Original Article

Effect of exercise and chronic administration of nandrolone decanoate on expression of rat heart sarcolemmal ATP- sensitive potassium channels

Bayat Gh [1], Hajizadeh S[1*], Javan M [1], Safari F[2], Goudarzvand M[3], Shokri S [4], Pourkhalili Kh[5], Alavian F[1]

1- Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Shahid Sadoughi University, Yazd, I. R. Iran.
3- Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, I. R. Iran.
4- Department of Anatomy, Faculty of Medical Sciences, Zanjan University, Zanjan, I. R. Iran.
5- Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, I. R. Iran.

Received July 10, 2011; Accepted September 19, 2011

Abstract:

Background: The anabolic androgenic steroids are known to stimulate muscle protein synthesis and hypertrophy. Cardiomyocytes have two types of ATP-sensitive potassium channels in sarcolemma (sarcK_{ATP}) and in mitochondria (mitK_{ATP}). Activation of the sarcK_{ATP} channels has been proposed to protect against ischemia-reperfusion injury. This study aimed to investigate the effect of nandrolone decanoate (ND) on the expression of sarcK_{ATP} channels in the presence and absence of exercise in rat heart.
Materials and Methods: In this experimental study, 40 adult male rats were divided into five groups: control, vehicle, ND, exercise and exercise-ND group. Rats in the exercise group were submitted to a running program on a treadmill, 5 days a week for 10 weeks. In addition, rats in the ND and exercise-ND groups received a weekly intramuscular injection of ND (10 mg/kg) for 10 weeks. Expression of the K_{ATP} channel subunits (Kir6.2 and SUR2) was determined using the Western blotting method.
Results: ND administration had no effect on the expression of sarcK_{ATP} channel subunits in the sedentary group, while the chronic exercise significantly increased the expression of K_{ATP} channel subunits (P=0.01). Moreover, the ND administration significantly decreased the Kir6.2 (P=0.001) and SUR2 (P=0.05) subunits in the exercised animals.
Conclusion: Chronic exercise increases the expression of sarcK_{ATP} channels and the ND-induced expression decrement of the channels is probably one of the mechanisms involved in the impairment of exercise-induced cardioprotection in rat heart.

Keywords: Exercise, Nandrolone decanoate, K_{ATP} sensitive Potassium channels, Rat heart

* **Corresponding Author.**
Email: Hajizads@modares.ac.ir
Tel: 0098 21 828 84521
Fax: 0098 21 828 84555

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences May, 2012; Vol. 16, No 2, Pages 102-111

Please cite this article as*:** Bayat Gh, Hajizadeh S, Javan M, Safari F, Goodarzvand M, Shokri S, et al. Effect of exercise and chronic administration of nandrolone decanoate on expression of rat heart sarcolemmal ATP- sensitive potassium channels. ***Feyz 2012; 16(2): 102-11.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

بررسی اثر ورزش و تجویز مزمن ناندرولون دکانوئیت بر میزان بیان کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP سارکولم در قلب موش صحرایی

غلامرضا بیات[۱]، سهراب حاجی‌زاده[۲*]، محمد جوان[۳]، فاطمه صفری[۴]، مهدی گودرزوند[۵]، سعید شکری[۶]، خلیل پورخلیلی[۷]، فیروزه علویان[۸]

خلاصه:

سابقه و هدف: استروئیدهای آندروژنیک آنابولیک با تحریک سنتز پروتئین سبب افزایش اندازه و عملکرد عضله می‌شوند. میوسیت‌های قلبی دارای دو نوع کانال پتاسیمی حساس به ATP در سارکولم ($sarcK_{ATP}$) و میتوکندری ($mitoK_{ATP}$) می‌باشند. این کانال‌ها با باز شدن خود به‌عنوان یک مکانیسم محافظت کننده قلبی در برابر آسیب‌های ایسکمی-خون‌رسانی مجدد عمل می‌نمایند. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از ناندرولون بر بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ به‌همراه تمرین ورزشی و به‌تنهایی در قلب موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل، حامل، ناندرولون، ورزش و ورزش-ناندرولون. حیوانات در گروه‌های ورزش برای ۵ روز در هفته به‌مدت ده هفته بر روی تردمیل تحت تعلیم ورزشی قرارگرفتند. ناندرولون با دوز ۱۰ mg/kg هفته‌ای یک‌بار برای مدت ده هفته در گروه‌های دریافت‌کننده به‌صورت عضلانی تزریق گردید. از روش وسترن بلات جهت بررسی میزان بیان زیرواحدهای کانال $sarcK_{ATP}$ (Kir6.2 وSUR2) استفاده شد.

نتایج: یافته‌ها نشان داد تجویز ناندرولون تأثیری بر میزان بیان زیرواحدهای کانال $sarcK_{ATP}$ در گروه ساکن نداشته و ورزش مزمن بیان آنها را افزایش می‌دهد (P=۰/۰۱). از طرف دیگر تجویز ناندرولون موجب کاهش بیان Kir6.2 (P=۰/۰۰۱) و SUR2 (P=۰/۰۵) در حیوانات ورزش کرده می‌گردد.

نتیجه‌گیری: ورزش مزمن باعث افزایش بیان کانال‌های K_{ATP} سارکولم می‌شود و احتمالا یکی از مکانیسم‌های تأثیر ناندرولون در کاهش اثرات محافظت قلبی ناشی از ورزش، کاهش بیان این کانال‌ها در سارکولم می‌باشد.

واژگان کلیدی: ورزش، ناندرولون دکانوئیت، کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP، قلب موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۱، صفحات ۱۱۱-۱۰۲

مقدمه

استروئیدهای آندروژنیک آنابولیک (AAS) مشتقات دست‌ساز تستوسترون می‌باشند که در مقایسه با تستوسترون دارای اثرات آنابولیک بیشتر و اثرات آندروژنیک کمتر هستند و در ابتدا با هدف درمان تعداد زیادی از بیماری‌های انسان از جمله آنهایی که همراه با وضعیت‌های کاتابولیک هستند مانند استئوپوروز، گرسنگی شدید، سوختگی‌ها و لاغری شدید ناشی از سرطان‌ها و غیره ساخته شده‌اند [۱].

این ترکیبات با افزایش ساخت پروتئین سبب بزرگ شدن اندازه عضله شده و مورد سوءاستفاده ورزشکاران به‌منظور افزایش اندازه و عملکرد عضله قرار می‌گیرند. به‌همین علت این ترکیبات جزء مواد نیروزا یا دوپینگ طبقه بندی می‌شوند [۲،۱]. با این‌حال، مصرف ترکیبات AAS ممکن است باعث بروز اثرات جانبی روی عضله قلب مانند از هم‌گسستگی سنسیشیوم عملکردی قلب [۳]، پارگی قلب و تضعیف عملکرد آن [٤]، تحریک سیگنالینگ مرگ سلولی [٥] و همراه با آنفارکتوس میوکارد، کاردیومیوپاتی و مرگ ناگهانی [٦] شود. به‌علت شیوع گسترده جهانی بیماری عروق کرونر و آسیب میوکارد به‌علت صدمات ناشی از ایسکمی ـ خون-رسانی مجدد فراهم کردن یک استراتژی جهت محافظت قلب از آسیب ناشی از ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد مهم می‌باشد. باتوجه به این موضوع، شیوه‌های گوناگون جهت محافظت قلب از این آسیب‌ها مورد پژوهش قرار گرفته است و در این رابطه تنها شیوه عملی و پایدار که قادر به محافظت از قلب بوده انجام دوره‌های منظم ورزش بوده است. تنها یک دوره از تمرین ورزشی نشان داده شده است که میوکارد را در برابر آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد محافظت می‌کند [۷]. مطالعات اپیدمیولوژیکی در انسان

[۱] دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۲] استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۳] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
[۴] استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
[۵] استادیار، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز
[۶] استادیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان
[۷] استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر
[۸] دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

*نشانی نویسنده مسئول:
تهران، پل گیشا، دانشگاه تربیت مدرس، گروه فیزیولوژی
تلفن: ۰۲۱ ۸۲۸۸۴۵۲۱ دورنویس: ۰۲۱ ۸۲۸۸۴۵۵۵
پست الکترونیک: Hajizads@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۱۹ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۶/۲۸

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

اثبات کرده است که ورزش خطر مرگ ناشی از آسیب میوکارد به‌علت ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد را کاهش می‌دهد. علاوه بر آن در مطالعه روی مدل‌های حیوانی نیز دوره‌های منظم ورزش هوازی مانند دویدن یا شنا کردن قلب را از آسیب ناشی از ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد مورد محافظت قرارداده است [۹،۸]. ورزش فیزیکی منظم با کاهش دادن کلسترول پلاسما، پرفشاری خون، وزن و عدم تحمل گلوکز، میزان شیوع و مرگ و میر بیماری‌های قلبی را کاهش می‌دهد [۱۱،۱۰]. در حال حاضر در مورد مکانیسم‌های اختصاصی مسئول محافظت میوکارد ناشی از ورزش در برابر آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد دارای اختلاف نظرهایی است. بااین وجود مکانیسم‌های زیادی مورد تحقیق قرار گرفته که افزایش عملکرد کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP سارکولمی، افزایش سطوح کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP میتوکندریایی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های میوکارد نقش پر رنگ‌تری نسبت به‌سایر عوامل به خود اختصاص داده‌اند [۱۰،۹،۸]. میوسیت‌های قلبی دارای دو نوع مختلف کانال پتاسیمی حساس به ATP می‌باشند: یک نوع کلاسیک آن در سارکولم ($sarcK_{ATP}$) و نوع دیگر در غشای داخلی میتوکندری ($mitoK_{ATP}$) وجود دارد [۱۲]. مطالعات مولکولی مشخص کرده‌است که کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP سطح غشایی ($sarcK_{ATP}$) از کمپلکس‌های اکتامری شامل چهار زیر واحد-K^+ inwardly rectifying channel تشکیل دهنده سوراخ (Kir6.x) و چهار زیر واحد گیرنده تنظیمی سولفونیل‌اوره (SUR) تشکیل شده‌اند. دو ایزوفرم از Kir (Kir6.1 و Kir6.2) و سه ایزوفرم از SUR (SUR1، SUR2A و SUR2B) مشخص شده‌اند [۱۲]. Kir6.1، Kir6.2 و SUR2 به‌ترتیب داری وزن مولکولی حدود ٤٦، ٤٠ و ١٤٠ کیلودالتون می‌باشند [۱۳]. اگرچه کانال‌های $sarcK_{ATP}$ به‌طور وسیعی در سراسر بدن توزیع شده‌اند، ولی الگوهای بیان آنها در هر بافت اختصاصی است [۱۲]. ترکیب Kir6.2/SUR2A کانال $sarcK_{ATP}$ قلبی را می‌سازند [١٤]. پیشنهاد شده است که این کانال‌ها با باز شدن خود ممکن است به‌عنوان یک مکانیسم درون‌زا در محافظت قلب ناشی از ورزش و در طی ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد عمل نمایند [۱۵]. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که باز کننده‌های این کانال‌ها اثرات مفیدی بر روی میوکارد در مدل‌های زیادی از ایسکمی ایجاد کرده [١٦] و اثبات شده است که کانال پتاسیمی حساس به ATP یک جزء کلیدی از پدیده‌ای به‌نام پیش‌آماده‌سازی ایسکمیک می‌باشد و نقش مهمی در محافظت قلبی ناشی از پیش‌آماده‌سازی ایسکمیک دارد [۱۹-۱۷]. پیشنهاد شده است که فعال شدن کانال‌های $sarcK_{ATP}$ ممکن است بازیابی عملکرد انقباضی را با کوتاه کردن مدت پتانسیل عمل از طریق کوتاه کردن فاز ۳ رپلاریزاسیون پتانسیل عمل قلبی و هیپرپلاریزاسیون غشاء بهبود ببخشد، که این دو منجر به کاهش ورود کلسیم از طریق کانال‌های کلسیمی نوع L و کاهش کلسیم داخل سلولی در طی ایسکمی یا خون‌رسانی مجدد و حفظ ATP می‌شود [۲۰،۱۸،۱۵]. با توجه به اثرات زیان‌بار استفاده از AASs بر قلب، شناخت مکانیسم‌های مولکولی درگیر در آن از یک طرف مهم به‌نظرمی‌رسد که تاکنون در رابطه با اثرات AASs بر روی بیان‌کانال‌های $sarcK_{ATP}$ مطالعه‌ای صورت نگرفته است و از طرفی دیگر، مطالعات معدودی در رابطه با نقش ورزش بر میزان بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ انجام شده است که نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه وجود دارد. هم‌چنین، در رابطه با اثر متقابل AASs و تمرین ورزشی بر روی بیان این کانال‌ها مطالعه‌ای صورت نگرفته‌است. بنابراین، ما در این تحقیق اثرات تجویز ناندرولون دکانوئیت بر روی موش‌های صحرایی ساکن و تحت تعلیم مزمن ورزشی را بر روی بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ قلبی را مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی می‌باشد. این تحقیق بر روی ٤٠ موش صحرایی نر در محدوده سنی ١٢-١٠ هفته (١٦±٢٢٠ گرم) از نژاد ویستار انجام گردید. شرایط نوری حیوانات به‌طور ١٢ ساعت روشنایی و ١٢ ساعت تاریکی رعایت شد. حرارت حیوانخانه در محدوده ^{oc}٢٤-٢٢ نگهداری شد. آب و غذا برای حیوانات به‌طور آزاد وجود داشت. کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. حیوانات به‌صورت تصادفی به پنج گروه زیر تقسیم شدند و در هر گروه ٨ سر موش مورد آزمایش قرارگرفتند:

١) گروه کنترل ساکن (Sed)؛ ٢) گروه vehicle ساکن (V)؛ ٣) گروه ناندرولون ساکن (Nan)؛ ٤) گروه ورزش (Ex)؛ و ٥) گروه ورزش- ناندرولون (Ex+Nan). در گروه‌های ورزش موش‌های صحرایی برای پنج روز در هفته به‌مدت ده هفته تحت یک برنامه تعلیم ورزشی قرار گرفتند. در اولین هفته موش‌ها با دستگاه تردمیل آشنا سازی می‌شدند: روز اول با سرعت ١٠ متر در دقیقه برای مدت ١٠ دقیقه، روز دوم با سرعت ١٥ متر در دقیقه برای مدت ١٥ دقیقه، از روز سوم الی پنجم ٥ دقیقه به‌ازای هر روز به مدت ورزش افزوده می‌شد؛ به‌طوری‌که در روز پنجم مدت ورزش به ٣٥ دقیقه افزایش می‌یافت، ولی سرعت دستگاه تردمیل ١٥ متر در دقیقه ثابت نگاه داشته می‌شد. در هفته دوم، سرعت به ٢٠ متر در

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

دقیقه برای مدت ۳۰ دقیقه در روز اول افزایش داده می‌شد که به‌ازای هر روز ۵ دقیقه به‌مدت ورزش افزوده می‌گردید. در هفته سوم، تعلیم ورزشی۵۰ دقیقه با سرعت ۲۰ متر در دقیقه، در هفته چهارم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۲۵ متر در دقیقه، در هفته پنجم و ششم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۰ متر در دقیقه، در هفته هفتم و هشتم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۲/۵ متر در دقیقه، در هفته نهم و دهم، ۵۰ دقیقه با سرعت ۳۵ متر در دقیقه اعمال می‌گردید. از هفته دوم تا انتهای کار ۵ دقیقه گرم کردن و ۵ دقیقه سرد کردن با سرعت ۱۵ متر در دقیقه در شروع و انتهای ورزش اعمال می‌شد. از هفته اول الی هفته پنجم شیب صفر درصد، در هفته ششم و هفتم شیب ۵ درصد و در هفته هشتم، نهم و دهم شیب ۱۰ درصد اعمال شد [۲۱]. در این تحقیق در گروه‌های دریافت کننده یک نوع AAS از ناندرولون دکانوئیت (تولید شرکت Gedeon Richter مجارستان) که از مشتقات استری ۱۷- بتای تستوسترون بوده و در مقایسه با تستوسترون اثرات آنابولیک بیشتری دارد با دوز mg/kg ۱۰ هفته‌ای یک‌بار به‌صورت تزریق عضلانی به‌مدت ده هفته استفاده شد؛ این دارو به‌صورت هدیه از شرکت دارویی ایران هورمون دریافت شده بود. جهت حل کردن ناندرولون دکانوئیت از روغن آراشیذ (Arachiz) [تولید شرکت Henry Lamotte آلمان] اهدایی شرکت دارویی ایران هورمون استفاده شد. در گروه vehicle حامل ناندرولون دکانوئیت روغن آراشیذ با حجم مشابه با گروه‌های دریافت کننده ناندرولون دکانوئیت هفته‌ای یک‌بار به‌مدت ده هفته در عضله رانی به‌صورت عمیق تزریق گردید [۲۱]. بعد از انجام پروتکل ورزش و تزریق ناندرولون دکانوئیت یا حامل آن جهت استخراج بافت ابتدا حیوان با استفاده از داروی تیوپنتال سدیم (۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش می‌شد. برای جدا سازی قلب، با ایجاد یک برش عرضی در قسمت بالایی شکم و بریدن جناغ و دنده‌ها قلب به آرامی از بافت‌های اطراف جدا می‌شد. بعد از آن به‌سرعت عروق متصل به قلب قطع می‌گردید و قلب در داخل سرم فیزیولوژیک سرد انداخته می‌شد. سپس، قلب از داخل سرم فیزیولوژیک خارج شده و پس از خشک کردن با کاغذ جاذب رطوبت، وزن می‌شد. سپس، بر روی یک پلیت شیشه‌ای که در داخل ظرف یخ قرار داشت گذاشته می‌شد و به‌سرعت بطن چپ جدا شده و به چند قطعه تقسیم می‌گردید و در داخل لوله‌های اپندورف قرار داده می‌شد. لوله‌ها در داخل تانک نیتروژن مایع انداخته می‌شدند تا نمونه‌ها سریع تا دمای ^{oC} ۱۸۰- فریز می‌گردیدند. هر نمونه پس از جمع‌آوری به فریزر ^{oC} ۸۰- انتقال می‌یافت. جهت مجزا کردن غشای سارکولمی، بافت قلب از فریزر خارج شده و حدود صد میلی‌گرم از آن در درون یک لوله شیشه‌ای قرار می‌گرفت. سپس، یک سی سی از بافر A سرد (سوکروز ۲۱۰ میلی‌مول، EGTA ۲ میلی‌مول، NaCl ۴۰ میلی‌مول، HEPES ۳۰ میلی‌مول، Ph=۷/٤) که یک بافر لیزکننده و حاوی آنتی پروتئاز بود، روی بافت ریخته می‌شد. سپس، با استفاده هاون مخصوص، بافت قلب هموژنیزه می‌گردید؛ به‌طوری‌که یک مخلوط همگن ایجاد می‌شد. بافت هموژن شده به لوله اپندورف منتقل می‌گردید و در دمای ^{oC}٤ با سرعت ٦۰۰g برای مدت ۱۰ دقیقه به‌منظور حذف مواد اریتروسیتی سانتریفیوژ می‌شد. محلول رویی را برداشته در لوله اپندورف ریخته و مجدد در دمای ^{oC}٤ با سرعت ۱۰۰۰۰g برای مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌گردید. محلول رویی جهت جدا کردن غشای سارکولمی برداشته می‌شد و به آن ۷۵۰ میکرولیتر از بافر B (EDTA ۱ میلی‌مول، Tris۱۰ میلی‌مول، Ph=۷/٤) اضافه می‌گردید. سپس، در دمای ^{oC}٤ با سرعت ۲۳۰۰۰۰g برای مدت دو ساعت التراسانتریفیوژ می‌گردید. محلول رویی دور ریخته می‌شد و یک سی‌سی از بافر C (EDTA ۱ میلی‌مول، Tris۱۰ میلی‌مول، Ph=۷/٤) جهت شستشو بر روی Pellet حاوی غشای سارکولمی ریخته می‌شد و مجدد در دمای ^{oC}٤ با سرعت ۲۳۰۰۰۰g برای مدت دو ساعت اولتراسانتریفیوژ می‌گردید. بعد از آن ۲۰۰ میکرولیتر از بافر C و ٦٦ میکرولیتر از SDS ۱٦ درصد بر روی Pellet ریخته شده و خوب مخلوط می‌شد تا غشای سارکولمی به کمک دترژن SDS لیز گردد. سپس، این مخلوط در دمای اتاق با سرعت ۱۱۰۰g برای مدت ۲۰ دقیقه جهت حذف مواد غیر محلول سانتریفیوژ می‌گردید. محلول رویی برداشته شده و در داخل لوله اپندورف ریخته می‌شد و در ^{oC}۸۰- منجمد می‌گردید [۲۲]. در این مطالعه بررسی میزان بیان زیرواحد‌های تشکیل دهنده کانال‌های $sarcK_{ATP}$ میوکارد با تکنیک وسترن بلات مورد سنجش قرار گرفتند. غلظت پروتئین به‌شیوه‌ای که توسط برادفورد [۲۳] توصیف شده است تعیین گردید و PAGE نیز همان‌طور که توسط Laemmli شرح داده شده است انجام گرفت [۲٤]. نمونه پروتئین استخراج شده با مقدار مشخص بافر نمونه (گلیسرول ۱۰ درصد، SDS ۵ درصد، بروموفنول بلو ۰/۲۵ درصد، بتا مرکاپتواتانول ۵ درصد و Tris-HCl ۰/۰٦۲۵ مول با Ph=٦/۸) در لوله اپندورف ترکیب شد و برای مدت پنج دقیقه در دمای ۱۰۰°C قبل از لود کردن در چاهک‌ها جوشانده شد. الکتروفورز برای حدود یک و نیم ساعت در ولتاژ ۱۱۰ در داخل بافر الکتروفورز (Tris-HCl ۰/۰۲۵ مول، گلیسین۰/۲ مول، و SDS ۳/۵ میلی‌مول) انجام شد. پروتئین‌ها از ژل بر روی کاغذ PVDF با کمک دستگاه بلات منتقل شد. غشاءها در محلول دارای ۲ درصد شیر خشک بدون چربی (2% ECL advanced

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

blocking milk) و BSA ۱ درصد در بافر TBS-T (Tris-HCl ۰/۰۱ مول، کلرید سدیم ۱/۵ میلی‌مول و Tween-20 ۰/۱ درصد) برای مدت یک‌ساعت بلاک شدند. Kir6.2 و SUR2 به‌ترتیب با آنتی‌بادی‌های اولیه Kir6.2 (R-14) polyclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology) و SUR-2 (H-80) polyclonal antibody با رقت ۱ به ۵۰۰ و آنتی‌بادی‌های ثانویه Horseradish peroxidase-conjugated Donkey anti-Goat و Horseradish peroxidase-conjugated Goat anti-Rabbit (Santa Cruz Biotechnology) با رقت ۱ به ۱۰۰۰۰ مورد شناسایی قرار گرفتند. بعد از شستشوهای متعدد با بافر TBS-T غشاءها با کیت کمولومینسانس (ECL advanced reagents) پوشیده شد و پس از ۵ دقیقه، در یک نایلون (سلفون) پیچیده می‌شد و سپس در کاست فیلم قرار می‌گرفت. برای مشاهده باند پروتئینی مورد نظر، از فیلم رادیولوژی و محلول‌های ظهور و ثبوت استفاده شد [۲۵]. دانسیته باندهای به‌دست آمده از تکنیک وسترن بلات در پنج گروه مورد آزمایش (n=۵) توسط نرم افزار ImageJ 1.43u تعیین شد. سپس، جهت نرمالیزه کردن، نسبت دانسیته نمونه‌های گروه‌های آزمایشی به نمونه کنترل محاسبه گردید. معنی‌داری اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از برنامه آماری Prism مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج به‌صورت میانگین± SEM ارائه شدند. به‌علت وجود دو مداخله (ورزش و تجویز ناندرولون) از روش آماری واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) برای تعیین اختلاف بین میانگین به‌دست آمده در بین گروه آزمایشی و وجود تداخل (interaction) استفاده شد و جهت بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از پس‌آزمون Bonferroni استفاده شد. هم‌چنین، آزمون Unpaired Student's t-test جهت مقایسه بین گروه‌های ورزش با کنترل و حامل با کنترل استفاده گردید. مقادیر $P<۰/۰۵$ به‌عنوان حداقل سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

خلاصه یافته‌های مورفولوژیکی شامل وزن بدن در شروع آزمایش (هفته اول) و در انتهای آزمایش (هفته دهم)، اختلاف وزن هفته دهم از هفته اول و نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه‌های آزمایشی در جدول شماره ۱ ارائه شده‌است. باتوجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه بین گروه‌های حامل و کنترل ساکن که دلالت بر عدم تأثیر آن بر روی نتایج یافته‌های مورفولوژیکی و مولکولی می‌باشد از ارائه نتایج و نمودارهای مربوط به گروه حامل صرف نظر شده است.

یافته‌های مورفولوژیکی قلب:

مقایسه میانگین اختلاف وزن انتهای هفته دهم از وزن شروع آزمایش (جدول شماره ۱) نشان می‌دهد که در گروه ورزش (۷۳/۱۸±۵/۸۲ g, $P<۰/۰۵$) مقدار این پارامتر کمتر از گروه کنترل ساکن (۹۳/۳۸±۶/۲۰g) می‌باشد. به‌بیان دیگر، تمرین ورزشی موجب کاهش ۲۱/۶ درصدی در وزن بدن در این گروه شده است. مقایسه میانگین اختلاف وزن انتهای هفته دهم از وزن شروع آزمایش (جدول شماره ۱) با نشان می‌دهد که ناندرولون اثر متفاوتی در گروه‌های ورزش کرده و ورزش نکرده نداشته است. به‌عبارت دیگر، ورزش و تجویز ناندرولون با هم اثر تداخلی روی وزن بدن نداشته‌اند ($P=۰/۳۷۷$). پس آزمون Bonferroni نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در این پارامتر بین حیوانات ساکن دریافت کننده ناندرولون و حیوانات ساکنی که این دارو را دریافت نکرده‌اند وجود ندارد ($P>۰/۰۵$). از طرف دیگر، تجویز ناندرولون باعث کاهش معنی‌دار وزن بدن در حیوانات ورزش کرده می‌شود ($P<۰/۰۱$). مقایسه نسبت وزن قلب بر حسب میلی‌گرم به وزن بدن بر حسب گرم نشان می‌دهد که مقدار این پارامتر در گروه ورزش (۳/۱۱۴±۰/۰۷۸ mg/g, $P<۰/۰۱$) بیشتر از گروه کنترل ساکن (۲/۸۱۱±۰/۰۳۵ mg/g) می‌باشد؛ این امر نشان دهنده تأثیر برنامه تمرین ورزشی در القای هیپرتروفی میوکارد می‌باشد. میانگین نسبت وزن قلب به وزن بدن نشان می‌دهد که مصرف ناندرولون باعث افزایش معنی‌دار این پارامتر در حیوانات ورزش کرده می‌شود (پس آزمون Bonferroni، $P<۰/۰۵$)، در حالی‌که در گروه ساکن اثر معنی‌دار مشاهده نمی‌شود ($P>۰/۰۵$). هم‌چنین، اثر ناندرولون بر نسبت وزن قلب به وزن بدن در گروه ورزش نکرده و ورزش کرده اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. این موضوع نشان می‌دهد که ورزش، هیپرتروفی قلب را که یک سازش فیزیولوژیکی محسوب می‌گردد، القاء کرده است.

یافته‌های مطالعه مولکولی:

مقایسه میانگین بیان Kir6.2 سارکولم (شکل شماره ۱) در سطح پروتئین نشان می‌دهند که در گروه ورزش میزان بیان آن در سارکولم افزایش معنی‌داری در حدود ۷۷ درصد ($P<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل ساکن داشت. مقایسه میانگین میزان بیان Kir6.2 سارکولم در سطح پروتئین (شکل شماره ۲) نشان می‌دهد که تجویز ناندرولون اثر متفاوتی در گروه ورزش کرده و ورزش نکرده دارد؛ یعنی ناندرولون و ورزش باهم تداخل دارند ($P<۰/۰۵$، $F_{Interaction}=۷/۳۴$). پس‌آزمون Bonferroni نشان داد که اگرچه در حیوانات گروه‌های ورزشی تجویز ناندرولون باعث کاهش

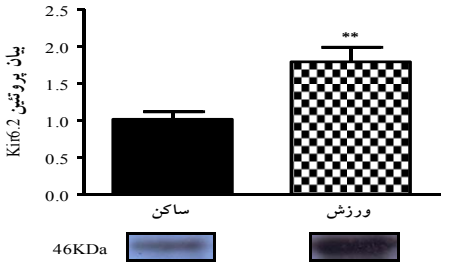
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

معنی‌دار بیان Kir6.2 درسطح پروتئین تقریبا به‌میزان ۵۷/۹ درصد نسبت به حیواناتی که تحت تمرین ورزشی بوده‌اند و داروی استروئیدی را دریافت نکرده‌اند (P<۰/۰۰۱) می‌شود، ولی در گروه‌های ساکن مصرف این دارو تأثیر معنی‌داری ایجاد نمی‌کند. مقایسه میانگین بیان SUR2 سارکولم (شکل شماره ۳) در سطح پروتئین نشان می‌دهند که در گروه ورزش میزان آن در سارکولم نسبت به گروه کنترل ساکن افزایش معنی‌داری در حدود ۸۳ درصد دارد (P<۰/۰۱). مقایسه میانگین میزان بیان SUR2 سارکولم در سطح پروتئین (شکل شماره ٤) نیز نشان می‌دهد که تجویز ناندرولون اثر متفاوتی در گروه ورزش کرده و ورزش نکرده ندارد؛ یعنی ناندرولون و ورزش باهم اثر تداخلی ندارند ($F_{Interaction}$=۲/٤٤، P<۰/۱۳۷۵). پس‌آزمون Bonferroni نشان داد که اگرچه در حیوانات گروه‌های ورزشی تجویز ناندرولون باعث کاهش معنی‌دار بیان SUR2 در سطح پروتئین تقریبا به میزان ۲۵/۷ درصد نسبت به حیواناتی که تحت تمرین ورزشی بوده‌اند و داروی استروئیدی را دریافت نکرده‌اند (P<۰/۰۵) می‌شود، ولی در گروه‌های ساکن مصرف این دارو تأثیر معنی‌داری ایجاد نمی‌کند.

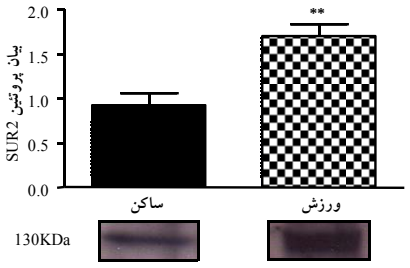
جدول شماره ۱- اثرات ورزش مزمن و تجویز ناندرولون دکانوئیت روی وزن بدن و نسبت وزن قلب به وزن بدن در موش‌های صحرایی

گروه‌ها	وزن بدن (گرم)		اختلاف وزن بدن هفته اول و دهم (گرم)	نسبت وزن قلب به وزن بدن (میلی‌گرم/گرم)
	هفته اول	هفته دهم		
کنترل ساکن	۲۰۳/٦۳±۳/۱۳	۲۹۷/۰۰±٦/٥۹	۹۳/۳۸±٦/۲۰	۲/۸۱۱±۰/۰۳٥
ناندرولون	۲۱۱/٥۰±۳/۷۷	۲۸٥/۳۸±٦/٤٥	۷۳/۸۸±٦/۳۹	۳/۰۰٦±۰/۰٤٦
ورزش	۲۳۲/۰۰±٤/۹۲	۳۰٥/۱۸±۸/۷۷	۷۳/۱۸±٥/۸۲*	۳/۱۱٤±۰/۰۷۸**
ورزش-ناندرولون	۲۳۳/۱۳±٥/٥۷	۲۷٥/۹٦±۷/۱٤	٤۲/۸٤±٥/۷۱§	۳/۰۲٦±۰/۰٤۰†

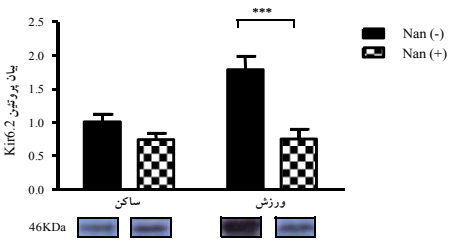
وزن بدن موش‌های صحرایی در شروع (هفته اول) و انتهای (هفته دهم) دوره آزمایش اندازه‌گیری شد و اختلاف وزن آنها جهت آنالیز آماری استفاده گردید؛ در حالی‌که نسبت وزن قلب به وزن بدن در هفته دهم به‌دست آمده‌است. مقادیربه‌صورت میانگین±خطای معیار برای ۸ موش صحرایی در هر گروه ارائه شده‌است. موش‌های صحرایی یا ۱۰mg/kg ناندرولون دکانوئیت یا حامل آن‌را هفته‌ای یک‌بار دریافت کردند و در معرض ورزش برای مدت ده هفته قرار گرفتند. *P<۰/۰٥، **P<۰/۰۱ در برابرگروه کنترل ، †P<۰/۰٥ و §P<۰/۰۱ در برابر گروه ورزش می‌باشد.



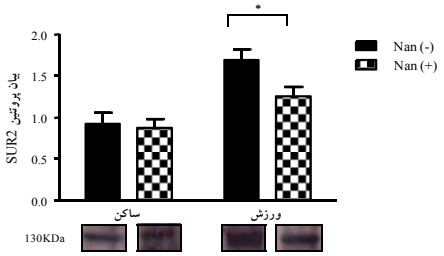
شکل شماره ۱- مقایسه میانگین بیان Kir6.2 سارکولم در گروه‌های ورزش و ساکن. مقادیر به‌صورت میانگین±خطای معیار نشان داده شده‌اند. **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل ساکن می‌باشد.



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین بیان SUR2 سارکولم در گروه‌های ورزش و ساکن. مقادیر به‌صورت میانگین±خطای معیار نشان داده شده‌اند. **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل ساکن می‌باشد.



شکل شماره ۲- مقایسه تأثیر ناندرولون بر میانگین میزان بیان Kir6.2 سارکولم در گروه‌های ساکن و ورزش. مقادیر به‌صورت میانگین±خطای معیار نشان داده شده‌اند. ***P<۰/۰۰۱ مقایسه گروه ورزش- ناندرولون با گروه ورزش. گروه‌هایی که ناندرولون دریافت نکرده‌اند =Nan(-)، گروه‌هایی که ناندرولون دریافت کرده‌اند =Nan (+)



شکل شماره ٤- مقایسه تأثیر ناندرولون بر میانگین میزان SUR2 سارکولم در گروه‌های ساکن و ورزش. مقادیر به‌صورت میانگین±خطای معیار نشان داده شده‌اند. *P<۰/۰٥ مقایسه گروه ورزش- ناندرولون با گروه ورزش می‌باشد. گروه‌هایی که ناندرولون دریافت نکرده‌اند=Nan(-)، گروه‌هایی که ناندرولون دریافت کرده‌اند=Nan(+)

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد کـه اگرچـه تمـرین ورزشـی استقامتی اعمال شده طبق پروتکل ذکر شده باعث کـاهش معنـی-داری در وزن بدن به میزان ۲۱/۷ درصد نـسبت بـه گـروه کنتـرل (ساکن) گردید و تجویز ناندرولون به‌تنهایی اثری روی وزن بـدن نداشت، ولی در گروه ورزش-ناندرولون به‌طور قابل تـوجهی وزن بدن به میزان ٥٤ درصد نسبت به گروه کنترل و ٤١/٥ درصد نسبت به گروه ورزش دچار کاهش گردید. عدم تأثیر تجـویز نانـدرولون روی وزن بدن موافق با بعضی مطالعاتی است کـه در ایـن زمینـه انجام شده‌است [۲٦،۲٥،۱۰]، مطالعاتی نیز عـدم تـأثیر ورزش بـر وزن بدن را گزارش کـرده‌انـد [۲۷،۲٥]. هـم‌چنـین، در مطالعـات دیگری نیز نشان داده‌شده‌است که تجویز استروئید به‌تنهایی موجب سرکوب رشد سوماتیک و کاهش وزن بدن می‌شود [۳۰-۲۸]، کـه کاهش وزن بدن هم مربوط به کاهش در توده چربی و هم در توده بدون چربی (Lean body mass) محاسبه شده بوده اسـت [۲۹]. به‌نظرمی‌رسد نوع، شدت و مدت ورزش و مقدار و دفعات تزریـق استروئید در جواب‌های متفاوت در این تحقیقات موثر بوده‌اسـت. در این تحقیق تمرین ورزشی موجب کـاهش معنـی‌دار وزن بـدن گردید و تجویز استروئید به‌تنهایی نیز باعث کاهش وزن بدن شـد، هرچندکه از نظر آماری معنی‌دار نبوده‌اسـت کـه نـشان دهنـده آن است که شدت ورزش نسبتا بالا بوده که توانسته تا حـدی باعـث کاهش وزن بدن شود و از طرفـی تجـویز دوز سـوپرافیزیولوژیک ناندرولون دکانوئیت با اثر روی رشد سـوماتیک تاحـدی موجـب کاهش وزن بدن شده است. بـه‌نظـر مـی‌رسـد در گـروه ورزش-ناندرولون ورزش و استروئید باهم اثر افزایشی داشته، به‌طوری‌کـه توانسته‌است باعث کاهش قابل توجه در وزن بدن گردد. نتایج این تحقیق نشان داد که در گروه ورزش نسبت وزن مطلق قلب به وزن بدن به میزان ۱۰/۷ درصد نسبت به گـروه کنتـرل افـزایش یافـت (جدول شماره ۱). در گروه ورزش-نانـدرولون نیـز ایـن نـسبت افزایش معنی‌داری به‌میزان حـدود ۱۹/٥ و۷/۹ درصـد بـه‌ترتیـب نسبت به گروه‌های کنترل و ورزش نشان داد. افزایش نـسبت وزن مطلق قلب به وزن بدن در گروه ورزش باتوجـه بـه افـزایش وزن مطلق قلب در این گروه (نتایج ارائه نشده است) دلالت بـر تـأثیر ورزش در ایجاد هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلـب کـه یـک سـازش فیزیولوژیکی محسوب می‌شود، در این گروه مـی‌باشـد. در گـروه ورزش- ناندرولون افزایش نسبت وزن مطلق قلـب بـه وزن بـدن قسمت بزرگی مربوط به کاهش وزن بدن و قسمت مختصری مـی-تواند مربوط به افزایش وزن قلب در این گروه باشد؛ بنابراین نمی-توان استنباط کرد که در ایـن گـروه نیـز بـه‌ماننـد گـروه ورزش هیپرتروفی قلبی اتفاق افتاده است. نتـایج ایـن تحقیـق موافـق بـا مطالعاتی است که نشان داده‌انـد ورزش باعـث هیپرتروفـی قلـب [۳۱،۲٦-۲۸] می‌شود. از طرفی مطالعات دیگـری وجـود دارد کـه نشان می‌دهند که تجویز استروئید آندروژنیک نیز می‌توانـد باعـث هیپرتروفی قلب شود [۳۳،۳۲،۲٥،۱۰]. مطالعاتی نیز وجود دارد که عدم تأثیر تجویز استروئید یا ورزش مزمن بر وزن قلب را گزارش کرده‌اند [۳٤]. تصور می‌شود کـه هیپرتروفـی القـاء شـده توسـط ورزش ناشی از افزایش در پیش‌بار (پرشدگی دیاستولیک) در قلب می‌باشد [۳٥]. هیپرتروفـی فیزیولـوژیکی قلبـی القاءشـده توسـط ورزش حساسیت قلب به ایسکمی و خون‌رسـانی مجـدد را تغییـر می‌دهد و آن را به آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجـدد مقـاوم‌تـر می‌نماید [۳٦]. نشان داده شده است که اسـتفاده از اسـتروئیدهـای آنابولیک موجب تغییر هیپرتروفی فیزیولوژیکی قلـب القـاء شـده توسط ورزش به هیپرتروفی پاتولوژیکی می‌گردد که تغییـر نـسبت ضخامت دیواره بطن چپ به شعاع داخلی عامل این تغییر می‌باشد. انجام ورزش باعث افزایش نسبت ضخامت دیواره بطـن چـپ بـه شعاع داخلی می‌شود و ممکن است استروئیدهای آنابولیک از ایـن افزایش ممانعت به‌عمل آورند. تصور می‌شود این تغییرات موجـب افزایش در استرس دیواره‌ای بطن چپ می‌گردد و آن نیز عملکـرد قلبی را کاهش می‌دهد و بنابراین می‌تواند به‌عنوان یکی از محرک-های رشد غیرطبیعی قلب ناشی از مصرف اسـتروئیدهـا محـسوب شود [۲۸]. نتایج مولکولی این مطالعه نشان داد که تمرین ورزشـی استقامتی مزمن میزان بیان زیر واحد اصـلی کانـال‌هـای پتاسـیمی حساس به ATP یعنی پروتئین Kir6.2 را در سارکولم نسبت به گروه کنترل به‌میزان ۷۷ درصد افزایش می‌دهد. بیـان SUR2 بـه-عنوان زیرواحد تنظیمی کانال‌های پتاسیمی حساس بـه ATP بـه-مانند پروتئین Kir6.2 تحت تمرین ورزشی استقامتی به میـزان ۸۳ درصد نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد. بنـابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که میزان بیان کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP سارکولم با انجام ورزش مزمن افزایش می‌یابـد. تجـویز مزمن نانـدرولون دکانوئیـت در گـروه سـاکن روی میـزان بیـان زیرواحدهای تشکیل دهنده این کانال‌ها تـأثیر معنـی‌دار نداشـت. تجویز مزمن ناندرولون دکانوئیت در گروه تحت تمـرین ورزشـی موجـب کـاهش قابـل توجـه بیـان Kir6.2 و SUR2 در سـطح پروتئین به‌میزان ٥۷/۹ و ۲٥/۷ درصد به‌ترتیب نسبت به حیوانـاتی که فقط تحت تمرین ورزشی بوده‌اند، شد. اثـر تـداخلی ورزش و تجویز ناندرولون فقط روی بیان زیر واحد Kir6.2 مـشاهده شـد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که هرچند تجـویز نانـدرولون در گروه ساکن روی بیان این زیر واحدها مؤثر نبوده اسـت، ولـی در

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

گروه ورزشی که این دارو را دریافت کرده‌اند، تأثیر گذار بوده است؛ به‌طوری‌که از تأثیر ورزش در افزایش بیان این زیرواحدها به‌خصوص روی بیان زیر واحد Kir6.2 ممانعت به‌عمل آورده و موجب کاهش بیان آنها نسبت به گروه ورزشی که دارو را دریافت نکرده‌اند، شده است. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد چندین مدرک دلالت می‌کنند که کانال‌های $sarcK_{ATP}$ و $mitoK_{ATP}$ در محافظت قلب ناشی از پیش‌آماده‌سازی ایسکمیک در برابر آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد درگیر می‌باشند. بااین وجود، در رابطه با نقش این کانال‌ها در محافظت قلب ناشی از ورزش کم‌تر مورد تحقیق قرار گرفته است و گزارشات معدودی در این رابطه وجود دارد. در یک مطالعه که توسط Brown و همکاران انجام گردید، مشخص شد که ورزش کوتاه مدت در موش‌های صحرایی نر و ماده اندازه ناحیه آنفارکتوس را به‌دنبال آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد کاهش می‌دهد. محققین این مطالعه محافظت تأخیری مشاهده شده در موش‌های صحرایی نر و ماده را منسوب به افزایش مشاهده شده بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ دانستند [۳۷]. در یک گزارش دیگر که توسط همین گروه ارائه شده است، این محققین برای اثبات و تأکید بیش‌تر بر ارتباط نزدیک بین بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ و محافظت از آسیب ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد از بلوک فارماکولوژیکی این کانال‌ها استفاده کردند. مشاهده شد که که ورزش مزمن (۱۲ هفته) بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ را در میوسیت‌های قلبی را همانند ورزش کوتاه مدت در موش‌های صحرایی ماده افزایش می‌دهد، به‌طوری‌که بیان هر دو زیرواحد $K_{ir}6.2$ زیرواحد تشکیل دهنده سوراخ و SUR2a زیرواحد تنظیمی کانال‌های سارکولمی به‌ترتیب ۵۸ و ۷۵ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و بلوک فارماکولوژیکی این کانال‌ها با بلوک کننده اختصاصی آن HMR1098 در طی پروتکل ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد کاملا کاهش اندازه ناحیه آنفارکتوس ناشی از ورزش را متوقف می‌کند و موجب افزایش چشم‌گیری در اندازه ناحیه آنفارکتوس می‌شود. [۷]. Chicco و همکاران نشان دادند که ورزش کوتاه مدت (۵ روز) اندازه ناحیه آنفارکتوس میوکارد را در جنس نر و ماده کاهش می‌دهد [۳۸]. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که انجام ورزش مزمن باعث افزایش معنی‌دار بیان هر دو زیر واحدکانال‌های $sarcK_{ATP}$ یعنی $K_{ir}6.2$ و SUR2 می‌شود که هم‌سو با نتایج مطالعات قبلی [۳۷،۷] می‌باشد. بنابراین با انجام ورزش مزمن میزان بیان کانال‌های K_{ATP} در سارکولم افزایش می‌یابد، که ممکن است بتوان آن‌را به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مهم در محافظت قلبی القاءشده توسط ورزش در نظر گرفت. از مجموع این مطالعات می‌توان نتیجه گرفت که کانال‌های $sarcK_{ATP}$ یک قسمت اجباری از مکانیسم محافظت در استرس‌های اکسیداتیو مانند ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد می‌باشد، و ورزش کوتاه مدت یا طولانی مدت با دستکاری در این مکانیسم و افزایش بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ نقش محافظت قلبی را اعمال می‌کند. باتوجه به نقش این کانال‌ها در محافظت میوکارد کانال‌های $sarcK_{ATP}$ می‌تواند به‌عنوان یک کاندید برای واسطه پیش‌شرط سازی تأخیری محسوب شود. در بررسی نقش تجویز ناندرولون دکانوئیت با دوز فوق فیزیولوژیک بر روی بیان زیرواحدهای کانال‌های $sarcK_{ATP}$ تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است و نتایج این مطالعه اولین گزارش در این رابطه می‌باشد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که میزان بیان این کانال‌ها وابسته به جنس می‌باشد، به‌طوری‌که میزان بیان این کانال‌ها در جنس ماده بیش‌تر از جنس نر می‌باشد و می‌توان یکی از علت‌های مقاومت ذاتی به آسیب‌های ایسکمی ـ خون‌رسانی مجدد در جنس ماده نسبت به جنس نر را به بالا بودن میزان بیان این کانال‌ها نسبت داد [۳۹،۳۷،۷]. به‌نظر می‌رسد که استروژن در جنس ماده یک عامل مهم در افزایش بیان این کانال‌ها باشد و نشان داده شده است که استفاده از مکمل‌های استروژنی میزان بیان این کانال‌ها را افزایش می‌دهد [۴۰]. بنابراین می‌توان احتمال داد که تستوسترون به‌عنوان یک استروئید آندروژنیک آنابولیک در جنس نر یک نقش کاهنده در بیان زیرواحدهای این کانال‌ها داشته باشد. بر اساس این استدلال، ما در این مطالعه فرض کردیم که استفاده از دوز فوق فیزیولوژیک ناندرولون دکانوئیت به‌عنوان یک استروئید آنابولیک ـ آندروژنیک بتواند در گروه‌های ساکن و ورزشی میزان بیان زیرواحدهای این کانال‌ها را کاهش دهد و بنابراین زمینه را برای آسیب بیش‌تر میوکارد در برابر استرس‌های اکسیداتیو یا ایسکمیک در حیوانات مصرف کننده این دارو را فراهم نماید. بر اساس یافته‌های این مطالعه مشخص شد که میزان بیان زیرواحدهای $K_{ir}6.2$ و SUR2 در گروه ساکن دریافت کننده این استروئید تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان نداد؛ هرچند کاهش در بیان این زیر واحدها به‌خصوص در مورد زیر واحد $K_{ir}6.2$ مشاهده شد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. از طرف دیگر در گروه ورزش کرده و دریافت کننده این دارو نسبت به گروه ورزش کرده که این استروئید را استفاده نکرده‌اند کاهش در بیان زیر واحدهای $K_{ir}6.2$ و SUR2 مشاهده گردید که میزان کاهش برای زیرواحد اصلی این کانال‌ها یعنی $K_{ir}6.2$ قابل توجه بود. بنابراین، براساس این نتایج می‌توان استدلال نمود، هرچند بر خلاف انتظار میزان بیان این کانال‌ها در گروه ساکن دریافت کننده این استروئید نتوانسته کاهش یابد، ولی این تأثیر کاهنده در میزان بیان این

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

کانال‌ها در سطح پروتئین در گروه ورزش کرده و دریافت کننده این استروئید مشهود بوده است و به‌طور معنی‌داری از تأثیر ورزش مزمن در افزایش بیان کانال‌های $sarcK_{ATP}$ که همان‌طور پیش‌تر درباره نقش محافظتی آن در میوکارد اشاره شد، جلوگیری به‌عمل آورده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که انجام ورزش مزمن باعث افزایش بیان کانال‌های K_{ATP} سارکولم می‌شود و احتمالا یکی از مکانیسم‌های تأثیر ناندرولون در کاهش اثرات محافظت قلبی ناشی از ورزش، کاهش بیان این کانال‌ها در سارکولم توسط تجویز مزمن این استروئید می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق مستخرج از رساله دکتری رشته فیزیولوژی و با حمایت مالی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است. نویسندگان این مقاله از دانشگاه تربیت مدرس که حمایت مالی این طرح را به عهده داشته‌است، سپاسگزاری می‌نمایند.

References:

[1] Karila T. Adverse effects of anabolic androgenic steroids on the cardiovascular, metabolic and reproductive systems of anabolic substance abusers. [Thesis]. Helsinki. Helsinki University. 2003. 1-66.

[2] Celotti F, Negri Cesi P. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscles, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 1992; 43(5): 469-77.

[3] Appell HJ, Heller-Umpfenbach B, Feraudi M, Weicker H. Ultrastructural and morphometric investigations on the effects of training and administration of anabolic steroids on the myocardium of guinea pigs. ***Int J Sports Med*** 1983; 4: 268-74.

[4] Cavasin MA, Tao ZY, Yu AL, Yang XP. Testosterone enhances early cardiac remodeling after myocardial infarction, causing rupture and degrading cardiac function. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2006; 290(5): H2043-50.

[5] Crisostomo PR, Wang M, Wairiuko GM, Morrell ED, Meldrum DR. Brief exposure to exogenous testosterone increases death signaling and adversely affects myocardial function after ischemia. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*** 2006; 290: R1168-74.

[6] McNutt RA, Ferenchick GS, Kirlin PC, Hamlin NJ. Acute myocardial infarction in a 22-year-old world class weight lifter using anabolic steroids. ***Am J Cardiol*** 1988; 62(1): 164-9.

[7] Brown DA, Chicco AJ, Jew KN, Johnson MS, Lynch JM, Watson PA, et al. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the K_{ATP} channel in the rat. ***J Physiol*** 2005; 569(Pt 3): 913-24.

[8] Brown DA, Moor RL. Perspectives in innate and acquired cardioprotection: cardioprotection acquired through exercise. ***J Appl Physiol*** 2007; 103(5): 1894-9.

[9] Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury. ***Free Radic Biol Med*** 2008; 44(2): 193-201.

[10] Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, et al. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cadioprotection: Role of antioxidant enzymes. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 2006; 99(4-5): 223-30.

[11] Kloner RA, Simkhovich BZ. Benefit of an exercise program before myocardial infarction. ***J Am Coll Cardioll*** 2005; 45(6): 939-40.

[12] Liu Y, Ren G, O'rourke B, Marb´an E, Seharaseyon J. Pharmacological Comparison of Native Mitochondrial KATP Channels with Molecularly Defined Surface KATP Channels. ***Mol Pharmacol*** 2001; 59(2): 225–30.

[13] Cuong DV, Kim N, Joo H, Youm JB, Chung JY, Lee Y, et al. Subunit composition of ATP-sensitive potassium channels in mitochondria of rat hearts. ***Mitochondrion*** 2005; 5(2): 121–33.

[14] Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, Sperelakis N. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. ***Am J Physiol*** 1998; 274 (1 Pt 1): C25–37.

[15] Gross GJ, Fryer RM. Sarcolemmal Versus Mitochondrial ATP-Sensitive K Channels and Myocardial Preconditioning. ***Circ Res*** 1999; 84(9): 973-9.

[16] Lee SH, Yang MK, Lim JH, Seo HW, Yi KY, Yoo SE, et al. KR-31762, a Novel KATP Channel Opener, Exerts Cardioprotective E ffects by Opening SarcKATP Channels in Rat Models of Ischemia/reperfusion-induced Heart Injury. ***Arch Pharm Res*** 2008; 31(4): 482-9.

[17] Gross GJ, Peart JN. KATP channels and myocardial preconditioning: an update. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2003; 285(3): H921–30.

[18] Peart JN, Gross GJ. Sarcolemmal and mitochondrial KATP channels and myocardial ischemic preconditioning. ***J Cell Mol Med*** 2002; 6(4): 453–64.

[19] Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marban E. Activation of the mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. ***Circulation*** 2000; 101(4): 439–45.

[20] Gross ER, Peart JN, Hsu AK, Grover GJ, Gross GJ. KATPopener-induced delayed cardioprotection:

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]

involvement of sarcolemmal and mitochondrial KATP channels, free radicals and MEK1/2. ***J Mol Cell Cardiol*** 2003; 35(8): 985–92.
[21] Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, et al. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cadioprotection: Role of antioxidant enzymes. ***J Steroid Biochem Mol Biol*** 2006; 99(4-5): 223-30.
[22] Eric BC, McClelland GB, Brooks GA. MCT1 confirmed in rat striated muscle mitochondria. ***J Appl Physiol*** 2004; 97(3): 1059–66.
[23] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. ***Anal Biochem*** 1976; 72: 248-54.
[24] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. ***Nature*** 1970; 227(5259): 680-5.
[25] Lunz W, Oliveira EC, Neves MT, Fontes EP, Dias CM, Natali AJ. Anabolic steroid- and exercise-induced cardiac stress protein (HSP72) in the rat. ***Braz J Med Biol Res*** 2006; 39(7): 889-93.
[26] Du Toit EF, Rossouw E, Rooyen JV, Lochner A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischaemia/reperfusion injury. ***Cardiovasc J S Afr*** 2005;16(1): 21-8.
[27] Powers SK, Demirel HA, Vincent HK, Coombes JS, Naito H, Hamilton KL, et al. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. ***Am J Physiol*** 1998; 275(5 Pt 2): R1468-77.
[28] Woodiwiss AJ, Trifunovic B, Philippides M, Norton GR. Effects of an androgenic steroid on exercise-induced cardiac remodeling in rats. ***J Appl Physiol*** 2000; 88(2): 409-15.
[29] Trifunovic B, Norton GR, Duffield MJ, Avraam P, Woodiwiss AJ. An androgenic steroid decreases left ventricular compliance in rats. ***Am J Physiol*** 1995; 268(3 Pt 2): H1096-105.
[30] Trifunovic B, Woodiwiss AJ, Duffield M, Norton GR. Novel attributes of an androgenic steroid-mediated increase in cardiac end diastolic stiffness in rats. ***Can J Physiol Pharmacol*** 1998; 76(6): 1–8.
[31] Hwang H, Reiser PJ, Billman GE. Effects of exercise training on contractile function in myocardial trabeculae after ischemia-reperfusion. ***J Appl Physiol*** 2005; 99(1): 230–6.
[32] Pescola MK. Reversibility of the haemodynamic effects of anabolic steroids in rats. ***Eur J Appl Physiol*** 1988; 58(1-2): 125-31.
[33] Karhunen MK, Rämö MP, Kettunen R. Anabolic steroids alter the haemodynamic effects of endurance and deconditioning of rats. ***Acta Physiol Scand*** 1988; 133(3): 297–306.
[34] Liang MT, Paulson DJ, Kopp SJ, Glonek T, Meneses P, Gierke LW, et al. Effects of anabolic steroids and endurance exercise on cardiac performance. ***Int J Sports Med*** 1993; 14(6): 324–9.
[35] Paulson DJ, Tahiliani AG. Cardiovascular abnormalities associated with human and rodent obesity. ***Life Sci*** 1992; 51(20): 1557–69.
[36] Ji LL, Fu RG, Mitchell EW, Griffiths M, Waldorp TG, Swartz HM. Cardiac hypertrophy alters myocardial response to ischaemia and reperfusion in vivo. ***Acta Physiol Scand*** 1994; 151(3): 279–90.
[37] Brown DA, Lynch JM, Armstrong CJ, Caruso NM, Ehlers LB, Johnson MS, et al. Susceptibility of the heart to ischaemia–reperfusion injury and exercise-induced cardioprotection are sex-dependent. ***J Physiol*** 2005; 564(Pt 2): 619-30.
[38] Chicco AJ, Johnson MS, Armstrong CJ, Lynch JM, Gillenwater CP, Moore RL et al. Sex-specific and exercise-acquired cardioprotection is abolished by sarcolemmal K_{ATP} channel blockade in the rat heart. ***Am J Physiol Heart Circ Physiol*** 2007; 292(5): H2432–7.
[39] Ranki HJ, Budas GR, Crawford RM, Jovanovic A. Gender-specific difference in cardiac ATP-sensitive K + channels. ***J Am Coll Cardiol*** 2001; 38(3): 906–15.
[40] Ranki HJ, Budas GR, Crawford RM, Davies AM, Jovanovic A. 17Beta-estradiol regulates expression of K(ATP) channels in heart-derived H9c2 cells. ***J Am Coll Cardiol*** 2002; 40(2): 367–74.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-25]