Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

مقاله پژوهشی

فصلنامه علمی – پژوهشی طب مکمل، شماره۴، زمستان ۱۳۹۷

مقایسهٔ آثار کوتاه‌مدت تمرین شنا و مکمّل کورکومین بر بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ کبد موش‌های نر صحرایی پس از تزریق بیش از حد اتانول

حسنیه شجاعی‌منش [۱]، احمد همت‌فر[۲*]، ناصر بهپور [۳]

۱. دانشجوی دکترای فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.
۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، دانشکدهٔ تربیت‌بدنی دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران و گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران.

تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۰۱/۲۶ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۷/۰۸/۰۹

چکیده

مقدمه: هدف این تحقیق، مقایسهٔ آثار کوتاه‌مدت تمرین شنا و مکمّل کورکومین بر بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ کبد موش‌های نر صحرایی پس از تزریق زیاد اتانول بود.

مواد و روش‌ها: چهل‌وهشت سر موش نر صحرایی با سنّ ۱۲ هفته و میانگین وزن ۱۰ ± ۲۴۰ گرم انتخاب شد. هشت موش به‌عنوان گروه کنترل جدا شد. به چهل موش به مدت ۴ روز هر ۸ ساعت یک‌بار، ۷ – ۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن اتانول تزریق شد. شش روز پس از آخرین دوز مصرف اتانول، موش‌ها به‌صورت تصادفی به پنج گروه «اتانول، تمرین، کورکومین، شم، و تمرین + کورکومین» تقسیم شدند. حیوانات گروه تمرین، طی ۲ هفته، هر روز یک جلسه به مدت ۲۰ دقیقه تا ۱ ساعت شنا کردند. به حیوانات دو گروه کورکومین و تمرین + کورکومین طی ۲ هفته روزانه ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، مکمّل کورکومین به شکل داخل صفاقی تزریق شد. به موش‌های گروه اتانول طی دو هفته فقط آب و غذا داده شد و به حیوانات گروه شم، مادهٔ دی‌متیل سولفوکساید (حلّال کورکومین) تزریق شد. در پایان دوره، نمونه‌ها پس از بی‌هوشی کالبدشکافی شدند و بافت کبد آن‌ها برداشته شد. جهت تعیین تغییرات بیان ژنی لامینین و پروکلاژن ۳ از روش Quantitative Real time RT-PCR استفاده شد. داده‌ها با روش آماری تی مستقل، آنووا و آزمون تعقیبی توکی در نرم‌افزار آماری SPSS نسخهٔ ۲۱ تجزیه‌وتحلیل شد. سطح معنی‌داری $p<۵\%$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در گروه اتانول بیان ژن لامینین (p=۰/۰۰۷) و پروکلاژن ۳ (p=۰/۰۰۰۱) افزایش معنی‌دار یافت. بیان ژن لامینین در دو گروه تمرین + کورکومین و کورکومین، نسبت به گروه‌های تمرین، شم و اتانول کاهش معنادار یافت (p=۰/۰۰۰۱). بیان ژن پروکلاژن ۳ فقط پس از تمرین شنا همراه با مصرف کورکومین در مقایسه با گروه‌های تمرین، کورکومین، شم و اتانول کاهش معنادار یافت (p=۰/۰۰۳).

نتیجه‌گیری: تزریق بیش از حد اتانول منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های کبدی لامینین و پروکلاژن ۳ می‌شود. احتمالاً تمرین ورزشی شنا و مصرف مکمّل کورکومین به‌صورت توأمان در کوتاه‌مدت، بیان ژن افزایش‌یافته در اثر تزریق بیش از حد اتانول را مهار می‌کند.

کلیدواژه‌ها: تمرین شنا؛ کورکومین؛ لامینین؛ پروکلاژن ۳؛ مصرف افراطی اتانول.

*نویسنده مسئول: E.mail: ahematfar@yahoo.com

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

مقدمه

در سراسر جهان الگوی نوشیدن الکل تغییر کرده و میزان مصرف آن در اکثر کشورها افزایش یافته است. در دنیا سالانه حدود دو و نیم میلیون نفر در اثر مصرف زیاد الکل و عوارض ناشی از آن جان خود را از دست می‌دهند (۱). در ایران نیز طبق آمارها و شواهد، سوءمصرف الکل غیرقابل‌انکار است. اعتیاد به اتانول نه‌تنها منجر به بحران‌های اجتماعی و خانوادگی می‌شود (۲) بلکه عوارض شدید و بیماری‌زایی برای بدن انسان دارد. سوءمصرف الکل می‌تواند حداقل منجر به ۶۰ بیماری در ارگان‌های مختلف بدن شود که بیشترین مرگ‌ومیر آن مربوط به بیماری‌های کبدی است (۳). زیرا ٪۹۰ از الکل مصرف‌شده، در کبد متابولیزه می‌شود (۴). از طرفی طبق تحقیقات، میزان الکل موجود در خون عروق پورتال کبد بسیار بیشتر از میزان آن در جریان خون سیستمیک است؛ بنابراین در صورت عدم درمان مؤثر، منجر به مسمومیت، فیبروسیس، سرطان کبد و مرگ زودهنگام می‌شود. یکی از مناطق بالقوه که تحت تأثیر سوءمصرف الکل قرار می‌گیرد ماتریکس خارج سلولی کبد است. ماتریکس خارج سلولی، چارچوب کبد نرمال را تشکیل می‌دهد که از ترکیبات متعددی ساخته شده و در تعامل با سلول‌های اطرافش، در تنظیم سیگنال‌ها و عملکرد بافت کبدی نقش مهمی را ایفا می‌کند. ترکیبات ماتریکس مشتمل بر ۳ خانوادهٔ گلیکوپروتئین‌ها (لامینین)، کلاژن‌ها و پروتئوگلیکان‌ها است. منبع اصلی تولید ماتریکس، سلول‌های ستاره‌ای کبد است که جایگاه اصلی آن‌ها در فضای بین هپاتوسیت‌ها، سلول‌های اپیتلیال و مجرای صفراوی است. میزان فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و سنتز ماتریکس خارج سلولی چه ازلحاظ کیفی و چه ازلحاظ کمّی در اثر مصرف افراطی اتانول تغییر می‌کند؛ بنابراین تخریب و تولید نرمال پروتئین‌های موجود در ماتریکس مانند لامینین و پروکلاژن ۳ تحت تأثیر آسیب ناشی از مصرف افراطی الکل قرار می‌گیرد (۵) و منجر به تجمع این مواد در ماتریکس می‌شود. بر اساس پژوهش‌ها در اثر مصرف افراطی الکل، کل محتویات کلاژنی و غیرکلاژنی ماتریکس، در حدود ۳ تا ۸ برابر افزایش می‌یابد (۶). طبق تحقیق پارسیان و همکاران، سطح سرمی لامینین و پروکلاژن ۳ ناشی از مصرف افراطی اتانول در بیماران کبدی نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (۷)؛ لذا از سنجش این پروتئین‌ها به‌عنوان شاخص غیرتهاجمی برای بررسی آسیب‌های کبدی می‌توان استفاده کرد. از طرفی طبق تحقیقات اخیر، توجه بیشتری به تنظیم مولکولی بیان ژن در مراحل اولیهٔ فعال شدن سلول‌های ستاره‌ای معطوف شده است.

شایان‌ذکر است برای درمان التهاب‌های کبدی به‌طورمعمول از داروهای شیمیایی با آثار آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی مانند ویتامین E و کورتیکواستروییدها استفاده می‌شود که علاوه بر آثار درمانی، می‌توانند مشکلاتی را برای فرد ایجاد کنند. به‌طور مثال، مصرف زیاد ویتامین E، ریسک سرطان پروستات را در مردان افزایش می‌دهد (۸). به همین منظور، محققان در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های غیردارویی مانند فعالیت بدنی را برای کاهش آسیب‌های کبدی مطرح کرده‌اند (۹).

نقش حمایتی تمرین مزمن هوازی در برابر آسیب‌های کبدی، کاهش التهاب و فیبروز کبدی در مطالعات قبلی نشان داده شده است (۱۰). فعالیت بدنی منظم به‌عنوان یک عامل محافظتی در برابر بروز و پیشرفت برخی بیماری‌ها شناخته شده است. همچنین می‌تواند آثار مثبتی بر کبد افراد دیابتی چاق، بیماری کبدی کودکان و عملکرد قلبی بیماران با کبد چرب داشته باشد (۱۱). باوجوداین، همهٔ این‌ها تنها بخشی از شرح آثار فعالیت بدنی منظم در برابر انواع مختلف بیماری‌های کبدی را نشان می‌دهد. از سوی دیگر، یکی از مباحث داغ دنیای امروز در حیطهٔ ورزش استفاده از روش‌های کوتاه‌مدت تمرین برای دستیابی به اهداف سلامت است. طبق نتایج مطالعات قبلی، هنوز این پرسش وجود دارد که آیا با طول دورهٔ تمرینی کمتر، می‌توان به بازدهی بیشتری از منظر درمانی برای افرادی که در دورهٔ ترک اتانول به سر می‌برند رسید؟

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

بررسی مطالعات پیشین نشان داد تأثیر تمرینات ورزشی کوتاه‌مدت در برابر آسیب‌های احتمالی بافت کبدی ناشی از مصرف افراطی اتانول مطالعه نشده است. قابل‌ذکر است در سال‌های اخیر، در کنار فعالیت‌های ورزشی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی جهت درمان بیماری‌های مختلف، موردتوجه محققان قرار گرفته است. کورکومین، یک ترکیب پلی‌فنلی و مادهٔ فعال مشتق از ریزوم گیاه زردچوبه (کورکوما لونگا) است که در پژوهش‌های پیشین آثار درمانی آن بر بیماری‌های مزمن و التهابی مانند دیابت، چاقی، آسم، رماتیسم و آلرژی بررسی شده است (۱۲)؛ اما تحقیقات اندکی در مورد اثر این ماده بر آسیب کبدی ناشی از مصرف افراطی اتانول انجام شده است (۱۳). همچنین تحقیقی که اثر توأمان این دو روش بر بیان ژن پروتئین‌های کبد را بررسی کرده باشد یافت نشد.

بنابراین، محققان به دنبال روشی ایده‌آل هستند که به‌راحتی در دسترس باشد، بیماران به‌خوبی آن را تحمل کنند، اثر اختصاصی بالایی روی کبد داشته باشد، عوارض جانبی زیادی نداشته باشد و روش درمانی مؤثری باشد که هضم ماتریکس اضافه را پیش ببرد بدون این‌که آثار مفید ماتریکس خارج سلولی را متوقف کند.

هدف این مطالعه، بررسی آثار تعاملی ۲ هفته تمرین شنا و مصرف مکمّل کورکومین بر بیان ژن پروتئین‌های کبدی موش‌های نر صحرایی پس از تزریق فراوان اتانول است.

مواد و روش‌ها

حیوانات

پژوهش حاضر، تجربی است و جامعهٔ آماری آن، موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران بودند که از میان آن‌ها ۴۸ سر موش حدوداً ۳ ماهه و وزن ۱۰ ± ۲۴۰ گرم به‌عنوان آزمودنی انتخاب شدند. نمونه‌ها در قفس مخصوص جوندگان از جنس PVC با درپوش توری فلزی و کف‌پوشی از تراشه‌های تمیز چوب با دمای ۲±۲۱°C، رطوبت ۴۰ تا ٪۶۰ و چرخهٔ ۱۲ ساعت روشنایی (شروع از ساعت ۷ صبح) و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. ابتدا، ۸ رت به‌عنوان گروه کنترل جدا شدند که تحت هیچ تمرین و یا تیمار خاصی قرار نگرفتند. حیوانات به‌جز در دورهٔ مصرف اتانول، به‌صورت آزاد به غذا و آب دسترسی داشتند. موش‌ها هر روز صبح آب تصفیه‌شدهٔ شهری را در ظرف آبخوری PVC که در دسترسشان قرار می‌گرفت مصرف کردند. غذای آن‌ها، غذای فشردهٔ مخصوص موش‌های صحرایی بود. برای سازگاری با محیط و عادت کردن به شرایط، حداقل تا یک هفته پس از خریداری حیوانات، مداخله‌ای انجام نشد. تمام مداخلات در فاز روشنایی بین ساعت ۹ صبح تا ۱۴ عصر اجرا شد. تلاش شد تا تعداد حیوانات و قربانی شدن آن‌ها به حداقل ممکن برسد. پروتکل تجربی این مطالعه بر مبنای دستورالعمل کمیتهٔ تحقیقات و اخلاق دانشکدهٔ فناوری‌های نوین دانشگاه علوم پزشکی تهران بود که بر اساس راهنمای موسسهٔ ملی بهداشت، مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی با تأکید بر استفاده از حداقل تعداد حیوان و به حداقل رساندن آزار و درد در مراحل مختلف، طراحی و اجرا شد.

مصرف اتانول و چگونگی ترک آن

در طول دورهٔ مصرف اتانول، غذای حیوانات حذف شد؛ زیرا هر گرم اتانول حدوداً ۷ کیلوکالری انرژی تولید می‌کند. اما آب همیشه در دسترس حیوانات بود. اتانول از طریق گاواژ داخل معده تزریق شد. چهل سر موش نر صحرایی با اتانول ٪۲۵ در مکمّل وانیلی شرکت انشور، هر ۸ ساعت یک‌بار به مدت ۴ روز گاواژ شدند (۱۴). این دوز اولیه برای هر حیوان ۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود. دوزهای بعدی اتانول بر اساس مقیاس ۶ نقطه‌ای رفتار وابستگی (۰ = طبیعی، ۱ = کم‌فعالیتی، ۲ = اتاکسی یا عدم تعادل یا ناهماهنگی حرکتی، ۳ = اتاکسی + شکم کشیدن و یا تأخیر در رفلکس ایستادن، ۴ = عدم وجود رفلکس سر پا ایستادن و ۵ = عدم وجود رفلکس پلک زدن چشم) تجویز شد؛ به شکلی که موش‌هایی که مقیاس بالاتری داشتند اتانول کمتری دریافت کردند. بیشترین دوز مصرفی ۷ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز بود

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

(۱۵). پس از دورهٔ ۴ روزهٔ مصرف اتانول و وزن‌کشی، غذا به قفس حیوانات بازگردانده شد و حیوانات به مدت ۶ روز، برای ترک اتانول بدون هیچ مداخله‌ای در داخل قفس‌هایشان قرار گرفتند و از روز هفتم بعد از وزن‌کشی به‌صورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی اتانول، تمرین، کورکومین، شم (حلّال کورکومین) و تمرین + کورکومین قرار گرفتند. موش‌های گروه اتانول پس از ۴ روز مصرف اتانول و ۶ روز ترک آن، به مدت دو هفته فقط آب و غذا دریافت کردند.

تجویز کورکومین

کورکومین موردنیاز از شرکت مرک آلمان تهیه شد. ازآنجاکه این ماده در آب یا نرمال‌سالین قابل‌حل نبود از حلّال دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) با غلظت ٪۱۰ استفاده شد. کورکومین حل‌شده به‌صورت روزانه و داخل صفاقی به حیوانات گروه کورکومین تزریق شد. جهت تزریق از سرنگ انسولین مدرّج استفاده شد. میزان دوز کورکومین ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود (۱۶). از این دوز کورکومین، پس از ترک اتانول استفاده شد و به مدت ۲ هفته ادامه یافت. جهت بررسی تأثیر استرس ناشی از عمل تزریق و تأثیر احتمالی دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان حلّال کورکومین، گروه شم با این ماده تیمار شد.

پروتکل تمرین

شش روز بعد از مصرف آخرین دوز اتانول، از روز هفتم حیوانات گروه تمرین، به مدت ۲ هفته روزانه رأس ساعت ۱۱ تمرین شنا را انجام دادند. برنامهٔ تمرین شنای استقامتی ابتدا ۲۰ دقیقه بود. سپس ۴۰ دقیقه و نهایتاً پس از سه جلسه به یک ساعت رسید. زمان تمرین در جلسات بعدی، یک ساعت در نظر گرفته شد (۱۷). پس از هر جلسه شنا، حیوانات با حوله خشک شدند و به قفس‌هایشان بازگردانده شدند. برنامهٔ تمرینی در استخری با دمای آب ۲۰ تا ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد اجرا شد (۱۸). حیوانات برای سازگاری با شرایط، قبل از شروع دورهٔ تحقیق در آب کم‌عمق قرار گرفتند.

استخراج بافت کبد

برای استخراج بافت کبد، در پایان ۲ هفته و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه و وزن‌کشی، نمونه‌ها با تزریق درون‌صفاقی و ترکیبی از زایلازین (۵-۳ mg/kg w) و کتامین (۵۰-۳۰mg/kg w) بی‌هوش شدند. سپس تحت شرایط استریل، پس از ثابت کردن آن‌ها روی تختهٔ جراحی جوندگان، ناحیهٔ مذکور تراشیده شد. پس از شست‌وشو با محلول بتادین، کالبدشکافی شدند و کبد آن‌ها جدا و خارج شد. بافت موردنظر بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد و تا زمان انجام آزمایش‌های مولکولی در فریز ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

سنجش بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳

تغییرات بیان ژن متغیر های موردنظر با تکنیک Quantitative Real time RT-PCR سنجیده شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپسRNA کل از بافت‌ها استخراج و به cDNA تبدیل شد. cDNA به روش PCR تکثیر و ازنظر بیان ژن‌های مذکور بررسی شد. به این صورت که RNA به‌وسیلهٔ QIAzol Lysis Reagent (کیاژن آلمان) و کلروفرم به روش دستی و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. به همین دلیل بافت کبد جهت استخراج total RNA به نسبت ۱ به ۱۰ در QIAzol Lysis Reagent به روش هاون‌کوبی هموژن شد. برای برداشتن اجزای پروتئینی، محصول در ۴ درجهٔ سانتی‌گراد، به مدت ده دقیقه، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به نسبت ۱ به ۰/۵ با کلروفرم مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه به‌شدت تکان داده شد. محصول، مجدداً سانتریفیوژ شد و بخش معدنی و آبی از هم جدا شد. بخش محتوی RNA برداشته شد و با نسبت ۱ به ۰/۵ با ایزوپروپانول مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رها و سپس سانتریفیوژ شد. Pellet حاوی RNA در اتانول شست‌وشو داده شد. سپس در ۲۰µL آب RNAS-Free حل شد و غلظت RNA سنجیده شد (Eppendorff آلمان). برای سنجش غلظت، نسبت

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

۲۶۰ به ۲۸۰ و بین ۱/۸ تا ۲ به‌عنوان تخلیص مطلوب در نظر گرفته شد. پس از استخراج RNA با خلوص و غلظت بالا، cDNA با استفاده از QuantiTect Reverse Transcription kit (کیاژن آلمان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده سنتز شد. به‌طور خلاصه، ابتدا نمونه‌های RNA به‌منظور حذف DNA ژنومی به مدت ۲ دقیقه در gDNA Wipout buffer در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد از این مرحله، نمونه‌های RNA برای ساخت cDNA آماده شدند. واکنش کلی در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد و سپس یک مرحله انکوباسیون در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد. به دنبال سنتز cDNA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction, PCR) صورت گرفت. نسبت بیان ژن‌ها در این مطالعه با روش مقایسه‌ای چرخهٔ آستانه (Thereshold Cycle:CT) با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ ارزیابی شد (۱۹).

روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

جهت تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو – ویلک و جهت بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. سپس برای بررسی تفاوت هر یک از شاخص‌ها بین گروه‌های مختلف از آزمون تی مستقل و تحلیل واریانس یک‌طرفه و در صورت معنی‌دار بودن، جهت مشخص شدن محل اختلاف از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. کلیهٔ مراحل آماری با نرم‌افزارSPSS نسخهٔ ۲۱ اجرا شد. سطح معنی‌داری $p<۵\%$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار بیان ژن‌های لامینین و پروکلاژن ۳ در بافت کبد گروه‌های مختلف در جدول شمارهٔ ۱ ارائه شده است. نتایج آزمون تی مستقل نشان داد میزان بیان ژن لامینین (p=۰/۰۰۷،T=-۵/۱۸) و پروکلاژن ۳ (p=۰/۰۰۰۱،T=-۹/۵۴) در گروه اتانول نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافت. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه، بیانگر اختلاف معنادار میزان بیان ژن لامینین در گروه‌ها بود (p=۰/۰۰۰۱،F=۶). بر اساس آزمون تعقیبی توکی، میانگین بیان ژن لامینین در دو گروه تمرین شنا + کورکومین و کورکومین در مقایسه با گروه‌های تمرین، شم و اتانول کاهش معنادار یافت؛ اما در بین میانگین ۳ گروه کنترل، تمرین + کورکومین و کورکومین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار شمارهٔ ۱).

نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد در میزان بیان ژن پروکلاژن ۳ بین گروه‌های مختلف، تفاوت معنادار وجود داشت (p=۰/۰۰۳،F=۴/۴۹). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد میانگین بیان ژن پروکلاژن ۳ فقط در گروه تمرین شنا + کورکومین در مقایسه با گروه‌های کورکومین، تمرین، شم و اتانول کاهش معنی‌دار یافت (نمودار شمارهٔ ۲).

بحث

در تحقیق حاضر تأثیر کوتاه‌مدت تمرین شنای استقامتی و مصرف مکمّل کورکومین بر بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ کبدی در موش‌های صحرایی بعد از مصرف افراطی اتانول بررسی شد. بر اساس نتایج، مصرف افراطی اتانول موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ در بافت کبد موش‌ها شد که با نتایج مطالعات قبلی در پژوهش‌های انسانی همسو است (۲۰ و ۲۱ و ۲۲). همسو با این تحقیق، بر اساس یافته‌های ناگی و همکاران ازآنجاکه متابولیسم اتانول ابتدا در کبد رخ می‌دهد در معرض مواد سمّی اتانول قرار می‌گیرد که اثر مهمی بر وضعیت ردوکسی آن خواهد داشت. بر اساس این مطالعه، فشار اکسیداتیو ناشی از مصرف افراطی اتانول موجب تغییر در پروتئین‌های بافت کبد می‌شود و منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنالی خاص، ازجمله فاکتور هسته‌ای کاپای مرتبط با لنفوسیت بی (NF-KB) و اعضای خانوادهٔ پروتئین کیناز فعال‌شده به‌وسیلهٔ میتوژن (ERK1/2، JNK و p38) می‌شود (۵). در مطالعات حیوانی نشان داده شد NF-KB به داخل هسته منتقل می‌شود و از

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

ژن‌های مختلفی رونویسی می‌کند که مهم‌ترین آن‌ها، ژن‌های مربوط به سایتوکاین‌ها و ترکیبات ماتریکس کبد مانند لامینین و پروکلاژن ۳ است (۲۳) و نهایتاً این پاسخ‌های پیچیده، منجر به پیشرفت استئاتوز و التهاب در مراحل اولیهٔ آسیب کبدی ناشی از مصرف افراطی اتانول می‌شود. نتایج تحقیق حاضر با مطالعهٔ پل و همکاران همخوان است؛ آنان اعلام کردند آثار سمّی سوءمصرف اتانول باعث افزایش محتویات ماتریکس خارج سلولی کبد می‌شود. ماتریکس کبد در اثر التهاب ناشی از مصرف افراطی اتانول شروع به بازسازی می‌کند و میزان بیان ژن پروتئین‌هایی مانند پروکلاژن به‌وسیلهٔ سلول‌های ستاره‌ای افزایش می‌یابد، درنتیجه کلاژن در بافت کبد انباشته می‌شود و نهایتاً کبد وارد فاز فیبروز خواهد شد که بر عملکرد آن اثر منفی می‌گذارد. طبق این پژوهش، ماتریکس خارج سلولی به‌واسطهٔ سایتوکاین و کموکاین‌های مختلف در این پاسخ‌ها شرکت می‌کند. فاکتور نکروز تومور آلفا (TNFα) یکی از سایتوکین‌های التهابی مهم است که با ماتریکس خارج سلولی به‌ویژه پروتئین لامینین در ارتباط است؛ زیرا به آن متصل می‌شود و ورود سلول‌های لنفوسیت تی (T cell با مارکر CD4+) را به بافت تسهیل می‌کند (۲۴). در این راستا، فرزانگی و همکاران با مطالعه در مورد التهاب ناشی از مسمومیت کبدی در موش‌ها ثابت کردند فعالیت سلول‌های ستاره‌ای در کبد بیش‌ازحد افزایش می‌یابد. آنان اعلام کردند مواد سمّی همچون اتانول منجر به تغییرات بافتی مانند نکروز، غیرطبیعی شدن هپاتوسیت‌ها، فعال شدن سلول‌های کوپفر و ماکروفاژهای کبدی –که در سینوزوئیدهای کبدی قرار دارند– می‌شوند (۲۵). احتمالاً به دنبال افزایش فعالیت این سلول‌ها، میانجی‌های بسیار سمّی و فعال ازجمله TNFα و اینترلوکین ۱ آزاد می‌شود. این میانجی‌ها می‌توانند بر ترکیبات ماتریکس خارج سلولی مانند میزان بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ اثر بگذارند (۲۶). با جمع‌بندی این مطالب، به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر تزریق بیش از حد اتانول منجر به افزایش فعالیت سلول‌های هپاتوسیتی و کوپفرها و درنتیجه توسعهٔ مواد التهابی (سایتوکاین‌ها) و درنهایت افزایش فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و بیان ژن محتویات ماتریکس خارج سلولی کبد (لامینین و پروکلاژن ۳) شد.

علاوه بر موارد مذکور، نتایج نشان داد مصرف مکمّل کورکومین موجب کاهش معنی‌دار بیان ژن پروتئین لامینین در کبد شد. طبق یافته‌های تحقیق حاضر، میزان بیان ژن پروتئین پروکلاژن ۳ نیز کاهش یافت؛ هرچند معنی‌دار نبود. همسو با نتایج تحقیق حاضر، سالاما و همکاران (۲۷) و شوو و همکاران، تفاوت اثر سه دوز مختلف از مکمّل کورکومین را بر لامینین و بیان ژن پروکلاژن ۳ در آسیب کبدی ناشی از تتراکلرایدکربن در موش‌ها بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد بیان ژن این دو شاخص در اثر مصرف مکمّل کورکومین کاهش معنی‌دار یافت (۲۸). در این رابطه، هوانگ و همکاران با بررسی اثر کورکومین بر مسمومیت کبدی موش‌ها گزارش کردند پس از مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم مکمّل کورکومین، بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس مانند پروکلاژن کاهش یافت. آنان اذعان داشتند کورکومین از طریق کاهش TNFα، فعالیت سلول‌های ستاره‌ی را تا حدی مهار می‌کند و بر روند تولید mRNA پروتئین‌های مذکور اثر می‌گذارد (۲۹). همچنین تحقیقات قبلی نشان داد یکی دیگر از دلایل کاهش بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس کبد در اثر مصرف مکمّل کورکومین، فعال‌سازی گیرنده‌های اختصاصی (PPAR gamma) در غشای هستهٔ سلول‌های ستاره‌ای کبد است که موجب افزایش بیان ژن P53 می‌شود و بر میزان پرولیفراسیون این سلول‌ها و بیان ژن محتویات ماتریکس (لامینین و پروکلاژن ۳) اثر می‌گذارد (۳۰). در چندین مطالعه نیز گزارش شد یکی از شاخص‌های تعیین‌کنندهٔ میزان فعالیت سلول‌های ستاره‌ای، فاکتوری به نام α-SMA(-Alpha Smooth Muscle Actin) است (۳۱). همخوان با نتایج این پژوهش، فوو و همکاران در تحقیق خود ثابت کردند در موش‌هایی با مسمومیت کبدی، مصرف ۲۰۰ تا

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

۴۰۰ میلی‌گرم مکمّل کورکومین سطح شاخص α-SMA را به‌طور معنی‌دار کاهش داد. درنتیجه میزان پرولیفراسیون سلول‌های ستاره‌ای و بیان ژن پروکلاژن‌ها نیز کاهش یافت (۳۲). بر اساس پژوهش‌های فوق می‌توان گفت کورکومین، آسیب‌های پاتولوژیکی ناشی از تزریق بیش از حد اتانول مانند تغییرات بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی را در بافت کبد بهبود می‌بخشد اما به نظر می‌رسد میزان تأثیر مکمّل کورکومین وابسته به دوز است (۲۸).

در گروه تمرین، بیان ژن پروتئین‌های لامینین و پروکلاژن ۳ کاهش یافت؛ اما این کاهش در مقایسه با گروه‌های دیگر معنی‌دار نبود. در تقابل با یافته‌های تحقیق حاضر، لیندن و همکاران اثر تمرین هوازی تردمیل به مدت ۵ روز در هفته و زمان ۲۰ دقیقه تا ۱ ساعت بر پروتئین‌های ماتریکس کبد را بررسی کردند. آنان اذعان داشتند به دنبال تمرین، بیان ژن شاخص α-SMA در ماتریکس کبدی ٪۴۰ تا ٪۵۰ کاهش می‌یابد و به دنبال آن، بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس کبد ٪۲۵ کاهش یافت (۳۳). موافق با نتایج تحقیق آنان، دوستار و همکاران در مطالعات خود اثر تمرین روی تردمیل را بر سلول‌های کوپفر و کلاژن‌ها بررسی کردند و نتیجه گرفتند تمرین توانست از طریق تولید و آزادسازی TGF-β، میزان بیان ژن پروکلاژن را مهار کند و موجب بهبود ضایعات هپاتوپتی شود (۳۴). در این رابطه جئورجاکولی و همکاران اثر تمرین هوازی بر کبد افراد با سوءمصرف اتانول را بررسی کردند. طبق یافته‌های آنان، تمرین هوازی موجب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در کبد می‌شود (۱۲) و افزایش ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش فاکتورهای التهابی و فعالیت سلول‌های ستاره‌ای در کبد خواهد شد (۳۵). این اطلاعات نشان می‌دهد تمرین می‌تواند بر بافت مذکور آثار درمانی داشته باشد و این نقش را از طریق اثر بر فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و کاهش فیبروز کبدی ایفا می‌کند. در تحقیق حاضر نیز، نقش مثبت تمرین بر بیان ژن نشان داده شد اما علت کاهش غیر معنی‌دار بیان ژن، احتمالاً نوع پروتکل تمرینی بود. در این تحقیق، با توجه به زمان و شدت تمرین، پروتکل به‌کاررفته نتوانست اثر معنی‌داری بر بیان ژن فاکتورهای مذکور داشته باشد.

مهم‌ترین یافتهٔ تحقیق حاضر، کاهش معنی‌دار بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ پس از یک دورهٔ کوتاه‌مدت شنا همراه با مکمّل کورکومین بعد از تزریق بیش از حد اتانول بود که حاکی از این است که کاهش بیان ژن‌های مذکور در کوتاه‌مدت، به اثر تعاملی این دو مداخله وابسته است. نتایج پژوهش حاضر، نشان می‌دهد اثر ترکیبی دو مداخلهٔ تمرین و مکمّل کورکومین، مهار بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس را افزایش می‌دهد و به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای تأثیر درمانی یکدیگر بر آسیب کبدی ناشی از تزریق بیش ازحد اتانول (تغییر میزان بیان ژن فاکتورهای مذکور) را تقویت می‌کنند. مطالعات محدودی اثر ترکیبی مکمّل کورکومین با مداخله‌ای دیگر را بر بیان ژن بررسی کرده‌اند. در این خصوص، ژائو و همکاران، اثر ترکیبی مکمّل کورکومین و امودین را بر پروکلاژن‌ها در موش‌هایی با مسمومیت کبدی بررسی کردند. نتایج پاتولوژیکی تحقیق آنان نشان داد ترکیب کورکومین و امودین در مقایسه با مصرف مکمّل کورکومین به‌تنهایی، می‌تواند بیان ژن پروتئین کبد را به‌طور معنی‌دار کاهش دهد (۳۶). بر اساس پژوهش ژانگ و همکاران، در موش‌هایی با مسمومیت کبدی، روش آکوپانکچر همراه با مصرف کورکومین، اثر مولکولی این مکمّل را بر کاهش بیان ژن پروتئین‌های ماتریکس افزایش داد. نتایج پژوهش آنان نشان داد یکی از دلایل تغییر بیان ژن پروتئین‌ها در اثر مداخلات مذکور، کاهش بیان ژن فاکتورهای رشد (PDGF) در سلول‌های کبد بود (۳۷).

نتیجه‌گیری

با توجه به گزارش‌های مطالعات پیشین و نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت تزریق بیش از حد اتانول منجر به افزایش بیان ژن لامینین و پروکلاژن ۳ در ماتریکس بافت کبدی می‌شود. به نظر می‌رسد احتمالاً تمرین

استقامتی شنا و مکمّل کورکومین در کوتاه‌مدت، از طریق کاهش پرولیفراسیون سلول‌های ستاره‌ای بتوانند موجب کاهش میزان بیان ژن پروتئین‌های مذکور شوند؛ اما پیشنهاد می‌شود با تغییر دوز مکمّل و به‌ویژه نوع پروتکل تمرینی، آثار این دو مداخله بر ماتریکس کبد در کوتاه‌مدت بررسی شود. همچنین متغیرهای دیگر مرتبط با ماتریکس کبدی جهت درک بهتر تأثیر تمرین و مصرف مکمّل کورکومین اندازه‌گیری شود.

تشکر و قدردانی

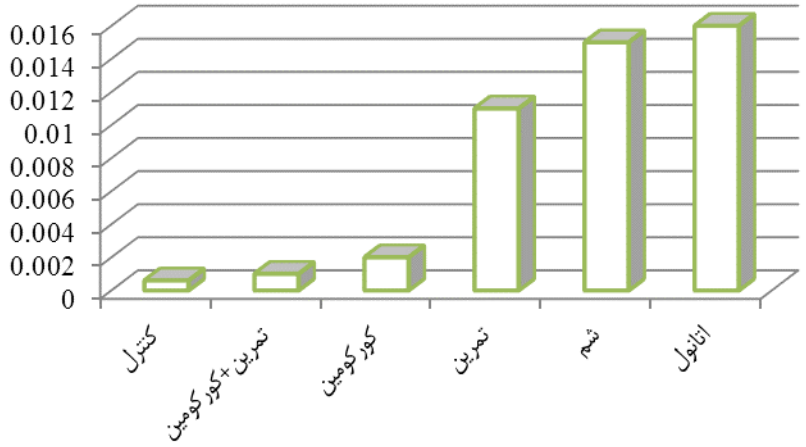
این مقاله برگرفته از رسالهٔ دکتری در رشتهٔ فیزیولوژی ورزشی با عنوان «تأثیر دو هفته شنای استقامتی با مکمّل کورکومین بر فعالیت آنزیمی و بیان ژن پروتئین‌های کبد پس از مصرف زیاد الکل در رت‌های نر ویستار» است که با کد اخلاق و شناسهٔ IR.IAU.B.REC.1396.10 تصویب شد. بدین‌وسیله از استادان گرامی که در انجام این کار پژوهشی همکاری صمیمانه داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

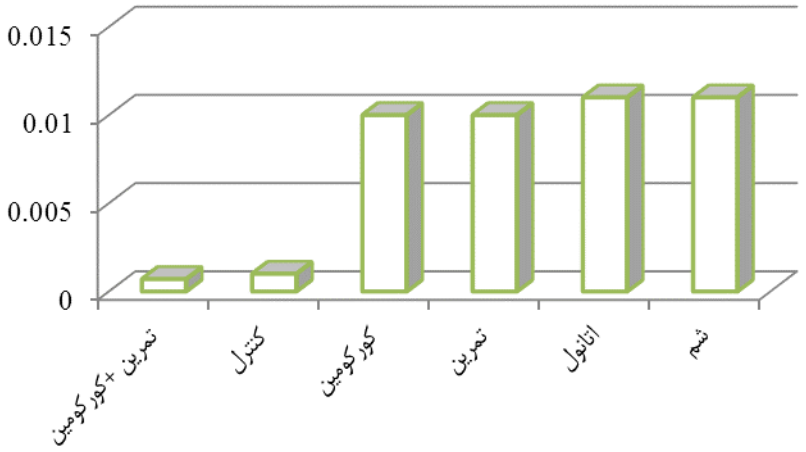
جدول شمارهٔ (۱) میانگین و انحراف معیار بیان ژن‌های لامینین و پروکلاژن ۳ بافت کبد و نتایج آزمون‌ها به تفکیک گروه‌ها

متغیرها	گروه‌ها	Mean±SD	F*	p-value*	مقایسهٔ تعقیبی در ۴ گروه **	p-value**
لامینین	کنترل	۰/۰۰۰۶ ±۰/۰۰۰۱	۶	۰/۰۰۰۱	تمرین + کورکومین با کورکومین	۰/۹۸
	تمرین + کورکومین	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۵			تمرین + کورکومین با تمرین	۲٪
	کورکومین	۰/۰۰۲ ±۰/۰۰۲			تمرین + کورکومین با شم	۰/۰۰۹
	تمرین	۰/۰۱۱ ±۰/۰۰۷			کورکومین با تمرین	۴٪
	شم	۰/۰۱۵ ±۰/۰۱۰			کورکومین با شم	۱٪
	اتانول	۰/۰۱۶ ±۰/۰۰۶			تمرین با شم	۰/۹۶
پروکلاژن ۳	کنترل	۰/۰۰۰۷ ±۰/۰۰۰۶	۴/۴۹	۰/۰۰۳	تمرین + کورکومین با کورکومین	۱۳٪
	تمرین + کورکومین	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۷			تمرین + کورکومین با تمرین	۱۲٪
	کورکومین	۰/۰۱۰ ±۰/۰۰۶			تمرین + کورکومین با شم	۱٪
	تمرین	۰/۰۱۰ ±۰/۰۰۴			کورکومین با تمرین	۱/۰۰
	شم	۰/۰۱۱ ±۰/۰۰۲			کورکومین با شم	۰/۹۹
	اتانول	۰/۰۱۱ ±۰/۰۰۹			تمرین با شم	۱/۰۰

در ٪۵>p معنادار است. *آزمون آنووا ** آزمون تعقیبی توکی



نمودار شمارهٔ (۱) میزان تغییرات بیان ژن لامینین بافت کبد در گروه‌های مختلف



نمودار شماره (۲) میزان تغییرات بیان ژن پروکلاژن ۳ بافت کبد در گروه‌های مختلف

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

References:

1. Dwyer-Lindgren L, Flaxman AD, Ng M, Hansen GM, Murray CJ, Mokdad AH.Drinking patterns in US counties from 2002 to 2012.American journal of public health. 2015 ;105(6):1120-7.
2. Mikaeelzade M.Epidemy and reason of abuse in student in Ardebil. [dissertation]; University of Alame Tabatabaee:2012:55.
3. Jaurigue M, Cappell MS.Therapy for alcoholic liver disease.World J Gastroenterol.2014;20(9) :2143-58.
4. Moon-Sun K, Madeleine O, Xianqin Qu.Optimal manangment for alcoholic liver disease , conventional medication,natural therapy or combination? World J Gastroenterol.2016;22(1):8-23.
5. Nagy LE.Molecular aspects of alcohol metabolism, transcription factors involved in early ethanol-induced liver injury. Annual Review of Nutrition.2004;24:55-78.
6. VanBeek J, De moor M, Geels LM, Sinke M, De Geus E, Lubke G, Kluft C,et al.The association of alcohol intake with gamma-glutamyl transferase levels,evidence for correlated genetic effects. Drug and alcohol dependence.2014;134:99-105.
7. Parsian H, Rahimipour A, Nouri M, Somi MH, Qujeq D. Assessment of liver fibrosis development in chronic hepatitis B patients by serum hyaluronic acid and laminin levels. Acta clinica Croatica. 2010;49(3):257-65.
8. Klein E, Thompson I, Tangen C, Crowley J, Scott M, Goodman PH.Vitamin E and the risk of prostate cancer:updated results of the selenium and vitamin e cancer prevention trial.JAMA. 2011;306(14):1549-56.
9. Malhotra N, Beaton MD. Management of non-alcoholic fatty liver disease in 2015. World journal of hepatology. 2015;7(30):2962.
10. Al-Jiffri O, Al-Sharif FM, El-Kader SM, Ashmawy EM. Weight reduction improves markers of hepatic function and insulin resistance in type-2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver. African health sciences. 2013;13(3):667-72.
11. Nobili V, Manco M, Devito R, Di Ciommo V, Comparcola D, Sartorelli MR,et al. Lifestyle intervention and antioxidant therapy in children with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. Hepatology. 2008;48(1):119-2.
12. Georgakouli K, Manthou E, Fatouros I, Deli CH, Spandidos D, Tsatsakis A, et al.Effects of acute exercise on liver function and blood redox status in heavy drinkers. Experimental and Therapeutic Medicine.2015;10(6):2015-22.
13. Chen N, Geng Q, Zheng J, He S, Huo X, Sun X. Suppression of the TGF-β/Smad signaling pathway and inhibition of hepatic stellate cell proliferation play a role in the hepatoprotective effects of curcumin against alcohol-induced hepatic fibrosis. International journal of molecular medicine. 2014 ;34(4):1110-6
14. Maynard M, Leasure J.Exercise enhances hippocampal recovery following binge ethanol exposure.Plos One.2013;8(9):76644.
15. Majchrowicz E.Induction of physical dependence upon ethanol

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

and the associated behavioral changes in rats. Psychopharmacologia.1975;43(3):245–54.

16. Granados-Castro LF, Rodríguez-Rangel DS, Fernández-Rojas B, León-Contreras JC, Hernández-Pando R, et al. Curcumin prevents paracetamol-induced liver mitochondrial alterations. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;68(2):245-56.
17. Vesali-Akbarpour L, Samavati-Sharif MA.The effect of endurance swimming plus vitamin c supplement on oxidative stress and muscles damage indices in male wistar rats. Avicenna Journal of Medical Biochemistry.2016;4(1):34241.
18. Jefferys D, Funder J. The effect of water temperature on immobility in the forced swimming test in rats. European journal of pharmacology. 1994;253(1-2):91-4.
19. Livak KJ, Schmittgen TD.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative pcr and the 2− δδct method.Methods.2001;25(4):402-8.
20. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. The Journal of clinical investigation. 2005;115(2):209-18.
21. Iredale JP, Thompson A, Henderson NC. Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: biochemistry and regulation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2013;1832(7):876-83.
22. Suh YG, Jeong WI. Hepatic stellate cells and innate immunity in alcoholic liver disease. World Journal of Gastroenterology. 2011;17(20):2543.
23. Liu M, Xu Y, Han X, Yin L, Xu L, Qi Y,et al .Dioscin alleviates alcoholic liver fibrosis by attenuating hepatic stellate cell activation via the tlr4/myd88/nf-κb signaling pathway. Scientific reports.2015;5:18038.
24. Poole LG, Arteel GE. Transitional remodeling of the hepatic extracellular matrix in alcohol-induced liver injury. BioMed Research International. 2016:10.
25. Farzanegi P, Habibian M, Saleh M. Effect of curcumin with exercise on glutation peroxidase and cerlonil protein of kidney in rat expose to lead.Daneshvar.2013;20)102(:63-70.[persian]
26. Szabo G, Mandrekar P. Focus on: alcohol and the liver. Alcohol Research & Health. 2010;33(1-2):87.
27. Salama SM, Abdulla MA, AlRashdi AS, Ismail S, Alkiyumi SS, Golbabapour S. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of Curcuma longa on thioacetamide induced liver cirrhosis in rats. BMC complementary and Alternative medicine. 2013;13(1):56.
28. Shu JC, Wang HL, Ye GR, He YJ, Lu X, Fang L.The study of therapeutic effects of curcumin on hepatic fibrosis and variation of correlated cytokine.Zhong YaoCai : Journal of Chinese medicinal materials.2007;30(11):1421-25.
29. Huang R, Liu Y, Xiong Y, Wu H, Wang G, Sun Z, et al. Curcumin protects against liver fibrosis by attenuating infiltration of Gr1hi

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

monocytes through inhibition of monocyte chemoattractant protein-1. Discovery medicine. 2016;21(118):447-57.

30. Jin H, Lian N, Zhang F, Chen L, Chen Q, Lu C, Bian M, Shao J, Wu L, Zheng S.Activation of pparγ/p53 signaling is required for curcumin to induce hepatic stellate cell senescence. Cell death & disease. 2016;7:2189.
31. Carpino G, Morini S, Ginanni Corradini S, Franchitto A, Merli M, et al. Alpha-sma expression in hepatic stellate cells and quantitative analysis of hepatic fibrosis in cirrhosis and in recurrent chronic hepatitis after liver transplantation. Digestive and Liver Disease.2005;37(5):349-356.
32. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl4-caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. Molecular pharmacology. 2008;73(2):399-409.
33. Linden MA, Sheldon RD, Meers GM, Ortinau LC, Morris EM, Booth FW, et al. Aerobic exercise training in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease related fibrosis. The Journal of physiology. 2016;594(18):5271-84.
34. Doostar Y, Mohamadi M. Mohajeri D, Hashemi M.Role of treadmil exercise on experimental diabetic hepatopathy in rat.Med Sci j islamic azad university.2009;19(1):17-24.[persian]
35. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. International journal of molecular sciences. 2015 Nov;16(11):26087-124.
36. Zhao Zh, Huang Zh.Experimental study on the anti-liver fibrosis effect of curcumin and combination of curcumin and emodin.Lishizhen medicine and material medica research.2009-3.
37. Zhang XP, Zhang F, Zhang ZL, Ma J, Kong DS, Ni GX, et al. Acupuncture combined with curcumin disrupts platelet-derived growth factor β receptor/extracellular signal-regulated kinase signalling and stimulates extracellular matrix degradation in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. Acupuncture in Medicine. 2012;30(4):324-30.

Downloaded from cmja.arakmu.ac.ir at 7:35 +0330 on Sunday January 26th 2020

Original Article

Comparing the Short-Term Effect of Swimming Exercise and that of Curcumin Supplementation on Gene Expression of Laminin and Procollagen 3 in Liver of Male Rats Following Ethanol Abuse

Shojaei Manesh H [1], Hemmatfar A[*2], Behpour N[3]

1.PhD Candidate in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran.
2.Assistant Professor in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran.
3.Associate Professor in Exercise Physiology, Faculty of Physical Education, Razi University, Kermanshah, Iran & Department of Physical Education, Boroujerd Branch, Islamic Azad University, Boroujerd, Iran

Received: 15 April, 2018:Accepted: 31 October, 2018

Abstract

Introduction: This study aimed to compare the short-term effect of swimming exercise and that of curcumin supplementation on gene expression of laminin and procollagen 3 in liver of male rats following ethanol abuse.

Methods: In this study, 48 male Wistar rats aged 12 weeks (weight: 240±10g) were selected, out of which, 8 rats were assigned to a control group and 40 rats received ethanol (5-7mg/kg of rat's weight) through injection every 8 hours for 4 days. Six days after the final ethanol injection, the rats were randomly divided into five groups of ethanol, exercise, curcumin, sham, exercise + curcumin. Endurance-focused swimming training program was conducted every day for two weeks from 20 minutes to 1 hour. There was daily intra-peritoneal injection of curcumin (50 mg/kg of rat's weight) for two weeks. The rats in sham group were injected with curcumin's solvent (dimethylsulfoxide). The ethanol group received water and food for two weeks. At the end of the course, after anesthesia, the animals' liver tissues were removed. Quantitative Real-time RT-PCR was used to determine the changes occurred in laminin and procollagen 3 gene expression. The data were analyzed by Spss 21 through independent T-test, ANOVA and Tukey's post hoc test at the significant level of $p < 5\%$.

Results: Laminin (p=0.007) and procollagen 3(p=0.0001) gene expression significantly increased in the ethanol group. The results show that the expression of laminin was significantly decreased in the training + cucumin and curcumin groups in comparison to the training, sham and ethanol groups (p=0.0001). Also, expression of procollagen 3 was significantly lower in the exercises +curcumin group compared to the training, curcumin, sham and ethanol groups (p=0.003).

Conclusion: According to the findings, ethanol abuse increased expression of laminin and procollagen 3. It seems that short-term exercise and curcumin supplementation inhibit gene expression enhanced by ethanol abuse.

Key words: swimming exercise, curcumin, laminin, procollagen3, ethanol abuse.

*Corresponding author: E.mail: ahematfar@yahoo.com