

## اثر استات سرب، تمرین‌های منظم استقامتی و مکمل کورکومین بر پروتئین شوک گرمایی بافت کبد

مژگان معمار مقدم<sup>۱</sup>، ولی اله دبیدی روشن<sup>۱</sup>، دکتر مهدی هدایتی<sup>۲</sup>

۱) گروه ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، ۲) مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، اوین، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، کدپستی ۴۷۶۳-۱۹۳۹۵، دکتر مهدی هدایتی؛ e-mail: hedayati@endocrine.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** پروتئین‌های شوک گرمایی به عنوان نگهبان سلول عمل می‌کنند. تحریک این پروتئین‌ها به علت شرایط استرس برای فعال‌سازی ماشین حفاظتی سلول ضروری است. مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر، برای بررسی اثر سرب، تمرین منظم استقامتی و مکمل کورکومین بر پروتئین HSP72 بافت کبد، ۴۸ سر موش به صورت تصادفی به دو گروه کنترل (۱) پایه و ۲) شم و چهار گروه تجربی شامل ۳) سرب، ۴) سرب + تمرین استقامتی، ۵) سرب + کورکومین، ۶) سرب + تمرین استقامتی + کورکومین دسته‌بندی شدند. گروه‌های ۳ تا ۶ مقدار ۲۰ میلی‌گرم سرب و گروه‌های ۵ و ۶ علاوه بر سرب مقدار ۳۰ میلی‌گرم کورکومین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته و ۳ روز به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. گروه‌های ۴ و ۶ نیز تمرین دویدن فزاینده را ۵ جلسه در هفته با سرعت ۱۵ تا ۲۲ متر در دقیقه و به مدت ۲۵ تا ۶۴ دقیقه اجرا کردند. مقدار HSP72 در بافت هموزنیزه شده‌ی کبد با روش الایزا اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح  $P > 0.05$  تحلیل شد. یافته‌ها: مقدار HSP72 و مالون‌دی‌آلدهید در گروه سرب به طور معنی‌دار بیشتر از سایر گروه‌ها بود، در حالی‌که سوپراکسیددسموتاز و ظرفیت ضد اکسایشی تام کمتر بود. در مقابل، HSP72 و مالون‌دی‌آلدهید در گروه‌های کورکومین، تمرین استقامتی و هم‌چنین در گروه ترکیبی به طور معنی‌داری از گروه‌های سرب کمتر بود. نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان داد شیوه‌ی زندگی سالم شامل اجرای تمرین‌های هوازی و مکمل ضد اکسایشی ممکن است آثار سودمندی در پیشگیری از آسیب اکسایشی ناشی از سرب داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، پروتئین شوک گرمایی، آسیب اکسایشی، آنتی‌اکسیدانت‌ها، مسمومیت با سرب

دریافت مقاله: ۸۹/۸/۱۰ - دریافت اصلاحیه ۸۹/۹/۱۷ - پذیرش مقاله: ۸۹/۱۰/۴

### مقدمه

شده، بیشتر اثرات حاد و کوتاه مدت قرارگیری در معرض برخی آلاینده‌ها و مواد سمی را بر سطح خونی شاخص‌های متعدد به ویژه فشاراکسایشی در برخی بافت‌های بدن از جمله کبد، مغز، بیضه و کلیه بررسی کرده‌اند،<sup>۲-۷</sup> در حالی‌که متأسفانه باید اعتراف نمود اثرات این فلز سمی و خطرناک به تدریج و در طولانی مدت ظاهر می‌شود. از این‌رو، امروزه توجه زیادی به آلودگی محیط ناشی از سرب و اتخاذ تدبیر

پژوهش‌ها نشان می‌دهد سرب موجود در جهان پیرامون ما یک فاکتور مهم علیه سلامت انسان و حیوانات به شمار می‌رود و حتی مقدار اندک آن هم موجب سمی شدن بافت‌های مختلف بدن می‌گردد، به طوری‌که آن اثرات سو زیادی بر ساختارهای بیوشیمیایی، فیزیولوژی و حتی رفتاری دارد.<sup>۱</sup> پژوهش‌هایی که تاکنون در این زمینه انجام

کبد استفاده شده است.<sup>۵،۲۲</sup> به علاوه، گزارش شده که آن یک پاک‌کننده‌ی قوی گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS)<sup>iv</sup> است و این خاصیت ضد اکسایشی آن بیشتر به واسطه‌ی ظرفیت این ماده در مهار پراکسیداسیون چربی<sup>v</sup> می‌باشد.<sup>۲۱</sup> با توجه به این مورد که کبد به عنوان شاهراه متابولیکی بدن است، به نظر می‌رسد استفاده از این مکمل در کاهش فشار اکسایشی ناشی از سرب در بافت کبد موثر باشد. تاکنون پژوهش‌های زیادی اثر مکمل کورکومین در مهار پراکسیداسیون چربی ناشی از عواملی از قبیل اشعه، کادمیوم، آهن، کروم و یا آرسنیت سدیم را در پلاسما و بافت‌های مختلف از جمله مغز و کبد گزارش کرده‌اند.<sup>۲۳، ۲۴، ۲۷-۲۹</sup> اما با توجه به اثرات غیر قابل انکار سرب بر دستگاه‌های مختلف بدن، اثر سرب بر شاخص‌های مرتبط با آسیب اکسایشی در بافت کبد و به ویژه اثرات تعاملی ورزش منظم و یا مکمل کورکومین بر آسیب اکسایشی کبد مشخص نیست.

۴۸ سر موش صحرایی بالغ نر ۲ ماهه از نژاد ویستار در پژوهش کنونی شرکت داشتند که در محیطی استاندارد نگهداری شدند. پس از انتقال آزمودنی‌ها به آزمایشگاه و آشنایی با محیط جدید، به صورت تصادفی به دو گروه کنترل یعنی گروه‌های پایه و شام<sup>vi</sup> (اتیل اولئات)، و چهار گروه تجربی شامل گروه‌های سرب، کورکومین، تمرین استقامتی و گروه ترکیبی کورکومین و تمرین استقامتی دسته‌بندی شدند (هر گروه شامل ۸ سر موش). گروه پایه برای بررسی شاخص‌های مورد نظر پژوهش در غیاب هرگونه مداخله بررسی شد، در حالی که با توجه به اثر احتمالی القای داخل صفاقی سرنگ بر فشار اکسایشی و در نتیجه بر یافته‌های پژوهش، از گروه دیگری موسوم به شام نیز به عنوان گروه کنترل استفاده شد. از این‌رو، همزمان با تزریق استات سرب به گروه‌های مورد اشاره، به گروه شام نیز ۳۰ میلی‌گرم حلال کورکومین (اتیل اولئات) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی سه روز در هفته و به مدت ۸ هفته تزریق شد.<sup>۸</sup> از سوی دیگر، سایر گروه‌ها در دوره‌ی پژوهش با توجه به برنامه‌های زیر در معرض متغیرهایی مانند سرب، تمرین، مکمل و ترکیبی از این عوامل قرار گرفتند.

پیشگیرانه از پیامدهای قرار گیری مزمن در معرض سرب می‌شود.

یکی از مشخص‌ترین پاسخ‌های سلولی برای مقابله با آسیب اکسایشی ناشی از هرگونه استرس از قبیل استرس ناشی از عوامل سمی، افزایش سریع در سنتز یک گروه از پروتئین‌ها معروف به پروتئین‌های استرسی یا پروتئین‌های شوک گرمایی (HSP)<sup>i</sup> است.<sup>۸</sup> پروتئین‌های شوک گرمایی که به عنوان نگهبان داخل سلولی در همه موجودات زنده یافت می‌شوند، با توجه به وزن ملکولی و عملکرد دسته‌بندی می‌شوند.<sup>۹</sup> HSP72، پروتئین ۷۰ کیلودالتونی این خانواده است که در پاسخ به محرک‌های مختلفی از جمله استرس‌ها و ضربه‌های مکانیکی<sup>۱۰، ۱۱</sup> و تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب اکسایشی<sup>۹</sup> آزاد می‌شوند. برخی پژوهشگران اثرات حاد و مزمن استرس ورزشی بر HSP72 را در گونه‌های حیوانی<sup>۱۲</sup> و انسانی<sup>۱۳-۱۵</sup> بررسی و افزایش این شاخص را گزارش نمودند. به علاوه، برخی پژوهشگران تاثیر افزایش شدت و مدت ورزش را بر افزایش HSP72 گزارش کردند.<sup>۱۶-۱۷، ۱۲، ۱۳</sup> با وجود این، اثر فعالیت منظم استقامتی در حضور عوامل سمی از قبیل سرب بر مقدار HSP72 بافت کبد تاکنون در هیچ پژوهشی بررسی نشده است. بنابراین با توجه به یافته‌های برخی پژوهش‌ها، که آسیب اکسایشی را به دنبال قرارگیری در معرض برخی عوامل مضر سمی از قبیل اشعه، کادمیوم و کروم، گزارش کرده‌اند،<sup>۱۸، ۲۴، ۲۶</sup> و یافته‌های پژوهش‌هایی که نشان داده‌اند HSP72 از آسیب سلولی جلوگیری می‌کند،<sup>۱۹، ۲۰، ۱۵</sup> به نظر می‌رسد اثر تمرین ورزشی بر آسیب اکسایشی ناشی از سرب بر تغییر مقدار HSP72 به گونه‌ی بهتری می‌تواند اثرات پیشگیرانه ورزش منظم در حضور عوامل سمی را در دسترس قرار دهد.

از سوی دیگر، برخلاف اثربخشی برخی داروها در کنترل استرس و التهاب ناشی از آن، گزارش‌هایی نیز در مورد عوارض جانبی و ناگوار متعددی از قبیل مشکلات گوارشی رایج شده است.<sup>۲۱</sup> به این دلیل امروزه بازگشت به استفاده از گیاهان دارویی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. کورکومین<sup>ii</sup> با نام علمی کورکوما لونگا<sup>iii</sup> از دیرباز در طب سنتی کاربردهای فراوانی داشته و از آن برای تصفیه‌ی خون، هضم غذا، کلسترول بالا، شرایط التهابی و حفاظت از

iv - Reactive oxygen species

v - Lipid peroxidation

vi - Sham-operate

i - Heat shock protein

ii - Curcumin

iii - Curcuma longa

شود. برای سنجش مقدار HSP72 در بافت هموژنیزه شده‌ی کبد، از روش الیزا استفاده گردید. (Rat HSP72 ELISA kit, Cusabio Biotech Co Ltd, Wuhan, China). برای ردیابی اثر سرب در ایجاد فشار اکسایشی بافت کبد، سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، از روش تیوباربیتوریک اسید (TBARS) استفاده شد (TBARS kit, Cayman Chemical Co, Michigan, USA). از سوی دیگر برای ردیابی تاثیر مکرر کورکومین بر آنتی‌اکسیدان بافت کبد از سوپراکسید دسموتاز (SOD)، به روشی که توسط آیدین و همکاران<sup>۲۵</sup> گزارش شد، استفاده گردید. همچنین ظرفیت ضداکسایشی تام (TAC) خون نیز با روش سنجی (TAC kit, Cayman Chemical Co, Michigan, USA) اندازه‌گیری شد. به علاوه، برای سنجش مقدار سرب خون از روش جذب اتمی استفاده کردند. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح  $P \leq 0.05$  برای بررسی تغییر HSP72 و شاخص‌های کنترلی پژوهش یعنی MDA، SOD و TAC مورد استفاده قرار گرفت.

### یافته‌ها

نمودارهای ۱ و ۳ به ترتیب تغییر پروتئین شوک گرمایی (HSP72) و سوپراکسید دسموتاز (SOD) بافت کبد و نمودارهای ۲ و ۴ به ترتیب مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و ظرفیت ضداکسایشی تام (TAC) خون گروه‌های مختلف موش صحرائی در معرض استات سرب را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نمودارهای ۱ و ۲ نیز نشان داده شد، القای سرب در مدت ۸ هفته موجب افزایش مقدار MDA در سرم شد که این افزایش با افزایش مشابهی در مقدار HSP72 همراه بوده است. یافته‌های آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین سطح این شاخص‌ها در گروه‌های مختلف در پژوهش حاضر وجود دارد ( $P < 0.001$ ). همچنین شاخص وزن در هر یک از گروه‌های مورد بررسی بدین صورت بود: گروه پایه  $30 \pm 324$ ، گروه شم  $42 \pm 320$ ، گروه سرب  $17 \pm 309$ ، گروه سرب+کورکومین  $54 \pm 323$ ، گروه سرب+تمرین  $25 \pm 329$  و گروه سرب+تمرین+کورکومین  $43 \pm 342$ . بررسی تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی نشان داد تزریق سرب موجب افزایش معنی‌دار سطح MDA و HSP72 در گروه سرب در مقایسه با دیگر گروه‌های تجربی (گروه تمرین + سرب، کورکومین+ سرب و گروه ترکیبی) شده -

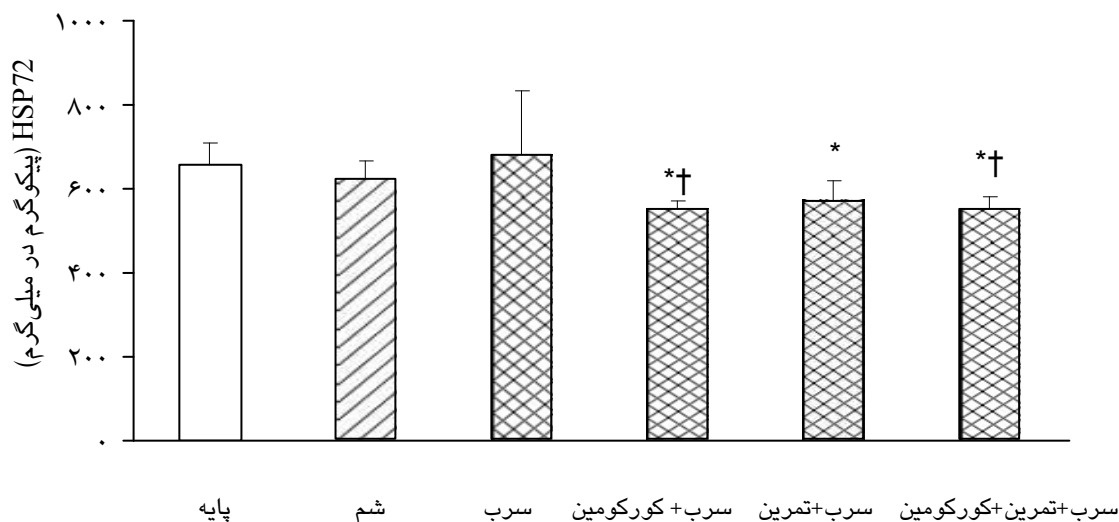
برای تهیه‌ی محلول کورکومین نیز ابتدا یک گرم از پودر کورکومین ساخت شرکت سیگمای آلمان را با ترازو وزن کرده و در یک ظرف درجه‌بندی شده قرار داده شد. سپس ۱ سی‌سی الکل خالص به آن اضافه کرده و در ادامه با حلال کورکومین (اتیل اولیت) حجم آن به ۱۰۰ سی‌سی رقیق شد. به علاوه، برای تهیه‌ی محلول سرب نیز ابتدا ۲ گرم از استات سرب را با ترازوی با حساسیت ۰/۰۰۱ وزن کرده و در یک ظرف درجه‌بندی شده، قرار داده و سپس حجم محلول با آب مقطر به تدریج تا ۱۰۰ سی‌سی رقیق شد. با توجه به یافته‌های پژوهش دانیل و همکاران که تاثیر دوزهای مختلف استات سرب را بر ایجاد استرس در موش‌های صحرائی بررسی کردند و تاثیر دوز ۲۰ میلی‌گرم را در ایجاد فشار اکسایشی نشان دادند،<sup>۲۶</sup> در این پژوهش نیز ۲۰ میلی‌گرم محلول استات سرب به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی سه روز در هفته و به مدت ۸ هفته به تمام گروه‌ها (به جز گروه پایه و شم) تزریق شد. برنامه‌ی تزریق سرب و همچنین حلال کورکومین (اتیل اولئات) به مدت ۸ هفته و هفته‌ای سه جلسه اجرا شد.

آزمودنی‌ها ابتدا به مدت یک هفته با نحوه‌ی انجام فعالیت روی نوارگردان آشنا شدند. برنامه‌ی تمرین برای گروه تمرینی و گروه ترکیبی تمرین و کورکومین عبارت است از دویدن روی نوار گردان بدون شیب ویژه‌ی جوندگان بود. این برنامه بر اصل اضافه بار به گونه‌ای به صورت پیش رونده اعمال شد که در آن سرعت و مدت در اولین جلسه به ترتیب ۱۵ متر دقیقه و ۲۵ دقیقه بوده و به تدریج سرعت هفته‌ای یک متر در دقیقه و مدت نیز روزانه یک دقیقه افزایش یافت، به طوری که سرعت در آخرین جلسه به ۲۲ متر در دقیقه و مدت نیز به ۶۴ دقیقه رسیده است. این برنامه‌ی تمرینی با توجه به هزینه‌ی اکسیژن طراحی شد که با شدت ۵۰ تا ۷۵٪ بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی به اجرا در آمد.<sup>۲۴</sup> این برنامه به مدت ۸ هفته و هر هفته نیز در ۵ جلسه اجرا شد.

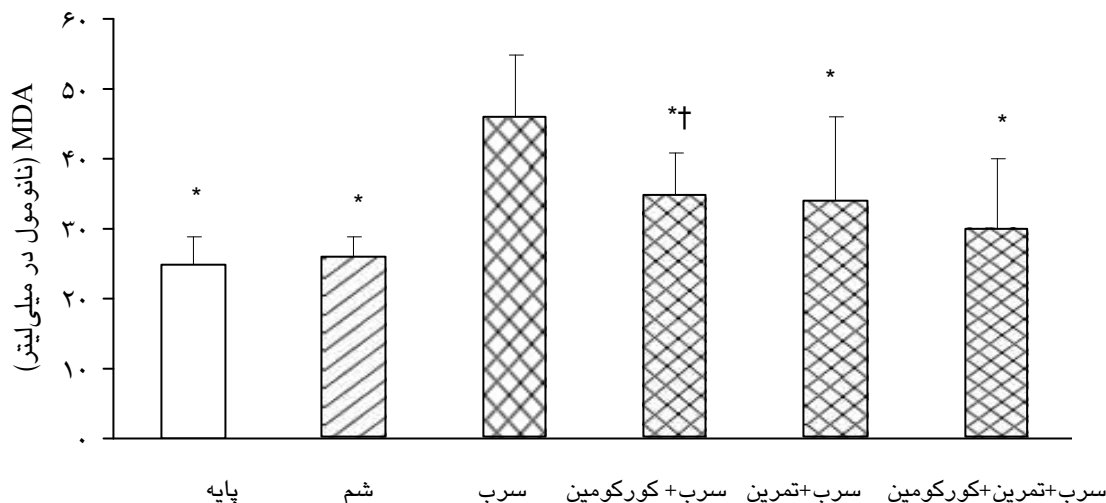
تمام گروه‌ها در شرایط استراحتی یعنی کمینه‌ی ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه‌ی تمرین، یا تزریق استات سرب و یا حلال کورکومین و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه کشته شدند. برای این منظور ابتدا، آزمودنی‌ها با تزریق ۳ واحد محلول کتامین و زایلازین با نسبت ۵ به ۲ بی‌هوش و کشته شدند و سپس کبد از ناحیه ناف جدا شد و به سرعت در مایع نیتروژن قرار داده شد تا پس از هموژنیزاسیون برای اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر در پژوهش استفاده

شد. به علاوه، تفاوت معنی‌داری در مقدار MDA و HSP72 بین گروه‌های تمرین استقامتی، مکمل کورکومین و گروه ترکیبی مشاهده نشد.

است. این درحالی بود که مکمل‌گیری ۸ هفته‌ای کورکومین و ۸ هفته تمرین هوازی و همچنین ترکیبی از تمرین و کورکومین (در شرایطی که همزمان سرب نیز القا شده بود) موجب مهار افزایش این شاخص‌ها در مقایسه با گروه سرب



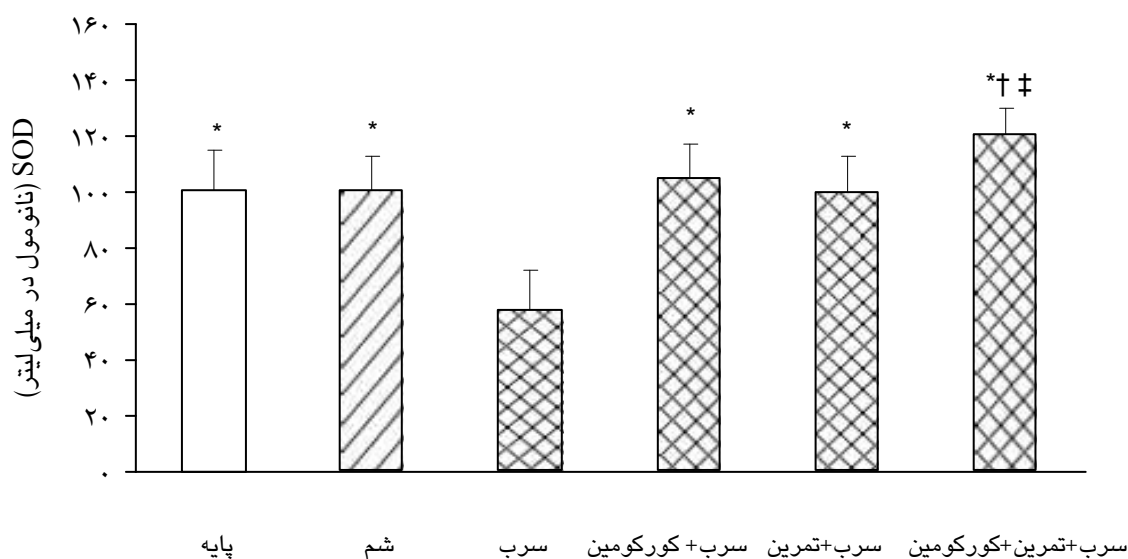
نمودار ۱- تغییر مقدار پروتئین شوک گرمایی (HSP72) در گروه‌های مختلف پژوهش. \* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه سرب دیده شد. † تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه پایه دیده شد.



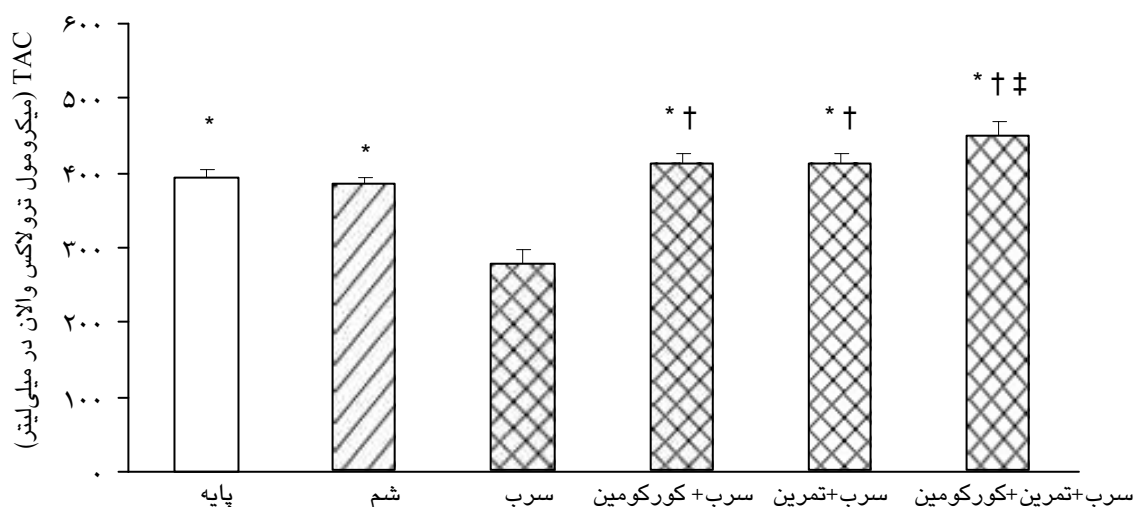
نمودار ۲- تغییر مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در گروه‌های مختلف پژوهش. \* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه سرب دیده شد. † تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه پایه دیده شد.

همچنین بافت کبد شد، در حالی که ترکیب کورکومین و تمرین استقامتی نه تنها موجب مهار کاهش شاخص‌های ضداکسایشی گردید، بلکه سبب بهبود این شاخص‌ها نیز شد که این افزایش در مقایسه با دو روش درمانی دیگر (هریک از روش‌های تمرین استقامتی و مکمل کورکومین به صورت مجزا) نیز معنی‌دار بود.

در مقابل، داده‌های نمودارهای ۳ و ۴ نشان می‌دهد قرارگیری مزمن در معرض استات سرب موجب کاهش معنی‌دار سطح SOD بافت کبد و TAC خون در گروه سرب در مقایسه با سایر گروه‌ها شده است ( $P < 0.001$ )، به گونه‌ای که اجرای ۸ هفته تمرین استقامتی و یا مکمل کورکومین فقط موجب جلوگیری از کاهش مقدار این شاخص‌ها در خون و



نمودار ۳- تغییر مقدار سوپراکسید دسموتاز (SOD) در گروه‌های مختلف پژوهش. \* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه سرب دیده شد. † تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه پایه دیده شد. ‡ تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه‌های تمرین و یا کورکومین دیده شد.



نمودار ۴- تغییر مقدار ظرفیت ضدآکسایشی تام (TAC) در گروه‌های مختلف پژوهش. \* تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه سرب دیده شد. † نشانه معنی‌داری نسبت به گروه پایه دیده شد. ‡ تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه‌های تمرین و یا کورکومین دیده شد.

در گروه سرب نسبت به سطح پایه شد. به علاوه، افزایش معنی‌دار سطح HSP72 بافت کبد در گروه سرب در مقایسه با گروه‌های پایه و شم (اتیل اولئات یا حلال کورکومین) مشاهده شد و این افزایش سطح HSP72 با افزایش مالوندی آلدئید (MDA) بافت کبد و کاهش مقدار سوپراکسید

## بحث

در پژوهش کنونی مشخص گردید تزریق داخل صفاقی ۲۰ میلی گرم محلول استات سرب به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته سبب افزایش معنی‌دار مقدار سرب خون

تمرین در هفته‌ی پایانی ۲۲ متر در دقیقه بود که این سرعت معادل ۷۵٪ بیشینه‌ی اکسیژن مصرفی بوده است). در تایید این مورد، پژوهشگران دیگری نیز اثر تمرین با شدت متوسط تا زیاد را در افزایش HSP عضلانی نشان داده‌اند.<sup>۱۷</sup> HSP72 به عنوان نگهبان سلولی می‌باشد و تحریک آن در اثر شرایط استرسی، برای فعال‌سازی ماشین حفاظتی سلول ضروری است.<sup>۱۸</sup> به علاوه، اگرچه هامیلتون و همکاران گزارش کردند اجرای تمرین کوتاه مدت می‌تواند موجب بهبود تحمل بدن به پدیده‌ی ایسکمی - ریزش مجدد جریان بدون افزایش HSPs شود،<sup>۱۷</sup> اما یافته‌ی پژوهش حاضر نشان داد که مقدار شاخص فشار اکسایشی (MDA) در گروه تمرین استقامتی اندکی بالاتر از گروه کورکومین و یا گروه ترکیبی و کمتر از گروه سرب بوده است. این موضوع به احتمال زیاد با مدت بافت برداری پس از آخرین جلسه تمرینی (۲۴ ساعت)، تاثیر شدت و مدت تمرین در جلسه‌های پایانی (سرعت ۲۲ متر در دقیقه و مدت ۶۴ دقیقه) و عدم بازیافت کافی برای رسیدن به سطح استراحتی پایه مرتبط است. اگرچه انجام پژوهش‌های بیشتر برای تایید احتمالی این دیدگاه ضروری به نظر می‌رسد، اما باید اعتراف نمود یکی از محدودیت‌های پژوهش کنونی عدم وجود بررسی‌های مرتبط با پژوهش حاضر برای مقایسه‌ی دقیق یافته‌های پژوهشی می‌باشد.

برخی پژوهشگران تغییر HSPs در اثر مواد ضداکسایشی و یا فعالیت بدنی در بافت‌های بدن را با نیتریک اکساید (NO) مرتبط می‌دانند. NO فرایندهای فیزیولوژی را به طور تقریبی در تمام اندام‌ها و بافت‌ها مورد تاثیر قرار می‌دهد.<sup>۱۸</sup> گزارش‌ها حاکی از آن است ایزوفریم تحریک‌پذیر آن (NOS) نه تنها به صورت مستقیم در آسیب بافتی شرکت دارد، بلکه پاسخ التهابی را نیز تحریک می‌کند.<sup>۱۸</sup> اگرچه در پژوهش حاضر NOS اندازه‌گیری نشد، اما بررسی پاسخ‌های التهابی حاکی از افزایش معنی‌دار مقدار Hs-CRP به عنوان شاخص حساس التهاب عروقی در گروه سرب، در مقایسه با گروه‌های تجربی می‌باشد (داده‌ها گزارش نشده است). از سوی دیگر، پژوهشگران گزارش دادند که تولید NO در اثر استرس در سلول‌های در معرض استرس به وسیله‌ی واکنش شوک گرمایی کاهش داده می‌شود.<sup>۱۹</sup> از این رو به نظر می‌رسد HSP70 و دیگر پروتئین‌های شوک گرمایی ممکن است نقش مهمی را در مهار تولید NOS و در

دسموتاز (SOD) بافت کبد و کاهش مقدار ظرفیت ضداکسایشی تام خون (TAC) در گروه سرب، در مقایسه با گروه‌های پایه و شم همراه بود. از سوی دیگر، اگرچه اجرای ۸ هفته تمرین استقامتی و یا دریافت مکمل گیاهی کورکومین موجب کاهش استرس ناشی از القای سرب شد، اما موجب مهار کامل آن نشد. با وجود این مورد، ترکیب تمرین و مکمل کورکومین موجب مهار آسیب اکسایشی بافت کبد ناشی از تزریق داخل صفاقی سرب - که با تغییرات سطح HSP72، MDA و SOD بافت کبد نشان داده شد - گردید. شواهد رو به رشدی نشان می‌دهند فلزاتی مانند سرب از راه تولید گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) می‌توانند موجب پراکسیداسیون چربی، آسیب به DNA و تخلیه‌ی دفاع ضداکسایشی بدن شوند.<sup>۱</sup> به علاوه، پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد تحریک ROS توسط سرب و تخلیه‌ی بعدی دفاع ضداکسایشی سلول می‌تواند منجر به اختلال در تعادل اکسایشی/ضداکسایشی در بافت‌های در معرض سرب شود.<sup>۲۶</sup> به همین دلیل در پژوهش کنونی تاثیر مکمل ضداکسایشی کورکومین بر تغییرات ناشی از سرب در شاخص‌های مرتبط با آسیب اکسایشی بررسی شد. یافته‌های پژوهش کنونی نشان داد که القای کورکومین موجب افزایش مقدار SOD و کاهش مقدار MDA در آزمودنی‌هایی شد که به طور همزمان در معرض استات سرب نیز قرار داشتند و در همین راستا، مقدار HSP72 در این گروه (کورکومین+ سرب) از گروه سرب کمتر بوده است. این یافته حاکی از آن است که کورکومین موجب افزایش مولکول‌های فعال‌کننده‌ی ضداکسایشی در کبد به هنگام قرارگیری مزمن در معرض سرب و به احتمال زیاد تخفیف نشت نوتروفیل و آسیب ناشی از ROS در کبد شده است.

یافته‌ی دیگری که در پژوهش حاضر به دست آمد، تاثیر تمرین استقامتی در مقایسه‌ی کورکومین بر تغییرات شاخص‌های مرتبط با آسیب اکسایشی بافت کبد است، به گونه‌ای که به طور قابل توجهی میزان کاهش سطح HSP72 در گروه تمرین استقامتی اندکی بیشتر از گروه مکمل کورکومین بوده که به احتمال زیاد می‌تواند با استرس ناشی از فعالیت ورزشی و همچنین مدت نمونه‌گیری بافتی پس از آخرین جلسه‌ی تمرینی مرتبط باشد. همان‌گونه که پیش تر نیز اشاره شد، در پژوهش کنونی از تمرین‌هایی با شدت متوسط استفاده گردید که این تمرین‌ها به ویژه در هفته‌های پایانی به مرز تمرین با شدت بالا نزدیک شده‌اند (سرعت

منجر به آسیب بافتی می‌شود. لیپید پراکسیداز (LPO) <sup>iii</sup> به عنوان یک شاخص مهم برای تعیین میزان آسیب که با بررسی غلظت MDA اندازه‌گیری می‌شود نیز منجر به اختلال ساختاری و عملکردی و سرانجام مرگ سلولی می‌شود. <sup>۲۱</sup> از این‌رو، به نظر می‌رسد تحریک HSP72 یک سازوکار مهم کورکومین و یا فعالیت ورزشی در برابر آسیب اکسایشی کبد در موش‌های در معرض سرب به شمار می‌رود.

به طور خلاصه، در پژوهش حاضر مشخص شد قرارگیری بلند مدت در معرض استات سرب موجب افزایش فشار اکسایشی و کاهش مدافعان ضد اکسایشی بافت کبد شده و در پیش گرفتن شیوه‌ی زندگی سالم، شامل انجام فعالیت منظم هوازی و یا مصرف مواد ضد اکسایشی مانند کورکومین به ویژه ترکیبی از دو روش می‌تواند به بهبود وضعیت ضد اکسایشی بدن و کاهش وضعیت اکسایشی بافت کبد به هنگام قرارگیری در معرض سرب کمک نماید. این یافته‌ها نشان می‌دهد قرارگیری در معرض سرب ممکن است یک عامل خطر برای دستگاه ضد اکسایشی بدن باشد. در پژوهش کنونی اثر ۸ هفته قرارگیری مداوم در معرض آلایندگی موسوم به استات سرب بر شاخص‌های مرتبط با آسیب اکسایشی بافت کبد بررسی شد، اما با توجه نقش قابل توجه HSP72 در حفاظت سلول در برابر عوامل مختلف استرس‌زا، به نظر می‌رسد مقایسه‌ی کارکرد این شاخص در بافت‌های مختلف به ویژه در قلب و مغز هر دو جنس می‌تواند بخشی از سازوکارهای درگیر در بیماری‌های قلبی و یا زوال عقل را مشخص نماید.

سپاسگزاری: این مقاله استخراج شده از طرح پژوهشی که با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله املی انجام شده است. نویسندگان بدین‌وسیله تشکر و قدردانی خود را از آزمودنی‌های این تحقیق که با اشتیاق و به صورت داوطلب شرکت نموده‌اند اعلام می‌دارند.

i- Expression

ii- Ischemia-reperfusion

iii- Lipid peroxides

## References

1. Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 927-45.

نتیجه مهار آسیب اکسایشی در بافت کبد ایجاد نماید. بیان<sup>۱</sup> بیش از حد HSP70 می‌تواند باعث حفاظت سلول‌ها در برابر آسیب ناشی از فشار اکسایشی شود.<sup>۲۸</sup> در پژوهش حاضر نیز افزایش مقدار HSP72 در بافت کبد به دنبال القای سرب و ایجاد فشار اکسایشی که با MDA نشان داده شد، مشاهده گردیده است. در مقایسه با گروه سرب، مقدار HSP72 در گروه‌های کورکومین، تمرین ورزشی و گروه ترکیبی از این دو عامل درمانی کمتر بوده است. به علاوه، در مقایسه با گروه سرب، مقدار MDA در گروه‌های تجربی کمتر و در مقابل، مقدار SOD در این گروه‌ها بیشتر بوده است. یافته‌ی اخیر نشان‌دهنده‌ی تاثیر تغییر در شیوه زندگی از جمله اجرای فعالیت منظم بدنی و تغذیه‌ی ضد اکسایشی بر سرکوب اثرات منفی ناشی از قرارگیری در معرض آلایندگی‌هایی از قبیل سرب بر آسیب اکسایشی ناشی از سرب و اثر زیانبار آن است. پژوهش‌های قبلی نیز نشان دادند درمان با کورکومین موجب تخفیف وسعت آسیب کبدی، مهار مرگ سلولی و مهار فعالیت NOS به دنبال فشار اکسایشی ناشی از فرایند ایسکمی-ریزش مجدد<sup>۱۱</sup> جریان خون (I/R) شده و کاهش HSP70 پس از دریافت مکمل کورکومین از راه کاهش مرگ سلولی و کاهش فعالیت NoS می‌تواند موجب حفاظت کبد در برابر آسیب اکسایشی شود.<sup>۲۰</sup> این موضوع به طور کامل مشخص شده که بیان بیش از حد HSP70 می‌تواند موجب بهبود آسیب‌های مرتبط با فشار اکسایشی ناشی از I/R، مرگ سلولی (آپوپتوزیس) ناشی از استرس و اثرات سمی مواد مختلف شود، به گونه‌ای که شن و همکاران<sup>۲۰</sup> اظهار داشته‌اند که بیان بیش از حد HSP70 در اثر I/R و یا محرک‌های استرس‌زای دیگر موجب ترمیم آسیب بافتی و بهبود مقاومت در برابر عوامل محرک می‌شود. در همین راستا، راثون و همکاران<sup>۲۱</sup> گزارش نمودند تولید رادیکال‌های آزاد پس از I/R نقش مهمی در آسیب بافتی ایفا می‌کند و در آسیب اکسایشی به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها نیز شرکت دارد. واکنش‌های رادیکال‌های آزاد با ملکول‌های زیستی از قبیل واکنش‌های زنجیره لیپیدی

2. Fatma M, El-Demerdash, Mokhtar I, Yousef and Fatma ME Radwan. Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47: 249-54.

3. Eybl V, Kotyzova D, Koutensky J. Comparative study of natural antioxidants – curcumin, resveratrol and mela-

- tonin – in cadmium-induced oxidative damage in mice. *Toxicology* 2006; 225: 150-6.
4. Eybl V, Kotyzová D, Bludovská M. The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicol Lett* 2004; 151: 79-85.
  5. Pulla Reddy A Ch, BR Lokesh. Effect of dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food Chemical Toxicol* 1994; 32: 279-83.
  6. Daniel S, Limson JL, Dairam A, Watkins GM, Daya S. Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *J Inorg Biochemistry* 2004; 98: 266-75.
  7. Chandra Amar K, Aparajita Chatterjee, Rituparna Ghosh, Mahitosh Sarkar. Effect of curcumin on chromium-induced oxidative damage in male reproductive system. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2007; 24: 160-6.
  8. Lancaster GI, Febbraio MA. Mechanisms of stress-induced cellular HSP72 release: implications for exercise-induced increases in extracellular HSP72. *Exerc Immunol Rev* 2005; 11: 46-52.
  9. Kregel KC. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 2002; 92: 2177-86.
  10. Banfi Giuseppe, Dolci Alberto, Verna Roberto, Corsi Massimiliano M. Exercise raise serum heat-shock protein 70 (Hsp70) levels. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 1445-6.
  11. Walsh RC, Koukoulas I, Garnham A, Moseley PL, Hargreaves M, Febbraio MA. Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell Stress Chaperones* 2001; 6: 386-3.
  12. Milne Kevin J, Noble Earl G. Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002; 93: 561-8.
  13. Febbraio MA, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1055-60.
  14. Febbraio MA, Ott P, Nielsen HB, Steensberg A, Keller C, Krstrup P, et al. Exercise induces hepatoplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *J Physiol* 2002; 544: 957-62.
  15. Morton JP, MacLaren DP, Cable NT, Bongers T, Griffiths RD, Campbell IT, et al. Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute non-damaging treadmill exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 176-82.
  16. Fehrenbach E, Niess AM, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sport Med* 2005; 26: 552-7.
  17. Liu Y, Lormes W, Wang L, Reissnecker S, Steinacker JM. Different skeletal muscle HSP70 responses to high-intensity strength training and low-intensity endurance training. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 330-5.
  18. Sreejayan N, MNA Rao, KI Priyadarsini, TPA Devasagayam. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by curcumin. *International Journal of Pharmacoeutics* 1997; 151: 127-30.
  19. Kim KB, Kim MH, Lee DJ. The effect of exercise in cool, control and hot environments on cardioprotective HSP70 induction. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2004; 23: 225-30.
  20. Dabidi Roshan V, Abdi Hazehkholaei H. Heat shock protein responses to eccentric weight or treadmill exercise in active young females. *World Journal of Sport Science* 2009; 2: 171-3.
  21. Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, et al. Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochem pharmacol* 2008; 76: 1590-611.
  22. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Zielinski MR, Groschwitz CM, Brown AS, et al. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R2168-73.
  23. Wei QY, Chen WF, Zhou B, Yang L, Liu ZL. Inhibition of lipid peroxidation and protein oxidation in rat liver mitochondria by curcumin and its analogues. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760: 70-7.
  24. Lawler JM, Powers SK, Hammeren J, Martin AD. Oxygen cost of treadmill running in 24-month-old Fischer-344 rats. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25: 1259-64.
  25. Aydin AF, Küçükgergin C, Ozdemirler-Erata G, Koçak-Toker N, Uysal M. The effect of carnosine treatment on prooxidant-antioxidant balance in liver, heart and brain tissues of male aged rats. *Biogerontology* 2010; 11: 103-9.
  26. Tong S, Von Schirnding YE, Prapamontol T. Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions. *Servir* 2000; 49: 35-43.
  27. Hamilton KL, Powers SK, Sugiura T, Kim S, Lennon S, Tumer N, et al. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H1346-52.
  28. Taylor BS, Geller DA. Molecular regulation of the human inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene. *Shock* 2000; 13: 413-24.
  29. Hooper PL, Hooper PL. Inflammation, heat shock proteins, and type 2 diabetes. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 113-5.
  30. Shen SQ, Zhang Y, Xiang JJ, Xiong CL. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1953-61.
  31. Rauen U, Viebahn R, Lauchart W, de Groot H. The potential role of reactive oxygen species in liver ischemia/reperfusion injury following liver surgery. *Hepatology* 1994; 41: 333-6.



Original Article

# Effects of Lead Acetate, Endurance Training and Curcumin Supplementation on Heat Shock Protein Levels in Liver Tissue

Memarmoghaddam M<sup>1</sup>, Dabidy Roshan V<sup>1</sup>, Hedayati M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Sport Physiology, Faculty of Physical Education and Sport Sciences, University of Mazandaran,

<sup>2</sup>Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran. I.R. Iran

e-mail: hedayati@endocrine.ac.ir

Received: 01/11/2010 Accepted: 25/12/2010

## Abstract

**Introduction:** Heat shock proteins act as guardians of cells. The stimulation of these proteins due to stress conditions that activates the cell protective mechanisms is essential. **Materials and Methods:** In this study, in order to assess the effects of lead, regular exercise endurance and HSP72 protein supplement Curcumin on the liver tissue, 48 mice were classified randomly into control groups 1) Base and 2) Sham and four experimental groups included 3) Lead, 4) Lead + endurance training, 5) Lead + Curcumin, 6) Lead + endurance training + Curcumin. Groups of 3 to 6 received 20 mg of lead; groups 5 and 6 in addition to lead received 30 mg/kg curcumin for 8 weeks and 3 days intraperitoneally. Furthermore, groups 4 and 6 performed progressive running training sessions, 15 to 22 m/min, for 25 to 64 min, five times a week; HSP72 level in homogenized liver tissue was measured by ELISA method. Data were analyzed by one way ANOVA test,  $P \leq 0.05$ . **Results:** HSP72 and malondialdehyde levels in the lead group were significantly higher than the other groups, while superoxide dismutase and total anti-oxidative capacity were less than other groups. In contrast, HSP72 and malondialdehyde in the curcumin, endurance training and the combination groups were significantly lower than the lead groups. **Conclusion:** These findings suggest that healthy lifestyle, including aerobic exercise and anti oxidant supplements may have beneficial effects in preventing oxidative damage caused by lead.

**Keywords:** Endurance Training, HSP72, Oxidative Damage, Anti oxidant, Lead