مجله دانشگاه علوم پزشکی جیرفت

دوره ۸، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰

تأثیر چهار هفته تمرین هوازی با مکمل اکتاپامین بر بیان ژن NLRP-3 و سنتز پروتئین TRK-β در عضله قلب موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با روغن‌های حرارت دیده مکرر

دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۶ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

محبوبه کاظمی[۱]، مقصود پیری[۲*]، محمدعلی آذربایجانی[۲]

۱. دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران، ۲. استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

چکیده

مقدمه و هدف: بیماری قلبی عروقی، علت اصلی مرگ‌ومیر در جوامع امروزی است که از دلایل اصلی آن سبک زندگی بی‌تحرک و استفاده از رژیم‌های غذایی پرچرب و نامتعادل بیان شده‌است. هدف این مطالعه تعیین تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی با مکمل اکتاپامین بر بیان ژن NLRP-3 و سنتز پروتئین TRK-β در عضله قلب موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با روغن‌های حرارت دیده مکرر بود.

روش کار: تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به‌صورت تصادفی به ۵ گروه (۶ تایی) شامل کنترل سالم (CO)، مصرف روغن‌های حرارت دیده مکرر (I)، مصرف روغن‌های حرارت دیده مکرر+ تمرین هوازی (H)، مصرف روغن‌های حرارت دیده مکرر+ مکمل اکتاپامین (B)، مصرف روغن‌های حرارت دیده مکرر+ تمرین هوازی+ مکمل اکتاپامین (C) تقسیم شدند. در طول دوره پژوهش روغن‌های حرارت دیده عمیق به‌صورت خوراکی (گاواژ، ۱۰ml/kg) به‌مدت ۴ هفته، به موش‌های مورد آزمایش خورانده شد. ۸۱ مول بر کیلوگرم اکتاپامین به‌صورت تزریق درون صفاقی به گروه‌های مکمل تزریق شد. موش‌های گروه تمرینی نیز به تمرین تردمیل با شدت متوسط در هفته‌ی اول ۵۰٪ vo_{2max} و در هفته‌ی آخر ۶۵٪ vo_{2max} پرداختند. جهت تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه و برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی بن فرونی با استفاده از نرم‌افزار Graph pad prism نسخه ۸ استفاده شد.

یافته‌ها: بیان ژن NLRP-3 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل که مکمل و تمرین دریافت نکرده بودند، کاهش معناداری داشت ($p<۰/۰۵$). دریافت مکمل اکتاپامین نیز موجب کاهش NLRP-3 شد ($p<۰/۰۵$). ترکیب تمرین و مکمل باهم باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن NLRP-3 در مقایسه با گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$). تغییرات مقدار پروتئین TRK-β در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل که مکمل و تمرین دریافت نکرده بودند، تفاوت معناداری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). در گروهی که دریافت مکمل اکتاپامین نیز داشتند در مقایسه با گروه کنترل، مقادیر TRK-β تغییر نکرد و تفاوت معناداری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). ترکیب تمرین و مکمل با هم موجب افزایش معنادار بیان ژن TRK-β در مقایسه با گروه تمرین شد($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: احتمالاً تمرین هوازی همراه با مکمل اکتاپامین آثار مخرب روغن‌های حرارت دیده عمیق را بر بیان ژن وابسته به تخریب عضله قلب کاهش داده و موجب بهبود دگرگونی ساختار میوسیت می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تمرین هوازی، اکتاپامین، روغن حرارت دیده مکرر، NLRP-3، TRK-β

* **نویسنده مسئول:** استاد فیزیولوژی ورزشی، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

ایمیل: m.peeri@iauctb.ac.ir **تلفن:** ۰۹۱۲۱۱۲۴۴۳۴ **نمابر:** ۰۲۱۲۲۴۸۱۶۲۲

مقدمه

بیماری قلبی عروقی، علت اصلی مرگ‌ومیر در جوامع امروزی است که از دلایل اصلی آن سبک زندگی بی‌تحرک و استفاده از رژیم‌های غذایی پرچرب و نامتعادل بیان شده‌است (۱). علی‌رغم مصرف غذاهای سرخ‌شده، حرارت‌دادن چندباره روغن سبب بروز سمیت و جهش‌زایی سلول می‌شود که با بروز انواع بیماری‌های التهابی شامل انواع سرطان (۲)، گرفتگی‌های عروقی و ایجاد آترواسکلروز ارتباط دارد (۳). سرخ‌کردن چندباره روغن DFO[1] در دمای بالا باعث انتقال و جابجایی مواد هیدروکربن چند حلقه‌ای آروماتیک و تولید ماده سمی آکرولین می‌شود که متعلق به خانواده الکتروفیل آلدئید غیراشباع α و β است که از ترکیب کربوهیدرات‌ها و چربی‌های حیوانی و گیاهی در زمان حرارت‌دهی بالا تولید می‌شود (۴). استرس اکسایشی ناشی از آکرولین که در اثر سرخ شدن مکرر روغن تولید می‌شود بر تنفس سلولی میتوکندری اثر گذاشته و مرگ سلولی در میوسیت ایجاد می‌کند (۵).

مصرف غذاهای سرخ‌شده با روغن‌های چند بار حرارت‌دیده باعث می‌شود محصولات تخریبی حاصل از آن به گردش خون سیستمی وارد و موجب تغییرات پاتوفیزیولوژی مانند افزایش فشارخون، اختلال در عملکرد عروق اندوتلیال، افزایش التهاب سلول و اکسیداسیون لیپوپروتئین در غشاء کاردیومیوسیت می‌شود (۳). تجمع پلاک‌های چربی در عروق با ایجاد انواع اختلالات متابولیسمی از جمله آریتمی قلبی به‌وسیله تخریب DNA میتوکندری در آپوپتوزیس سلول‌های میوسیت تأثیر زیادی دارد (۵). در این مسیر پروتئین‌های القاگر التهاب به نام اینفلامازوم[2] (NLRPs) در سیتوزول سلول بیان می‌شوند که در ایجاد اختلال عملکرد عروق اندوتلیال و بر هم زدن هومئوستاز سلول‌های عضله قلبی نقش مهمی دارند (۶). اینفلامازوم‌ها موجب فعال‌سازی پروکاسپازها و افزایش بیان سایتوکاین‌های التهاب‌زا مانند اینترلوکین IL-1β و IL-18 می‌شوند که محرک راه‌اندازی مسیرهای وابسته به مرگ سلول در بافت عضله قلب است (۷). فاکتور اینفلامازوم شماره ۳ (NLRP-3) در گسترش التهاب سلول‌های آندوتلیال آئورت انسان (۷) و ایجاد ایسکمی قلبی نقش اساسی دارد (۸). به این دلیل اشتباهات رایج تغذیه‌ای ازجمله داغ‌کردن و حرارت‌دادن چندباره روغن به‌وسیله تولید رادیکال‌های آزاد موجب راه‌اندازی NLRP-3 و مسیرهای التهابی وابسته به مرگ سلولی در عروق می‌شود (۳) و کاردیومیوپاتی ایجاد می‌گردد (۶). همین‌طور افزایش در تولید ROS[3] با روغن‌های حرارت‌دیده موجب افزایش نسبت ATP به ADP در عضله قلب می‌شود (۹). در این مسیر تولید تیروزین کیناز بتا[4] (TRK-β) که از خانواده فسفوترانسفرازها می‌باشد در سطح سلول مهارشده و سپس مسیر در سلول عضله قلب هموار می‌شود (۸). آکرولین تولیدشده با روغن‌هایی که چند بار حرارت‌داده شده، سیگنال‌دهی پروتئین سطح سلول میوسیت را به دلیل تولید مالون دی آلدئید[5] (MAD) مختل می‌کند (۱۰) و باعث تضعیف در عملکرد پروتئین تیروزین کیناز می‌گردد. درحالی‌که فعال شدن TRK-β با اتصال به گیرنده‌های متصل به G پروتئین در سطح غشاء میوسیت سیگنال‌دهی مرگ سلولی را مهار می‌کند (۱۱). لازم به ذکر است که عملکرد و تولید TRK-β موجب فعالیت مسیرهای وابسته به AKT/PI3K شده و به‌وسیله تولید فاکتور هسته‌ای کاپای‌β (NF-Kβ)[6] عملکرد ضد اکسایشی را تقویت و از تخریب هسته میتوکندری پیشگیری می‌کند (۱۲). به این دلیل تولید TRK-β از آسیب‌های ایسکمی (۱۳) و مرگ سلول میوسیت جلوگیری می‌کند (۱۱). از طرفی انجام تمرینات ورزشی با افزایش متابولیسم سلولی و راه‌اندازی مسیرهای التهابی در راه‌اندازی Ca^{++} از درون سیتوزول و اتصال آن به کالمودولین CAMK-II (۱۴) و عملکرد پروتئین میتوفیوژنی AMPK و P-38 MAPK باعث افزایش تولید و عملکرد AKT/Mtor-c1 می‌شود و مسیرهای اختلال قلبی را مهار می‌کند (۱۵). نتایج یک مطالعه نشان داد، ۱۲ هفته تمرین هوازی با شدت متوسط به وسیله عملکرد پروتئین فسفوفروکتوکیناز و افزایش در فعالیت پروتئین کیناز AKT و کاهش در تولید ROS از اتوفاژی و گسیختگی میتوکندری جلوگیری می‌کند (۱۶). از طرف دیگر تمرین با شدت متوسط با به‌کارگیری آنزیم‌های هوازی سوپراکسید دیسموتاز SOD و گلوتاتیون پرواکسیداز GPX موجب تولید اتساع‌کننده‌های عروقی از جمله پروکسی زوم یک آلفا PGC-1α و سنتز نیتریک اکسید NO و VEGF می‌شود و از ساختار و عملکرد قلب محافظت می‌کند (۱۷). اما برخی

[1] Deep frying oil
[2] Inflammasome
[3] Redox Oxidative Stress
[4] Tirosine- kinase beta
[5] Malondi aldehyde
[6] Nuclear factor kappa-B

مطالعات استراحت فعال را پس از اجرای تمرین شدید بر تنظیم بیان ژن (۱۸) و بهبود عملکرد قلب مؤثرتر دانسته‌اند (۱۹). با این حال یک دوره طولانی مدت تمرین هوازی با شدت متوسط در کاهش فسفوپروتئوزوم و مهار اتوفاژی در میتوکندری قلب موش‌های مدل بالینی مؤثر بود (۲۰). همینطور به مصرف گیاهان دارویی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد التهابی با اثرات مثبت بر متابولیسم سلول با مداخله ورزشی (۲۱) و بدون مداخله آن (۲۲) مورد توجه قرار گرفته‌است. از میان مکمل‌های گیاهی می‌توان به اکتاپامین که یک عصاره گیاهی از خانواده نارنج است اشاره کرد. اکتاپامین به عنوان یک آمین بیوژنیک درون‌زا شناخته می‌شود که با تأثیر بر گیرنده‌های دوپامینرژیک-بتا آدرنرژیک و نور اپی‌نفرین (۲۳) با آثار مفید ضد التهابی، آرامبخشی و بهبود در رشد سلول‌های بنیادی عصبی (۲۴) در جلوگیری از تاکی‌کاردی و خاصیت تنظیم‌گری در بهبود عملکرد قلب مؤثر می‌باشد (۲۵). با توجه به اینکه تاکنون تأثیر اکتاپامین با و بدون تمرین هوازی بر بهبود متابولیسم سلولی قلب بررسی نشده، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ۴ هفته تمرین هوازی با مکمل اکتاپامین بر بیان ژن NLRP-3 و سنتز پروتئین TRK-β در عضله قلب موش‌های صحرایی تغذیه‌شده با روغن‌های حرارت‌دیده مکرر انجام شد.

روش کار

مطالعه حاضر تجربی می‌باشد. بدین منظور ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با ۸ هفته سن و وزن تقریبی بین ۲۰۰-۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور (تهران) تهیه شدند. نگهداری آنها در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت مورد استفاده برای قفس‌ها حدود ۶۰٪ چرخه روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شدند. همه مراحل مطابق با دستورالعمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی هلسینکی انجام شد. حیوانات به‌صورت تصادفی به ۵ گروه (۶ تایی) شامل: کنترل سالم (CO)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر (I)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ تمرین هوازی (H)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ مکمل اکتاپامین (B)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ تمرین هوازی+ مکمل اکتاپامین (C) تقسیم‌بندی شدند.

تهیه روغن حرارت‌دیده مکرر

روغن حرارت‌دیده مکرر حاصل از ۸ لیتر روغن آفتاب‌گردان که به مدت ۴ روز متوالی روزی ۸ ساعت با حرارت ۱۹ تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد داغ‌شده بود به دست آمد. طبق منبع هر ۳۰ دقیقه با دماسنج پخت غذا اندازه‌گیری گردید. مواد غذایی شامل ناگت مرغ، سیب‌زمینی و فرآورده‌های پروتئینی (سوسیس و کالباس) داخل روغن غوطه‌ور شدند و در انتهای روز چهارم، از روغن به‌منظور استفاده مداخله مسمومیتی نگهداری شد. روغن DFO به‌صورت خوراکی به مدت ۴ هفته و ۵ روز در هفته، (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) به رت‌ها گاواژ شد.

برنامه تمرین هوازی

بعد از یک هفته آشنایی با راه رفتن بر روی تردمیل مخصوص حیوانات (شرکت دانش سالار ایرانیان)، جوندگان به مدت ۲۰ دقیقه، با سرعت ۹ متر در دقیقه بر روی تردمیل قرار گرفتند. پروتکل تمرین هوازی با شدت متوسط در محدوده VO_2 max ۵۰-۶۵٪ شامل ۵ جلسه تمرین بر روی تردمیل به مدت ۳۰ دقیقه در هفته (۵ دقیقه گرم‌کردن و ۲۰ دقیقه فعالیت و ۵ دقیقه سردکردن) انجام شد. در اولین روز شروع تمرین، سرعت از ۱۶ m/s شروع شد و طبق برنامه، سرعت تمرین در هر هفته افزایش یافت و پس از ۴ هفته در روز آخر به ۲۶ m/s رسید (۲۶).

تهیه و مصرف مکمل

مکمل مورد استفاده در این تحقیق، اکتاپامین بود. مدت زمان مداخله در این طرح ۴ هفته و ۵ روز در هفته بود. دوز مورد استفاده بر اساس مقالات ۸۱ µmol/kg به‌صورت تزریق درون صفایی (IP محلول با نرمال سالین ۰/۹٪) با تهیه مکمل از شرکت سیگما آلدریچ (ساخت کشور بلژیک) گاواژ شد (۲۷).

ارزیابی‌های بافتی

۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله با حداقل ۸ ساعت ناشتایی، موش‌های صحرایی با محلول کلروفورم بیهوش و پس از شکافتن قفسه سینه از بطن چپ قلب با سرنگ ۳ سی‌سی خون‌گیری انجام شد. خون جمع‌آوری‌شده داخل لوله ۱۰۰×۱۲ ساده و لوله EDTA به‌منظور برداشت سرم و پلاسما داخل سانتریفیوژ یخچال‌دار قرار داده‌شد. پس از خون‌گیری از قلب به‌سرعت بافت‌ها جداشده و با محلول بافر فسفات سالین

(PBS) شستشوی بافت انجام شد و داخل میکروتیوب قرار گرفت. سپس داخل تانک ازت بافت فریز شده و تا زمان آنالیز داخل فریزر ۸۰- نگهداری شد.

qRT-PCR

استخراج RNA و پروتئین با استفاده از معرف TRizol از بافت قلب استخراج شد، طبق دستورالعمل سازنده کیت RNA و پروتئین استخراج شد (Invitrogen USA). با توجه به نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ اندازه‌گیری‌شده توسط طیف‌سنج NanoDrop (Waltham، MA، Thermo Scientific USA) تعیین شد. سنتز cDNA و تجزیه و تحلیل کمی از روش RT-PCR (به‌عنوان ژن خانه‌داری) با استفاده از نرم‌افزار Premier 5 طراحی شدند (Premier Bio-Soft International USA). سنتز cDNA برای NLRP-3 و TRK-β با استفاده از یک کیت سنتز cDNA Exiqon، دانمارک (طبق دستورالعمل‌های سازنده) انجام گردید. با استفاده از پروتکل‌های استاندارد با سیستم Rotor-Gene 6000 در سه نسخه (Corbett Life Science Mortlake) به‌طور خلاصه، در حجم کل ۱۰ میکرولیتر، ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر cDNA به یک ترکیب اصلی اضافه شد که شامل ۱۰ pmol/µl از هر پرایمر و ۵ میلی‌لیتر Premix ExTag SYBR از کیت سازنده (TaKaRa II،Kusats) شیگای ژاپن استفاده و طبق دستورالعمل با ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه و ۴۰ چرخه ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه واکنش PCR انجام گردید. جدول ۱ توالی پرایمرها را نشان می‌دهد.

جدول۱. توالی پرایمری ژن

ژن	توالی پرایمر ($5' \rightarrow 3'$)	
NLRP-3	Forward	GGAGTGGATAGGTTTGCTGG
	Reserve	GGTGTAGGGTCTGTTGAGGT
TRK-β	Forward	TTATGCTTGCTGGTCTTGGGCTTC
	Reserve	TCTGGGTCAATGCTGTTAGGTTCC

نتایج

جهت تعیین تفاوت‌های گروه‌های موردمطالعه از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد که در صورت معناداربودن تفاوت‌های بین گروهی، از آزمون تعقیبی بن فرونی برای شناسایی محل تفاوت‌های بین گروهی داده‌ها استفاده شد. بیان ژن NLRP-3 در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل که مکمل و تمرین دریافت‌نکرده بودند، کاهش معناداری داشت ($p<۰/۰۵$). دریافت مکمل اکتاپامین نیز موجب کاهش NLRP-3 شد ($p<۰/۰۵$). ترکیب تمرین و مکمل باهم باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن NLRP-3 در مقایسه با گروه کنترل شد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۱). تغییرات مقدار پروتئین TRK-β در گروه تمرین در مقایسه با گروه کنترل که مکمل و تمرین

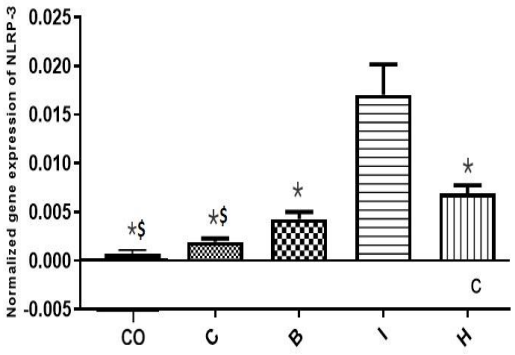
روش وسترن بلات

سلول‌ها در بافر لیزکننده قرار گرفته و لیز شدند (با مهارکننده‌های پروتئازPMSF) مقادیر مساوی پروتئین جداشده توسط SDS-PAGE با ۵ تا ۱۲٪ ژل تریس-گلیسین (invitrogen) تحت آزمایش استاندارد وسترن قرار گرفتند. تحلیل و بررسی وسترن بلات با استفاده از آنتی‌بادی‌های پروتئین و ژن انجام شد (رقت ۱:۱۰۰۰) (سوئد، Can, Ag) و آنتی آنزیم (۱:HRP۲۰۰۰، Can، Ag; سوئد) در زمانی‌که با آنتی‌بادی‌های ثانویه متصل به (واکنش ۱:HRP۳۰۰۰ ، آبکم ساخت ایالات متحده) واکنش نشان دادند. رنگ‌آمیزی‌ها با استفاده از سیستم ECL (Amersham Life) (Western Heights Blloting Detection Arlington) ساخته شدند. از پروتئین GAPDH نیز به‌عنوان کنترل داخلی استفاده گردید.

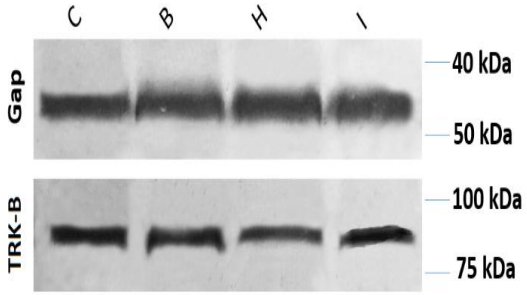
تجزیه و تحلیل آماری

برای تعیین اثر اصلی تمرین، اثر اصلی اکتاپامین و تعامل تمرین و اکتاپامین از تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد. در صورت وجود تفاوت معنادار، برای تعیین محل تفاوت از آزمون تعقیبی بن قرونی استفاده شد. کمی‌سازی بیان ژن موردنظر با فرمول $^{-\Delta\Delta ct}$ ۲ و مقادیر تغییرات چند برابری محاسبه گردید. اطلاعات در جداول و اشکال بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش شد. سطح معناداری $p\leq۰/۰۵$ در نظر گرفته و همه مراحل آماری با استفاده از نرم‌افزار Graph pad prism نسخه ۸ انجام شد.

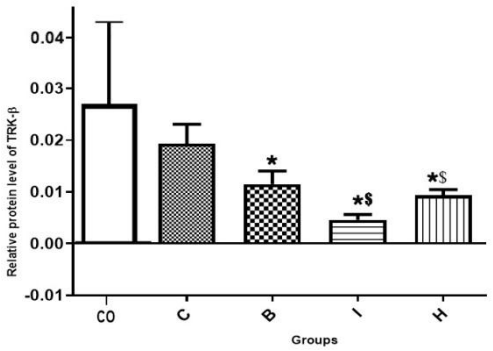
دریافت‌نکرده بودند، تفاوت معناداری نشان نداد (p>۰/۰۵). در گروهی که دریافت مکمل اکتاپامین نیز داشتند در مقایسه با گروه کنترل، مقادیر TRK-β تغییر نکرد و تفاوت معناداری نشان نداد (p>۰/۰۵). ترکیب تمرین و مکمل باهم موجب افزایش معنادار بیان ژن TRK-β در مقایسه با گروه تمرین شد (p<۰/۰۵) (شکل۲ و ۳).



شکل۱. بیان ژن NLRP-3 در گروه‌های مورد مطالعه. *تفاوت معنادار با گروه CO. $ تفاوت معنادار با گروه H. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش‌شده است. (CO) گروه کنترل سالم، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر + تمرین هوازی + مکمل اکتاپامین (C)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ مکمل اکتاپامین (B)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر مصرف (I)، روغن‌های حرارت‌دیده مکرر + تمرین هوازی (H).



شکل۲. باندهای وسترن بلات پروتئین TRK-β و GAPDH در گروه‌های پژوهش.



شکل ۳. پاسخ پروتئین TRK-β در گروه‌های مورد مطالعه. * تفاوت معنادار با گروه CO. $ تفاوت معنادار با گروه C. اطلاعات بر اساس میانگین و انحراف استاندارد گزارش‌شده است. (CO) گروه کنترل سالم، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ تمرین هوازی+ مکمل اکتاپامین (C)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر+ مکمل اکتاپامین (B)، مصرف روغن‌های حرارت‌دیده مکرر مصرف (I)، روغن‌های حرارت‌دیده مکرر + تمرین هوازی (H).

بحث

با توجه به یافته‌های به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، در اثر تغذیه رت‌ها با روغن حرارت‌دیده، بیان ژن NLRP-3 به‌صورت معناداری افزایش و بیان ژن TRK-β به‌طور معناداری کاهش یافت. در گروه‌های تمرین و مکمل اکتاپامین به‌صورت جداگانه و در حالت ترکیب و تعامل تمرین با مکمل اکتاپامین، کاهش معنادار مقادیر NLRP-3 دیده شد. گروهی که همزمان از مکمل و تمرین استفاده کرده‌بودند، پروتئین TRK-β را به‌طور معناداری افزایش داد. درحالی‌که در گروه‌های B و H تغییرات TRK-β معنادار نبود. طبق مطالعات مختلف، حرارت‌دادن روغن به‌طور مکرر به دلیل تولید ROS موجب افزایش NLRP-3 و آسیب میتوکندری می‌شود (۳) و در صورت مصرف مکرر با تجمع پلاک‌های چربی در عروق اندوتلیال، کاردیومیوپاتی ایجاد می‌کند (۵). از طرفی مواد سمی تولیدشده به‌وسیله روغن سرخ‌شده، تعادل آنتی‌اکسیدان و اکسیدان را برهم می‌زند و همراه با افزایش در رهایش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش در تولید و تضعیف در عملکرد فاکتور تیروزین کیناز و گیرنده آن در سطح سلول می‌شود و هسته سلول را تخریب می‌کند (۱۰). درحالی‌که فعالیت TRK-β گیرنده هدف پروتئین غشاء سلول را فعال می‌کند و باعث مهار مرگ سلول می‌شود (۱۱).

نتایج مطالعه Yung و همکاران که به بررسی شدت‌های تمرینی حاد و متوسط در ساختار و عملکرد قلب موش پرداخته-

اند نشان داد ساختار و عملکرد قلب موش پس از انجام تمرینات با شدت متوسط بهبودیافته و احتمالاً اختلال عملکرد ناشی از دیابت یا اترواسکلروزیس با تعدیل NLRP3 مسیرهای التهابی را در برابر آسیب‌های شدید ناشی از ورزش محافظت می‌کند که این مهم از طریق تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی التهابی مانند TXNIP/TRX/NF-κBp65و NLRP3 اتفاق می‌افتد (۲۸). نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر همسو است و شاید بتوان دلیل این همسویی را به ویژگی‌های تمرین با شدت متوسط نسبت داد که به دلیل تأثیر بر گیرنده آدرنرژیک و راه‌اندازی مسیر متابولیسم سلولی با چرخه کربس[1] (TCA) و انتقال الکترون در فعال‌سازی آنزیم‌های هوازی (۱۷) موجب بهبود در خون و اکسیژن‌رسانی به قلب شده و عملکرد میوسیت را تنظیم می‌کند (۲۹). رادیکال آزاد تولیدشده تعادل متابولیسم سلول میوسیت را بر هم می‌زند و با تولید اینفلامازوم و راه‌اندازی پروتئازوم‌ها در مسیر اتوفاژی، سیگنال‌دهی التهاب و مرگ سلولی را هموار می‌کند (۷). از طرفی مصرف برخی از عصاره‌های گیاهان دارویی مانند اکتاپامین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی لیپوژنیک (۲۱) با تأثیر بر گیرنده‌های بتا آدرنرژیک و افدرین متابولیسم سلول را تنظیم می‌کند (۲۳) و از جهش ژن و تخریب سلول جلوگیری می‌کند (۲۴). در ارتباط با شدت‌های تمرینی متوسط و اثرات آن بر عوامل مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با اینفلازوم‌ها نتایج مطالعه‌ای نشان داد ۱۲ هفته تمرین هوازی با تأثیر بر گیرنده سمپاتیک موجب کاهش بیان ژن آنژیوتانسین نوع۲ Ang-2 و رنین ۱ می‌شود که به‌نوبه خود عملکرد میوسیت را تنظیم می‌کند (۳۰). نتایج مطالعه دیگری در خصوص تأثیر تمرین با شدت متوسط نشان داد ۶ هفته تمرین شنا ژن eNOS و PGC-1α را در بافت عضله قلب افزایش می‌دهد و باعث بهبود بیوژنز میتوکندری می‌شود (۳۱). نتایج مطالعه دیگری نشان داد ۱۲ هفته تمرین تداومی با شدت متوسط، ۵ روز در هفته و ۶۰ دقیقه در روز نسبت BCL-2 به BAX را در بافت قلب رت‌های مبتلا به آترواسکلروز افزایش داده و از آپوپتوز میوسیت پیشگیری می‌کند (۳۲). نتایج مطالعه دیگری نشان داد مصرف اکتاپامین با تأثیر بر گیرنده‌های دوپامینرژیکی، عملکرد استقامتی را افزایش می‌دهد، زیرا با راه‌اندازی آنزیم‌های هوازی موجب شکستن زنجیره چربی‌های آدیپوسایت می‌شود (۳۳) که به‌صورت کلی با مطالعه حاضر همسویی دارد. از نظر مکانیسم اثر این نتیجه می‌توان گفت همان‌طور که عنوان شد، در رابطه با تأثیر تمرین هوازی و مکمل اکتاپامین در جلوگیری از مرگ سلول بافت قلب می‌توان از مکانیسم مشترک احتمالی تأثیر بر گیرنده‌های آدرنرژیک در هر دو مسیر نام برد. همچنین به نظر می‌رسد تمرین تداومی با شدت متوسط و مصرف مکمل اکتاپامین با تنظیم بیان ژن، مرگ سلولی میوسیت را کاهش داده و از کاردیومیوپاتی جلوگیری کند. مصرف اکتاپامین با ترکیب آمین بیوژنیکی بر تنظیم عملکرد قلب مؤثر است (۲۵). از طرفی انجام تمرین منظم با راه‌اندازی کلسیم سیتوزولی و اتصال به گیرنده کالمودولین موجب راه‌اندازی AKT/Mtorc-1 می‌شود (۱۵) و با مصرف گلوکز درون عضلانی موجب راه‌اندازی انسولین و افزایش در عملکرد IGF-1 شده و مسیرهای التهاب سلولی را مهار می‌کند (۱۹). از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم دسترسی به نمونه‌های انسانی و محدودیت دیگر عدم بررسی سایر پروتئین و ژن‌های مداخله‌گر در ایجاد مرگ یا بقای سلول کاردیومیوسیت است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده به مصرف مکمل اکتاپامین با سایر مدل‌های تمرینی و در دوره طولانی‌تر پرداخته شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر احتمالاً تمرین هوازی همراه با مکمل اکتاپامین آثار مخرب روغن‌های حرارت دیده عمیق را بر جهش ژن وابسته به تخریب عضله قلب کاهش داده و موجب بهبود رمودلینگ در میوسیت می‌شود.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل یک طرح تحقیقاتی با کد اخلاق مصوب IR.MUK.REC.1398.242 در معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به تصویب رسید و انجام شد.

تعارض منافع

هیچگونه تعارض منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

[1] Tri Carboxylic Acid

References

1. Saritas T, Floege J. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. Herz. 2020;90(4):1-7.
2. Srivastava S, Singh M, George J, Bhui K, Shukla Y. Genotoxic and carcinogenic risks associated with the consumption of repeatedly boiled sunflower oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2010;58(20):11179-86.
3. Gupta R, Vind SK, Singh SP, Kumar S, Kumar M. The effect of different deep fried vegetable oil on cardiovascular system in rats model. World Journal of Pharmaceutical Research. 2014;3:1130-9.
4. Ekiz E, Oz F. The effects of different frying oils on the formation of heterocyclic aromatic amines in meatballs and the changes in fatty acid compositions of meatballs and frying oils. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2019;99(4):1509-18.
5. Wang L, Sun Y, Asahi M, Otsu K. Acrolein, an environmental toxin, induces cardiomyocyte apoptosis via elevated intracellular calcium and free radicals. Cell Biochemistry and Biophysics. 2011;61(1):131-6.
6. Wang W, Wang C, Gong Y, Zhang X. Inhibition of NLRP1 inflammasome might be a novel therapeutic target in the treatment of peripheral arterial disease. International Journal of Cardiology. 2018;25(6):29-41.
7. Bleda S, de Haro J, Varela C, Esparza L, Ferruelo A, Acin F. NLRP1 inflammasome, and not NLRP3, is the key in the shift to proinflammatory state on endothelial cells in peripheral arterial disease. International Journal of Cardiology. 2014;172(2):e282-4.
8. Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. Science. 1988;241(4861):42-52.
9. Long Q, Yang K, Yang Q. Regulation of mitochondrial ATP synthase in cardiac pathophysiology. American Journal of Cardiovascular Disease. 2015;5(1):19-28.
10. Witz G. Biological interactions of α, β-unsaturated aldehydes. Free Radical Biology and Medicine. 1989;7(3):333-49.
11. Vara JÁF, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. Cancer Treatment Reviews. 2004;30(2):193-204.
12. Greten FR, Karin M. The IKK/NF-κB activation pathway—a target for prevention and treatment of cancer. Cancer Letters. 2004;206(2):193-9.
13. Chavez-Valdez R, Martin LJ, Razdan S, Gauda EB, Northington FJ. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia–ischemia and treatment with necrostatin-1. Neuroscience. 2014;26(10):106-19.
14. Hadiono M, Kushartanti BW, editors. High Intensity Interval Training (HIIT) and Moderate Intensity Training (MIT) Against TNF-α and IL-6 levels In Rats. Sports Sciences and Health. 2019;11(4):109-118.
15. Launay T, Momken I, Carreira S, Mougenot N, Zhou XL, De Koning L, et al. Acceleration-based training: A new mode of training in senescent rats improving performance and left ventricular and muscle functions. Experimental Gerontology. 2017;95:71-6.
16. Zeng Z, Liang J, Wu L, Zhang H, Lv J, Chen N. Exercise-Induced Autophagy Suppresses Sarcopenia Through Akt/mTOR and Akt/FoxO3a Signal Pathways and AMPK-Mediated Mitochondrial Quality Control. Frontiers in Physiology. 2020;11.
17. Xu X, Wan W, Powers AS, Li J, Ji LL, Lao S, et al. Effects of exercise training on cardiac function and myocardial remodeling in post myocardial infarction rats. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2008;44(1):114-22.
18. Little JP, Gillen JB, Percival ME, Safdar A, Tarnopolsky MA, Punthakee Z, et al. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. Journal of Applied Physiology. 2011;111(6):1554-60.
19. Holloway TM, Bloemberg D, Da Silva ML, Simpson JA, Quadrilatero J, Spriet LL. High intensity interval and endurance training have opposing effects on markers of heart failure and cardiac remodeling in hypertensive rats. PloS One. 2015;10(3):e0121138.
20. Ferreira R, Vitorino R, Padrao AI, Espadas G, Mancuso FM, Moreira-Gonçalves D, et al. Lifelong exercise training modulates cardiac mitochondrial phosphoproteome in rats. Journal of Proteome Research. 2014;13(4):2045-55.
21. Peeri M, Azarbayjani MA. The effect of endurance exercise training and octopamine supplementation on nlrp1 inflammasome, pi3k, apoptosis, and histopathological changes in heart tissue of rats poisoned with deep-fried oil. Studies in Medical Sciences. 2020;31(9):667-79. (in Persian)
22. Qu Y, Yang J, Chen S. Synthesis of octopamine derivatives and investigation of their antioxidation

activities. Chinese Journal of Marine Drugs. 2012;3:006.
23. Carpene C, Galitzky J, Fontana E, Atgie C, Lafontan M, Berlan M. Selective activation of β3-adrenoceptors by octopamine: comparative studies in mammalian fat cells. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 1999;359(4):310-21.
24. Farooqui T. Octopamine-mediated neuromodulation of insect senses. Neurochemical Research. 2007;32(9):1511-29. (in Persian)
25. Khalesi M, Mirdar S, Samadi A. Effect of a period of swimming exercise on sirt1 and foxo3a genes expression in lung tissue of wistar rats Journal of Sabzevar University of Medical Sciences. 2018;25(2).73-9. (in Persian)
26. Furrer R, Jaspers RT, Baggerman HL, Bravenboer N, Lips P, De Haan A. Attenuated increase in maximal force of rat medial gastrocnemius muscle after concurrent peak power and endurance training. Biomed Rresearch International. 2013;9(3):15-26.
27. Bour S, Visentin V, Prevot D, Carpene C. Moderate weight-lowering effect of octopamine treatment in obese Zucker rats. Journal of Physiology and Biochemistry. 2003;59(3):175-82.
28. Yi YS, Lee TJ. Complementary and Alternative Therapies Targeting Inflammasomes for Human Diseases. Hindawi; 2020;43(3):11-22
29. Asilah Zadon N, Amirul Farhana M, Farhanim I, Sharifah Izwan T, Appukutty M, Salim N. High-intensity interval training induced PGC-1 proportional, variant and AdipoR1 gene expressions and improved insulin sensitivity in obese individuals. The Medical Journal of Malaysia. 2019;74:461-7.
30. Oliveira Sa G, Santos Neves V, Oliveira Fraga SR, Souza-Mello V, Barbosa-da-Silva S. High-intensity interval training has beneficial effects on cardiac remodeling through local renin-angiotensin system modulation in mice fed high-fat or high-fructose diets. Life Sciences. 2017;189:8-17.
31. Vettor R, Valerio A, Ragni M, Trevellin E, Granzotto M, Olivieri M, et al. Exercise training boosts eNOS-dependent mitochondrial biogenesis in mouse heart: role in adaptation of glucose metabolism. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2014;306(5):E519-E28.
32. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal. 2006;20(6):791-3.
33. Kianmehr P, Azarbayjani MA, Peeri M, Farzanegi P. Synergic effects of exercise training and octopamine on peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1a and uncoupling protein 1 mRNA in heart tissue of rat treated with deep frying oil. Biochemistry and Biophysics Reports. 2020;22:100735. (in Persian)

The effect of 4 weeks of aerobic exercise training and Octapamine supplementation on TRK-β protein and NLRP-3 gene expression in the cardiac muscle of rats fed with deep-fried oil

Received: 27 Jun 2021 Accepted: 11 Sept 2021

Mahboobeh Kazemi [1], Maghsoud Peeri [2*], Mohammad Ali Azarbayjani [2]
1. Ph.D, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran 2. Professor, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Introduction: Cardiovascular disease is the leading cause of death in today's society, the main causes of which are a sedentary lifestyle and the use of high-fat and unbalanced diets. The aim of this study was to determine the effect of 4 weeks of aerobic exercise with octapamine supplementation on NLRP-3 gene expression and TRK-β protein synthesis in the heart muscle of rats fed with deep-fried oil.

Materials and Methods: 30 male Wistar rats weighing 200-250 were randomly divided into 5 groups of 6: health control (CO), deep-fried oil (I), deep-fried oil + aerobic exercise (H), deep-fried oil + octapamine, supplementation (B), and deep-fried oil + octapamine supplementation + aerobic exercise (C). During the research period, 10 ml/kg deep-fried oil was given to the rats via gavage for 4 weeks. 81 mol/kg octapamine was intraperitoneally injected to the supplement groups. The rats in the exercise group also went through moderate intensity training in the first week (50% vo2max) and last week (65% vo2max) with treadmill. One way analysis of variance was used to analyze the data and Bonferroni test was used to determine the difference, using Graph pad prism version 8.

Results: NLRP-3 gene expression was significantly reduced in the exercise group compared to the control group who did not receive any supplements and exercise ($p<0.05$). Octapamine supplementation also decreased NLRP-3 ($p<0.05$). The combination of exercise and supplementation significantly reduced NLRP-3 gene expression compared with the control group ($p<0.05$). Changes in the amount of TRK-β protein in the exercise group did not show a significant difference compared to the control group that did not receive any supplements and exercise ($p>0.05$). In the group that also received octapamine supplementation, compared to the control group, TRK-β values did not change and did not show a significant difference ($p>0.05$). Combining exercise and supplementation significantly increased TRK-β gene expression compared to the exercise group ($p<0.05$).

Conclusion: Aerobic exercise training with octapamine supplementation may reduce the destructive effects of deep-heated oils on the expression of the gene associated with myocardial degradation and improve remodeling in myocytes.

Keywords: Aerobic Exercise Training, Octapamine, Deep Fried Oil, NLRP-3, TRK-β

***Corresponding Author:** Professor, Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Email: m.peeri@iauctb.ac.ir **Tel:** +989131124434 **Fax:** +982122481622