-BLAST and melting curve analysis. Data normality was assessed via Shapiro-Wilk test. Intergroup comparisons were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test (SPSS/22) $P < 0.05$.

Findings: Throughout the eight-week experimental period, a significant progressive increase in body weight was observed across all experimental groups ($p = 0.001$). Despite this upward trend, no statistically significant differences were detected between the mean body weights of the various treatment groups by the end of the study ($F=2.57$, $p=0.252$), indicating that the interventions (aerobic exercise and Curcumin supplementation) did not adversely affect the general growth or nutritional status of the rats.

One-way ANOVA test revealed statistically significant differences in the expression levels of the mitochondrial autophagy-related genes Bnip3 ($p=0.001$) and Parkin ($p=0.001$) among the 4 studied groups of male MI rats. Tukey's post-hoc test indicated that both the exercise and exercise+curcumin groups exhibited a significant increase in Bnip3 ($p=0.001$) and Parkin ($p=0.001$) mRNA expression compared to both the curcumin-only group and the control group. No statistically significant difference was observed between the curcumin-only and control groups for either gene ($p=0.108$). Likewise, no statistically significant difference was detected between the exercise and exercise+curcumin groups ($p=0.18$), although the exercise+curcumin group showed a numerically greater effect on both variables compared to the exercise-only group.

These findings suggest that aerobic exercise, whether alone or combined with curcumin supplementation, is the primary driver of enhanced Bnip3- and Parkin-mediated mitophagy in the cardiomyocytes of male MI rats, whereas curcumin supplementation alone does not significantly alter the expression of these genes relative to the untreated control condition.

Table 1. Mean $\pm$ SD of Bnip3 and Parkin gene expression across study groups, with one-way ANOVA results

Genes	Groups	Mean $\pm$ SD	F	Sig (p)
Bnip3	Control	1 $\pm$ 0.11	14.25	0.001*
	MI	1.10 $\pm$ 0.15		
	MI+Exercise	2.90 $\pm$ 0.17		
	MI+Exercise+Curcumin	3.20 $\pm$ 0.20		
Parkin	Control	2 $\pm$ 0.25	12.45	0.001*
	MI	2.20 $\pm$ 0.26		
	MI+Exercise	3.70 $\pm$ 0.30		
	MI+Exercise+Curcumin	4 $\pm$ 0.32		

*indicator of significant differences between groups at $p < 0.05$; MI: Myocardial infarction; Bnip3: BCL2 interacting protein 3; Parkin: Parkinson disease protein.

Conclusion: The observed upregulation of Bnip3 and Parkin reflects a critical adaptive response aimed at mitigating mitochondrial dysfunction and oxidative damage following myocardial infarction. This mitophagy-mediated process facilitates the efficient removal of dysfunctional mitochondria, thereby significantly enhancing mitochondrial quality control within the cellular environment. While the current findings indicate that aerobic exercise serves as the primary

driver of these mitochondrial adaptations under ischemic conditions, the combination of exercise and curcumin supplementation further modulates this expression, potentially creating a more favorable biochemical milieu for mitochondrial repair. Although curcumin supplementation alone did not induce significant changes, its integration with aerobic training appears to bolster mitochondrial resilience and mitigate systemic oxidative stress. In conclusion, eight weeks of aerobic exercise, especially when paired with curcumin, enhances the mitophagic response in the cardiomyocytes of male MI rats. Although these results from a rodent model require cautious generalization to human clinical settings, they highlight a promising therapeutic strategy to improve cardiac recovery through enhanced mitochondrial homeostasis.

Keywords: Aerobic exercise, curcumin, and Bnip3 and Parkin gene expression.

Ethical Considerations : The study protocol was approved by the Ethics Committee of Ethics Committee of the University of Tabriz (Code: IR.TABRIZU.REC.1399.054). All procedures involving animal handling, anesthesia, and euthanasia were performed according to the national guidelines for the care and use of laboratory animals to ensure minimal distress and adherence to ethical standards.

Compliance with ethical guideline: Compliance with ethical guidelines: All animal experimental procedures were performed in accordance with the institutional guidelines for the care and use of laboratory animals.

Funding: This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflicts of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest to disclose.



اثر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Bnip3 و Parkin در کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی

مجید سیفی آذر^۱، رقیه پوزش جدیدی^۲، کریم آزالى علمدارى^۳، جبار بشیری^۴، مسعود اصغرپور ارشد^۵

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، majid.seifiazar@gmail.com، ۰۹۱۴۴۱۴۶۶۷۶
۲. دانشیار گروه علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، poozesh@iaut.ac.ir، ۰۹۱۴۱۰۸۴۰۴۵ (نویسنده مسئول)
۳. دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، k.azali@azaruniv.ac.ir، ۰۹۱۴۷۸۸۸۱۴۲
۴. استاد گروه علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، bashiri.jabbar@iaut.ac.ir، ۰۹۱۴۱۰۸۱۳۰۹
۵. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم انتظامی امین، تهران، ایران، masoud.asgharpour@uma.ac.ir، ۰۹۱۴۱۰۴۱۵۹۹

چکیده

زمینه و هدف: اختلال در میتوفاژی یا پاکسازی میتوکندری‌های آسیب‌دیده نقش مهمی در پیشرفت آسیب‌های قلبی پس از سکته دارد. با توجه به اهمیت ژن‌های Bnip3 و Parkin در این فرآیند، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین بر بیان ژن Bnip3 و Parkin در کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته قلبی بود. **روش تحقیق:** در مطالعه تجربی حاضر ۳۲ سر موش صحرایی نر پس از القای سکته قلبی توسط تزریق ایزوپروتینول (۱۰۰ میلی‌گرم، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز) به صورت تصادفی به چهار گروه تمرین هوازی، مکمل، کنترل و مکمل+تمرین تقسیم شدند. تمرین هوازی به مدت هشت هفته به صورت دویدن با شدت متوسط روی نوار گردان انجام شد و کورکومین نیز روزانه با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوآذ مصرف شد. در پایان مداخله بیان ژن Bnip3 و Parkin میتوکندریایی با استفاده از روش Real-time PCR به دست آمده‌ها با روش تحلیل واریانس یک راهه و تعقیبی توکی در سطح معنی داری $P \leq 0.05$ تحلیل شدند. **یافته‌ها:** هشت هفته تمرین هوازی و مصرف مکمل کورکومین، بیان ژن‌های Bnip3 و Parkin را در کاردیومیوسیت‌های مدل سکته قلبی به طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و مکمل افزایش داد ($P \leq 0.001$) و ($P \leq 0.01$). اثر هم‌افزایی تمرین و مکمل بر بیان این دو ژن، به طور قابل توجهی بیشتر از اثر تمرین به تنهایی بود، در حالی که مکمل به تنهایی تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد ($P \leq 0.15$). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد تمرین هوازی، به تنهایی و به ویژه در ترکیب با مکمل، می‌تواند با افزایش بیان ژن‌های Bnip3 و Parkin که در فرآیندهای حفظ کیفیت میتوکندری نقش دارند، پاسخ‌های تطابقی مثبتی را در دوره انقارکتوس القا کند. با این حال، برای نتیجه‌گیری قطعی درباره آثار عملکردی این تغییرات، انجام مطالعات بیشتر ضروری است.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی، کورکومین و بیان ژن Bnip3 و Parkin.

The effect of eight-week of aerobic training and curcumin supplementation on Bnip3 and Parkin gene expression in cardiomyocytes of male mice in a myocardial infarction model

Majid Seifi Azar Nezhad¹ , Roghayeh Pouzesh Jadidi² , Karim Azali Alamdari³ , Jabbar Bashiri⁴ , Masoud Asgharpour-Arshad⁵ 

- 1- Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Mobile Phone: 09144146676, E-mail: majid.seifiazar@gmail.com
- 2- Corresponding Author, Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Mobile Phone: 09141084045, E-mail: poozesh@iaut.ac.ir
- 3- Department of Sport sciences, Department of sport sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran. Mobile Phone: 09147888142 E-mail: k.azali@azaruniv.ac.ir
- 4- Department of Sport Sciences, Faculty of Educational Sciences and Psychology, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Mobile Phone: 09141081309, E-mail: bashiri.jabbar@iaut.ac.ir
- 5- 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.

Abstract

Background and Aim: Impaired mitophagy or clearance of damaged mitochondria plays an important role in the progression of cardiac injury after stroke. Given the importance of Bnip3 and Parkin genes in this process, the aim of the present study was to investigate the effect of eight weeks of aerobic exercise and curcumin supplementation on Bnip3 and Parkin gene expression in cardiomyocytes of male rats in a myocardial infarction model. **Materials and Methods:** In the present experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups: aerobic exercise, supplement, control, and exercise supplement after induction of myocardial infarction by injection of isoproterenol (100 mg/kg body weight/day). Aerobic exercise was performed for eight weeks in the form of moderate-intensity treadmill running, and curcumin was administered daily by gavage at a dose of 15 mg/kg body weight. At the end of the intervention, mitochondrial Bnip3 and Parkin gene expression was obtained using Real-time PCR. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey post hoc at a significance level of $P \geq 0.05$.

Findings: Eight weeks of aerobic exercise and curcumin supplementation significantly increased the expression of Bnip3 and Parkin genes in cardiomyocytes of the myocardial infarction model compared to the control and supplement groups ($P \geq 0.001$) and ($P \geq 0.001$). The synergistic effect of exercise and supplementation on the expression of these two genes was significantly greater than the effect of exercise alone, while supplementation alone did not show a significant difference with the control group ($P \geq 0.15$). **Conclusion:** It seems that aerobic exercise, alone and especially in combination with supplementation, can induce positive adaptive responses during infarction by increasing the expression of Bnip3 and Parkin genes, which play a role in the processes of maintaining mitochondrial quality. However, further studies are necessary to draw definitive conclusions about the functional effects of these changes.

Keywords: Aerobic exercise, curcumin, and Bnip3 and Parkin gene expression.



بیماری‌های قلبی-عروقی همچنان مهم‌ترین علت مرگ‌ومیر در جهان به شمار می‌روند و در این میان، انفارکتوس میوکارد^۱ سهم قابل توجهی در ناتوانی و مرگ زودرس دارد (۱). انسداد حاد عروق کرونری^۲ موجب کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت میوکارد شده و مجموعه‌ای از رویدادهای پاتوفیزیولوژیک^۳ شامل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال هموستاز کلسیم، التهاب، نکروز^۴ و آپوپتوز^۵ را فعال می‌کند (۲). در سطح سلولی، میتوکندری‌ها به‌عنوان اصلی‌ترین منبع تولید ATP و تنظیم‌کننده تعادل اکسیداسیون-احیا، بیشترین آسیب را در شرایط ایسکمی و آسیب خون‌رسانی مجدد^۶ متحمل می‌شوند (۳). در سال‌های اخیر، مفهوم کنترل کیفیت میتوکندری^۷ به‌عنوان یکی از محورهای اصلی در پاتوفیزیولوژی انفارکتوس مطرح شده است. یکی از مهم‌ترین سازوکارهای این کنترل، فرآیند میتوفاژی^۸ است؛ زیرمجموعه‌ای اختصاصی از اتوفاژی که میتوکندری‌های آسیب‌دیده را شناسایی و حذف می‌کند (۴). یکی از مسیرهای کلیدی در تنظیم میتوفاژی، مسیر PINK1/Parkin است که ژن آن یک یوبیکیتون لیگاز^۹ است که در پاسخ به کاهش پتانسیل غشای میتوکندری فعال شده و با یوبی کوئیتینه^{۱۰} کردن پروتئین‌های غشای خارجی میتوکندری، آن‌ها را برای تخریب لیزوزومی هدف‌گذاری می‌کند (۷). پژوهش‌های انجام‌شده در مدل‌های حیوانی انفارکتوس نشان داده‌اند که کاهش بیان Parkin پس از انفارکتوس با تجمع میتوکندری‌های ناکارآمد، افزایش استرس اکسیداتیو و تشدید نارسایی قلبی همراه است (۸). همچنین نقش ژن Bnip3 در پاسخ به ایسکمی و انفارکتوس، ماهیتی دوگانه و حساس دارد. این ژن به‌عنوان یک پروتئین القاشونده در شرایط هیپوکسی شناخته می‌شود که بیان آن در ساعات اولیه پس از ایسکمی به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۹). از یک سو، Bnip3 با اتصال به غشای میتوکندری، می‌تواند با فعال‌سازی فرآیند میتوفاژی، به حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده کمک کند و از سوی دیگر، بیان بیش‌ازحد و کنترل‌نشده‌ی این ژن می‌تواند با افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری، منجر به القای مسیرهای آپوپتوز و نکروز گسترده شود (۱۰). شواهد در مدل‌های حیوانی نشان داده است که افزایش افراطی Bnip3 با تشدید آسیب بافتی و اختلال در بازسازی بطن چپ همراه است، در حالی که مهار نسبی آن منجر به کاهش آسیب می‌شود (۱۱). بنابراین، چالش اصلی در دوره انفارکتوس، تنظیم میزان بیان این ژن در یک محدوده متعادل است (۱۲).

در این میان، تمرین هوازی می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تنظیم‌کننده عمل کند. مطالعات نشان داده‌اند که تمرین هوازی مزمن نه تنها از طریق بهبود بیوزن میتوکندری (از طریق مسیر PGC-1 α) عملکرد میتوکندریایی را ارتقا می‌دهد (۱۲)، بلکه می‌تواند با تعدیل بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی مانند Parkin و همچنین کنترل سطح بیان Bnip3، از فعال شدن بیش‌ازحد مسیرهای مرگ سلولی جلوگیری کند (۱۳، ۱۴). به‌عبارتی، تمرین ورزشی با ایجاد یک تعادل میان فرآیندهای پاکسازی میتوکندریایی و بقای سلولی، از تبدیل شدن پاسخ‌های تطابقی به آسیب‌های بافتی جلوگیری کرده و مسیر را به سمت بازسازی بافت سوق می‌دهد (۱۲).

¹ - Myocardial Infarction; MI

² - Acute coronary occlusion

³ - Pathophysiological events

⁴ - Necrosis

⁵ - Apoptosis

⁶ - Conditions of ischemia and reperfusion injury

⁷ - Mitochondrial quality control

⁸ - Mitophagy

⁹ - ubiquitin ligase

¹⁰ - Ubiquitin



مطالعات تجربی نشان داده‌اند که تمرین هوازی مزمن با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش تولید ROS و بهبود بیوژنز میتوکندری از طریق فعال‌سازی PGC-1 α ، عملکرد میتوکندری را بهبود می‌بخشد (۱۲). در مدل‌های حیوانی انفارکتوس، گزارش شده است که تمرین بر روی ترمیم با شدت متوسط می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی از جمله Parkin را افزایش داده و کارایی حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده را ارتقا دهد (۱۳). همچنین برخی مطالعات نشان داده‌اند که تمرین ورزشی موجب تعدیل بیان Bnip3 و کاهش فعال‌سازی بیش‌ازحد مسیرهای آپوپتوزی در بافت قلب می‌شود (۱۴).

در این میان، در کنار راهبردهای دارویی و بالینی، ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، به‌ویژه کورکومین (پلی‌فنول مشتق از زردچوبه)، مورد توجه قرار گرفته‌اند. شواهد نشان می‌دهند که کورکومین با فعال‌سازی مسیر AMPK و کاهش استرس اکسیداتیو از آسیب ایسکمی-ری‌پرفیوژن جلوگیری می‌کند. همچنین، این ترکیب با تعدیل بیان ژن‌های مرگ سلولی مانند Bnip3 و تقویت مسیرهای محافظتی مانند Parkin منجر به کاهش اندازه انفارکتوس و بهبود عملکرد قلب در مدل‌های حیوانی شده است (۱۵).

مداخلات اعمال شده (تمرین و مکمل)، احتمالاً از طریق یک مسیر سیگنالینگ منسجم عمل می‌کنند که در آن توازن میان بیوژنز و میتوفاژی میتوکندریایی کلید اصلی است. فعال‌سازی مسیر AMPK/PGC-1 α که در مطالعات مذکور به آن اشاره شده، نقشی محوری در بهبود عملکرد میتوکندریایی ایفا می‌کند، به طوری که PGC-1 α با تحریک بیوژنز، تعداد میتوکندری‌های سالم را افزایش می‌دهد. با این حال، در شرایط استرس ناشی از انفارکتوس، افزایش تعداد میتوکندری به تنهایی کافی نیست و همزمان باید میتوکندری‌های آسیب‌دیده نیز حذف شوند (۱۶). در این راستا، ارتباط میان مسیرهای بیوژنز و پاکسازی، از طریق تنظیم ژن‌های کلیدی مانند Parkin و Bnip3 تبیین می‌شود. اگرچه تمرین هوازی از طریق فعال‌سازی PGC-1 α به سمت بیوژنز سوق می‌یابد، اما همزمان با تحریک بیان Parkin، کارایی حذف میتوکندری‌های ناقص را افزایش می‌دهد. نکته حائز اهمیت، نقش تعدیل‌کننده این مسیر در بیان Bnip3 است، به گونه‌ای که این مداخله می‌تواند با جلوگیری از بیان افراطی Bnip3 (که منجر به آپوپتوز می‌گردد) و هم‌سو شدن آن با فرآیند میتوفاژی کنترل‌شده، تعادلی میان بقای سلولی و پاکسازی اجزای آسیب‌دیده ایجاد کند (۱۵). بنابراین، به نظر می‌رسد هم‌افزایی میان مسیرهای AMPK/PGC-1 α و سیستم‌های میتوفاژی (Parkin/Bnip3)، مکانیسم اصلی محافظت قلبی در این مطالعه باشد.

اگرچه اثرات تک‌بعدی تمرین هوازی و مکمل کورکومین بر سلامت قلبی به‌خوبی مستند شده است، اما یک شکاف پژوهشی مشخص در ادبیات موضوع مشاهده می‌شود، تاکنون هیچ مطالعه‌ای به بررسی هم‌افزایی این دو مداخله بر تنظیم دقیق مسیرهای میتوفاژی نپرداخته است. از آنجا که عملکرد قلبی پس از انفارکتوس به شدت وابسته به تعادل میان بیوژنز و میتوفاژی است، مشخص نیست که آیا ترکیب این دو راهبرد می‌تواند از طریق تنظیم هم‌زمان Parkin و Bnip3، به یک پاسخ محافظتی فراتر از مداخله‌های تک‌گانه منجر شود یا خیر. پر کردن این شکاف علمی، گامی حیاتی در جهت توسعه پروتکل‌های درمانی ترکیبی برای بازتوانی قلبی محسوب می‌شود.

روش تحقیق

این مطالعه از نوع تجربی بود. در مجموع، ۴۰ سر موش صحرایی نر ۱۶ هفته‌ای، تحت شرایط استاندارد محیطی شامل دمای ۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه نور/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت نگهداری شدند. تمامی مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی، از جمله

دوره سازگاری، اجرای پروتکل تمرینی و بیهوشی، مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی معتبر بین‌المللی انجام گرفت و پروتکل این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه تبریز با کد تصویب IR.TABRIZU.REC.1399.054 تأیید گردید.

به‌منظور کاهش اثرات استرس محیطی و پیشگیری از تغییرات فیزیولوژیک ناخواسته، حیوانات پیش از شروع مداخله، به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه دوره سازگاری را پشت سر گذاشتند. حجم نمونه برای هر گروه، بر اساس الگوی محاسباتی توان آماری (Power Analysis) با استفاده از نرم‌افزار G*Power، هشت سر موش تعیین گردید تا از دقت و توان آماری تحلیل‌ها اطمینان حاصل شود. در نهایت، حیوانات با استفاده از روش تولید اعداد تصادفی در نرم‌افزار Excel به پنج گروه هشت‌تایی شامل: (۱) کنترل سالم، (۲) کنترل سکت، (۳) سکت + تمرین، (۴) سکت + کورکومین و (۵) سکت + تمرین + کورکومین تقسیم شدند. به‌استثنای گروه کنترل سالم که صرفاً به‌منظور تأیید مدل القای سکت در نظر گرفته شده بود، سایر حیوانات (۳۲ سر) طی دو روز متوالی تحت تزریق درون‌صفاقی ایزوپروترنول با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز قرار گرفتند. در زمان ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق، نمونه‌گیری خون از گوشه چشم حیوانات انجام شد. تأیید وقوع سکت قلبی از طریق مقایسه بین‌گروهی سطوح تروپونین سرم و همچنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کراتین‌کیناز و لاکتات دهیدروژناز صورت گرفت. قابل ذکر است که آنزیم کراتین‌کیناز با غلظت بالا در قلب و عضلات اسکلتی و با غلظت پایین در بافت مغز یافت می‌شود. به علت نقش این آنزیم در کاتابولیسم طبیعی بافت، مقدار بالاتر از حد نرمال این آنزیم نشان‌دهنده تروما به بافت حاوی کراتین‌کیناز است. کراتین‌کیناز در انفارکتوس‌های قلبی زودتر از لاکتات دهیدروژناز و التهاب عضلات اسکلتی افزایش می‌یابد (۱۴). به‌منظور اندازه‌گیری آنزیم کراتین‌کیناز و لاکتات دهیدروژناز از کیت ایرانی شرکت پارس‌آزمون استفاده شد. حساسیت کیت کراتین‌کیناز دو واحد بر لیتر و با ضریب تغییرات درونی ۱/۶۰ درصد و کیت لاکتات دهیدروژناز نیز دارای حساسیت شش واحد در لیتر و ضریب تغییرات درونی برابر با ۱/۶۸ درصد بود.

جدول ۱. فعالیت آنزیم‌های قلبی جهت تأیید بروز انفارکتوس میوکارد

گروه‌ها	فعالیت کراتین‌کیناز گروه (واحد بین‌المللی بر لیتر)	فعالیت لاکتات دهیدروژناز (واحد بین‌المللی بر لیتر)	تروپونین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
کنترل سالم	۲۸۶/۱۶±۳۷/۲۰	۲۲۶/۱۳±۷۵/۰۶	۰/۰±۷۷/۱۰
کنترل سکت	۳۲۴/۱۶±۵۰/۵۱	۲۸۶/۱۶±۸۷/۰۷	۰/۱۰±۱۲/۹۰
P بین گروهی	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۱*	۰/۰۳*

*نشانه تفاوت معنی دار بین گروه‌ها در سطح $P \leq 0.05$

پس از القای سکت، موش‌های گروه‌های «سکت + تمرین» و «سکت + تمرین + کورکومین» وارد مرحله اولیه آشنایی با فعالیت ورزشی شدند. این دوره یک هفته‌ای شامل پنج جلسه دویدن روی تردمیل با سرعت‌های ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه بود تا حیوانات به شرایط تمرین عادت کنند. پس از پایان دوره سازگاری، برنامه تمرینی اصلی به مدت هشت هفته آغاز شد. تمرینات پنج روز در هفته و تقریباً در ساعت ۱۶ هر روز انجام می‌گرفت. در دو هفته نخست، هر جلسه شامل دویدن ۱۵ دقیقه‌ای با سرعت ثابت ۱۰ متر بر دقیقه بود. سپس، هر دو هفته یک‌بار، شدت و مدت تمرین به‌طور تدریجی افزایش یافت، به‌گونه‌ای که در دو هفته پایانی،

سرعت حرکت به ۲۵ متر بر دقیقه و مدت زمان هر جلسه به ۵۰ دقیقه رسید (جدول ۲). شیب تردمیل در طول کل دوره تمرینی ثابت و برابر صفر درجه نگه داشته شد. همچنین، هر جلسه با پنج دقیقه گرم کردن در ابتدای تمرین و پنج دقیقه سرد کردن در انتهای آن همراه بود که در این بازه‌ها سرعت دستگاه بین ۵ تا ۱۰ متر بر دقیقه تنظیم می‌شد (۱۷).

جدول ۲. جزئیات برنامه تمرین در دوره مداخله

هفته ها									شاخص ها
هشتم	هفتم	ششم	پنجم	چهارم	سوم	دوم	اول	آشناسازی	
۲۵	۲۵	۲۰	۲۰	۱۵	۱۵	۱۰	۱۰	۱۰ تا ۵	سرعت (متر در دقیقه)
۵۰	۴۵	۴۰	۳۵	۳۰	۲۵	۲۰	۱۵	۵	مدت (دقیقه)

در گروه‌های «سکته + کورکومین» و «سکته + تمرین + کورکومین»، مکمل کورکومین (ساخت شرکت سیگمای آلمان) به صورت روزانه با دوز ۱۵ mg/kg وزن بدن تجویز گردید (۱۵). جهت اجرای پروتکل، کورکومین در ۴ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و در دو نوبت (هر نوبت شامل ۵۰٪ از دوز روزانه) از طریق گاوژ خوراکی به حیوانات داده شد. بیست و چهار ساعت پس از آخرین جلسه تمرین و آخرین نوبت تجویز مکمل، حیوانات تحت بیهوشی با استفاده از آورتین^۱ با دوز ۴۰۰ mg/kg از طریق تزریق درون‌صفافی بیهوش شدند و متعاقباً با روش Overdose یوتاناز گردیدند. جهت پاکسازی خون از شبکه عروقی، تزریق سالین سرد انجام شد. پس از استخراج قلب، وزن آن ثبت گردید، سپس بطن چپ جهت انجام آنالیزهای مورفولوژیک و هیستوپاتولوژیک در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت شد.

نمونه‌های بافتی قلب از طریق هموژن‌سازی در بافر لیز آماده شدند، به‌طوری‌که نسبت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت به ۱ میلی‌لیتر بافر رعایت شد. نمونه‌های هموژن به مدت ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۲,۰۰۰ دور در دقیقه و بر روی یخ سانتریفیوژ شدند. سپس بخش فوقانی سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای انجام آزمایش‌های ژنتیک، بافت عضله قلب پس از شستشو در سرم فیزیولوژیک، در میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی محلول RNA later™ با نسبت ۲۰ درصد غوطه‌ور شد و به آزمایشگاه منتقل گردید.

برای محاسبه بیان ژن‌ها، ژن β -actin به عنوان ژن مرجع (Housekeeping gene) جهت نرمال‌سازی داده‌ها به کار رفت و میزان بیان نسبی هر ژن با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه گردید. جهت اطمینان از دقت و اختصاصیت واکنش، ابتدا توالی پرایمرها از طریق آنالیز (NCBI) Primer-BLAST بررسی گردید تا از عدم اتصال غیر اختصاصی به سایر ژن‌های موش صحرایی اطمینان حاصل شود. همچنین، اختصاصیت تکثیر در هر واکنش از طریق آنالیز منحنی ذوب (Melting Curve Analysis) تایید گردید. نتایج نشان‌دهنده وجود یک پیک (Peak) واحد، تیز و مشخص برای هر ژن بود که نشان‌دهنده تولید یک محصول PCR با طول مشخص و بدون وجود پرایمر-دایمر یا محصولات غیر اختصاصی (Non-specific products) است. واکنش‌های تکثیر در حجم نهایی ۲۰ μ L انجام گرفت که شامل ۱۰ μ L Master Mix، ۳ μ L پرایمر رفت (Forward)، ۳ μ L پرایمر برگشت (Reverse)، ۲ μ L الگوی cDNA (با نسبت رقت ۱:۲۰:۱:۲۰:۱) و ۱/۷ μ L آب مقطر انجام گرفت. پروتکل دمایی شامل مرحله اولیه (Initial Denaturation)

¹ - Avertin

در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، و متعاقباً ۴۵ چرخه شامل دو مرحله دمایی ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه (Denaturation) و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه (Annealing/Extension) بود. تمام آزمایش‌ها با انجام کنترل بدون الگو (NTC) جهت بررسی عدم آلودگی انجام گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۳ ارائه شده است.

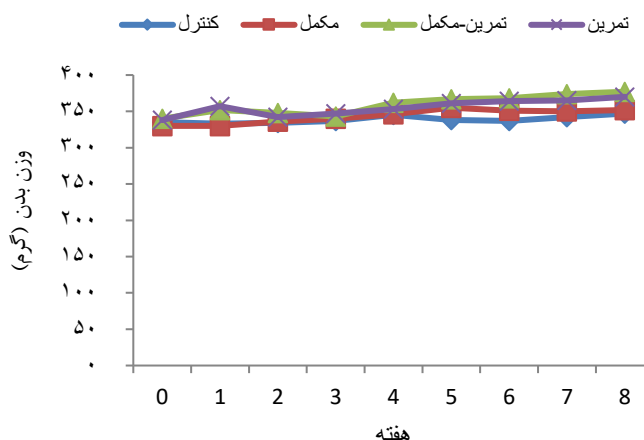
جدول ۳. توالی پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش حاضر

Gene	Forward/Reverse	Primer(5 to3)	tm	Product length	Accession Number
Bnip3	Forward	TATATGGCCCCAGCATGCGA	59.12	96	XM_007764288.2
	Reverse	GTATATGGCAGTCGACCTCA	60.36		
Parkin	Forward	ATCCAATATAAGCAGGGCTG	61.10	176	XM_018597844.1
	Reverse	AGCATCGCAAGGCAGTGGGA	60.57		

روش‌های آماری: پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک^۱، مقایسه‌های بین‌گروهی با استفاده از تحلیل واریانس یک‌راهه انجام شد. برای مقایسه‌های زوجی بین گروه‌ها، از آزمون تعقیبی توکی^۲ استفاده شد. تمامی تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت و سطح معنی‌داری در تمامی آزمون‌ها $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

تغییرات وزن: نتایج نشان داد که وزن بدن تمامی گروه‌ها در طول دوره پژوهش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$)؛ با این حال، در پایان هفته هشتم، تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن بدن گروه‌های مختلف مشاهده نشد ($F = 2.57$ $P \leq 0.001$) (شکل ۱).



شکل ۱. تغییرات وزن بدن رت‌ها در طی هشت هفته مداخله

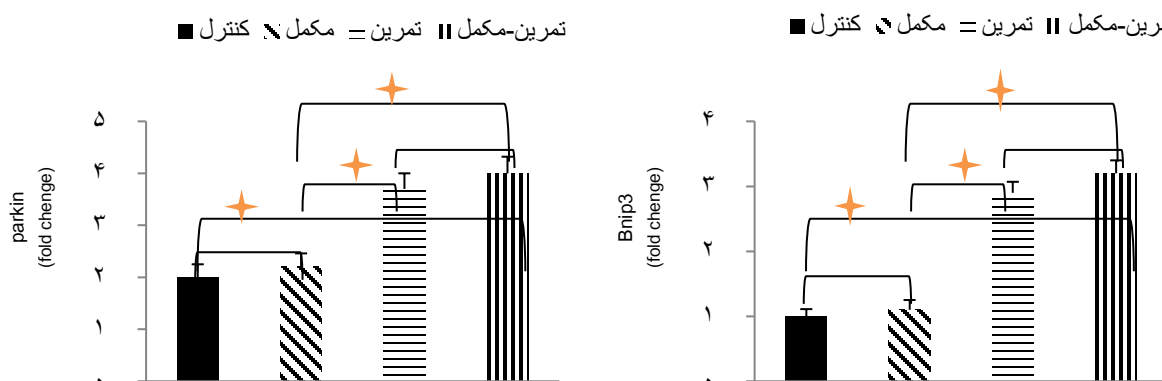
¹ - Shapiro-Wilk test

² - Tukey post hoc test

جدول ۲. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه در مورد مقایسه بیان ژن‌های Bnip3 و Parkin

Sig	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مجزورات	ANOVA	متغیرها
* ۰/۰۰۱	۱۴/۲۵۸	۱/۱۵۴	۳	۵/۲۱۴	درون گروهی	Bnip3
		۰/۹۸۵	۳۰	۳/۱۰۵	بین گروهی	
		-	۳۲	۸/۳۱۹	کل	
* ۰/۰۰۱	۱۲/۴۵۸	۱/۱۰۲	۳	۲/۱۲۰	درون گروهی	Parkin
		۰/۹۲	۳۰	۱/۱۰۲	بین گروهی	
		-	۳۲	۳/۲۲۲	کل	

توزیع داده‌ها در همه متغیرها طبیعی بود. تحلیل واریانس یک‌راهه برای مقایسه بیان ژن‌های Bnip3 ($p=0/001$) و Parkin ($p=0/001$) را نشان داد (جدول شماره ۲). نتایج آزمون توکی بیانگر افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های Bnip3 ($p=0/001$) و Parkin ($p=0/001$) در دو گروه تمرین و تمرین-مکمل نسبت به گروه مکمل و کنترل بود. همچنین تفاوت معنی‌داری بین دو گروه تمرین وجود نداشت ($p=0/001$) اما در گروه سکنه توأم اثرگذاری بر هر دوی Bnip3 و Parkin بیشتر از گروه سکنه تمرین بود (شکل ۲).



شکل ۱. میانگین بیان ژن Bnip3 و Parkin میتوکندریایی در چهار گروه پژوهش

* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در سطح $P \leq 0/05$

بحث

یافته‌های اصلی پژوهش حاضر نشان داد هشت هفته تمرین هوازی، با و بدون مصرف مکمل کورکومین، موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های Bnip3 و Parkin در کاردیومیوسیت‌های موش‌های نر مدل سکنه قلبی شد. این نتیجه با نتایج مطالعات پیشین همسو است؛ برای مثال، مطالعه مظفری تبار و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که حتی یک جلسه تمرین هوازی می‌تواند بیان Parkin را در عضله اسکلتی افزایش دهد (۱۸). همچنین ونگ^۱ و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که تمرین هوازی موجب افزایش آنزیم‌های میتوکندریایی، به‌ویژه در عضلات با متابولیسم اکسیداتیو بالا، می‌شود (۲۰). این همگرایی نشان می‌دهد که تمرین ورزشی، مستقل از نوع پروتکل، محرک قدرتمندی برای بهبود کیفیت و کمیت میتوکندری است.

^۱ - Wang



ژن Bnip3 یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده و میتوفاژی است که در شرایط استرس، هیپوکسی و آسیب اکسیداتیو فعال می‌شود. این پروتئین با اتصال به غشای خارجی میتوکندری و تعامل با ماشین اتوفاژی، حذف میتوکندری‌های معیوب را تسهیل می‌کند (۱۹). افزایش بیان Bnip3 در گروه‌های تمرین و تمرین+مکمل می‌تواند نشان‌دهنده افزایش ظرفیت سلول برای شناسایی و حذف میتوکندری‌های آسیب‌دیده باشد (۲۰). از آنجا که انفارکتوس می‌تواند با اختلال عملکرد میتوکندری، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کاهش تولید ATP همراه باشد، فعال شدن Bnip3 احتمالاً یک پاسخ تطابقی برای حفظ بقا و بهبود عملکرد بافتی است (۲۱).

مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که فعالیت بدنی منظم قادر است بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی از جمله Bnip3 را افزایش دهد و به این ترتیب، کیفیت شبکه میتوکندریایی را بهبود بخشد. این فرایند به‌ویژه در شرایط پاتولوژیک، مانند ایسکمی یا آسیب قلبی، اهمیت بیشتری دارد؛ زیرا حذف میتوکندری‌های ناکارآمد می‌تواند از تشدید استرس اکسیداتیو و آسیب ثانویه جلوگیری کند (۲۲). افزایش بیان این ژن‌ها نشان‌دهنده تقویت سازوکارهای کنترل کیفیت میتوکندری، به‌ویژه میتوفاژی انتخابی، در پاسخ به تمرین است (۱۹). علاوه بر این، گرچه ترکیب تمرین با مکمل کورکومین بهبود بیشتری نسبت به تمرین نشان داد، این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ موضوعی که بیانگر نقش غالب تمرین هوازی در القای سازگاری‌های میتوکندریایی و محرک اصلی فعال‌سازی سازوکارهای کنترل کیفیت میتوکندری در شرایط آسیب ایسکمیک است و کورکومین ممکن است نقش کمکی یا تقویتی داشته باشد (۲۰).

یافته مهم دیگر پژوهش حاضر افزایش معنی‌دار بیان ژن Parkin در گروه‌های تمرین و تمرین+مکمل بود. Parkin یک لیگاز یوبیکوئیتین E3 است که همراه با PINK1 یکی از مسیرهای اصلی میتوفاژی را تنظیم می‌کند. در شرایط آسیب میتوکندری، تجمع PINK1 روی غشای خارجی میتوکندری، Parkin را جذب کرده و موجب یوبیکوئیتینه شدن پروتئین‌های میتوکندریایی و در نهایت شناسایی و تخریب میتوکندری معیوب توسط اتوفاژی می‌شود (۲۲). افزایش بیان Parkin در گروه‌های تمرین و تمرین+مکمل نشان می‌دهد که تمرین هوازی احتمالاً مسیر PINK1/Parkin را فعال کرده و ظرفیت پاکسازی میتوکندری‌های آسیب‌دیده را افزایش داده است (۲۳). برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که فعالیت بدنی هوازی می‌تواند از طریق تحریک سازوکارهای سازگاری سلولی، از جمله افزایش بیان Parkin، به بازآرایی شبکه میتوکندریایی و بهبود عملکرد قلبی کمک کند (۱۳). در شرایط انفارکتوس، این موضوع اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا تجمع میتوکندری‌های آسیب‌دیده می‌تواند به افزایش آپوپتوز و تشدید نارسایی بافتی منجر شود. بنابراین، افزایش Parkin را می‌توان به‌عنوان نشانه‌ای از فعال شدن سیستم دفاعی سلول در برابر آسیب میتوکندریایی در نظر گرفت (۲۳).

برتری گروه تمرین+مکمل نسبت به گروه تمرین نشان می‌دهد که کورکومین احتمالاً اثر تمرین را بر مسیرهای میتوفاژی تقویت کرده است. کورکومین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تنظیم‌کننده مسیرهای سیگنالی سلولی می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش داده و شرایط لازم برای عملکرد بهتر سیستم‌های ترمیمی میتوکندری را فراهم کند (۲۴). کاهش بار اکسیداتیو ممکن است موجب حفظ یکپارچگی غشای میتوکندری و بهینه شدن سیگنال‌دهی Bnip3 و Parkin شود. از این‌رو، ترکیب تمرین و کورکومین می‌تواند یک محیط سلولی مساعدتر برای فعال‌سازی میتوفاژی و حفظ کیفیت میتوکندریایی ایجاد کند (۲۵). عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه مکمل و کنترل بیانگر آن است که کورکومین به‌تنهایی و در دوز یا مدت مداخله استفاده‌شده،

احتمالاً برای ایجاد تغییر قابل توجه در بیان این ژن‌ها کافی نبوده است. این یافته می‌تواند نشان دهد که اثر کورکومین وابسته به زمینه فیزیولوژیک یا همراهی با محرک‌هایی مانند تمرین است. به بیان دیگر، کورکومین ممکن است بیشتر نقش تقویت‌کننده پاسخ تمرین را داشته باشد تا یک عامل مستقل محرک بیان این ژن‌ها.

در تفسیر یافته‌های پژوهش حاضر باید برخی محدودیت‌ها را مدنظر قرار داد:

پژوهش حاضر عمدتاً بر تغییرات بیان ژن‌های مرتبط با میتوفاژی تمرکز داشت و این در حالی است که تحلیل بیان ژن به تنهایی نشان‌دهنده فعالیت نهایی پروتئین یا وضعیت عملکردی میتوکندری نیست. علاوه بر این مصرف کورکومین به‌تنهایی اثر معنی‌داری بر بیان ژن‌های مورد مطالعه نداشته است. این موضوع می‌تواند ناشی از دوز مصرفی یا مدت زمان کوتاه مداخله باشد. همچنین این مطالعه بر روی رت‌ها در شرایط انفارکتوس انجام شده است و به دلیل تفاوت‌های فیزیولوژیک بین مدل‌های حیوانی و نمونه‌های انسانی، تعمیم مستقیم نتایج به بیماران قلبی-عروقی باید با احتیاط صورت گیرد و در نهایت اینکه علی‌رغم کنترل شرایط آزمایشگاهی، تأثیر فاکتورهای محیطی یا تفاوت‌های فردی در پاسخ به پروتکل تمرینی و مکمل کورکومین در مدل‌های حیوانی، اگرچه ناچیز است، اما می‌تواند به‌طور بالقوه بر تغییرات دقیق ژنتیکی تأثیرگذار باشد.

نتیجه گیری

در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً تمرین هوازی و ترکیب آن با کورکومین می‌تواند با افزایش بیان Bnip3 و Parkin، مسیرهای میتوفاژی و کنترل کیفیت میتوکندری را فعال کند. این سازوکار احتمالاً به کاهش تجمع میتوکندری‌های آسیب‌دیده، محدود شدن استرس اکسیداتیو و حفاظت از بافت در برابر آسیب‌های ناشی از انفارکتوس کمک نماید. با این حال، با توجه به محدودیت‌های پژوهش، انجام مطالعات بیشتر برای روشن شدن دقیق مکانیسم‌های مولکولی و تعیین دوز و مدت بهینه مداخله ضروری است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی مرتبط با تحقیق حاضر ندارند.

قدردانی و تشکر

بدینوسیله از اساتید و مدیریت جهاد دانشگاهی تبریز که در انجام این مطالعه کمال همکاری را داشته‌اند سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1. Chen L, Luo S, Feng M, Chandra A, Baizabal-Carvallo JF, Mofatteh M, Wu J, He Y, Chen Z, Zeng X, Tu J. Decoding the link between ischemic stroke and myocardial infarction: a pathophysiological and clinical perspective. *European Journal of Medical Research*. 2025 Oct 16;30(1):984. <https://doi.org/10.1186/s40001-025-03221-y>.
2. Yang L, Zheng B, Gong Y. Global, regional and national burden of ischemic heart disease and its attributable risk factors from 1990 to 2021: a systematic analysis of the Global Burden of Disease study 2021. *BMC cardiovascular disorders*. 2025 Aug 21;25(1):625. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2026.1728877>.

3. Cai H, Lin Y. Global trends in ischemic heart disease among older adults (> 60 Years): analysis of epidemiological patterns and disease burden from 1990 through 2021. *Journal of Cardiothoracic Surgery*. 2026 Apr 28. <https://doi.org/10.1186/s13019-026-04160-3>
4. Lin Z, Zhang Z, Zeng Q, Luo S, Xu J. Global burden of cardiovascular disease attributable to lead exposure: based on the global burden of disease study 2021. *Frontiers in Public Health*. 2026 Feb 27;14:1690287. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2026.1690287>.
5. Fu M, Mei A, Min X, Yang H, Wu W, Zhong J, Li C, Chen J. Advancements in cardiovascular disease research affected by smoking. *Reviews in cardiovascular medicine*. 2024 Aug 21;25(8):298. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2508298>.
6. Zhang X, Gao Y, Zhang S, Wang Y, Pei X, Chen Y, Zhang J, Zhang Y, Du Y, Hao S, Wang Y. Mitochondrial dysfunction in the regulation of aging and aging-related diseases. *Cell Communication and Signaling*. 2025 Jun 19;23(1):290. <https://doi.org/10.1186/s12964-025-02308-7>
7. Ren H, Lai H. Pathogenesis of diabetic cardiomyopathy and emerging therapeutic strategies: a network-based perspective. *Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare*. 2026 May 18;7:1823872. <https://doi.org/10.3389/fcdhc.2026.1823872>.
8. Germano JD, Huang C, Sin J, Song Y, Tucker KC, Taylor DJ, Saadaeijahromi H, Stotland A, Piplani H, Gottlieb RA, Mentzer Jr RM. Intermittent use of a short-course glucagon-like peptide-1 receptor agonist therapy limits adverse cardiac remodeling via Parkin-dependent mitochondrial turnover. *Scientific reports*. 2020 May 19;10(1):8284. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64924-2>
9. Pan XC, Xiong YL, Hong JH, Liu Y, Cen YY, Liu T, Yang QF, Tao H, Li YN, Zhang HG. Cardiomyocytic FoxP3 is involved in Parkin-mediated mitophagy during cardiac remodeling and the regulatory role of triptolide. *Theranostics*. 2022 Feb 28;12(5):2483. <https://doi.org/10.7150/thno.71102>.
10. Yang Y, Zhu C, Zhou X, Zhang X. USP30 Knockdown Drives Mitophagy and Suppresses Pyroptosis in Heart Failure by Activating the PINK1/Parkin Pathway. *International Heart Journal*. 2025 Nov 29;66(6):1002-14. <https://doi.org/10.1536/ihj.24-738>.
11. Huang D, Wen Q, Su Y, Li X. miR-17-5p Inhibits BNIP3-Mediated Mitochondrial Autophagy to Attenuate Pathological Cardiac Fibrosis. *Balkan Medical Journal*. 2025 Oct 31;42(6):516. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.galenos.2025.2025-6-25>.
12. Wang Z, Li L, Yang M, Li B, Hu S. From Skeletal Muscle to Myocardium: Molecular Mechanisms of Exercise-Induced Irisin Regulation of Cardiac Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025 Apr 10;26(8):3550. <https://doi.org/10.3390/ijms26083550>
13. Kim NH, Kang PM. Apoptosis in cardiovascular diseases: mechanism and clinical implications. *Korean circulation journal*. 2010 Jul 1;40(7):299-305. <https://doi.org/10.4070/kcj.2010.40.7.299>.
14. Ravingerová T, Kindernay L, Barteková M, Ferko M, Adameová A, Zohdi V, Bernátová I, Ferenczyová K, Lazou A. The molecular mechanisms of iron metabolism and its role in cardiac dysfunction and cardioprotection. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Oct 24;21(21):7889. <https://doi.org/10.3390/ijms21217889>.
15. Cui J, Li H, Zhang T, Lin F, Chen M, Zhang G, Feng Z. Research progress on the mechanism of curcumin anti-oxidative stress based on signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*. 2025 Apr 7;16:1548073. <https://doi.org/10.37547/tajas/warm-15>.

16. Marton J, Ciocan RA, Bâldea I, Gherman ML, Gheban D, Filip A, Pașcalău IR, Mihăileanu FV, Pop RM, Gherman CD. Molecular Mechanisms, Dynamic Lesions, and Therapeutic Targets in Intestinal Ischemia–Reperfusion Injury: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026 Feb 12;27(4):1763. <https://doi.org/10.3390/ijms27041763>
17. Aziz SG, Pourheydar B, Chodari L, Hamidifar F. Effect of exercise and curcumin on cardiomyocyte molecular mediators associated with oxidative stress and autophagy in aged male rats. *Microvascular Research*. 2022 Sep 1;143:104380. <https://doi.org/10.3390/cancers14194573>.
18. Mozaffaritarab S, Koltai E, Zhou L, Bori Z, Kolonics A, Kujach S, Gu Y, Koike A, Boros A, Radák Z. PGC-1 α activation boosts exercise-dependent cellular response in the skeletal muscle: S. Mozaffaritarab et al. *Journal of physiology and biochemistry*. 2024 May;80(2):329-35. Guo C, Chen MJ, Zhao JR, Wu RY, Zhang Y, Li QQ, Zhao H, Dou JH, Song SF, Wei J. Exercise training improves cardiac function and regulates myocardial mitophagy differently in ischaemic and pressure-overload heart failure mice. *Experimental Physiology*. 2022 Jun;107(6):562-74. <https://doi.org/10.21474/ijar01/18505>.
19. Eidel S, Movahedizadeh M, Fakourian A, Rostamkhani F. The effect of exercise on autophagy receptors and ubiquitin-dependent mitophagy pathway: Narrative review. *Journal of Exercise & Organ Cross Talk*. 2024 Jun 1;4(2):133-44. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2024/v22i330396>.
20. Wang D, Jiang DM, Yu RR, Zhang LL, Liu YZ, Chen JX, Chen HC, Liu YP. The effect of aerobic exercise on the oxidative capacity of skeletal muscle mitochondria in mice with impaired glucose tolerance. *Journal of Diabetes Research*. 2022; 2022(1):3780156. Chen WF, Tsai SC, Zhang YH, Chang HM, Wu WJ, Su JH, Wu BN, Chen CY, Lin MY, Chen HL, Lee CH. Rhopaloic acid A triggers mitochondria damage-induced apoptosis in oral cancer by JNK/BNIP3/Nix-mediated mitophagy. *Phytomedicine*. 2024 Sep 1;132:155855. <https://doi.org/10.9734/irjpac/2024/v22i330396>
21. Wal P, Aziz N, Singh YK, Wal A, Kosey S, Rai AK. Myocardial infarction as a consequence of mitochondrial dysfunction. *Current cardiology reviews*. 2023 Nov 1;19(6):23-30. <https://doi.org/10.20944/preprints202410.1573.v1>
22. Bhullar SK, Dhalla NS. Status of mitochondrial oxidative phosphorylation during the development of heart failure. *Antioxidants*. 2023 Oct 31;12(11):1941. <https://doi.org/10.3390/antiox12111941>.
23. Kowalczyk P, Krych S, Kramkowski K, Jęczyński A, Hrapkowicz T. Effect of oxidative stress on mitochondrial damage and repair in heart disease and ischemic events. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 Nov 20;25(22):12467.
24. De Nicola B, Cataldi-Stagetti E, Diquigiovanni C, Bonora E. Calcium and reactive oxygen species signaling interplays in cardiac physiology and pathologies. *Antioxidants*. 2023 Feb 2;12(2):353. <https://doi.org/10.3390/ijms252212467>.
25. Juricic S, Kiac J, Stojkovic S, Beleslin B, Tesic M, Jovanovic I, Banovic M, Petrovic O, Aleksandric S, Vasic N, Simeunovic F. Molecular and Cellular Mechanisms of Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury: A Narrative Review. *Cells*. 2026 Jan 30;15(3):265. <https://doi.org/10.3390/cells15030265>.
26. Xiang L, Su Z. Exercise-induced stress pathways: Crosstalk between AMPK, HSPs, and inflammation. *Journal of Investigative Medicine*. 2026 Mar;74(2):95-110. <https://doi.org/10.3390/ijms27052451>.
27. Mănescu DC, Plăstoi CD, Petre RL, Mărgărit IR, Mănescu AM, Pîrvan A. Metabolic Overdrive in Elite Sport: A Systems Model of AMPK–mTOR Oscillation, NAD⁺ Economy, and Epigenetic Drift. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026 Feb 13;27(4):1817. <https://doi.org/10.3390/ijms27041817>.

28. Ottens F, Franz A, Hoppe T. Build-UPS and break-downs: metabolism impacts on proteostasis and aging. Cell Death & Differentiation. 2021 Feb;28(2):505-21. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00682-y>.

نسخه پیش از انتشار ویرایش نشده