

تأثیر تمرین هوازی و تجویز همزمان کانابیدیول بر بیان ژن mTOR و فاکتورهای اکسایشی پروستات موش‌های نر صحرایی تغذیه شده با رژیم پرچرب

مرضیه حافظی ایردموسی^۱، ماندانا غلامی^{۲*}، حشمت الله پارسیان^۲، حسین عابدنطنزی^۱

^۱گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، ^۲گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۴/۰۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: چاقی یک عامل خطر مهم برای سرطان پروستات است، که به طور بالقوه از طریق مکانیسم‌هایی شامل استرس اکسیداتیو و مسیر سیگنالینگ mTOR (راپامایسین) عمل می‌کند. در حالی که ورزش هوازی و مکمل‌های گیاهی به عنوان اقدامات متقابل شناخته شده‌اند، اثر ترکیبی کانابیدیول (CBD) و ورزش بر این مسیرها هنوز مشخص نیست، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر تمرین هوازی و تجویز همزمان کانابیدیول بر بیان ژن mTOR و فاکتورهای اکسایشی پروستات موش‌های نر صحرایی تغذیه شده با رژیم پرچرب بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر ویستار (محدوده وزنی: 240 ± 20 گرم) به طور تصادفی به پنج گروه (تعداد=۸ در هر گروه) تقسیم شدند؛ کنترل سالم (رژیم غذایی استاندارد)، کنترل HFD، HFD+ورزش (Exe)، HFD+مکمل CBD (Sup) و HFD+ورزش+ CBD (CBD+Exe+Sup). CBD با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، پنج روز در هفته و به مدت شش هفته از طریق گاوژ تجویز شد. پروتکل ورزشی شامل دویدن روی تردمیل به مدت ۶۰ دقیقه در روز، پنج روز در هفته و به مدت شش هفته بود. چهل و هشت ساعت پس از آخرین مداخله، نمونه‌های بافت پروستات و خون جمع‌آوری شد. بیان ژن mTOR با روش RT-PCR اندازه‌گیری شد و فعالیت‌های SOD و GPX سرم با استفاده از روش‌ها الایزا ارزیابی شدند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری شاپرو-ویلک، لون، آنالیز واریانس یک‌طرفه، تعقیبی توکی، کوهن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بیان ژن mTOR پروستات فقط در گروه‌های Sup و Exe+Sup در مقایسه با گروه کنترل HFD کاهش معنی‌داری نشان داد ($p=0/023$ و $p=0/0198$ به ترتیب). فعالیت‌های SOD و GPX سرم در گروه کنترل HFD در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری کمتر بود ($p<0/0001$ برای هر دو). هر سه گروه مداخله Exe، Sup و Exe+Sup - افزایش معنی‌داری در فعالیت هر دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با گروه کنترل HFD نشان دادند ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد ورزش هوازی با شدت متوسط همراه با مکمل CBD یک استراتژی مؤثر برای کاهش بیان ژن mTOR پروستات، یک تنظیم‌کننده کلیدی تکثیر سلولی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سیستمیک در شرایط چاقی باشد. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش محافظتی بالقوه این مداخله ترکیبی در برابر تغییرات پروستات مرتبط با چاقی است.

واژه‌های کلیدی: ورزش هوازی، کانابیدیول، پروستات، رژیم غذایی پرچرب، mTOR، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.

*نویسنده مسئول: ماندانا غلامی، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی

Email: m.gholami@srbiau.ac.ir

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

چاقی به عنوان یک پاندمی جهانی، یک ریسک فاکتور مستقل و تثبیت شده برای انواع نئوپلازی‌ها، از جمله سرطان پروستات (PCa) محسوب می‌شود (۱). داده‌های اپیدمیولوژیک، اگرچه در برخی موارد متناقض بوده، حاکی از ارتباط بین شاخص توده بدنی (BMI) بالا با افزایش بروز سرطان‌های مهاجم پروستات، عود پس از درمان و مرگ و میر ناشی از این بیماری است (۲). مصرف رژیم‌های غذایی پرچرب، از طریق القای چاقی، مقاومت به انسولین و ایجاد یک محیط التهابی مزمن و سیستمیک، بستری مساعد برای کارسینوم‌ها فراهم می‌کند (۳ و ۴). این حالت التهابی از طریق تولید مزمن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به وسیله منابعی مانند زنجیره تنفسی میتوکندری، NADPH اکسیداز و مسیر اسید آراشیدونیک، منجر به آسیب اکسیداتیو به DNA، لیپیدها و پروتئین‌های سلولی شده و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با تکثیر و بقای سلولی را مختل می‌کند (۵ و ۶).

در میان این مسیرهای سیگنالینگ، مسیر *راپامایسین* نقش محوری ایفا می‌کند. mTOR یک کیناز است که به عنوان یک رگولاتور اصلی هموستاز انرژی، متابولیسم و رشد سلولی عمل می‌کند (۷). در شرایط چاقی، فاکتورهای رشد و سیگنال‌های التهابی ناشی از بافت چربی (مانند *لیپتین* و *L-6*) و همچنین هایپرانسولینمی، این مسیر را به طور غیرطبیعی فعال می‌کنند (۸ و ۹). فعال شدن بیش از حد مسیر mTOR در

پروستات، تکثیر سلولی را افزایش داده، آپوپتوز را مهار می‌کند و آنژیوژنز را تحریک می‌نماید که همگی از ویژگی‌های کلیدی پیشرفت سرطان هستند (۱۱) و (۱۰). بنابراین، مهار فعالیت غیرطبیعی این مسیر می‌تواند یک راهبرد درمانی امیدبخش برای پیشگیری یا مهار تومورزایی پروستات مرتبط با چاقی باشد.

در این راستا، تعدیل سبک زندگی به عنوان یک رویکرد غیرتهاجمی مورد توجه قرار گرفته است. فعالیت بدنی منظم، به ویژه ورزش‌های هوازی، با بهبود پروفایل متابولیک، کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب سیستمیک، می‌تواند بر مسیرهای سیگنالینگ سلولی از جمله mTOR تأثیر بگذارد (۱۲). از سوی دیگر، ترکیبات گیاهی نیز پتانسیل بالایی دارند. در میان آن‌ها، *کانابیدیول* (CBD) یکی از فراوان‌ترین فیتوکانابینوئیدهای گیاه *شاهدانه*، به دلیل خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندگی ایمنی مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۳). بررسی‌ها نشان داده‌اند که CBD می‌تواند از طریق تعدیل گیرنده‌های کانابینوئیدی (عمدتاً CB2) و نیز گیرنده‌های غیرکانابینوئیدی، استرس اکسیداتیو و مسیرهای التهابی را مهار کند (۱۴).

با این حال، اثر ترکیبی این دو مداخله قدرتمند (ورزش هوازی و مکمل‌گیری CBD) بر بیان ژن‌های کلیدی درگیر در سرطان‌زایی پروستات، مانند mTOR، و همچنین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در شرایط چاقی، به خوبی شناخته نشده است. بنابراین، مطالعه حاضر با این هدف طراحی شد که تأثیر شش هفته

تمرین هوازی با شدت متوسط را به همراه مکمل‌گیری کانابیدیول بر بیان ژن mTOR در بافت پروستات و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) در رت‌های نر تغذیه شده با رژیم پرچرب مورد بررسی قرار دهد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (با میانگین وزن اولیه 240 ± 20 گرم و سن ۱۰-۱۲ هفته) استفاده شد. حیوانات در شرایط کنترل شده (دما: 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت: 50 ± 5 درصد، چرخه نوری: ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. پس از یک دوره سازگاری دو هفته‌ای با دریافت غذای استاندارد، موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه مساوی تقسیم شدند؛ کنترل سالم (رژیم غذایی استاندارد)، کنترل HFD، HFD+ ورزش (Exe)، HFD+ مکمل CBD (Sup) و HFD+ ورزش+ CBD (CBD+Exe+Sup).

مطالعه حاضر با تأییدیه کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران و در تطابق با اصول هلسینکی و دستورالعمل‌های بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

همان‌طور که اشاره شد، حیوانات به طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند. گروه کنترل در

طول مطالعه رژیم غذایی معمولی خود را حفظ کردند، در حالی که چهار گروه دیگر به مدت چهار ماه تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند. برای ایجاد رژیم غذایی پرچرب، ۲۷ درصد چربی گیاهی جامد به رژیم غذایی استاندارد اضافه شد تا میزان چربی به ۴۰ درصد افزایش یابد. رژیم غذایی اصلاح شده ۳/۸۷ کیلوکالری در گرم تأمین می‌کرد و از ۱۹/۶ درصد پروتئین، ۴۰ درصد چربی و ۴۰/۴ درصد کربوهیدرات تشکیل شده بود. به منظور بررسی القا کبد چرب بر اساس رژیم غذایی پرچرب اجرا شده، قبل از شروع پروتکل تمرین و مکمل، ۴ سر رت یکی از گروه شاهد و سه سر از آزمودنی تحت رژیم پرچرب، به طور تصادفی با دستگاه سونوگرافی Zonecare-Q9 ساخت ووان چین با پراب مخصوص حیوانات کوچک، به وسیله دامپزشک مورد سونوگرافی کبد و احشاء قرار گرفتند، که به غیر از یک سر رت شاهد در سایر آزمونی‌ها شواهد کبد چرب قابل مشاهده بود که در گزارش سونوگرافی قید گردیده است (شکل ۱). پس از طبقه‌بندی به گروه‌های مطالعه، موش‌ها بر اساس پروتکل‌های طراحی شده، هشت هفته تحت درمان تجربی قرار گرفتند.

قبل از شروع رژیم ورزشی، همه رت‌ها یک دوره سازگاری را طی کردند تا استرس بالقوه ناشی از تجهیزات به حداقل برسد. پروتکل ورزشی شامل دویدن روی تردمیل به مدت پنج روز در هفته به مدت شش هفته بود، در حالی که رژیم غذایی پرچرب به طور هم‌زمان حفظ می‌شد. روش تمرین شامل تغییرات

تدریجی در شدت و مدت زمان بود. در طول دوره تمرین، مراحل گرم کردن و سرد کردن به مدت پنج دقیقه با سرعت ۱۰ متر در دقیقه در ابتدا و انتهای هر جلسه انجام شد. پروتکل تمرین به شرح زیر پیش رفت: هفته ۱: ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه، هفته ۲: ۱۸ متر در دقیقه به مدت ۳۵ دقیقه، هفته ۳: ۲۱ متر در دقیقه به مدت ۴۰ دقیقه، هفته ۴: ۲۳ متر در دقیقه به مدت ۴۵ دقیقه، هفته ۵: ۲۵ متر در دقیقه به مدت ۵۰ دقیقه و هفته ۶: ۲۷ متر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه.

مکمل کانابیس با استفاده از روش پرکولاسیون تهیه شد. عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ به مدت شش هفته تجویز شد. برگ‌های گیاه کانابیس با هماهنگی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه، در محیطی تاریک و بدون رطوبت خشک و با استفاده از اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال استخراج شدند. برای اطمینان از حذف کامل حلال، محلول در دستگاه تبخیر چرخشی با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۵۰ دور در دقیقه فرآوری شد. عصاره نهایی با استفاده از پمپ خلاء بیشتر تغلیظ و در ظرف شیشه‌ای در یخچال نگهداری شد. فرآیند رقیق‌سازی برای مواجهه سلولی شامل اتانول و آب مقطر بود. سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی و دوز بهینه برای این مطالعه با استفاده از روش MTT ارزیابی شد.

۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه مداخله، حیوانات پس از بیهوشی عمیق با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۵

میلی گرم بر کیلوگرم)، قربانی شدند. نمونه‌های خون از قلب گرفته شده و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، سرم جدا و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بافت پروستات نیز خارج شده، شسته شده با سالیین فسفات بافر (PBS)، برای آنالیزهای مولکولی در نیتروژن مایع منجمد شد. کلیه مراحل نمونه‌برداری و نگهداری نمونه‌ها بر اساس پروتکل استاندارد آزمایشگاه و برای جلوگیری از تخریب نمونه‌ها انجام شد.

فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) در سرم با استفاده از کیت‌های تجاری ELISA (شرکت ZellBio، آلمان) و مطابق با دستورالعمل‌های سازنده اندازه‌گیری شدند. برای اطمینان از دقت و پایایی نتایج، تمامی آزمون‌ها در دو تکرار (Duplicate) انجام شد و از منحنی استاندارد ارایه شده به وسیله کیت برای محاسبه مقادیر نهایی استفاده گردید. کنترل‌های مثبت و منفی موجود در کیت نیز در هر ران آزمایش ارزیابی شدند.

طراحی پرایمر به وسیله یک متخصص ژنتیک تکمیل و به وسیله شرکت پیشگام سنتز شد. ساختارهای ثانویه بالقوه و تشکیل دایمر پرایمر با استفاده از نرم‌افزار Primer Express 3.0 ارزیابی شدند (جدول ۱). برای تأیید اختصاصیت (روایی)، توالی‌های پرایمر تحت آنالیز BLAST قرار گرفتند تا از عدم تطابق با توالی‌های غیرهدف اطمینان حاصل شود. علاوه بر این، کارایی تکثیر

(Amplification Efficiency) هر جفت پرایمر با ساخت منحنی استاندارد و در نظر گرفتن بازه کارایی ۹۰-۱۱۰ درصد بهینه‌سازی شد.

کیفیت و خلوص RNA استخراج شده از بافت با استفاده از نسبت جذب نوری ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر (بازه قابل قبول ۰/۲-۱/۸) به وسیله دستگاه اسپکتوفتومتر ارزیابی شد. یکنواختی و یکپارچگی نمونه‌های RNA نیز با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز تأیید گردید.

برای سنتز cDNA، تمام معرف‌های کیت از دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و نمونه‌های RNA دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد خارج شدند. برای جلوگیری از تخریب RNA به وسیله RNase، کلیه مراحل در شرایط استریل و با استفاده از لوازم عاری از RNase انجام پذیرفت. پس از ذوب شدن، به تانک ازت منتقل شدند. قبل از استفاده، تمام معرف‌ها تحت ورتکس و چرخش مختصر قرار گرفتند. برای تهیه مخلوط RT، اجزای لازم - شامل بافر RT، آنزیم RT، پرایمرهای Oligo dT و آب تیمار شده با هم ترکیب شده و در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری در ۱۹ میکرولیتر آلایکوت توزیع شدند. میکروتیوب‌های حاوی مخلوط RT و نمونه‌های RNA برای چرخه دمایی در یک دستگاه ترمال سایکلر یا هیتر بلوک خشک قرار داده شدند. به منظور کنترل کیفیت فرآیند سنتز cDNA، یک نمونه کنترل بدون آنزیم ریورس ترانسکریپتاز (No-RT Control) برای هر نمونه به منظور تشخیص آلودگی ژنومی احتمالی، در نظر گرفته شد. نمونه‌های

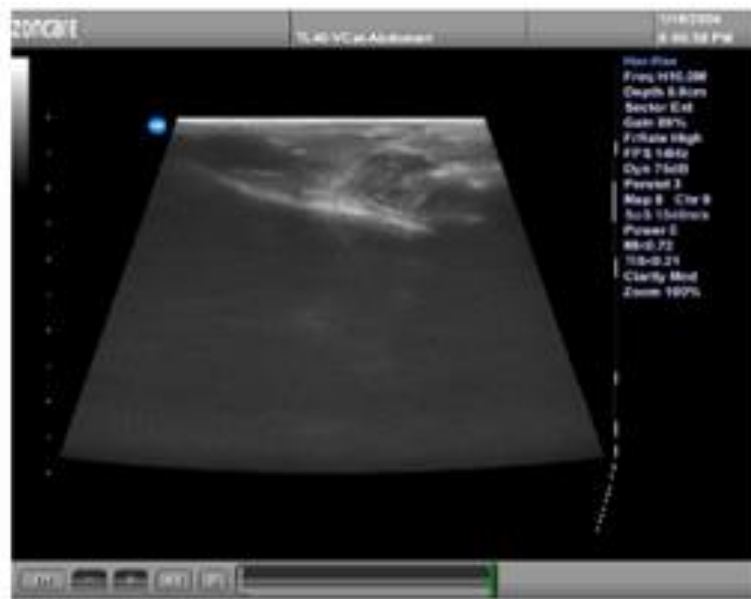
cDNA حاصل تا زمان تجزیه و تحلیل بیشتر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بیان ژن‌های مورد نظر با استفاده از روش PCR و با کیت SYBR Green در دستگاه Applied Biosystems StepOnePlus اندازه‌گیری شد. واکنش‌ها در سه تکرار تکنیکی انجام شدند. شرایط چرخه حرارتی به شرح زیر بود: مرحله اول: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای فعال‌سازی آنزیم، ۴۰ سیکل شامل: مرحله دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و مرحله اتصال/امتداد در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه. برای تأیید اختصاصیت محصولات تکثیر شده، در پایان هر ران، منحنی ذوب (Melting Curve) تولید و تحلیل شد. ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی (Endogenous Control) برای نرمال‌سازی داده‌ها استفاده گردید و آنالیز داده‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد.

کلیه مراحل آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های استاندارد عملیاتی (SOP) آزمایشگاه انجام شد. برای اطمینان از تکرارپذیری (پایایی) نتایج، تمامی آنالیزها در چندین نوبت و به وسیله یک اپراتور انجام گرفت. از کنترل‌های داخلی و استانداردهای مرجع در سراسر فرآیندهای بیوشیمیایی و مولکولی برای کنترل تغییرات بین آزمایشی استفاده شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری شاپرو-ویلک، لون، آنالیز واریانس یک‌طرفه، تعقیبی توکی، کوهن تجزیه و تحلیل شدند.

(الف)



(ب)



شکل ۱: بررسی نفوذ چربی به بافت کبد و القای چاقی به وسیله رژیم غذایی پرچرب با استفاده از تکنیک سونوگرافی. (الف) گروه کنترل سالم، (ب) گروه HFD.

جدول ۱: توالی‌های پرایمر

مشخصه	توالی	پرایمر	موقعیت روی الگو
Gene	F:5CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG3	۲۳	۶۲/۰۴
mTOR	R:5TGCTGGAAGGTGGACAGTGAGG3	۲۲	۶۴/۱۷
GAPDH	F: 5CGGGAAGACAATAACTGCACCC3		
	R:5CGGTTAGCAGTATGTTGTCCAGC3		

یافته‌ها

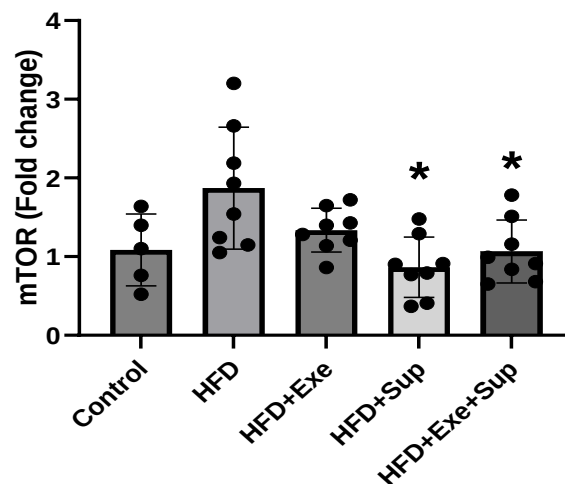
تغییرات در بیان ژن mTOR بافت پروستات در شکل ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه بین گروه‌های مختلف تحقیق در بیان ژن mTOR تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($F=4/903$, $p=0/0034$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد هر چند مقادیر بیان ژن mTOR در گروه HFD افزایش یافت، اما این افزایش نسبت به گروه کنترل سالم معنی‌دار نبود ($p>0/05$)، اما در مقایسه با گروه HFD، مداخلات مکمل کانابیدویل ($p=0/023$) و مداخله ترکیبی ورزش و کانابیدویل ($p=0/0198$) کاهش معنی‌دار در بیان ژن mTOR پروستات را نشان دادند (شکل ۲).

تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی SOD و GPX در شکل ۳ نشان داده شده است (الف و ب). بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه بین گروه‌های مختلف تحقیق در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی SOD تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($F=46/60$, $p<0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که نسبت به گروه کنترل سالم تمام گروه‌های چاق شامل HFD ($p<0/0001$)، HFD+Exe+Sup ($p=0/0013$) و HFD+Sup ($p=0/0019$) کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی SOD را نشان دادند (شکل ۳ الف). نسبت به گروه HFD، اما تمام مداخلات درمانی شامل HFD+Exe ($p<0/0001$)، HFD+Sup ($p<0/0001$)

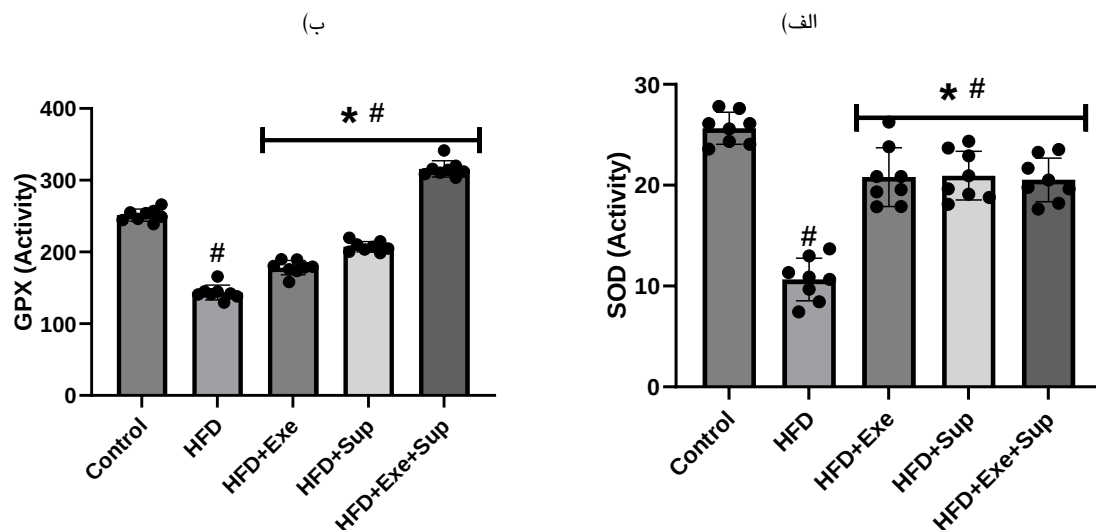
و HFD+Exe+Sup ($p<0/0001$) افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی SOD را نشان دادند. بر اساس نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه همچنین بین گروه‌های مختلف تحقیق در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی GPX تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($F=386/7$ و $p<0/0001$). نتایج آزمون تعقیبی توکی نشان داد که نسبت به گروه کنترل سالم، گروه‌های HFD ($p<0/0001$)، HFD+Sup ($p<0/0001$) و HFD+Exe+Sup ($p<0/0001$) افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی GPX را نشان دادند (شکل ۳ ب). نسبت به گروه HFD، اما تمام مداخلات درمانی شامل HFD+Exe ($p<0/0001$)، HFD+Sup ($p<0/0001$) و HFD+Exe+Sup ($p<0/0001$) افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی GPX را نشان دادند.

بررسی همبستگی پیرسون بین SOD و GPX سرمی با بیان ژن mTOR در گروه‌های مختلف تحقیق در شکل ۴ و ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده می‌شود همبستگی بین SOD سرمی با بیان ژن mTOR در گروه‌های مختلف تحقیق تأیید نشد ($p<0/05$).

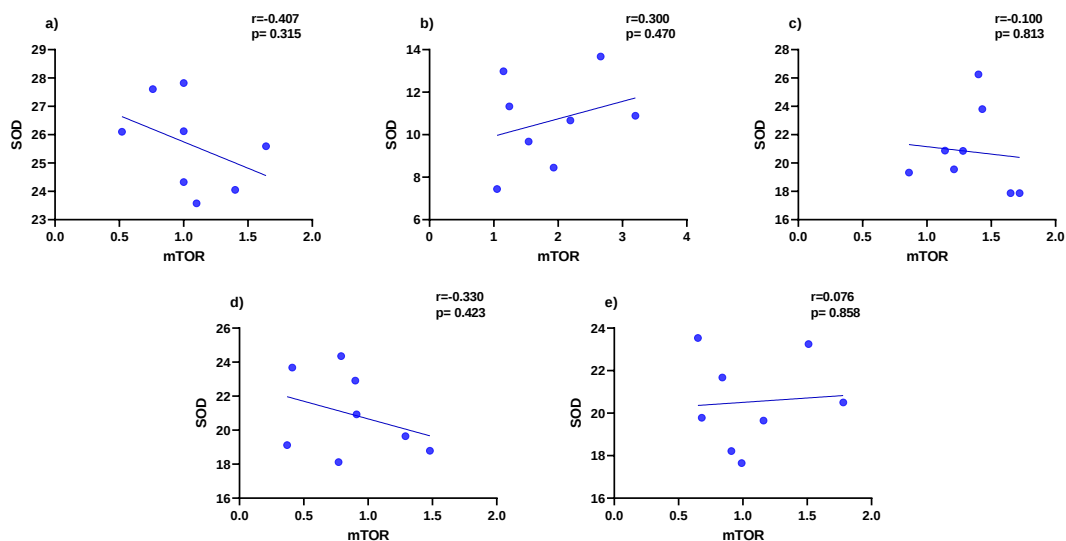
همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده می‌شود همبستگی بین GPX سرمی با بیان ژن mTOR در گروه‌های مختلف تحقیق تأیید نشد ($p>0/05$).



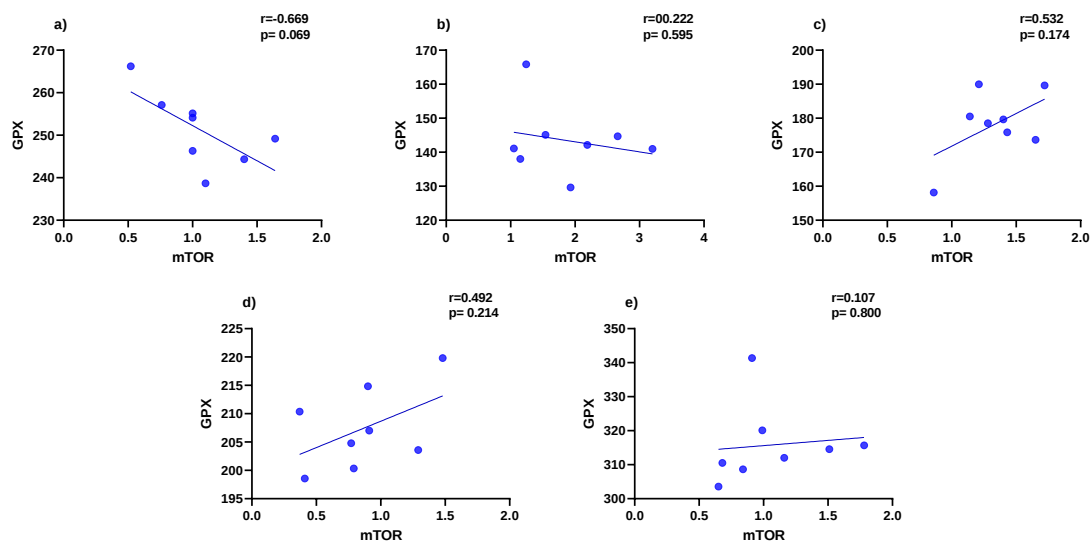
شکل ۲: بیان ژن mTOR بافت پروستات به وسیله تکنیک Real Time Pcr. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد نشان داده شده است. * نشانه معنی‌داری نسبه به گروه HFD است. Control: گروه کنترل، HFD: گروه رژیم غذایی پرچرب، HFD+Exe: گروه رژیم غذایی پرچرب+تمرین هوازی، HFD+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب+مکمل کانابیدویل، HFD+Exe+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی + مکمل کانابیدویل.



شکل ۳: تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی SOD (الف) و GPX (ب) سرمی در گروه‌های مختلف تحقیق. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد نشان داده شده است. # نشانه معنی‌داری نسبه به گروه کنترل است. * نشانه معنی‌داری نسبه به گروه HFD است. Control: گروه کنترل، HFD: گروه رژیم غذایی پرچرب، HFD+Exe: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی، HFD+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + مکمل کانابیدویل، HFD+Exe+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی + مکمل کانابیدویل.



شکل ۴: بررسی همبستگی بین SOD سرمی و بیان ژن mTOR در گروه‌های مختلف تحقیق (a: گروه کنترل، b: گروه HFD، c: گروه HFD ورزش، d: گروه HFD مکمل، e: گروه HFD ورزش و مکمل) با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد نشان داده شده است. * نشانه معنی‌داری $p < 0.05$. کنترل: گروه کنترل، HFD: گروه رژیم غذایی پرچرب، HFD+Exe: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی، HFD+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + مکمل کانابیدیول، HFD+Exe+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی + مکمل کانابیدیول.



شکل ۵: بررسی همبستگی بین GPX سرمی و بیان ژن mTOR در گروه‌های مختلف تحقیق (a: گروه کنترل، b: گروه HFD، c: گروه HFD ورزش، d: گروه HFD مکمل، e: گروه HFD ورزش و مکمل) با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد نشان داده شده است. * نشانه معنی‌داری $p < 0.05$. کنترل: گروه کنترل، HFD: گروه رژیم غذایی پرچرب، HFD+Exe: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی، HFD+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + مکمل کانابیدیول، HFD+Exe+Sup: گروه رژیم غذایی پرچرب + تمرین هوازی + مکمل کانابیدیول.

بحث

تستوسترون تام پلازما و تستوسترون آزاد به طور مثبتی با افزایش خطر هایپرپلاژی پروستات درجه پایین مرتبط دارد (۲۷). در دهه گذشته، بررسی‌های اپیدمیولوژیک متعدد نشان داده‌اند که چاقی با افزایش خطر و مرگ ناشی از انواع سرطان از جمله هایپرپلاژی پروستات مرتبط است (۲۸-۳۰). لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی تأثیر تمرین هوازی و تجویز هم‌زمان کانابیدیول بر بیان ژن mTOR و فاکتورهای اکسایشی پروستات موش‌های نر صحرایی تغذیه شده با رژیم پرچرب بود. مطالعه حاضر نشان داد که شش هفته ورزش هوازی با شدت متوسط همراه با مکمل کانابیدیول (CBD) به طور قابل توجهی بیان ژن mTOR پروستات را کاهش داده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) را در موش‌های نر چاق تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب (HFD) افزایش می‌دهد. به طور خاص، یافته‌های حاضر نشان داد که کاهش معنی‌دار در بیان ژن mTOR تنها در گروه‌های دریافت‌کننده CBD (اعم از تنها یا ترکیبی با ورزش) رخ داده است. این یافته‌ها، پژوهش‌های قبلی را که نشان می‌داد هم ورزش هوازی و هم CBD به طور مستقل استرس اکسیداتیو و التهاب را تعدیل می‌کنند (۱۷-۱۵)، تقویت می‌کند و نشان می‌دهد که ترکیب این دو مداخله در تعدیل مسیرهای مولکولی کلیدی دخیل در آسیب‌شناسی پروستات مرتبط با چاقی مؤثر است.

به خوبی مستند شده است که چاقی باعث افزایش استرس اکسیداتیو (OS) و اختلال در تنظیم مسیر سیگنالینگ mTOR می‌شود که تکثیر سلول‌های پروستات و تومورزایی را تقویت می‌کند (۱۹ و ۱۸). یافته‌های ما با مشاهداتی که نشان می‌دهد OS مرتبط با چاقی از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی، از جمله فعالیت‌های کمتر SOD و GPX، در بیماری پروستات نقش دارد (۲۰)، همسو است. ورزش هوازی با افزایش تنظیم آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا و افزایش بیرونی میتوکندری، همان‌طور که در بافت‌های عضله اسکلتی، کبد و مغز نشان داده شده است، دفاع آنتی‌اکسیدانی سیستمیک را بهبود می‌بخشد (۲۱). افزایش ناشی از ورزش در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده‌های میتوکندری مانند PGC-1 α و SIRT-1 به کاهش آسیب اکسیداتیو و بهبود هموستاز سلولی کمک می‌کند (۲۲). این مکانیسم‌ها احتمالاً زمینه‌ساز افزایش فعالیت‌های SOD و GPX سرم مشاهده شده در گروه ورزش هستند.

CBD به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی چندوجهی خود توجه زیادی را به خود جلب کرده است. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیب هم به طور مستقیم، از طریق مهار رادیکال‌های آزاد و کنترل فلزات واسطه و هم به طور غیرمستقیم، از طریق فعال‌سازی مسیر فاکتور هسته‌ای مرتبط با اریترئید ۲ (Nrf2)/Keap1، که منجر به افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی درون‌زا از جمله SOD و GPX می‌شود، اعمال می‌شود (۲۳). CBD هم‌چنین با مهار فاکتور

هسته‌ای کاپا B (NF-KB) و سیتوکین‌های پیش‌التهابی، سیگنال‌دهی التهابی را تعدیل می‌کند و به کاهش استرس اکسیداتیو و آسیب سلولی کمک می‌کند (۲۴). کاهش قابل توجه بیان mTOR تنها با مکمل CBD (چه به تنهایی و چه همراه با ورزش) که در این مطالعه مشاهده شد، شواهد قبلی در شرایط آزمایشگاهی را تأیید می‌کند که CBD تکثیر سلول‌های سرطان پروستات را مهار می‌کند و مسیرهای کلیدی مانند AKT/mTOR را که رشد و بقای سلول را کنترل می‌کنند، سرکوب می‌کند (۲۶ و ۲۵).

مداخله ترکیبی ورزش و CBD بیشترین اثرات را بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد. با این حال، از آنجایی که کاهش بیان mTOR به طور خاص وابسته به حضور CBD بود، به نظر می‌رسد ورزش و CBD از طریق مکانیسم‌های تا حدی مستقل عمل می‌کنند. این تفسیر با یافته عدم همبستگی معنی‌دار بین سطوح سرمی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن mTOR در بافت پروستات تقویت می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که اگر چه هر دو مداخله بر سیستم آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارند، اما اثر مهار CBD بر بیان mTOR احتمالاً مستقیماً از طریق تعامل با مسیرهای سیگنالینگ سلولی مرتبط با رشد و تکثیر صورت می‌گیرد و نه صرفاً از طریق کاهش استرس اکسیداتیو سیستمیک. بنابراین، مداخله ترکیبی با هدف قرار دادن هم‌زمان، اما مستقل مسیرهای اکسیداتیو و مسیرهای رشد سلولی، می‌تواند یک استراتژی چندوجهی مؤثر باشد.

به طور خلاصه، این مطالعه نشان می‌دهد که مکمل CBD (به تنهایی یا همراه با ورزش) یک عامل کلیدی در کاهش بیان ژن mTOR پروستات است، در حالی که هر دو مداخله ورزش و CBD به طور مستقل و ترکیبی، دفاع آنتی‌اکسیدانی سیستمیک را تقویت می‌کنند. این یافته‌ها بینش‌های مکانیکی در مورد چگونگی همکاری بالقوه سبک زندگی و درمان‌های گیاهی برای مقابله با اختلال عملکرد پروستات ناشی از چاقی ارائه می‌دهد.

محدودیت‌ها شامل؛ مدت زمان مطالعه، شدت‌های مختلف تمرینی، عدم بررسی مکانیزم‌های دقیق‌تر و دوز مکمل کانابیس می‌باشد، لذا پیشنهاد می‌شود بر روی جوامع انسانی تعمیم پذیرد، افزایش مدت زمان پژوهش، بررسی شدت‌های مختلف تمرینی، تحلیل دقیق‌تر مکانیسم مولکولی، استاندارد سازی نوع و دوز مکمل کانابیس انجام شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مکمل‌دهی کانابیدیول (چه به تنهایی و چه در ترکیب با ورزش هوازی) در کاهش بیان ژن mTOR در بافت پروستات موش‌های چاق نقش اصلی را ایفا می‌کند. از سوی دیگر، هم ورزش هوازی و هم مکمل‌دهی CBD به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX را افزایش می‌دهند. این مداخله ترکیبی، با تأثیرگذاری بر دو مسیر مستقل مولکولی (سیگنالینگ رشد سلولی و دفاع

IR.IAU.SRB.REC.1403.136 از دانشگاه علوم و تحقیقات
می‌باشد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان این مقاله در تمامی مراحل همکاری
و مشارکت داشته‌اند. (مرضیه حافظی ایرد موسی،
ماندانا غلامی، حشمت الله پارسیان، حسین عابد
نطنزی.)

آنتی‌اکسیدانی)، یک رویکرد چندوجهی امیدوارکننده
برای کاهش استرس اکسیداتیو سیستمیک و مهار
سیگنال‌دهی تکثیری در پروستات در شرایط چاقی
ارائه می‌دهد. پژوهش‌های بیشتر برای بررسی پتانسیل
کاربردی این یافته‌ها در محیط‌های بالینی و همچنین
واکاوی دقیق‌تر مکانیسم‌های مستقل و احتمالی مشترک
این دو مداخله ضروری است.

تقدیر و تشکر

پژوهشگران این مطالعه بر خود لازم دانستند از
کارکنان آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و
تحقیقات تهران و همچنین تمام کسانی که در تحقق این
هدف بنده را یاری نموده‌اند نهایت قدردانی و تشکر به
عمل آورند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض
منافعی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

حمایت مالی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی
دانشگاه علوم و تحقیقات به انجام رسیده است.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله منتج از پایان‌نامه مقطع دکتری رشته
فیزیولوژی ورزشی با کد اخلاق

REFERENCES

1. Saha A, Kolonin MG, DiGiovanni J. Obesity and prostate cancer—microenvironmental roles of adipose tissue. *Nature Reviews Urology* 2023; 20(10): 579-96.
2. Tzenios N, Tazanios ME, Chahine M. The impact of body mass index on prostate cancer: An updated systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2022; 101(45): e30191.
3. Lathigara D, Kaushal D, Wilson RB. Molecular mechanisms of western diet-induced obesity and obesity-related carcinogenesis—A narrative review. *Metabolites* 2023; 13(5): 675.
4. Malesza IJ, Malesza M, Walkowiak J, Mussin N, Walkowiak D, Aringazina R, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells* 2021; 10(11): 3164.
5. Korbecki J, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Chlubek D. The effect of reactive oxygen species on the synthesis of prostanoids from arachidonic acid. *J Physiol Pharmacol* 2013; 64(4): 409-21.
6. Juan CA, Pérez de la Lastra JM, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences* 2021; 22(9): 4642.
7. Yang M, Lu Y, Piao W, Jin H. The translational regulation in mTOR pathway. *Biomolecules* 2022; 12(6): 802.
8. Khamzina L, Veilleux A, Bergeron S, Marette A. Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: possible involvement in obesity-linked insulin resistance. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1473-81.
9. Kaur A, Sharma S. Mammalian target of rapamycin (mTOR) as a potential therapeutic target in various diseases. *Inflammopharmacology* 2017; 25(3): 293-312.
10. Roudsari NM, Lashgari NA, Momtaz S, Abaft S, Jamali F, Safaiepour P, et al. Inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR pathway in prostate cancer chemoprevention and intervention. *Pharmaceutics* 2021; 13(8): 1195.
11. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nature reviews Molecular Cell Biology* 2011; 12(1): 21-35.
12. Agostini D, Natalucci V, Baldelli G, De Santi M, Donati Zeppa S, Vallorani L, et al. New Insights into the role of exercise in inhibiting mTOR signaling in triple-negative breast cancer. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2018; 2018(1): 5896786.
13. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants* 2019; 9(1): 21.
14. Graczyk M, Lewandowska AA, Dzierżanowski T. The therapeutic potential of cannabis in counteracting oxidative stress and inflammation. *Molecules* 2021; 26(15): 4551.
15. Moreira RJ, Oliveira PF, Spadella MA, Ferreira R, Alves MG. Do lifestyle interventions mitigate the oxidative damage and inflammation induced by obesity in the testis? *Antioxidants* 2025; 14(2): 150.
16. D'Almeida TZ, Gomes MJ, Engel LE, Giometti IC, Ferreira NZ, Stuaní R, et al. Effects of high-intensity interval training on physical performance, systolic blood pressure, oxidative stress and inflammatory markers in skeletal muscle of spontaneously hypertensive rats. *PLoS One* 2025; 20(2): e0316441.
17. Huang C, Liang H, Liang X, Liu Y, Wang J, Jiang H, et al. The protective role of cannabidiol in stress-induced liver injury: modulating oxidative stress and mitochondrial damage. *Frontiers in Pharmacology* 2025; 16: 1567210.
18. Santos-Pereira M, Pereira SC, Rebelo I, Spadella MA, Oliveira PF, Alves MG. Decoding the influence of obesity on prostate cancer and its transgenerational impact. *Nutrients* 2023; 15(23): 4858.
19. Fowke JH, Motley SS, Concepcion RS, Penson DF, Barocas DA. Obesity, body composition, and prostate cancer. *BMC Cancer* 2012; 12(1): 23.
20. Song Y, Hou Z, Zhu L, Chen Y, Li J. Oxidative stress as a catalyst in prostate cancer progression: unraveling molecular mechanisms and exploring therapeutic interventions. *Discover Oncology* 2025; 16(1): 1-14.
21. Arena SK, Doherty DJ, Bellford A, Hayman G. Effects of Aerobic Exercise on Oxidative Stress in Patients Diagnosed with Cancer: A Narrative Review. *Cureus*. 2019 Aug 13;11(8):e5382. doi: 10.7759/cureus.5382. PMID: 31616613; PMCID: PMC6786842.
22. Sanayei M, Hajizadeh-Sharafabad F, Amirsasan R, Barzegar A. High-intensity interval training with or without *Chlorella vulgaris* supplementation in obese and overweight women: effects on

- mitochondrial biogenesis, performance and body composition. *British Journal of Nutrition* 2022; 128(2): 200-10.
23. Pereira SR, Hackett B, O'Driscoll DN, Sun MC, Downer EJ. Cannabidiol modulation of oxidative stress and signalling. *Neuronal Signaling* 2021; 5(3): NS20200080.
24. Jîtcă G, Ōsz BE, Vari CE, Rusz C-M, Tero-Vescan A, Puşcaş A. Cannabidiol: bridge between antioxidant effect, cellular protection, and cognitive and physical performance. *Antioxidants* 2023; 12(2): 485.
25. O'Reilly E, Khalifa K, Cosgrave J, Azam H, Prencipe M, Simpson JC, et al. Cannabidiol inhibits the proliferation and invasiveness of prostate cancer cells. *Journal of natural products*. 2023; 86(9): 2151-61.
26. Mould RR, Botchway SW, Parkinson JR, Thomas EL, Guy GW, Bell JD, et al. Cannabidiol modulates mitochondrial redox and dynamics in MCF7 cancer cells: A study using fluorescence lifetime imaging microscopy of NAD (P) H. *Frontiers in Molecular Biosciences* 2021; 8: 630107.
27. Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69-90. DOI: 10.3322/caac.20107
28. Renehan, A. G., et al. (2008). Body-mass index and incidence of cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *The Lancet*. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60269-X
29. Masko, E. M., et al. (2013). The relationship between nutrition and prostate cancer: Is more always better? *European Urology*. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.11.012
30. Buschemeyer, W. C., et al. (2007). Obesity and prostate cancer: Epidemiology and clinical implications. *European Urology*. doi: 10.1016/j.eururo.2007.04.069. Epub 2007 May 2.

Combined Effects of Aerobic Exercise and Cannabidiol Supplementation on Prostate mTOR Gene Expression and Oxidative Stress Markers in High-Fat Diet-Induced Obese Male Rats

Hafezi Eirdmoussa M¹, Gholami M^{1*}, Parsian H², Abed-Natanzi H¹

¹Department of Physical Education and Sports Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran, ²Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahr-E- Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received Date: 08 Sep 2025 Accepted Date: 04 Nov 2025

Abstract

Background & aim: Obesity is a well-established risk factor for prostate cancer, potentially mediated through oxidative stress and dysregulation of the mTOR signaling pathway. While aerobic exercise and phytochemicals like cannabidiol (CBD) are known to mitigate these risks, their combined therapeutic efficacy remains underexplored. This study aimed to investigate the effects of a 6-week moderate-intensity aerobic exercise protocol and CBD supplementation on prostate mTOR gene expression and serum antioxidant enzyme activities (SOD and GPX) in male rats fed a high-fat diet (HFD).

Methods: Forty male Wistar rats (240±20 g) were randomly assigned to five groups (n=8): 1) Healthy Control (standard diet); 2) HFD Control; 3) HFD + Exercise (Exe); 4) HFD + CBD (Sup); and 5) HFD + Exercise + CBD (Exe+Sup). CBD was administered orally (100 mg/kg) five days per week for six weeks. The exercise group underwent treadmill running (60 min/day, 5 days/week) for the same duration. Following the 6-week intervention, prostate tissues and blood samples were collected. Prostate mTOR gene expression was quantified using Real-Time PCR, and serum superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) activities were measured via ELISA kits.

Results: Prostate mTOR expression was significantly downregulated in the Sup (p=0.023) and Exe+Sup (p=0.019) groups compared to the HFD Control group. Conversely, serum SOD and GPX activities were significantly reduced in the HFD Control group relative to the Healthy Control (p<0.001). All intervention groups (Exe, Sup, and Exe+Sup) demonstrated a significant restoration of SOD and GPX activities compared to the HFD Control group (p<0.05). Notably, the combination of exercise and CBD showed the most pronounced effects on antioxidant markers.

Conclusion: The combined intervention of aerobic exercise and CBD supplementation effectively downregulated prostate mTOR gene expression and enhanced systemic antioxidant defenses in obese rats. These findings suggest that this dual approach may offer a synergistic protective effect against obesity-induced prostatic oxidative stress and carcinogenesis-related signaling pathways.

Keywords: Cannabidiol, Aerobic Exercise, mTOR Signaling, Oxidative Stress, Prostate Health, High-Fat Diet, Obesity.

*Corresponding author: Gholami M, Department of Physical Education and Sport Sciences, Shahr-E- Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email: m.gholami@srbiau.ac.ir

Please cite this article as follows: Hafezi Eirdmoussa M, Gholami M, Parsian H, Abed-Natanzi H. Combined Effects of Aerobic Exercise and Cannabidiol Supplementation on Prostate mTOR Gene Expression and Oxidative Stress Markers in High-Fat Diet-Induced Obese Male Rats. Armaghane-danesh 2025; 30(6): 851-865.

The scientific research journal Armaghan Danesh, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal