Jundishapur
Scientific Medical Journal

March & April 2025. Vol 24. No 1

Research Paper

The Effect of Eight Weeks of Resistance Training and Supplementation with Branched-Chain Amino Acids Nanoliposome on the Expression of Nuclear Respiratory Factor 1 and 2 Genes in the Cardiomyocytes of Male Rat Model of Myocardial Infarction

Javid Najafi [1], Elham Farhadfar [2*], Mohammad Azimnezhad [3], Leila Momeni [4]

1. Department of Physical Education and sport Science, CT. C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Physical Education and Sport Sciences, Dez.C., Islamic Azad University, Dezful, Iran.
3. Department of Physical Education and sport Science, CT. C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Department of Physical Education and sport Science, CT. C., Islamic Azad University, Dezful, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Najafi J, Farhadfar E, Azimnezhad M, Momeni L. [The Effect of Eight Weeks of Resistance Training and Supplementation with Branched-Chain Amino Acids Nanoliposome on the Expression of Nuclear Respiratory Factor 1 and 2 Genes in the Cardiomyocytes of Male Rat Model of Myocardial Infarction(Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2025; 24(1):80-90. 10.32592/jsmj.24.1.80

https://doi.org/10.32592/jsmj.24.1.80

ABSTRACT

Background and Objectives Restoring and maintaining mitochondrial function due to myocardial infarction is an important therapeutic strategy to protect the heart. The aim of the present study was to determine the effect of eight weeks of resistance training and supplementation with branched amino acid (BCAA) nanoliposome on the expression of nuclear respiratory factor 1 and 2 genes in the cardiomyocytes of male rat model of myocardial infarction.

Subjects and Methods In this experimental study, 32 male Wistar rats were divided into 4 groups of resistance training, supplement, combined (resistance training + supplement) and control after induction of myocardial infarction by intraperitoneal injection of isoproterenol. Resistance training consisted of eight weeks of ladder training with moderate intensity (70% of MVCC) and five days a week. In the supplement and combined groups, 5 days a week and for 8 weeks, BCAA nanoliposome supplement was received by gavage in the amount of 600 mg per kilogram of body weight. The expression of NRF-1 and NRF-2 genes was measured by Real-time PCR method.

Results The mean expression of NRF-1 and NRF2 genes in cardiomyocytes in exercise and combination groups was significantly higher than in control and supplement groups ($P < 0.001$). No significant difference was observed between the control and supplement groups ($P<0.05$).

Conclusion Based on the results of resistance training, by increasing NRF-1 and NRF-2, it improves the function of mitochondria in cardiomyocytes of heart attack model rats.

Keywords Myocardial infarction, Resistance training, Branched-chain amino acids, Nuclear respiratory factor.

Received: 03 August 2024
Accepted: 16 November 2024
Available Online: 20 May 2025

**** Corresponding Author:***
Elham Farhadfar
Address: Department of Physical Education and Sport Science, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran
Tel: +989122579849
E-Mail: elhamfarhadfar1@gmail.com

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Extended Abstract

Introduction

Myocardial infarction (heart attack) is pathologically defined as myocardial cell death due to prolonged ischemia. Depletion of cellular glycogen, and myofibril loosening and sarcolemmal disruption are the first ultrastructural changes followed by mitochondrial abnormalities (1). Nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) are transcriptional activators that act on a significant subset of nuclear genes required for mitochondrial respiration (4). Resistance training has been reported to improve mitochondrial function (8); these effects may be beneficial in improving cellular energy homeostasis and helping to maintain cardiac contractility (9). On the other hand, research conducted in the past few years has yielded important insights that are changing our understanding of the physiology of the branched-chain amino acid (BCAA) metabolism system and the molecular mechanisms between BCAA homeostasis and cardiovascular health. The rapidly evolving literature paints a complex picture, in which multiple modes of tissue- and disease-specific BCAA regulation initiate a diverse set of molecular mechanisms that link alterations in BCAA homeostasis to the pathogenesis of cardiovascular disease (10). The use of BCAA nanoliposomes for health purposes has been suggested (12). Based on the aforementioned literature and the positive role of resistance training (7) and the role of BCAA (10) in cardiovascular health, very little research has been conducted on the effect of exercise and protein supplementation on mitochondrial function in these individuals. Considering the role of nuclear respiratory factor genes in mitochondrial regeneration, the aim of the present study was to determine the effect of eight weeks of resistance training and branched-chain amino acid supplementation in nanoliposomes on the expression of NRF-1 and NRF-2 in cardiomyocytes of male rats in a myocardial infarction model.

Methods

In the present experimental study, 32 male Wistar rats were divided into 4 groups after myocardial infarction induction: resistance training, supplementation, combination (resistance training + supplementation), and control. To induce experimental myocardial infarction, intraperitoneal injection of isoproterenol at a rate of 100 mg per kilogram of body weight dissolved in normal saline (for each mg of isoproterenol, 1 ml of normal saline) was used on two consecutive days with an interval of 24 hours. To ensure the induction of experimental myocardial infarction, cardiac troponin I measurement, which is considered a gold standard for cardiac injury, was used. A troponin I kit was used to measure this factor. By pouring a blood sample directly onto a test strip with a dropper and receiving a positive result, experimental myocardial infarction induction was confirmed, and eligible rats were enrolled in the study (13). The resistance training protocol consisted of climbing a specially designed training ladder (110 cm long, 80° slope, 26 steps, and 2 cm between steps). The training groups performed eight weeks of resistance ladder training at 80% of MVCC, 9–10 steps per session, five days per week. To determine maximal voluntary carrying capacity, a weight of 75% of the animal's body weight was attached to their tails and the animal began climbing the ladder carrying this load. Then, for each successful repetition, 30 g was added to the previous repeated training load. There was a two-minute rest at the top of the ladder between each climb (14). Rats in the supplement and combination groups received BCAA nanoliposome supplements at the same time as training (5 days a week for 8 weeks). This supplement was gavage after training at a rate of 46% leucine, 28% valine, and 23% isoleucine at a rate of 600 mg/kg body weight (14). NRF-1 and NRF-2 gene expression was measured by real-time PCR. In the present study, the data obtained from the study were analyzed using two-way ANOVA and Tukey's post hoc test to determine the difference in the desired indicators between the different groups. All statistical calculations were performed at a significance level ($P \geq 0.05$) and using SPSS version 22 software.

Results

In the intergroup comparison, the results of two-way analysis of variance for comparing the expression of NRF-1 and NRF-2 genes in rats in the four study groups showed a significant difference ($P < 0.001$). The results of the post hoc test indicated a significant increase in the expression of NRF-1 and NRF-2 genes in the cardiac muscle of male rats in the exercise + supplement and exercise groups compared to the supplement and control groups ($P < 0.001$). No significant difference was observed between the control and supplement groups ($P < 0.05$).

Conclusion

Based on the results of the present study, resistance training improved cardiomyocyte mitochondrial function in myocardial infarction model mice by increasing NRF-1 and NRF-2. It has been reported that aerobic training increases NRF-1 and NRF-2 gene expression in the heart tissue of myocardial infarction model mice (15) and reduces pathological cardiac remodeling and dysfunction caused by myocardial infarction (16).Results of chronic physiological adaptations suggest that resistance training to transient muscle failure induces a number of physiological

adaptations that may facilitate the observed improvements in cardiovascular fitness. These adaptations may include increases in mitochondrial enzymes, mitochondrial proliferation, and phenotyping (18). Exercise training has been reported to protect against acute myocardial injury by improving myocardial energy metabolism and increasing early adaptive changes in mitochondrial biogenesis (19). Nuclear respiratory factors, NRF-1 and NRF-2, contribute to the expression of mitochondrial respiratory subunits and transcription factors and thus play a role in nuclear-mitochondrial interactions (4). Given that mitochondrial function and cardiomyocyte apoptosis are closely related to heart failure after myocardial infarction (23), the results of this study indicate that resistance training, by increasing gene expression of nuclear respiratory factors, NRF-1 and NRF-2, contributes to the expression of mitochondrial respiratory subunits and transcription factors (4). Given that the improvement of cardiac mitochondrial function following myocardial infarction plays an important role in the survival of myocardial infarction patients (24). Therefore, the use of resistance training to improve mitochondrial function caused by myocardial infarction is an important therapeutic strategy for protecting the heart; which indicates that the use of resistance training is a potential therapeutic strategy to improve cardiac function after myocardial infarction. In examining the effect of BCAA nanoliposome supplementation on NRF-1 and NRF-2 gene expression, no significant difference was observed compared to the control group. Also, no significant difference was observed between the exercise + supplement and exercise groups. These results indicate that the use of BCAA nanoliposome supplementation, either alone or in interaction with resistance training, has no significant effect on NRF-1 and NRF-2 gene expression in the heart tissue of myocardial infarction model rats.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The present study followed all ethical principles related to working with laboratory animals and was approved by the Research Ethics Committee of Kharazmi University (IR-KHU.KRC.1000.203).

Funding

This article did not receive any financial support from any organization, and the cost of conducting the research plan and the article was borne by the authors.

Authors contributions

Javid Najafi wrote and revised the manuscript. Elham Farhadfar, Mohammad Azimnejad, and Leila Momeni performed the statistical analysis, wrote the manuscript, and prepared the tables and data. All authors have read and approved the article.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgements

This article is derived from the thesis of the first author, a student at Islamic Azad University, Central Tehran Branch. The authors thank and appreciate all those who collaborated in conducting this research.

مقاله پژوهشی

اثر هشت هفته تمرینات مقاومتی و مکمل یاری آمینواسید شاخه‌دار نانولیپوزوم بر بیان ژن‌های فاکتور تنفس هسته‌ای 1 و 2 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی نردر مدل سکته‌ی قلبی

جاوید نجفی [1]، الهام فرهادفر [2*]، محمد عظیم‌نژاد [3]، لیلا مؤمنی [4]
1. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
2. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
3. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
4. گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.

Use your device to scan and read the article online

4Citation Najafi J, Farhadfar E, Azimnezhad M, Momeni L. [The Effect of Eight Weeks of Resistance Training and Supplementation with Branched-Chain Amino Acids Nanoliposome on the Expression of Nuclear Respiratory Factor 1 and 2 Genes in the Cardiomyocytes of Male Rat Model of Myocardial Infarction(Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2025; 24(1):80-90. 10.32592/jsmj.24.1.80

https://doi.org/10.32592/jsmj.24.1.80

چکیده

زمینه و هدف بازیابی و حفظ عملکرد میتوکندری ناشی از سکته‌ی قلبی یک استراتژی درمانی مهم برای محافظت از قلب است. هدف از پژوهش حاضر تعیین اثر هشت هفته تمرینات مقاومتی و مکمل یاری آمینواسید شاخه‌دار (BCAA) نانولیپوزوم بر بیان ژن‌های فاکتور تنفس هسته‌ای 1 و 2 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی نر در مدل سکته‌ی قلبی است.

روش بررسی در تحقیق تجربی حاضر 32 سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار پس از القای سکته‌ی قلبی با تزریق درون‌صفاقی ایزوپروترنول به 4 گروه تمرین مقاومتی، مکمل، ترکیبی (تمرین مقاومتی + مکمل) و کنترل تقسیم شدند. تمرین مقاومتی شامل هشت هفته تمرین نردبان با شدت متوسط (70 درصد از MVCC) و پنج روز در هفته بود. در گروه‌های مکمل و ترکیبی 5 روز در هفته و به مدت 8 هفته، مکمل BCAA نانولیپوزوم و به میزان 600 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت گاواژ دریافت شد. بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 به روش Real-time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها میانگین بیان ژن NRF-1 و NRF2 کاردیومیوسیت‌ها در گروه‌های تمرین و ترکیبی به‌طور معناداری بیشتر از گروه‌های کنترل و مکمل است ($P < 0/001$). تفاوت معناداری بین دو گروه کنترل و مکمل مشاهده نشد ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری براساس نتایج، تمرینات مقاومتی با افزایش NRF-1 و NRF-2 موجب بهبود عملکرد میتوکندری‌های کاردیومیوسیت‌های موش‌ها در مدل سکته‌ی قلبی می‌شود.

کلیدواژه‌ها سکته‌ی قلبی، تمرین مقاومتی، آمینواسید شاخه‌دار، فاکتور تنفس هسته‌ای

تاریخ دریافت: 13 مرداد 1403
تاریخ پذیرش: 14 آبان 1403
تاریخ انتشار: 31 اردیبهشت 1404

نویسنده مسئول:
الهام فرهادفر
نشانی: گروه تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران.
تلفن: 09122579849
رایانامه: elhamfarhadfar1@gmail.com

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

مقدمه

انفارکتوس میوکارد (حمله‌ی قلبی) ازنظر پاتولوژیک مرگ سلول‌های میوکارد به‌دلیل ایسکمی طولانی‌مدت تعریف می‌شود. کاهش گلیکوژن سلولی و شل شدن میوفیبریل‌ها و اختلال سارکولم، اولین تغییرات فراساختاری و به‌دنبال آن ناهنجاری‌های میتوکندری است [1]. کاردیومیوسیت‌ها دارای تراکم بالایی از میتوکندری هستند و آسیب میتوکندری در انواع بیماری‌های قلبی‌عروقی وجود دارد [2]. اختلال عملکرد میتوکندری با فعالیت غیرطبیعی زنجیره‌ی انتقال الکترون، کاهش تولید آدنوزین تری فسفات، انتقال غیرطبیعی بسترهای متابولیک، تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (reactive oxygen species: ROS)، افزایش آسیب DNA میتوکندری و اختلالات متابولیک مرتبط است [2].

مسیرهای اکسیداتیو میتوکندری می‌تواند تحت‌تأثیر تغییرات در ژنوم هسته‌ای و میتوکندری قرار گیرد. شواهد اخیر نشان می‌دهد که اختلالات میتوکندریایی در ارتباط با بیماری‌های قلبی‌عروقی، ناشی از چنین تغییراتی در بیان ژن است که تحت‌تأثیر عوامل مختلف ازجمله ژنتیک یا شرایط محیطی باشد [3،4]. درک تأثیر متقابل تنظیمی بین سیستم‌های ژنتیکی هسته‌ای و میتوکندریایی ممکن است بینش‌های جدیدی درباره‌ی نقص‌های ژنتیکی انسان که بر عملکرد قلب مؤثر است، ارائه دهد. فاکتورهای تنفسی هسته‌ای (nuclear respiratory factors) (NRF-1 و NRF-2) فعال‌کننده‌های رونویسی هستند که روی زیرمجموعه‌ی قابل‌توجهی از ژن‌های هسته‌ای مورد نیاز برای تنفس میتوکندریایی عمل می‌کنند. این عوامل به احتمال زیاد با کمک هماهنگ کردن سنتز زیرواحدهای زنجیره‌ی تنفسی با اجزای رونویسی، تکثیر و ماشین بیوسنتزی میتوکندری در تعاملات هسته‌ای ـ میتوکندریایی شرکت می‌کنند؛ بنابراین، NRF ها و عوامل مرتبط، به احتمال زیاد در کنترل هسته‌ای تولید انرژی میتوکندری که برای عملکرد طبیعی میوکارد ضروری است، مشارکت دارند [4].

به نظر می‌رسد که شیوع گسترده‌ی بیماری قلبی‌عروقی در ارتباط با کم‌تحرکی باشد؛ همچنین، فعالیت بدنی منظم و ورزش می‌تواند نقش مهمی را نه‌تنها در پیشگیری از بیماری‌های قلبی‌عروقی داشته باشد که برای درمان بیماری‌های قلبی‌عروقی نیز مؤثر باشد [5, 6]. براساس تحقیقات انجام‌شده، تمرینات مقاومتی یک رویکرد ایمن و مؤثر برای بهبود سلامت قلب و عروق در افراد با یا بدون بیماری قلبی‌عروقی است [7]. همچنین گزارش شده است که تمرینات مقاومتی بر بهبود عملکرد میتوکندری مؤثر است [8]؛ این اثرات می‌تواند برای بهبود هومئوستاز انرژی سلول‌های مفید باشد و به حفظ انقباض قلب کمک کند [9]. ازطرفی، تحقیقات انجام‌شده در چند سال گذشته بینش‌های مهمی را به دست آورده است که درک ما را از فیزیولوژی سیستم متابولیسم اسیدآمینه‌ی شاخه‌دار (Branched-chain amino acids: BCAA) و مکانیسم‌های مولکولی بین هومئوستاز BCAA و سلامت قلب و عروق تغییر می‌دهد. پیشینه پژوهش به‌سرعت درحال‌تحول، تصویر پیچیده‌ای را ترسیم می‌کند که در آن حالت‌های متعددی از تنظیم BCAA خاص بافت و بیماری، مجموعه‌ی متنوعی از مکانیسم‌های مولکولی را آغاز می‌کند که تغییرات در هموستاز BCAA را به پاتوژنز بیماری‌های قلبی‌عروقی مرتبط می‌کند [10]. تکنولوژی نانولیپوزوم روش جدیدی برای تسهیل ارائه‌ی مناسب‌تر دارو به بافت‌های مورد نیاز بدن است. لیپوزوم یک ریزکیسه‌ی کروی با یک لایه‌ی لیپیدی است و مدت طولانی‌تری در خون باقی می‌ماند [11]؛ برهمین‌اساس استفاده از BCAA نانولیپوزوم با اهداف سلامت پیشنهاد شده است [12].

براساس مطالب گفته‌شده و نقش مثبت تمرینات مقاومتی [7] و همچنین نقش BCAA [10] در سلامت قلبی‌عروقی، تحقیقات بسیار اندکی در زمینه‌ی تأثیر فعالیت‌های ورزشی و مصرف مکمل‌های پروتئینی بر عملکرد میتوکندریایی در این افراد صورت گرفته است و با توجه به نقش ژن‌های فاکتور هسته‌ای تنفسی در بازسازی میتوکندری، هدف از انجام تحقیق حاضر تعیین اثر هشت هفته تمرینات مقاومتی و مکمل یاری آمینواسید شاخه‌دار نانولیپوزوم بر بیان ژن‌های فاکتور تنفس هسته‌ای 1 و 2 در کاردیومیوسیت‌های موش‌های صحرایی نر در مدل سکته‌ی قلبی است.

روش بررسی

در پژوهش تجربی حاضر 32 سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار با سن هشت هفته از انستیتوی پاستور ایران تهیه شدند. به مدت دو هفته تحت شرایط استاندارد جدید با دمای (2 ± 22سانتی‌گراد)، رطوبت نسبی (5 ± 50 درصد) و چرخه‌ی تاریکی به روشنایی 12:12 ساعته در حیوان‌خانه نگهداری شدند. طی این دوره، تمامی حیوانات به‌صورت آزادانه از غذای استاندارد و آب استفاده کردند و میزان غذای مصرفی روزانه‌ی آن‌ها به‌صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت شد. حیوانات مورد آزمایش در این تحقیق در قفس‌های پلی‌کربنات، ساخت شرکت انحصاری رازی راد با اندازه‌ی تقریبی 21 × 34 × 54 سانتی‌متر نگهداری شدند. همچنین، همه‌ی قوانین و نحوه‌ی رفتار با حیوانات (آشناسازی، تمرین، بیهوشی و کشتن حیوان) براساس انجمن ارزیابی و اعتباربخشی بین‌المللی مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. بعد از گذشت دو هفته آشناسازی و سازگاری حیوانات

با محیط آزمایشگاه، براساس وزن اولیه‌ی موش‌ها، به‌صورت تصادفی در چهار گروه قرار گرفتند. پس از القای انفارکتوس حیوانات آزمایشگاهی به گروه‌های تجربی شامل کنترل، مکمل (BCAA نانولیپوزوم)، ترکیبی (تمرین مقاومتی + مکمل BCAA نانولیپوزوم) و تمرین (تمرین مقاومتی) تقسیم شدند و مداخلات را دریافت کردند.

نحوه‌ی ایجاد سکته‌ی قلبی: جهت ایجاد آنفارکتوس تجربی میوکارد از تزریق درون‌صفاقی ایزوپروترنول به میزان 100 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم از وزن بدن به‌صورت محلول در نرمال سالین (به‌ازای هر یک میلی‌گرم داروی ایزوپروترنول، یک میلی‌لیتر نرمال سالین) در دو روز متوالی و با فاصله‌ی 24 ساعت استفاده شد. برای اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، از اندازه‌گیری تروپونین I قلبی که شاخصی طلایی برای آسیب قلبی به شمار می‌رود، استفاده شد. برای سنجش این عامل از کیت تروپونین I استفاده شد که با ریختن مستقیم نمونه‌ی خونی با قطره‌چکان روی نوار اندازه‌گیری و مثبت شدن جواب، از القای آنفارکتوس میوکارد تجربی، اطمینان حاصل شد و موش‌های صحرایی واجد شرایط وارد تحقیق شدند [13].

شیوه‌نامه‌ی تمرینات مقاومتی: پس از اطمینان از القای آنفارکتوس میوکارد، موش‌های صحرایی جهت آشنایی با نحوه‌ی فعالیت مقاومتی در برنامه‌ی آشنایی شرکت داده شدند. رت‌ها در هر دو گروه تجربی به‌منظور آشناسازی با نحوه‌ی اجرای شیوه‌نامه‌ی تمرینی، پنج روز بدون وزنه، تمرین بالا رفتن از نردبان را انجام دادند. پس از آخرین جلسه‌ی سازگاری، از حیوانات آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی[1] (MVCC: Maximum Voluntary Carrying Capacity) گرفته شد که بیشترین بار حمل‌شده موفقیت‌آمیز تعریف شد. سپس هر دو گروه تمرین مقاومتی به مدت پنج جلسه در هفته و به مدت هشت هفته، تمرین مقاومتی را انجام دادند. با توجه به سازگاری حیوانات با تمرین در انتهای هر چهار هفته، از حیوانات آزمون حداکثر ظرفیت حمل ارادی گرفته شد و شدت تمرین حیوانات براساس آزمون جدید تعیین شد. شیوه‌نامه‌ی تمرین مقاومتی شامل بالا رفتن از یک نردبان تمرینی مخصوص (طول 110 سانتی‌متر، شیب 80 درجه، 26 پله و دو سانتی‌متر ارتفاع بین هر پله) بود. گروه‌های تمرینی هشت هفته تمرین مقاومتی نردبان را در 80 درصد از MVCC، ۹ ـ ۱۰ مرحله بالا رفتن در هر جلسه و پنج روز در هفته انجام دادند. برای تعیین حداکثر ظرفیت حمل ارادی، وزنه‌ای با 75 درصد وزن بدن حیوان به دم آن‌ها متصل شد و حیوان شروع به بالارفتن از نردبان با حمل این بار کرد. سپس، به‌ازای هر تکرار موفق 30 گرم به بار تمرینی تکرارشده‌ی قبلی اضافه شد. در بالای نردبان دو دقیقه استراحت بین هر صعود وجود داشت [14].

مکمل: موش‌های صحرایی در گروه مکمل و توأم در زمان‌های مشابه با تمرین (5 روز در هفته به مدت 8 هفته)، مکمل BCAA نانولیپوزوم دریافت کردند؛ این مکمل بعد از تمرین و به میزان 46 درصد لوسین، 28 درصد والین و 23 درصد ایزولوسین و به میزان 600 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن گاواژ شد [14].

جراحی حیوانات آزمایشگاهی و استخراج نمونه: تمامی موش‌های صحرایی، 48 ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، با تزریق درون‌صفاقی کتامین (90 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) و زایلازین (10 میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. حیوانات پس از بیهوشی به پشت، روی تخته‌ی تشریح خوابانده و دست و پاها کشیده و به حالت صلیبی بسته شد و درنهایت پس از شکافتن و کنار زدن قفسه‌ی سینه، عضله‌ی قلب به‌طور کامل جدا و وزن شد. اندازه‌گیری وزن بدن آزمودنی‌ها بلافاصله بعد از بیهوش کردن حیوانات با ترازوی دیجیتالی انجام شد. برای تعیین وزن قلب نیز بلافاصله پس از باز کردن قفسه‌ی سینه‌ی موش‌ها با متخصصان کارآزموده، قلب آن‌ها جدا شده و در مایع فیزیولوژیک انداخته شد و پس از تخلیه‌ی خون قلب، وزن‌کشی آن با استفاده از ترازوی دیجیتالی حساس صورت گرفت. درنهایت، بخش‌های مدنظر عضله‌ی قلب در میکروتیوب‌های جداگانه گذاشته شد و برای تجزیه‌وتحلیل آزمایشگاهی به یخچال فریزر 70 – درجه‌ی سانتی‌گراد انتقال داده شد.

اندازه‌گیری بیان ژن: در تحقیق حاضر بخشی از بافت بطن چپ موش‌های صحرایی بادقت برداشته شده و برای بررسی بیان ژن استفاده شده است. برای بررسی میزان بیان ژن از روش RT-PCR استفاده شد. این روش مبتنی بر سه بخش اصلی شامل استخراج RNA، ساخت cDNA و روش PCR برای رسم منحنی ذوب و تعیین سیکل آستانه‌ی هریک از ژن‌ها بود. درنهایت میزان بیان ژن‌های مدنظر با استفاده از فرمول‌های مربوط ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) محاسبه شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری: در تحقیق حاضر اطلاعات به‌دست‌آمده از پژوهش، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و تعقیبی توکی برای تعیین اختلاف میزان شاخص‌های مدنظر بین گروه‌های مختلف بررسی شد. تمامی محاسبات آماری در سطح معناداری 0/05 و با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۲ انجام شد.

[1] -

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

یافته‌ها

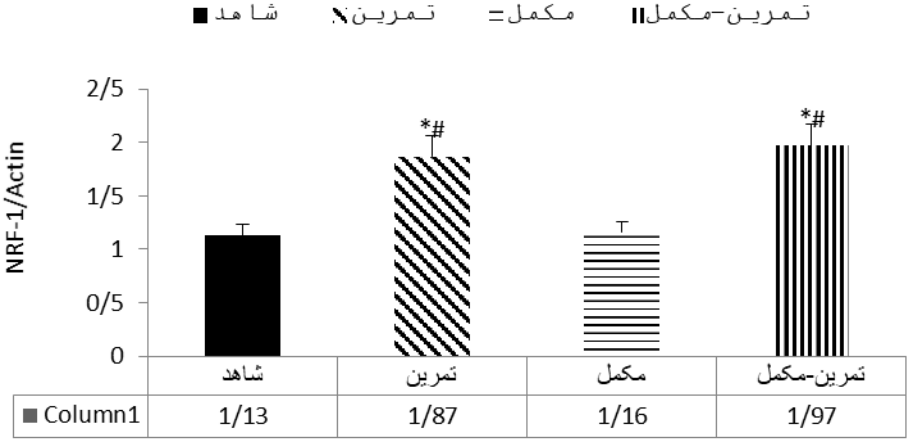
نتایج بررسی، طبیعی بودن توزیع داده‌ها و تجانس واریانس‌ها، نشان‌دهنده‌ی توزیع نرمال و همچنین برقراری تجانس واریانس‌ها در متغیرهای وزن، NRF-1 و NRF-2 است ($P > 0/05$).

جدول 1، مربوط به تغییرات وزن بدن و قلب و همچنین میزان غذای دریافتی موش‌ها در گروه‌های تحقیق است.

جدول ۱. ویژگی‌های موش‌های نر صحرایی در گروه‌های پژوهش

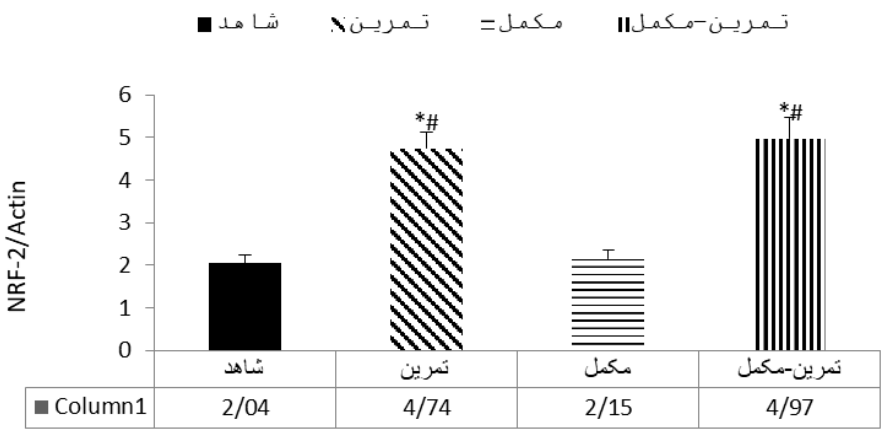
	کنترل	مکمل	تمرین	توأم
وزن ابتدایی پژوهش	۴۲۱/۲۰ ± ۲۵/۳	۴۴۰/۲۲ ± ۷۸/۳	۴۴۷/۲۳ ± ۶۵/۶	۴۵۱/۲۳ ± ۶۵/۶
وزن انتهایی پژوهش	۴۸۷/۲۳ ± ۱۳/۵	۴۸۰/۱۸ ± ۲۵/۷	۴۲۱/۱۷ ± ۶۸/۵	۴۱۳/۱۷ ± ۶۸/۵
وزن عضله‌ی قلبی (گرم)	۰/۰ ± ۵۱/10	۰/۰ ± ۵۰/۱۰	۰/۰ ± ۵۶/۱۱	۰/۰ ± ۵۷/۱۲
دریافت غذا (گرم در روز)	24/32	24/32	24/32	24/32

در مقایسه‌ی بین‌گروهی، نتایج تحلیل واریانس دوراهه برای مقایسه‌ی بیان ژن‌های NRF-1 (شکل 1) و NRF-2 (شکل 2) موش‌های صحرایی در چهار گروه پژوهش تفاوت معناداری را نشان داد ($P < 0/001$). نتایج آزمون تعقیبی، بیانگر افزایش معنادار بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 عضله‌ی قلبی موش‌های نر صحرایی در گروه توأم و تمرین به نسبت گروه‌های مکمل و کنترل بود ($P < 0/001$). باوجوداین، گروه توأم برتری داشت. همچنین تفاوت معناداری بین دو گروه کنترل و مکمل مشاهده نشد ($P > 0/05$).



#تفاوت معنادار نسبت به گروه مکمل

شکل ۱. مقادیر بیان ژن NRF-1 در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف
*تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل



شکل 2. مقادیر بیان ژن NRF-2 در کاردیومیوسیت‌های گروه‌های مختلف
*تفاوت معنادار نسبت به گروه کنترل
#تفاوت معنادار نسبت به گروه مکمل

بحث

نتایج پژوهش حاضر بیانگر افزایش معنادار بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی در دو گروه تمرین نسبت به گروه کنترل بود. نیکوزاده و همکاران نیز در تحقیقشان گزارش کردند که تمرینات هوازی موجب افزایش بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 در بافت قلب موش‌های مدل سکته‌ی قلبی می‌شود [15] که با نتایج پژوهش پیش رو همخوانی داشت. تمرین ورزشی، بازسازی پاتولوژیک قلبی و اختلال عملکرد ناشی از انفارکتوس میوکارد را کاهش می‌دهد [16]. تمرینات ورزشی تقاضای اکسیژن میوکارد را افزایش می‌دهد و به‌مثابه‌ی یک محرک برای افزایش جریان خون کرونر و درنتیجه تأمین اکسیژن میوکارد عمل می‌کند که باعث کاهش انفارکتوس میوکارد و آنژین می‌شود [17]. به نظر می‌رسد که عملکرد میوکارد در پاسخ حاد به تمرین مقاومتی با شدت بالا حفظ می‌شود و شاید تقویت می‌شود و به نظر می‌رسد شدت انقباض واکنش حاد عروقی به تمرین مقاومتی را واسطه می‌کند. نتایج سازگاری‌های فیزیولوژیکی مزمن نشان می‌دهد که تمرین مقاومتی دربرابر نارسایی لحظه‌ای عضلانی، سازگاری‌های فیزیولوژیکی ایجاد می‌کند که ممکن است بهبودهای مشاهده‌شده در آمادگی قلبی‌عروقی را تسهیل کند. این سازگاری‌ها ممکن است شامل افزایش آنزیم‌های میتوکندری، تکثیر میتوکندری، فنوتیپی باشد [18]. گزارش شده است که تمرینات ورزشی ازطریق بهبود متابولیسم انرژی میوکارد و افزایش تغییرات تطبیقی اولیه، بیوژنز میتوکندری را دربرابر آسیب حاد قلبی ناشی از سکته‌ی قلبی محافظت می‌کند [19].

بیان شده است که فعال‌سازی تطبیقی سیگنال‌دهی SIRT1/PGC-1α/PI3K/Akt به‌دنبال سکته‌ی قلبی با تمرینات ورزشی پس از سکته‌ی قلبی که احتمالاً مسئول محافظت قلبی ناشی از ورزش و بیوژنز میتوکندری است، بیشتر می‌شود [16] . فاکتورهای تنفسی هسته‌ای، NRF-1 و NRF-2، به بیان زیرواحدهای تنفسی و فاکتورهای رونویسی میتوکندری کمک می‌کنند و بنابراین در تعاملات هسته‌ای ـ میتوکندریایی نقش دارند [4]. به‌طورکلی افزایش مقادیر CaMK و سطوح کلسیم شبکه‌ی رتیکولوم اندوسارکوپلاسمی با تأثیر بر عوامل بالادستی بیوژنز میتوکندریایی، میتوژن فعال‌شده با پروتئین کینازهایی ازقبیل PGC-1α را با AMPK و پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین و NRF1 و NRF2 افزایش می‌دهد [20]. PGC-1α فعال‌شده با تمرین مقاومتی به فاکتور رونویسی متصل شده و بیان ژن‌های میتوکندری را که در هسته واقع شده‌اند، تنظیم می‌کند و همچنین در فعال‌سازی NRF1 و NRF2 و Tfam مؤثر است. Tfam تولیدشده به میتوکندری وارد شده و باعث تنظیم DNA میتوکندری و ژن‌های میتوکندری کدگذاری‌شده در هسته می‌شود [21, 22]. این مطالعه منحصراً بر دو فاکتور رونویسی میتوکندری (NRF-1 و NRF-2) متمرکز است. بااین‌حال، عملکرد میتوکندری با شبکه‌ای از فاکتورهای رونویسی و مسیرهای سیگنالینگ، مانند PGC-1α و TFAM تنظیم می‌شود. گسترش دامنه‌ی تجزیه‌وتحلیل بیان ژن می‌تواند درک جامع‌تری از چگونگی تأثیر ورزش و مکمل بر بیوژنز میتوکندری ارائه دهد. با توجه به اینکه عملکرد میتوکندری و آپوپتوز کاردیومیوسیت ارتباط نزدیکی با نارسایی قلبی پس از سکته‌ی قلبی دارد [23]؛ نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از تمرینات مقاومتی با افزایش بیان ژن فاکتورهای تنفسی هسته‌ای، NRF-1 و NRF-2، به بیان زیرواحدهای تنفسی و فاکتورهای رونویسی میتوکندری کمک می‌کند [4]. با توجه به اینکه بهبود عملکرد میتوکندری‌های قلبی به‌دنبال سکته‌ی قلبی نقش مهمی را در بقای بیماران سکته‌ی قلبی ایفا می‌کند [24]؛ بنابراین، استفاده از تمرینات مقاومتی برای بهبود عملکرد میتوکندری ناشی از سکته‌ی قلبی یک استراتژی درمانی مهم برای محافظت از قلب است که نشان می‌دهد استفاده از تمرینات مقاومتی یک استراتژی درمانی بالقوه برای بهبود عملکرد قلب پس از سکته‌ی قلبی است.

در بررسی اثر مکمل BCAA نانولیپوزوم بر بیان ژن NRF-1 و NRF-2 تفاوت

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

معناداری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. همچنین تفاوت معناداری بین گروه ترکیبی و تمرین مشاهده نشد. D'Antona انتونا و همکاران در تحقیقشان گزارش کرده‌اند که مکمل BCAA بیوژنز میتوکندری و بیان سیرتوئین 1 را در میوسیت‌های اولیه‌ی قلبی و اسکلتی و در عضله‌ی قلب و اسکلتی افزایش داد، اما در بافت چربی و کبد موش‌های میانسال تغییری ایجاد نکرد؛ این تغییرات با افزایش استقامت فیزیکی است؛ همچنین، ژن‌های سیستم دفاعی ROS تنظیم مثبت شد و تولید ROS با مکمل‌سازی BCAAem کاهش یافت. تمام اثرات واسطه‌ی BCAA به‌شدت در موش‌های جهش‌یافته بدون نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیال کاهش یافت [25]؛ در تحقیق حاضر فقط سطوح ژن‌های NRF-1 و NRF-2 در بافت قلب اندازه‌گیری شد و سایر متغیرهای مرتبط با بیوژنز میتوکندریایی اندازه‌گیری نشد که از محدودیت‌های تحقیق حاضر است. چندین مطالعه هم در شرایط in vitro و هم in vivo نشان داده‌اند که BCAA (چه به‌صورت جداگانه و چه به‌صورت مخلوط) ممکن است سیگنال‌دهی مرتبط با افزایش بیوژنز میتوکندری، ازجمله تنظیم مثبت تنظیم‌کننده‌ی اصلی بیوژنز میتوکندری، PGC-1α و همچنین اهداف پایین‌دست متعدد و عملکرد مرتبط را تقویت کند [26]. بااین‌حال، در تحقیق حاضر استفاده از مکمل BCAA نانولیپوزوم نتوانست موجب تغییر بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 کاردیومیوسیت‌ها، نسبت به گروه کنترل شود. همچنین در گروه ترکیبی نیز تفاوت معناداری نسبت به گروه مقاومتی مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از مکمل BCAA نانولیپوزوم چه به‌تنهایی و چه در تعامل با تمرینات مقاومتی اثر معناداری بر بیان ژن NRF-1 و NRF-2 در بافت قلب موش‌های صحرایی در مدل سکته‌ی قلبی ندارد. با توجه به تحقیقات محدود دراین‌باره نیاز به تحقیقات بیشتری برای تعیین اثر مکمل BCAA بر بیان ژن‌های NRF-1 و NRF-2 در نمونه‌های تحقیقی سالم و بیمار و همچنین با تنوع جنسیت و سن متفاوت است.

نتیجه‌گیری

عوامل تعیین‌کننده‌ی افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوژنز میتوکندری در پاسخ به تمرینات ورزشی به‌درستی شناخته نشده‌اند؛ بااین‌حال، افزایش معنادار بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 به‌مثابه‌ی دو ژن مرتبط با تعاملات هسته‌ای ـ میتوکندریایی کاردیومیوسیت موش‌های نر مدل سکته‌ی قلبی پس از تمرینات مقاومتی می‌تواند زمینه را برای استفاده‌ی بیشتر از این تمرینات فراهم کند. با توجه به نتایج مطالعه‌ی بیان‌شده، به نظر می‌رسد که در گذر از نوع و شکل تمرین، دو ماه تمرین مقاومتی تأثیر مناسبی بر سازوکارهای فاکتورهای تنفسی هسته‌ای در عضله‌ی قلبی موش‌های مدل سکته‌ی قلبی دارد. اما استفاده از مکمل BCAA نانولیپوزوم اثر معناداری بر بیان ژن‌های NRF1 و NRF2 نداشت. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی، اقدامات جامع‌تر، جمعیت‌های حیوانی بزرگ‌تر و متنوع‌تر و کنترل دقیق‌تر متغیرهایی مانند فراهمی زیستی و وضعیت متابولیک برای افزایش استحکام و ارزش کاربرد یافته‌ها مدنظر قرار گیرند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در تحقیق حاضر تمامی نکات مرتبط با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد و کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه خوارزمی آن را تأیید کرده است (IR-KHU.KRC.1000.203).

حامی مالی

این مقاله هیچ‌گونه حمایت مالی از هیچ سازمانی دریافت نکرده است و هزینه‌ی انجام طرح تحقیق و مقاله بر عهده‌ی نویسندگان بوده است.

مشارکت نویسندگان

جاوید نجفی دستنویس را نگارش کرد و آن را اصلاح کرد. الهام فرهادفر، محمد عظیم‌نژاد و لیلا مؤمنی تجزیه‌وتحلیل آماری را انجام دادند، دستنویس را نوشتند و جدول‌ها و داده‌ها را تهیه کردند. همه‌ی نویسندگان مقاله را خوانده و تأیید کرده‌اند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی نویسنده‌ی اول، دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی است. نویسندگان از همه‌ی کسانی که در انجام این تحقیق همکاری کرده‌اند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

[1] Fathima SN. An update on myocardial infarction. Current Research and Trends in Medical Science and Technology. 2021;1:95.

[2] Huang Y, Zhou B. Mitochondrial dysfunction in cardiac diseases and therapeutic strategies. Biomedicines. 2023 May 22;11(5):1500.

[3] Guo Y, Guan T, Shafiq K, Yu Q, Jiao X, Na D, Li M, Zhang G, Kong J. Mitochondrial dysfunction in aging. Ageing research reviews. 2023 Jul 1;88:101955. [10.1016/j.arr.2023.101955] [PMID]

[4] Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. Journal of cellular biochemistry. 2006 Mar 1;97(4):673-83. [10.1016/j.arr.2023.101955] [PMID]

[5] Ghalavand A, Shakeryan S, Nikbakht A, Mehdipour AM, Monazamnezhad A, Delaramnasab M. Effects of aerobic training on cardiorespiratory factors in men with type 2 diabetes.

[6] Jokar M, Ghalavand A. Improving endothelial function following regular pyramid aerobic training in patients with type 2 diabetes.

[7] Paluch AE, Boyer WR, Franklin BA, Laddu D, Lobelo F, Lee DC, McDermott MM, Swift DL, Webel AR, Lane A. Resistance exercise training in individuals with and without cardiovascular disease: 2023 update: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2024 Jan 16;149(3):e217-31. [10.1161/CIR.0000000000001189] [PMID]

[8] Ko TH, Marquez JC, Kim HK, Jeong SH, Lee S, Youm JB, Song IS, Seo DY, Kim HJ, Won DN, Cho KI. Resistance exercise improves cardiac function and mitochondrial efficiency in diabetic rat hearts. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. 2018 Feb;470:263-75. [10.1007/s00424-017-2076-x] [PMID]

[9] Taheri Gandmani R, Demirchi A, Mirzaei B. The effect of high and moderate resistance training intensities on the gen expression of AMPK, PGC-1α, TFAM and cytochrome-C of cardiac myocytes in elderly Wistar rats. Iranian Journal of Physiology and Pharmacology. 2022 Mar 10;6:1-9.

[10] McGarrah RW, White PJ. Branched-chain amino acids in cardiovascular disease. Nature Reviews Cardiology. 2023 Feb;20(2):77-89. [10.1038/s41569-022-00760-3] [PMID]

[11] Ahmed RF, Abd Elbaset M, Farouk H, Shabana ME, Ahmed-Farid OA, Nasr M. Nanoliposomal amino acids counteracting protein malnutrition induced hematopoietic and hepatic complications. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2023 Nov 1;89:105051.

[12] Hajighasem A, Ehsanimoghadam S. The effect of swimming training and liposomal BCAA supplementation on miR-133 and miR-206 gene expression in soleus muscle mitochondria of aged male rats. Feyz Medical Sciences Journal. 2024 Mar 10;28(1):10-6.

[13] Jghef MM, Boukholda K, Chtourou Y, Fiebich BL, Kebieche M, Soulimani R, Chigr F, Fetoui H. Punicalagin attenuates myocardial oxidative damage, inflammation, and apoptosis in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: Biochemical, immunohistochemical, and in silico molecular docking studies. Chemico-Biological Interactions. 2023 Nov 1;385:110745. [10.1016/j.cbi.2023.110745] [PMID]

[14] Teimoori A, Ruzbahani A, Karimimehr Z. The effect of eight weeks of increasing resistance training and BCAA nanoliposome supplementation on MiR-200a, HSP60, soleus muscle mitochondrial gene expression and serum IGF-1 in aged male rats. Metabolism and Exercise. 2023;13(2):101-14.

[15] Nikoozadeh A, Pouzesh Jadidi R, Nourazar MA, Asgharpour Arshad M, Bashiri J. Interactive Effect of Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Mitochondrial Cardiomyocyte Nrf1 and Nrf2 Gene Expression in Myocardial infraction Male Rat Model. Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology. 2021 Sep 23;8(2):44-50.

[16] Jia D, Hou L, Lv Y, Xi L, Tian Z. Postinfarction exercise training alleviates cardiac dysfunction and adverse remodeling via mitochondrial biogenesis and SIRT1/PGC-1α/PI3K/Akt signaling. Journal of cellular physiology. 2019 Dec;234(12):23705-18. [10.1002/jcp.28939] [PMID]

[17] Bruning RS, Sturek M. Benefits of exercise training on coronary blood flow in coronary artery disease patients. Progress in cardiovascular diseases. 2015;57(5):443-53. Bruning RS, Sturek M. Benefits of exercise training on coronary blood flow in coronary artery disease patients. Progress in cardiovascular diseases. 2015 Mar 1;57(5):443-53. [10.1016/j.pcad.2014.10.006] [PMID]

[18] Steele J, Fisher J, McGuff D, Bruce-Low S, Smith D. Resistance training to momentary muscular failure improves cardiovascular fitness in humans: a review of acute physiological responses and chronic physiological adaptations. Journal of Exercise Physiology Online. 2012;15(3):53-80.

[19] Tao L, Bei Y, Lin S, Zhang H, Zhou Y, Jiang J, Chen P, Shen S, Xiao J, Li X. Exercise training protects against acute myocardial infarction via improving myocardial energy metabolism and mitochondrial biogenesis. Cellular Physiology and Biochemistry. 2015 Aug 1;37(1):162-75. [10.1159/000430342] [PMID]

[20] Ojuka EO. Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. Proceedings of the Nutrition Society. 2004 May;63(2):275-8. [10.1079/PNS2004339] [PMID]

[21] Gleyzer N, Vercauteren K, Scarpulla RC. Control of mitochondrial transcription specificity factors (TFB1M and TFB2M) by nuclear respiratory factors (NRF-1 and NRF-2) and PGC-1 family coactivators. Molecular and cellular biology. 2005 Feb 1;25(4):1354-66. [10.1128/MCB.25.4.1354-1366.2005] [PMID]

[22] Lou H, Yao J, Zhang Y, Wu X, Sun L, Wang Y, Cong D. Potential effect of acupuncture on mitochondrial biogenesis, energy metabolism and oxidation stress in MCAO rat via PGC-1α/NRF1/TFAM pathway. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. 2024 Nov 1;33(11):107636. [10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2024.107636] [PMID]

[23] Qi B, Song L, Hu L, Guo D, Ren G, Peng T, Liu M, Fang Y, Li C, Zhang M, Li Y. Cardiac-specific overexpression of Ndufs1 ameliorates cardiac dysfunction after myocardial infarction by alleviating mitochondrial dysfunction and apoptosis. Experimental & molecular medicine. 2022 Jul;54(7):946-60. [10.1038/s12276-022-00800-5] [PMID]

[24] Ramachandra CJ, Hernandez-Resendiz S, Crespo-Avilan GE, Lin YH, Hausenloy DJ. Mitochondria in acute myocardial infarction

and cardioprotection. EBioMedicine. 2020 Jul 1;57. [10.1016/j.ebiom.2020.102884] [PMID]

[25] D'Antona G, Ragni M, Cardile A, Tedesco L, Dossena M, Bruttini F, Caliaro F, Corsetti G, Bottinelli R, Carruba MO, Valerio A. Branched-chain amino acid supplementation promotes survival and supports cardiac and skeletal muscle mitochondrial biogenesis in middle-aged mice. Cell metabolism. 2010 Oct 6;12(4):362-72. [10.1016/j.cmet.2010.08.016] [PMID]

[26] Hinkle JS, Rivera CN, Vaughan RA. Branched-Chain Amino Acids and Mitochondrial Biogenesis: An Overview and Mechanistic Summary. Molecular Nutrition & Food Research. 2022 Oct;66(20):2200109. [10.1002/mnfr.202200109] [PMID]

©2025 by the authors. Licensee AJUMS, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).