JAHSSP

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

http://dx.doi.org/ 10.22049/JAHSSP.2021.26706.1283

مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش

سال هفتم، شماره دوم؛

پاییز و زمستان ۱۳۹۹؛ صفحات ۵۲-۴۵

مقاله پژوهشی

تأثیر تمرین مقاومتی همراه با مصرف مکمل کورکومین بر بیان برخی ژن‌های تنظیم گر مرتبط با ساختار عضله قلبی رت‌های چاق

آیدا معینی[1*]، سید علی حسینی[3]

تاریخ دریافت: ۰۶ آذر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: ۲۱ دی ۱۳۹۹

چکیده

هدف: پیری قلب نتیجه‌ی اصلی چاقی است که به دنبال آن هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی به وجود می‌آید. اما تمرین مقاومتی و پلی فنول‌های موجود در کورکومین در تعدیل برخی مسیرهای پیام‌رسان درون سلولی نقش دارند. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تمرینات مقاومتی و مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های تنظیم‌گر مرتبط با ساختار عضله قلبی رت‌ها بود. **روش‌شناسی:** در این پژوهش تجربی۱۸ سر رت نر نژاد اسپراگ داولی بعد از هشت هفته استفاده از رژیم غذایی پرچرب به سه گروه شامل کنترل غیرچاق (n=۶)، چاق مرجع (n=۶) و تمرین +کورکومین(n=۶) تقسیم شدند. تمرین مقاومتی به مدت هشت هفته، سه جلسه در هفته (بر علیه ۲۰ تا ۵۰ درصد از وزن بدن) اجرا شد. همزمان روزانه کورکومین خالص با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ مصرف شد. مقدار بیان ژن‌های (AMPK، mTOR، S6K، 4EBP، COL1، COL3، Ang II) با تکنیک Real time-PCR تعیین شد و داده‌ها با استفاده از آزمون آماری تحلیل واریانس یکطرفه تحلیل شدند. **یافته‌ها:** چاقی باعث کاهش بیان ژن AMPK و افزایش بیان ژنهای mTOR، S6K، 4EBPT، COL1، COL3، Ang II شد، در حالی که در گروه تمرین+کورکومین در مورد همه این متغیرها، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه چاق مرجع مشاهده شد(P<۰/۰۵). **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد چاقی باعث سرعت گرفتن فرآیندهای منجر شونده به هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی می‌شود، اما تمرین مقاومتی و مکمل کورکومین تا حدودی این اثرات منفی را کاهش می‌دهند.

واژه‌های کلیدی: چاقی، کورکومین، میوکارد، تمرین مقاومتی

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

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان، لارستان، ایران. (نویسنده مسئول):

ایمیل Aida_moini2001@yahoo.com

۲. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، مرودشت، ایران.

نحوه ارجاع: تأثیر تمرین مقاومتی همراه با مصرف مکمل کورکومین بر بیان برخی ژنهای تنظیم گر مرتبط با ساختار عضله قلبی رت های چاق. مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش ۱۳۹۹؛ ۷(۲): ۵۲-۴۵.

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

JAHSSP

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

http://dx.doi.org/ 10.22049/JAHSSP.2021.26706.1283

Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology
Volume 7, Number 2
Autumn/Winter 2020
45-52

Original Article

Effect of Resistance Training Combined with Curcumin Supplementation on Expression of Regulatory Genes Related to Myocardial Remodeling in Obese Rats

Moini Aida [1] *, S.Ali Hoseini [3]

Received 27 November 2019; Accepted 10 January 2021

Abstract

Aim: Cardiac aging is a major consequence of obesity that results in pathologic cardiac hypertrophy. However, resistance training and curcumin polyphenols can modulate some of involved intracellular signaling pathways. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of resistance training and curcumin supplementation on expression of regulatory genes involved in cardiac structural remodeling. **Methods**: in this experimental study, 18 male Sprague Dawley rats were divided into Normal Weight Control (n=6), Obese Reference (n = 6), Training + Curcumin (n = 6) groups following to eight weeks of high fat diet consumption. Resistance training were conducted also for eight weeks, three sessions per week against 20 to 50% of body weight. Curcumin (150 mg per kg body weight, daily) was consumed simultaneously through gavage. The expression levels of AMPK, mTOR, S6K, 4EBP, COL1, COL3 and AngII genes were assessed using Real Time-PCR technique and thy data was analyzed by One-way ANOVA. **Results**: Obesity was lead to AMPK gene expression level downregulation, while expression levels of mTOR, S6K, 4EBP, COL1, COL3, AngII genes were up-regulated ($P<0.05$). However; there were also significant differences in expression levels of these genes between Training + Curcumin and Obese Reference groups ($P<0.05$). **Conclusion**: It seems obesity causes acceleration of the processes involved in cardiac pathologic hypertrophy, while resistance training with curcumin supplementation could decrease this hazards to some extent.

Keywords: Obesity, Curcumin, Myocardium, Resistance Training

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

1. Ph.D Student in exercises Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Sport Physiology Department, Islamic Azad University, Larestan Branch, Larestan, Iran. (Corresponding Author): Email: Aida_moini2001@yahoo.com

2. Associate Professor in exercises Physiology, Department of exercises Physiology, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, Iran.

Cite as: Effect of resistance training combined with curcumin supplementation on expression of some regulatory genes related to cardiac muscle structure in obese rats. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology*. 2020; 7(2): 45-52.

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

مقدمه

بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند پیری قلب یک فرایند انحطاط ناشی از تجمع آسیب به ماکرومولکول‌های سلولی در نتیجه‌ی واکنش رادیکال‌های آزاد است(۱). تغییرات فیزیولوژیک پیری قلب انسان به طور عمده عبارتند از: هایپرتروفی بطن چپ، اختلال عملکرد دیاستولیک، افزایش فیبروز قلب، افزایش شیوع فیبریلاسیون دهلیزی، و کاهش توان حداکثر فعالیت ورزشی(۲) که چندین مکانیزم مولکولی بحرانی درگیر در پیری قلب مانند استرس اکسیداتیو میتوکندریایی، محور پیام رسان فاکتور رشد شبه انسولین / انسولین / PI3K، مسیر پیام‌رسان آدرنرژیک و رنین–آنژیوتانسین II و همچنین مسیرهای پیام-رسان مواد تغذیه‌ای درگیر هستند(۳). تجمع بیش از حد کلاژن بطن‌ها را سخت می‌کند که انقباض، آرام‌سازی میوسیت‌های قلبی با پروتئین‌های ECM[۱] را مختل کرده و تراکم مویرگی را کاهش می‌دهد. فیبروزیس و کاهش تراکم مویرگی فاصله انتشار اکسیژن را افزایش داده و باعث بروز ایسکمی میوکارد می‌شود که به نارسایی قلبی ختم می‌شود. افزایش افتراقی الیاف کلاژن ۱ و کلاژن ۳ که در شرایط پاتولوژیک دیده می‌شوند منجر به عملکرد غیرطبیعی قلب می‌شود(۳). علاوه بر این mTOR تقسیم سلولی و رونویسی برخی از ژن‌ها را افزایش می‌دهد ،بطور کلی سنتز پروتئین و تولید زیستی ریبوزوم را افزایش می‌دهد و در ضمن اتوفاژی[۲] را مهار می‌کند. (۴). فعال شدن آن در قلب موجب رشد بطن چپ و هایپرتروفی قلبی می‌شود. نقش آن زمانی به خوبی مشخص شد که تحقیقات نقش داروی راپامایسین که مهار کننده آن است را بر محافظت قلبی مشاهده کردند (۴). محققین نشان داده‌اند مهار مسیر mTOR می‌تواند این کاهش عملکردی ناشی از پیری قلب را کاهش دهد. همچنین، آن‌ها دریافتند که بیان بیش از حد 4EBP همانند بیان آنتاگونیست mTOR یعنی TSC مانع از پیری عضله قلبی شده است و برعکس، بیش بیانی eIF4E منجر به کاهش هر چه سریعتر عملکرد قلب می‌شود. آن‌ها نتیجه گرفتند که سطح فعالیت 4EBP با کنترل آغاز ترجمه، رشد عضله قلب را تنظیم می‌کند(۵). یکی از اصلی‌ترین مهار کننده‌های آن AMPK یا تنظیم کنندهٔ اصلی متابولیسم است. AMPK از طریق فعال کردن TSC1 موجب مهار Rheb که فعال کننده mTOR است، می‌شود(۶). در حال حاضر محققان برای فعال سازی AMPK، توجه خاصی به روش‌ها و مداخله‌هایی مثل فعالیت بدنی، دارو، تغذیه و مکمل‌های غذایی داشته‌اند که بنظر می‌رسد می‌توانند از پیری قلب نیز جلوگیری کنند. نشان داده شده که این فاکتور تحت تاثیر استرس‌های مختلف می‌تواند فعال شود. استرس ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق فعال کردن افزایش مصرف انرژی و کاهش سطوح ATP آن را فعال کند و افزایش دهد. فعالیت‌های استقامتی می‌توانند در طول شش هفته، سطح پایه محتوای پروتئین آن را افزایش دهند(۷).

به‌علاوه، AKT به عنوان پروتئین کیناز B (PKB) شناخته می‌شود که به عنوان یک نقطه کانونی بالادستی مولکولی، هم در پیام‌رسانی آنابولیک تأثیرگذار است و هم یک مسدودکننده مؤثر پیام‌های کاتابولیک می‌باشد. یکی از ابزارهای اصلی که AKT از طریق آن وظایفش را انجام می‌دهد، پیام‌رسانی mTOR می‌باشد که در سازگاری‌های هایپرتروفی ناشی از فشار مکانیکی، نقش حیاتی دارد. mTOR پس از فعال شدن، آثار خود را از طریق راه‌اندازی چندین عامل آنابولیک پایین‌دستی اعمال می‌نماید. p70S6K اصلی‌ترین هدف mTOR است که نقش مهمی در متوقف کردن ترجمه mRNA دارد(۸).

از سوئی، مطالعات متعددی نشان می‌دهند که اتجام تمرینات مقاومتی روزانه، موجب بهبود بیماری‌های متابولیکی می‌شود(۹). به خوبی مشخص شده است که تمرینات مقاومتی موجب افزایش mTOR می‌شوند. به عنوان مثال گودمن و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند mTOR می‌تواند در پاسخ به تمرین مقاومتی افزایش یابد(۸). بنایراین احتمالا این تمرینات موجب افزایش هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی و افزایش پیری عضله قلب می‌شوند.

همچنین شایان ذکر است که توجه ویژه به طب گیاهی به عنوان دارو برای درمان و پیشگیری بیماری ها از گذشته مدنظر متخصصان طب سنتی و آحاد مردم قرار داشته است. زردچوبه یکی از گیاهان دارویی است که بیشترین اثرات آنتی اکسیدانی آن مربوط به ماده کورکومین است(۱۰).کورکومین ماده موثر گیاه زردچوبه، با فرمول شیمیایی C21H20O6 است(۱۱) که در شرایط متعدد پاتولوژیکی دارای اثرات سودمندی می‌باشد(۱۲). تحقیقات به خوبی نشان داده‌اند کورکومین اثرات ضد التهابی، حفاظت سلولی، ضدآپوپتوزی و آنتی اکسیدانی دارد و با فعال کردن AMPK موجب افزایش بیان PGC-1α و در ادامه مهار FOXO می‌شود(۱۳). مشخص شده است مصرف مکمل کورکومین با دوز ۱۰ میلی‌گرم تا حدودی می‌تواند هایپرتروفی پاتولوژیک ناشی از چاقی عضله قلبی را از طریق کاهش یا عدم افزایش بیان ژن mTOR در رتهای چاق و از طرفی افزایش بیان ژن AMPK تعدیل کند و بر کاهش هایپرتروفی پاتولوژیک در دوره مصرف مکمل کورکومین تاثیر گذار باشد(۱۴). اما بر اساس جستجوهای انجام شده تا کنون مشخص نشده است که آیا مکمل کورکومین می‌تواند فعال شدن mTOR ناشی از تمرینات مقاومتی و عوارض هایپرتروفی کانسنتریک ناشی از آن را تعدیل کند یا خیر؟ بنابراین، با توجه به اثبات اثر احتمالی تمرینات مقاومتی بر ساختار پیری عضله قلبی افراد چاق و از طرف دیگر مناسب‌تر بودن این تمرینات نسبت به تمرینات استقامتی برای افراد چاق و همچنین موثر بودن کورکومین بر تعدیل این مسیرها (۱۵) و مشخص نبودن تاثیر همزمان این دو بر ساختار قلبی افراد چاق، در پژوهش حاضر تاثیر مصرف همزمان کورکومین و تمرین مقاومتی بر بیان برخی ژنهای دخیل در ساختار قلب موشهای نر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

طرح این پژوهش توسط کمیته اخلاق واحد تربیت بدنی دانشگاه آزاد لارستان مورد تایید قرار گرفت و کد اخلاق به شماره IR.SUMS.REC.1396.S446 توسط دانشگاه علوم پزشکی شیراز اخذ گردید. در این تحقیق تجربی، تعداد ۱۸ موش نر نژاد اسپراگ داولی در سن

[۱] extracellular matrix

[2]- autophagy

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

هشت هفتگی (۲۰±۱۸۰ گرم) خریداری و به آزمایشگاه حیوانات منتقل گردید و در شرایط استاندارد دمایی ۳± ۲۲ درجه سانتی‌گراد تحت چرخه خواب و بیداری (۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد نگهداری شدند (مجوز کد اخلاقی به شماره IR.SUMS.REC.1396.S446). سپس موش‌ها به سه گروه کنترل سالم (n=۶) و گروه دارونما چاق بدون تمرین (n= ۶) گروه تمرین و مکمل کورکومین (n=۶) تقسیم شدند.

گروه کنترل سالم به مدت هشت هفته از رژیم غذایی استاندارد و دو گروه دیگر به مدت هشت هفته از رژیم غذایی پرکالری استفاده کردند. غذای پرچرب حاوی کالری و چربی بیشتر در مقایسه با غذای استاندارد بود (کالری غذا ۴/۸۴ کیلوکالری در برابر ۳/۸۶ کیلوکالری و درصد انرژی غذا از چربی ۳۹ درصد در برابر ۳/۲ درصد) که با استفاده از روغن سویا، شکر در ترکیب با غذای استاندارد درست شده بود تا به وزن ۳۰±۳۱۹ گرم رسیدند. (۱۶). سپس تعداد شش موش چاق شده، به عنوان گروه چاق مرجع کشتار شده و تعداد شش موش چاق دیگر پروتکل تمرین مقاومتی را آغاز کردند. بدین منظور، در ابتدا یک هفته آشنایی با محیط آزمایشگاه انجام شد و رت‌ها هر روز به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با اجرای تمرین آشنا شدند تمرین مقاومتی سه روز در هفته (مقدار وزنه با ۲۰ درصد وزن بدن رت ها در هفته اول و ۵۰ درصد از وزن بدن رت ها در هفته هشتم). تمرینات ۳ ست با ۵ تکرار اجرا شد. استراحت بین تکرار ها ۱ دقیقه و استراحت بین ست ها ۲ دقیقه بود و ۲ بار در روز به فاصله ۶ ساعت،در ۸ هفته انجام شد. همزمان با تمرین، روزانه ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن کورکومین خالص، ساخت شرکت سیگما آلمان به شماره محصول c۱۳۸۶ و شماره فروش ۷-۳۷-۴۵۸ به صورت گاواژ در ترکیب با متیل سلولز را مصرف کردند(۱۰). بعد از ۸ هفته و ۲۴ ساعت پس از اتمام پروتکل تمرین رت‌ها با ترکیبی از داروی زایلازین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم) محصول شرکت آلفاسان هلند به صورت تزریق درون صفاقی بی‌هوش شدند. سپس، عضله قلب حیوان برداشته و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی شد. استخراج RNA با استفاده از ۵۰mg از عضله بطن چپ قلب انجام گرفت.

بافت‌ها با استفاده از یک میلی مول محلول ترایزول (Invitrogen) لیز شده و با دستگاه همگن کننده بافت کاملا هموژن شده و در مرحله بعد، جداسازی از فاز آبی به کمک ml ۲۵/. نیتروژن انجام پذیرفت و استخراج RNA با ۵۰ میلی‌گرم بافت که با استفاده از RNX - Plus لیز گردیده بود، توسط کیت شرکت یکتا تجهیز آزما ساخت ایران (YT9066) و براساس دستورالعمل کیت انجام گرفت. برای جدا سازی RNA از کلروفرم و ایزوپروپانول و شستشوی آن از اتانول ۷۵ درصد استفاده گردید. جهت از بین بردن آلودگی‌های DNA از RNase–DNase-free استفاده شد. کل نمونه‌ها با دستگاه پیکودراپ (United Kingdom) جهت اندازه‌گیری RNA و سنجش غلظت در طول موج‌های ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۳۰/۲۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند. سنتز cDNA با استفاده از کیت RevertAaid™ First Strand cDNA Synthesis، شرکت فریمنتاز آمریکا به شماره (K1622) و بر اساس پروتکل سنتز cDNA موجود در کیت انجام شد. با اضافه کردن RNase inhibitor جهت از بین بردن آلودگی سنتز cDNA در دستگاه ترموسایکر انجام گردید. به منظور اندازه گیری سطح بیان ژن‌های مربوطه از روش Real PCR Time-PCR (qRT-PCR) با کمک آنزیم RealQ Plus 2x Master Mix Green محصول شرکت (Ampliqon) ساخت کشور دانمارک و با استفاده از دستگاه applied Bio systems Step One™ ساخت کشور آمریکا صورت گرفت. ۲ میکرو لیتر از cDNA الگو، ۱۰ میکرو لیتر مسترمیکس، ۶/۸ میکرو لیتر10X PCR Buffer، ۱ میکرو لیتر از هر دو پرایمر جلویی و عقبی و ۰/۴ میکرولیتر از Tag DNA Polymerase و آب که حجم نهایی واکنش به ۲۵ میکرو لیتر رسید. پروتکل دمایی به صورت دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه متوالی به صورت دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و در مرحله آخر ضمن بررسی نمودار ذوب، محصولات توسط الکتروفورز در سطح ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. توالی پرایمرهای مورد استفاده در نرم افزار آنلاین Primer-BLAST(NCBI) طراحی شدند (جدول ۱). همچنین از ژن Beta 2 Microglobulin (B2M) به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد.

جدول۱. پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

نام پرایمر	توالی پرایمر
mTOR	F:5- GCCCCACCCCCATAGCTTCTCTC -3
	R:5- CAGGACTCAGGACACAACTAGCCC-3
S6K1	F: 5- CCCAACCCTTCTGATTTTCA -3
	R:5- GATCTGGGCAGGAGACAGAA -3
AMPK	F:5-GCACCTTCGGGAAAGTGAAG-3
	R:5-CTCTTCAACCCTCCCGTGTT-3
4EBP	F:5- CACAACCCTTCTGATTTTCA -3
	R:5- GCCTCGGCATAGCTTCTCTC -3
COL1	F:5- GGACGACCATAGGAGACAGG -3
	R:5- AGGCGATCCATAGGCTTA -3
COL3	F: 5- CCCAACCCTTCTGATTCACATTCA -3
	R:5- GCACCTTCGGGAAAGTGAAG -3
Ang	F:5- CTCTTCAACCCTGCCACGTGTT -3
	R:5-TTCAACCCTGCCATCACGTGTT -3

تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس مقایسه چرخه آستانه (CT) انجام شد. در این مطالعه، اختلاف CT به دست آمده از نمونه‌های مورد آزمایش و نمونه های کنترل محاسبه و با استفاده از فرمولΔΔCT-۲ نسبت ژن هدف به ژن مرجع مرجع محاسبه گردید. اطلاعات مورد نیاز پس از جمع‌آوری، توسط نرم افزار آماری SPSS-23 و کلیه نتایج در سطح معنی داری (α≤۰/۰۵)پردازش و سپس تحلیل شد. جهت بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها نیز از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه با آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

یافته‌ها

طبق نتایج آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، در بین گروه ها تفاوت‌های معنی‌داری در مقدار بیان ژن‌های AMPK(P=۰/۰۰۹)، mTOR (P=۰/۰۰۴)، S6K(P=۰/۰۲۶)،4EBP(P=۰/۰۰۷)، کلاژن ۱ (P=۰/۰۰۱)، کلاژن ۳ (P=۰/۰۰۱)، Ang (P=۰/۰۰۸) وجود داشت. به طوری طبق نتایج آزمون تعقیبی توکی، چاقی باعث کاهش بیان ژن AMPK و افزایش بیان ژن‌های mTOR،S6K،4EBPT ، COL1 ، COL3 ، Ang II شده بود، در حالی که در مورد همه این متغیرها، در بین گروه تمرین+کورکومین با گروه چاق مرجع نیز، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد(p<۰/۰۵).

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

جدول ۲. میانگین ± انحراف استاندارد سطح بیان ژن گروه‌ها و نتایج آزمون تحلیل واریانس یکطرفه

متغیر	گروه	مقدار متوسط	sig
AMPK	تمرین مقاومتی و کورکومین	3.59± 0.84	P=۰/۰۰۹
	گروه چاق مرجع	0.67 ±0.07	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
mTOR	تمرین مقاومتی و کورکومین	1.26 ±0.73	P=۰/۰۰۴
	گروه چاق مرجع	3.12 ±0.93	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
S6K	تمرین مقاومتی و کورکومین	1.34±0.88	P=۰/۰۲۶
	گروه چاق مرجع	2.53±0.71	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
کلاژن نوع۱	تمرین مقاومتی و کورکومین	0.47± 0.09	P=۰/۰۰۱
	گروه چاق مرجع	3.33 ±0.96	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
کلاژن نوع۳	تمرین مقاومتی و کورکومین	0.42 ±0.08	P=۰/۰۰۱
	گروه چاق مرجع	5.95 ±0.86	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
4EBP	تمرین مقاومتی و کورکومین	1.38±0.66	p=۰/۰۰۱
	گروه چاق مرجع	2.49±0.74	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	
Ang	تمرین مقاومتی و کورکومین	1.33±0.23	P=۰/۰۰۸
	گروه چاق مرجع	4.15±0.85	
	گروه کنترل غیرچاق	1±0.01	

بحث و نتیجه‌گیری

افزایش کالری مصرفی و چاقی، موجب افزایش فرایند پیری قلب و کاهش کالری موجب کاهش آن می‌شود. مواد مغذی موجب فعال شدن mTOR می‌شود(۱۷-۲۰). میزان بیان کلاژن نوع ۱ و ۳ در گروه چاق نسبت به کنترل سالم نیز تایید کننده این احتمال است. افزایش افتراقی الیاف کلاژن ۱ و کلاژن ۳ که در شرایط پاتولوژیک دیده می‌شوند و افزایش بیشتر کلاژن نوع ۳ نسبت به نوع ۱ نشان دهنده بروز هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی است(۲۱). هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تاثیر یک دوره تمرین مقاومتی و مصرف همزمان مکمل کورکومین بر بیان ژن‌های AMPK، mTOR، S6K ، 4EBP، COL1، COL3، Ang II در بافت قلبی رت‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب بود.

با توجه به اهداف پژوهش حاضر، نتایج نشان داد چاقی موجب کاهش ۳۳ درصدی بیان ژن AMPK و افزایش چند برابری بیان ژن‌های mTOR، S6K، 4EBP، Ang، COL1، COL3 شده است. از آنجایی که نقش تغذیه و تاثیر آن بر بیماری‌های قلبی و عروقی به خوبی مشخص شده است و روشن است چاقی با افزایش بیان mTOR و فعال سازی مسیر پیام‌رسانی پایین دستی باعث بروز کاردیومایوپاتی می‌شود(۲۰) و در این تحقیق نیز میزان بیان این ژن‌ها افزایش داشت. همسو با سایر تحقیقات در زمینه چاقی احتمالا ما نیز شاهد بروز هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی در رت‌های گروه چاق بودیم. بررسی تاثیر همزمان مصرف مکمل کورکومین و تمرین مقاومتی بر بیان mTOR نشان داد مصرف مکمل همزمان با تمرین مقاومتی از بیان آن می‌کاهد و در گروه تمرین مقاومتی+ مکمل کورکومین میزان کاهش ۲۶ درصد بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر و با توجه به اثبات اثر مخرب احتمالی چاقی بر ساختار هایپرتروفی پاتولوژیک عضله قلبی نمونه‌های چاق، مصرف مکمل کورکومین و تمرینات مقاومتی می‌تواند موجب کاهش بیان mTOR و در پی آن تعدیل این مسیرها و کاهش هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی شود که راه حل مناسبی برای کاهش فرآیند پیری قلب در نمونه‌های چاق محسوب می‌شود. کاهش ۳۴ درصدی بیان S6K در گروه مصرف همزمان کورکومین و تمرین مقاومتی نشان می‌دهد احتمالا کورکومین توانسته است مسیر mTOR را مهار کند و از افزایش زیاد سنتز پروتئین جلوگیری کند و همچنین از عوارض ثانویه آن مثل بروز مقاومت به انسولین پیشگیری کند چرا که فعال شدن mTOR توسط AKT موجب بروز مقاومت به انسولین و فعالیت مسیر پروتئین کینازهای فعال‌شده توسط میتوژن[۱] (MAPK) می‌شود که نتیجه‌ی آن، فعال شدن فاکتورهای رونویسی از قبیل ERK و در ادامه افزایش بیان ژن‌ها و در نهایت هایپرتروفی قلب است(۲۲). البته مطالعات اخیر نشان داده‌اند فعالیت بدنی مقاومتی در انسان، p70S6K را از طریق یک مسیر مستقل از AKT فعال می‌نماید، علاوه بر این، mTOR از طریق انواع مختلف پیام‌های درون سلولی غیر از PI3K/AKT نیز فعال می‌شود(۲۳). بنابراین نشان می‌دهد که مسیرهای تأثیرگذار بر رشد پیچیده و متنوع هستند و احتمال دارد کورکومین از طریق مهار سایر مسیرها توانسته بیان آن را کاهش دهد. در هر صورت با توجه به نتایج حاضر اثرات مثبت کورکومین بر بیان این ژن مشهود است و می‌تواند به عنوان یک رویکرد کنترلی در تمرینات مقاومتی لحاظ شود.

نتایج نشان داد بیان AMPK در پی مصرف همزمان کورکومین و تمرین مقاومتی افزایش می‌یابد. زمانی که تمام مسیرهای فعال کننده AMPK در این گروه فعال شدند بیان AMPK افزایش ۳۰۰ درصدی را تجربه کرد. تحقیقات به خوبی نشان داده‌اند AMPK اثرات ضد التهابی، حفاظت سلولی، آپتوزیسی و آنتی اکسیدانی دارد و با فعال کردن AMPK موجب افزایش بیان PGC-1α (۲۶) و در ادامه مهار FOXO می‌شود(۲۴). نتایج پژوهش حاضر نشان دهنده افزایش معنادار AMPK درگروه تمرین مقاومتی+ مکمل کورکومین نسبت به گروه دارونما چاق شده است و احتمالا افزایش این عامل نشان دهنده مهار عامل آتروفی عضله قلبی FOXO و مسیر پیام رسانی آن می‌باشد. AMPK از طریق فعال کردن TSC1 موجب مهار Rheb که فعال کننده mTOR است، می‌شود(۲۵). با توجه به نتایج بدست آمده در کاهش بیان ژن mTOR در گروه تمرین+مکمل کورکومین به نظر می‌رسد که مکمل کورکومین علاوه بر اثر مستقیم خود بر mTOR توانسته است با افزایش بیان ژن AMPK میزان تولید ژن mTOR را کاهش دهد و از این طریق از پیشروی هایپرتروفی پاتولوژیک عضله قلبی رتها چاق جلوگیری کند. کاباکوس و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند کورکومین با توجه به اثرات ضدالتهابی که دارد می‌تواند از طریق فعال کردن AMPK موجب بایوژنز میتوکندریایی شود و با مهار رادیکال‌های آزاد از هایپرتروفی پاتالوژیک قلبی محافظت کند(۱۲). تحقیقات نشان داده‌اند کورکومین آنزیم هیستون استیل ترانسفراز را که باعث پیشرفت هایپرتروفی قلبی و نارسایی قلبی می‌شود را مهار می‌کند و بدین ترتیب مانع از رونویسی DNA و رشد بی‌رویه سلول‌های میوکارد قلبی شده و از رشد قلب جلوگیری می‌کند(۲۶, ۲۷). همچنین کورکومین با کاهش فعالیت NF-κB و مارکرهای التهابی باعث مهار هایپرتروفی عضله قلبی می‌شود(۲۶).

[۱] mitogen activated protein kinases

Copyright ©The authors
Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

اما سایر مکانیسم‌های عمل کورکومین در مهار هایپرتروفی قلبی به خوبی مشخص نیست. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان مکانیسم دیگری را در اثر کورکومین بر مهار هایپرتروفی قلبی عنوان کرد و کاهش فعالیت مسیر mTOR را از طریق دیگر مکانیسم درگیر بیان کرد که البته برای مشخص شدن آن نیاز به تحقیقات دیگر و بررسی‌های سلولی مولکولی به ویژه بررسی بیان پروتئین‌های این مسیر دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده گروه تمرین مقاومتی+ مکمل کورکومین نسبت به گروه دارونما چاق منجر به کاهش بیان ژن ۳۴ درصدی 4EBP1 شده است. همچنین نتایج نشان داد گروه تمرین مقاومتی+ مکمل کورکومین نسبت به گروه دارونما چاق منجر به کاهش حدود ۵۳ درصدی در بیان ژن کلاژن۱ و ۵۸ درصد در بیان کلاژن۳ شده است. کاهش کلاژن۱ و کلاژن۳ نشان دهنده افزایش الاستیسیته و کمپلیانس قلب می‌باشد (در شرایط فیزیولوژیک) که در دوره تمرین مقاومتی و مکمل کورکومین میزان آن نسبت به گروه چاق کاهش یافته است و افزایش آنها نشان دهنده افزایش سفتی قلب و کاهش کمپلیانس می‌باشد. چاقی رت ها باعث هایپرتروفی پاتولوژیک قلب می‌شود و در واقع چاقی منجر به سرعت گرفتن پیری قلب می‌شود(۲۸). با توجه به آنکه اجرای آزمون قدرت یک تکرار بیشینه در رت‌های صحرایی تقریباً ناممکن است اما افزایش توانایی حمل ۱۰۰ درصد وزن بدن، در رت هایی که در آغاز تمرینات برای حمل بار ۲۰ درصد وزن بدن با مشکل رو به رو بودند، حاکی از افزایش قدرت در آنان است. بنابراین، به نظر می‌رسد پژوهش حاضر منجر به افزایش قدرت رت‌های صحرایی پس از هشت هفته تمرین مقاومتی صعود از نردبان با حمل وزنه شده است. در نتیجه تمرین مقاومتی باعث هایپرتروفی کانسنترینک در قلب شده و تا حدودی اثرات منفی چاقی بر عملکرد قلبی در فرآیند پیری قلب را کاهش داده است. پروتئین‌های اصلی ماتریکس خارج سلولی قلب کلاژن نوع۱ و کلاژن نوع۳ (کلاژن‌های فیبری) می‌باشند(۲۲). افزایش افتراقی الیاف کلاژن۱ و کلاژن۳ که در شرایط پاتولوژیک دیده می‌شوند منجر به عملکرد غیرطبیعی قلب می‌شود، اما در شرایط فیزیولوژیک (ورزش) مویوسیت‌های قلبی توسط شبکه ظریفی از کلاژن احاطه شده‌اند و هایپرتروفی القا شده در این شرایط نوعاً همراه با انباشتگی کلاژن نیست(۲۹). به نظر می‌رسد چاقی باعث افزایش ژن‌های تاثیرگذار بر هایپرتروفی پاتولوژیک قلبی در گروه دارونما چاق شده است که در نهایت منجر به کاهش سنتز پروتئین‌های عضلانی و افزایش پروتئین‌های تجزیه کننده می‌شود. در تحقیق حاضر علاوه براینکه میزان بیان دو نوع کلاژن کاهش یافت، میزان کاهش کلاژن نوع ۳ بیشتر بود که نشان دهنده کاهش نسبت کلاژن نوع ۱ به نوع ۳ و افزایش کامپلیانس بطنی و بهبود عملکرد دیاستولیک قلب گروه تمرین مقاومتی + مکمل کورکومین نسبت به دارونما چاق می‌باشد. همان گونه که در نتایج تحقیق دیده شده است ما میزان کاهش کلاژن ها را مشاهده کردیم که می‌توان از آن نتیجه گرفت که افزایش سن و همچنین چاقی رتها باعث افزایش هایپرتروفی پاتولوژیک و سختی بطنی و فیبروزیس قلبی با تاثیر تمرینات مقاومتی و حتی مصرف مکمل کورکومین روند کاهشی را پیش گرفته است و برای بهبود عملکرد قلبی مفید می‌باشد. گزارش شده است که افزایش در بیان miR-29 با کاهش کلاژن قلبی و بهبود کامپلیانس بطنی مرتبط می‌باشد(۳۰). در مطالعات صورت گرفته بیان شده است در هایپرتروفی فیزیولوژیک ناشی از تمرینات استقامتی افزایش EDV باعث کشیده شدن تارهای بطن، افزایش تارها به صورت سری و ایجاد هایپرتروفی اکسنتریک شده است که با افزایش کامپلیانس بطنی همراه بوده است. با توجه به نتایج بدست آمده گروه مکمل کورکومین نسبت به گروه دارونما (چاق) منجر به کاهش بیان ژن Ang2 شده است که این میزان کاهش حدود ۳۲ درصد بود.

در این این تحقیق محدودیت‌های زیادی از جمله تعداد کم موشها در گروه‌ها، عدم استفاده از طرح سولومن برای تفکیک اثرات تمرین از مکمل کورکومین و لحاظ کردن سن موشهای چاق مرجع، عدم اطمینان از سرنوشت جذب کورکومین در لوله گوارشی و عدم بررسی مستقیم تغییرات ریخت شناسی و فنوتیپی حاصل از تغییر بیان زن‌های مورد بررسی بود که نیاز به تحقیقات بیشتر در آینده را مطرح می‌کند.

نتیجه‌گیری

تغییرات مشاهده شده در بیان ژنهای مورد بررسی به اثرات مخرب چاقی بر ایجاد ساختار قلبی هایپرتروفیک دلالت می‌کند و مصرف همزمان مکمل کورکومین همراه با تمرین مقاومتی احتمالا می‌تواند این روند را تضعیف و یا اصلاح کند. بااین‌حال، به دلیل محدودیت‌های تحقیق همچنان نیاز به بررسی‌های بیشتر باقی است.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد لارستان (۱۵۵۲۱۴۲۳۹۶۱۰۰۱) می‌باشد که در آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام گرفته و هیچ گونه حامی مالی نداشته است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از اساتید بزرگوار دانشگاه علوم پزشکی شیراز که در انجام این مطالعه آنها را یاری نمودند، تقدیر به عمل آورند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچگونه تعارض منافعی از انتشار آن ندارند.

منابع

1. Harman D. Role of antioxidant nutrients in aging: overview. Age. 1995;18(2):51-62.

2. Dai D-F, Chen T, Johnson SC, Szeto H, Rabinovitch PS. Cardiac aging: from molecular mechanisms to significance in human health and disease. Antioxidants & redox signaling. 2012;16(12):1492-526.

3. Chiao YA, Rabinovitch PS. The aging heart. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2015;5(9):a025148.

4. Johnson SC, Sangesland M, Kaeberlein M, Rabinovitch PS. Modulating mTOR in aging and health. Aging and Health-A Systems Biology Perspective. 40: Karger Publishers; 2015. p. 107-27.

Copyright ©The authors

5. Wessells R, Fitzgerald E, Piazza N, Ocorr K, Morley S, Davies C, et al. d4eBP acts downstream of both dTOR and dFoxo to modulate cardiac functional aging in Drosophila. Aging cell. 2009;8(5):542-52.

6. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. Cell. 2017;168(6):960-76.

7. Baar K, Wende AR, Jones TE, Marison M, Nolte LA, Chen M, et al. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. The FASEB journal. 2002;16(14):1879-86.

8. Goodman CA, Frey JW, Mabrey DM, Jacobs BL, Lincoln HC, You JS, et al. The role of skeletal muscle mTOR in the regulation of mechanical load-induced growth. The Journal of physiology. 2011;589(22):5485-501.

9. Pesta D, Hoppel F, Macek C, Messner H, Faulhaber M, Kobel C, et al. Similar qualitative and quantitative changes of mitochondrial respiration following strength and endurance training in normoxia and hypoxia in sedentary humans. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2011;301(4):R1078-R87.

10. Khodaparast Z, Yousofi A, Khoshvaghti A. Investigation of Curcumin Effects on Liver Tissue in Adult Male Rats Treated with Cyclophosphamide. Journal of Fasa University of Medical Sciences/Majallah-i Danishgah-i Ulum-i Pizishki-i Fasa. 2014;4(4): 11-19.

11. Boon H, Wong J. Botanical medicine and cancer: a review of the safety and efficacy. Expert opinion on pharmacotherapy. 2004;5(12):2485-501.

12. Kapakos G, Youreva V, Srivastava AK. Cardiovascular protection by curcumin: molecular aspects. Indian J Biochem Biophys. 2012;49(5):306-15.

13. Shen L, Ji H-F. Bidirectional interactions between dietary curcumin and gut microbiota. Critical reviews in food science and nutrition. 2019;59(18):2896-902.

14. Moeini A, Farsi S, Moghaddasi M. The Effect of Curcumin Supplementation on Expression of Regulatory Signaling Genes of Cardiac Muscle Growth Messenger in Obese Male Rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2019;22(2):96-105.

15. Rauofi A, Farsi S, Hosseini SA. Effect of Resistance Training Along with Curcumin Supplementation on Expression of Some Regulator Genes Associated with Cardiac Muscle Structure in Obese Rats. Thrita. 2020;9(2): 27-35.

16. Salesi M, Mehrtash M, Daryanoosh F, Tanide N. The Role of Caloric Restriction on Lipid Coat Proteins Gene Expression and Insulin Resistance after 8 Weeks High Caloric Diet in Male Rats. Journal of Arak University of Medical Sciences. 2018;21(5):21-31.

17. Miyamoto S. Autophagy and cardiac aging. Cell Death & Differentiation. 2019;26(4):653-64.

18. Perl A. mTOR activation is a biomarker and a central pathway to autoimmune disorders, cancer, obesity, and aging. Annals of the New York Academy of Sciences. 2015;1346(1):33-41.

19. Sun M, Tan Y, Rexiati M, Dong M, Guo W. Obesity is a common soil for premature cardiac aging and heart diseases-role of autophagy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2019;1865(7):1898-904.

20. Fang CX, Dong F, Thomas DP, Ma H, He L, Ren J. Hypertrophic cardiomyopathy in high-fat diet-induced obesity: role of suppression of forkhead transcription factor and atrophy gene transcription. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2008;295(3):H1206-H15.

21. Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF-β signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. Cardiovascular research. 2007;74(2):184-95.

22. Lakshmipathi J, Alvarez-Perez JC, Rosselot C, Casinelli GP, Stamateris RE, Rausell-Palamos F, et al. PKCζ is essential for pancreatic β-cell replication during insulin resistance by regulating mTOR and cyclin-D2. Diabetes. 2016;65(5):1283-96.

23. Phan F, Flamment M, Hu M, Hainault I, Ferré P, Foufelle F. BCAA and ER stress activate SREBP-1c cleavage and hepatic lipogenesis through mTOR. Journal of Hepatology. 2018;68:S339.

24. Shen M, Schmitt S, Buac D, Dou QP. Targeting the ubiquitin–proteasome system for cancer therapy. Expert opinion on therapeutic targets. 2013;17(9):1091-108.

25. Zhai X, Qiao H, Guan W, Li Z, Cheng Y, Jia X, et al. Curcumin regulates peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α expression by AMPK pathway in hepatic stellate cells in vitro. European journal of pharmacology. 2015; 746: 56-62.

Copyright ©The authors

26. Li H-L, Liu C, De Couto G, Ouzounian M, Sun M, Wang A-B, et al. Curcumin prevents and reverses murine cardiac hypertrophy. The Journal of clinical investigation. 2008;118(3):879-93.

27. Marcu MG, Jung Y-J, Lee S, Chung E-J, Lee M-J, Trepel J, et al. Curcumin is an inhibitor of p300 histone acetylatransferase. Medicinal chemistry. 2006;2(2):169-74.

28. Moini A, Farsi S, Hoseini S, Mehrzad M. The Effect of Resistance Training on the Expression of Cardiac Muscle Growth Regulator Messenger Genes in Obese Male Rats. Armaghane danesh. 2019;24(5):935-49.

29. Balakrishnan VS, Rao M, Menon V, Gordon PL, Pilichowska M, Castaneda F, et al. Resistance training increases muscle mitochondrial biogenesis in patients with chronic kidney disease. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2010;5(6):996-1002.

30. Choobineh S, Soleimani M, Shafiee A, Hadidi V. The Effect Of Eight Week Continuous Training On Expression Of Mir29mRNA, In Healthy Male Rat's Cardiac Muscle. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2016;17(3): 21-29.

Copyright ©The authors

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University