

## اثرات تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کورکومین بر بیان کاسپاز ۳ و میکروRNAهای آپوپتوزی بافت قلب موش‌های صحرایی در مواجهه با آرسنیک ابوالفضل مجیدی<sup>۱</sup>، رقیه پوزش جدیدی<sup>۲</sup>، میرعلی رضا نورآذر<sup>۳</sup>، جبار بشیری<sup>۴</sup>، کریم آزالوف<sup>۵</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۳. استادیار، گروه دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۴. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت‌بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۵. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۸

### چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تمرین‌های تناوبی شدید (HIIT) و مصرف مکمل کورکومین بر مقدار کاسپاز سه و بیان miR-1 و miR-133 بافت قلبی موش‌های صحرایی در مواجهه با آرسنیک انجام شد. بدین‌منظور ۴۸ موش صحرایی نر ۱۶ هفته‌ای با وزن  $24/77 \pm 340/31$  گرم به شش گروه شامل آرسنیک-تمرین، آرسنیک-کورکومین، آرسنیک-توأم (شامل آرسنیک - تمرین - کورکومین)، آرسنیک، کنترل اتانول و کنترل معمولی تقسیم شدند. آرسنیک روزانه با دوز پنج (میلی‌گرم/وزن بدن و کورکومین با دوز روزانه ۱۵ (میلی‌گرم/وزن بدن به مدت شش هفته استفاده شد. تمرین HIIT به مدت شش هفته (پنج روز در هفته) شامل ۶۰ دقیقه دویدن تناوبی در هر جلسه (هر تناوب شامل چهار دقیقه دویدن با شدت ۸۵-۹۰ درصد  $v\text{VO}_{2\text{max}}$  و دو دقیقه ریکاوری فعال با شدت ۶۰-۵۰ درصد) انجام شد. سنجش کاسپاز سه به روش وسترن بلات و مقدار بیان ژنی به روش RT-PCR انجام شد. یافته‌ها نشان داد در گروه آرسنیک بیان ژن miR-1 ( $P = 0.001$ ) و محتوای کاسپاز سه ( $P = 0.001$ ) بیشتر و بیان ژن miR-133 کمتر از گروه کنترل معمولی بود ( $P = 0.001$ ). با اینکه در گروه آرسنیک-تمرین تفاوتی در بیان ژن‌های miR-1

1. Email: abolfazlmajidi79@gmail.com

2. Email: poozesh2016@gmail.com

3. Email: nourazar@iaut.ac.ir

4. Email: bashiri.jabbar@gmail.com

5. Email: azalof@gmail.com

miR-133 و (P = 0.45) و محتوای کاسپاز سه (P = 0.20) و محتوای کاسپاز سه (P = 0.26) در مقایسه با گروه آرسنیک مشاهده نشد، در گروه آرسنیک-کورکومین مقدار کاسپاز سه از گروه آرسنیک کمتر بود (P = 0.001)، اما در گروه آرسنیک-توأم، بیان ژن miR-1 (P = 0.042) و محتوای کاسپاز سه (P = 0.001) کمتر و بیان ژن miR-133 بیشتر (P = 0.010) از گروه آرسنیک بود. مواجهه با آرسنیک از طریق تغییر بیان miR-133 و miR-1 کاردیومیوسیت‌ها را مستعد آپوپتوز دخیل در بیماری‌های قلبی می‌کند. درحالی‌که تمرین بدنی قادر به فرونشاندن کامل آثار سوء آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها نیست، به‌جای آن مکمل کورکومین و عمدتاً اثر توأم فواید بهتری دارد، اما به‌دلیل نبود شواهد مشابه و محدودیت‌های پژوهش انجام‌دادن پژوهش‌های بیشتر لازم است.

**واژگان کلیدی:** آرسنیک، تمرین تناوبی شدید، کورکومین، میوکارد، آپوپتوز، میکروRNA.

## مقدمه

آرسنیک یک ماده فلزی طبیعی تهدیدکننده سلامتی است که در کشاورزی به‌کار می‌رود و در بسیاری از کشورها موجب آلودگی آب آشامیدنی می‌شود. این ماده از طریق مهار حدود ۲۰۰ آنزیم درگیر در مسیرهای انرژی و سنتز و ترمیم DNA، آثار سمی بر بافت‌های حیاتی از جمله قلب دارد (۱). نارسایی میتوکندری، فعال‌سازی کاسپاز، پیام‌رسانی مسیر MAPK<sup>۱</sup> و p53<sup>(۲)</sup>، افزایش بیان TGF-β1<sup>۲</sup>، افزایش نسبت پروتئین‌های Bax<sup>۳</sup> به Bcl-2<sup>۴</sup> و فسفوریلاسیون ERK1/2<sup>۵</sup> (۳) به‌عنوان مسیرهای احتمالی ایجاد آپوپتوز ناشی از آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها پیشنهاد شده‌اند. در مجموع آرسنیک می‌تواند از طریق استرس اکسایشی و همچنین فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی MAPK، JNK<sup>۶</sup>، تجمع کلسیم و استرس شبکه اندوپلاسمی به آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها منجر شود که از بین آن‌ها القای آپوپتوز توسط آرسنیک بیشتر به بروز استرس اکسایشی مربوط است (۲). از سویی با اینکه بروز آپوپتوز در عضله قلب انسان سالم نادر است (حدود ۰/۰۱ تا ۰/۰۰۱ درصد)، در شرایط نارسایی قلبی انسانی، شیوع آپوپتوز در حدود ۰/۱۲ تا ۰/۷ درصد است (۴) که به‌دلیل قابلیت محدود کاردیومیوسیت‌ها برای تکثیر، این مقدار بسیار کم نیز اثرهای برجسته‌ای دارد (۵)؛ برای مثال، ۰/۱ درصد آپوپتوز می‌تواند به کاهش ۳۷ درصدی تعداد کاردیومیوسیت‌ها در مدت یک سال

1. Mitogen-Activated Protein Kinase
2. Transforming Growth Factor Beta 1
3. Apoptosis Regulator BAX, also Known as bcl-2-Like Protein 4
4. B-cell Lymphoma 2
5. Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase 1/2
6. c-Jun N-Terminal Kinase

منجر شود (۶)؛ بنابراین، هرگونه دستکاری مؤثر بر تغییر آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها، در پاتوژنز و درمان بیماری‌های قلبی اهمیت بسیار زیادی دارد.

در این راستا ورزش منظم اثرات مثبتی بر کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی دارد که به‌تازگی در پژوهش‌های زیادی تأثیر فعالیت بدنی به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر مداخلات بر آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها تأیید شده است (۸، ۷) از سوی، تمرینات تناوبی شدید (HIIT)<sup>۱</sup> با دارا بودن فواصل استراحتی مناسب، حجم کمتر و بهره‌وری زمانی بیشتر، انتخاب بهتری در مقایسه با تمرین‌های تداومی سنتی برای بیماران هستند. اگرچه باز یافت میوکارد آسیب‌دیده را بهبود می‌بخشند (۹)، هنوز چگونگی اثرات این تمرین‌ها بر تغییر شرایط آپوپتوز قلب در شرایط پاتولوژیک ناشی از مواجهه با پاتوژن‌هایی چون آرسنیک شفاف‌سازی نشده است؛ این موضوع به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد.

همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از اثرات سمی آرسنیک جلوگیری کنند که در این راستا در پژوهش‌های گذشته از نقش کورکومین (یک پلی‌فنول مشتق از گیاه زردچوبه) در جلوگیری و بهبود آسیب‌های ناشی از آرسنیک حمایت شده است (۱۰). کورکومین به‌واسطه تأثیر بر مسیرهای NF- $\kappa$ B و JNK، دستکاری مسیر TLR<sup>۳</sup> و همچنین افزایش اتوفاژی، بازداری از استرس اکسایشی (۱۱)، تأثیر بر مسیرهای نسخه‌برداری، فسفوریلاسیون JNK، تغییر روند آپوپتوز از طریق مسیر پیام‌رسانی PI3K<sup>۴</sup>/Akt<sup>۵</sup>، کاهش ناقل‌های فسفات و افزایش بیان هم‌اکسیژناز-یک از مرگ کاردیومیوسیت‌ها جلوگیری می‌کند (۱۰). همچنین چندین پژوهش نشان داده‌اند که کورکومین سبب تنظیم چندین مولکول دخیل در مسیر پیام‌رسانی آپوپتوز سلولی شامل NF- $\kappa$ B، Akt، MAPK، P53، Nrf2<sup>۶</sup>، Notch-1<sup>۷</sup>، JAK/STAT،  $\beta$ -catenin و AMPK می‌شود و احتمالاً باید تا اندازه‌ای سبب جلوگیری از پیشرفت بیماری شود (۱۲)؛ با این حال، تاکنون درباره اثرات محافظتی توأم کورکومین و تمرین‌های بدنی در برابر آسیب‌های ناشی از آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها اطلاعات مستقیمی فراهم نشده است.

از سوی میکروRNAها (miRNAs) توالی‌های کوتاه ۱۹-۲۳ نوکلئوتیدی هستند که به‌وسیله کنترل بیان ژن‌های مختلف به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی بسیاری از فرایندهای بیولوژیک مانند رشد، نمو و

- 
1. High-Intensity Interval Training
  2. Nuclear Factor- $\kappa$ B
  3. Toll-Like Receptor 2
  4. Phosphoinositide 3-Kinase
  5. Protein Kinase B (PKB), Also Known as Akt
  6. Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2
  7. Neurogenic Locus Notch Homolog Protein 1

تمایز سلولی و آپوپتوز عمل می‌کنند. تصور می‌شود که مواجهه با آرسنیک نیز با تغییر بیان miRNAها به ایجاد آثار نامطلوب در بدن منجر می‌شود؛ البته تعداد پژوهش‌های مربوط به پاسخ miRNAها در مواجهه با آرسنیک در شرایط *in vivo* بسیار اندک است (۱۳). در پژوهش استورچیو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴) مواجهه با آرسنیک سبب تغییر بیان حداقل تعداد هشت میکروRNA از بین ۳۶ میکروRNA دخیل در تغییر چرخه سلولی شد (۱۴). از این بین، برخی پژوهش‌ها افزایش بیان برخی میکروRNAها مانند miRNA-1 و miRNA-133 را با تغییر ساختار سلول‌های قلبی (۱۵، ۳) مرتبط دانسته‌اند. همچنین miR-1 در فعال‌سازی آپوپتوز از طریق کاهش بیان HSP60<sup>۲</sup> و HSP70 شرکت می‌کند؛ درحالی‌که miR-133 با کاهش بیان کاسپاز ۳ سبب ممانعت از آپوپتوز قلب می‌شود (۱۶)؛ بنابراین، به نظر می‌رسد بررسی مقدار بیان این میکروRNAها می‌تواند به شفاف‌سازی سازوکارهای آپوپتوز کاردیومیوسیتی ناشی از آرسنیک و همچنین تعیین اثرات احتمالی حاصل از تمرین بدنی و مصرف مکمل کورکومین کمک کند.

بدین ترتیب با توجه به نبود اطلاعات مستقیم درباره اثرات تمرین هوازی و مصرف کورکومین بر آپوپتوز و miRNA-1 و miRNA-133 بافت قلبی در مواجهه با آرسنیک، این پژوهش روی موش‌های صحرایی انجام شد که نوآوری خاص داشته باشد و به‌طور قطع می‌تواند زمینه‌ساز انجام‌شدن پژوهش‌های بسیار بیشتری در آینده باشد.

### روش پژوهش

در مطالعه حاضر، نوع پژوهش از لحاظ هدف، بنیادی-توسعه‌ای و روش پژوهش از نوع تجربی است و براساس میزان نظارت و درجه کنترل، از نوع پژوهش‌های آزمایشگاهی است. پس از تصویب طرح همین پروتکل پژوهشی در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز با شناسه IR.IAU.TABRIZ.REC. 1398. 098 در تاریخ ۱۳۹۸/۱۰/۱۰، ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۳۰۰ تا ۳۷۰ گرم ( $24/77 \pm 340/31$  گرم) بررسی شدند. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، سه سر موش صحرایی در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و غذا و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری نگهداری شدند. درجه حرارت اتاق در محدوده  $2 \pm$  درجه سانتی‌گراد حفظ شد و شرایط نگهداری و کار با حیوانات براساس توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام گرفت.

1. Sturchio
2. Heat Shock Protein 60

موش‌های صحرایی ابتدا به شش گروه شامل آرسنیک-تمرین، آرسنیک-کورکومین، آرسنیک-توأم (شامل آرسنیک-تمرین-کورکومین)، آرسنیک، کنترل اتانول و کنترل معمولی (کنترل آب مقطر) تقسیم شدند. چهار گروه از کل موش‌های صحرایی شامل گروه‌های تمرین ورزشی تناوبی با شدت زیاد (HIIT)، مکمل کورکومین، توأم (شامل تمرین و مکمل) و آرسنیک به مدت شش هفته از طریق آب آشامیدنی تحت مواجهه با آرسنیک تری‌اکسید با دوز (پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حل شده در چهار میلی‌لیتر آب مقطر در روز) قرار گرفتند که هر روز دو بار (که در هر وهله نصف دوز) به صورت گاواژ خوراکی (براساس تأیید کارایی این پروتکل در محافظت از آثار سمی آرسنیک در قلب) استفاده شد (۱۷). به دلیل اینکه کورکومین در اتانول حل شد، برای تعیین اثر اتانول، گروه اتانول کنترل نیز در نظر گرفته شد. کورکومین خریداری شده از شرکت سیگما آلدریچ (C1386 Sigma Aldrich) روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (۱۸) به صورت حل شده در چهار میلی‌لیتر آب مقطر) در طی دو وهله (که در هر وهله نصف دوز مصرف شد)، به صورت گاواژ خوراکی مصرف شد (بر مبنای تأیید کارایی این دوز در پژوهش‌های گذشته در سایر بافت‌ها). لازم است ذکر شود که برای ایجاد وحدت رویه، آرسنیک در هر جلسه یک ساعت پس از کورکومین مصرف شد.

ابتدا موش‌های صحرایی به مدت یک هفته در طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت هشت تا ۱۰ متر بر دقیقه روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. گفتنی است به منظور آشنا کردن رت‌ها با پروتکل‌های اصلی، شیب نوار گردان به تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسه‌های چهارم و پنجم به شیب ۲۵ درجه رسید. در ادامه با توجه به نبود دسترسی به دستگاه تجزیه و تحلیلگر گازهای تنفسی، از پروتکل غیرمستقیم فعالیت روی نوار گردان با شیب ۲۵ درجه به منظور برآورد توان هوازی استفاده شد؛ بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت کم، آزمون دوییدن شروع شد و سرعت نوار گردان هر دو دقیقه یک بار به ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸ تا ۲ متر بر دقیقه) افزایش یافت تا جایی که موش‌های صحرایی‌ها دیگر قادر به دوییدن نباشند. سرعت رسیدن به  $VO_{2max}$  ( $v VO_{2max}$ ) به عنوان سرعت حداکثر تعریف شد (۱۹).

پروتکل تمرین ورزشی با شدت زیاد: موش‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین به مدت پنج دقیقه با سرعت پنج متر بر دقیقه گرم کردند و شیب نوار گردان در تمام طول دوره تمرینی ۲۵ درجه بود (۲۰). در مجموع شش هفته، تعداد جلسات تمرین پنج روز در هفته بود (۲۱) که هر جلسه شامل ۶۰ دقیقه دوییدن تناوبی روی نوار گردان با شیب ۲۵ درجه بود. در هفته اول هر تناوب شامل چهار دقیقه دوییدن با سرعت نوار گردان حدود ۱۷ متر بر دقیقه (معادل شدت ۹۰-۸۵ درصد از  $VO_{2max}$ ) و دو دقیقه ریکاوری فعال با سرعت نوار گردان در حدود هشت متر بر دقیقه (معادل

شدت ۶۰-۵۰ درصد  $\dot{V}O_{2max}$  بود (۲۲، ۲۳) که در هفته‌های بعدی سرعت دویدن هر هفته به میزان ۰/۰۲ متر بر ثانیه افزایش یافت.

دو روز پس از پایان مداخله، موش‌های صحرایی تشریح شدند. برای تشریح ابتدا بی‌هوشی با کتامین (۱۵۰ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۱۵ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) انجام شد و در ادامه پس از شکافتن و کنارزدن بافت‌های سطحی، قلب خارج شد.

استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هموزن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بافت در یک میلی لیتر بافر انجام شد. نمونه‌های هموزن به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ روی یخ سانتریفیوژ شدند. سپس بخش سطحی سانتریفیوژ جمع‌آوری شد و تا زمان تحلیل در دمای ۸۰- درجه نگهداری شد. پروتئین نمونه‌های استخراجی (۴۰ میکروگرم در هر ستون ژل) با ژل الکتروفورز پلی‌آکریلامید SDS ۱۰ درصد جداسازی شد (SDS-PAGE) که از طریق دستگاه انتقال به غشای<sup>۱</sup> PVDF (Millipore, Bedford, MA, 0.45  $\mu$ m pore size) منتقل شد و سپس در بافر TBS با شیر خشک پنج درصد انکوبه شد.

در این پژوهش مقدار کاسپاز سه به عنوان پروتئین عملگر نهایی آپوپتوز اندازه‌گیری شد. بدین منظور آنتی‌بادی اولیه کاسپاز سه (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) در بافر متصل‌شونده به آنتی‌بادی در طول شب در دمای چهار درجه با غلظت یک به ۵۰۰ رقیق‌سازی شد. سپس نمونه‌های ایمنوبلات سه بار در بافر TBS به مدت ۱۰ دقیقه شست‌وشو شدند و سپس در محلول آنتی‌بادی ثانوی به‌طور رقیق‌شده با نسبت یک به ۵۰۰ به مدت یک ساعت انکوبه شدند. در ادامه پروتئین‌های ایمنوبلات‌شده پس از سه بار شست‌وشو در بافر TBS، با استفاده از معرف لومینال ECL (Santa Cruz Biotechnology) آشکارسازی شدند. سپس بعد از پوشانده شدن با ورقه ناپلونی، فیلم رادیوگرافی در معرض نور لومینسانس قرار داده شد (۲۴) و چگالی باندها بعد از نرمال کردن با بتا اکتین با استفاده از نرم‌افزار (Maryland, USA, Image J) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری مقدار میکروRNAها ابتدا از معرف TRIZOL برای به‌دست‌آوردن RNAها از نمونه سرم (۲۵۰ میکرولیتر در هر نمونه) استفاده شد. سپس مقدار پنج نانومول بر لیتر از Caenorhabditis Elegans miR-39 (cel-miR-39) ساخت شرکت applied biosystems, USA به تمام نمونه‌های سرم اضافه شد. پس از آن آنالیز اسپکتوفتومتری در طیف ۲۶۰ نانومتر برای ارزیابی غلظت نهایی RNA موجود در هر نمونه انجام شد و سپس نمونه‌های موجود در دمای ۸۰- درجه فریز شدند. مقدار بیان هر یک از انواع میکروRNAها در زمان تحلیل با استفاده از معرف‌ها

1. Polyvinylidene Difluoride  
2. Tris-Buffered Saline

TaqMan miRNA qRT-PCR و پرایمرها (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) تعیین شد. نمونه‌های جداسازی شده (RNA) به‌طور معکوس برای به‌دست‌آوردن cDNA با استفاده از TaqMan® miRNA Reverse Transcription Kit L و پرایمرهای ویژه miRNA-specific stem-loop primers طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) نسخه‌برداری شدند. سپس Real-Time PCR با استفاده از پرایمرها و کیت ویژه انجام شد. توالی پرایمرهای استفاده‌شده (۲۵) در جدول شماره یک اشاره شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده‌شده در PCR  
Table 1- Sequence of Primers Used in This Study

miR-1	5'-ACACTCCAGCTGGGTGGAATGTAAAGAAGT-3'
miR-133	5'-ACACTCCAGCTGGGTTTGGTCCCCTTCAAC-3'

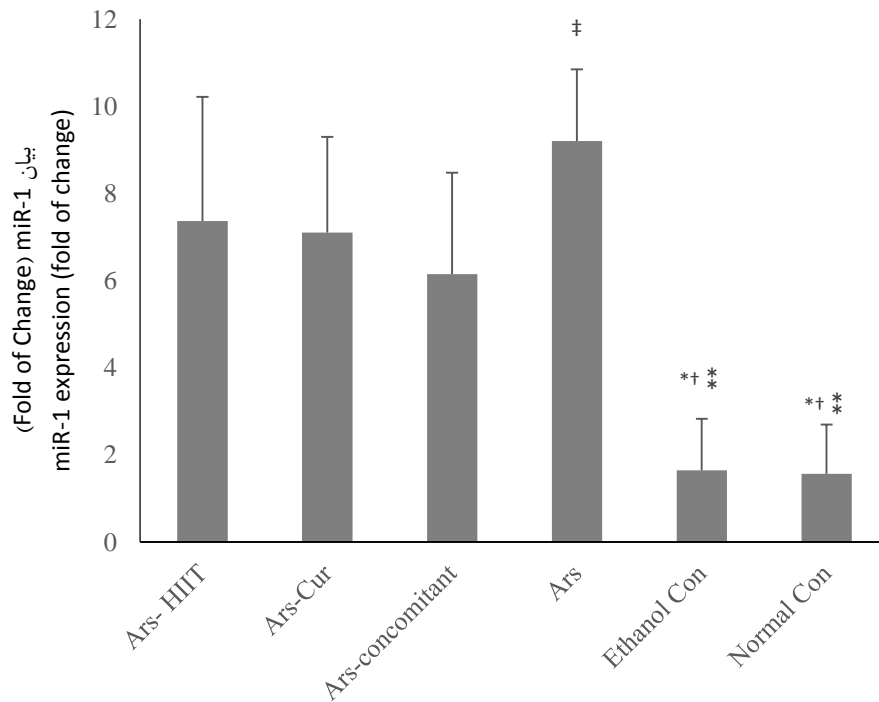
سپس مقدار هر یک از miRNAها طبق جزئیات روش (۲۶) اندازه‌گیری شد. ارزش‌های Ct به‌دست‌آمده برای میکروRNAهای هر نمونه با استفاده از کنترل درونی U6 snRNA (cat#4373381, Abmion) نرمال شدند. به‌طور ویژه میزان بیان mRNA نسبی از حاصل تفریق Ct مربوط به U6 snRNA از Ct مربوط به mRNA مدنظر به‌دست آمد که دوباره از مقدار به‌دست‌آمده در نمونه مرجع (کنترل) کسر شد. fold change با استفاده از معادله  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  محاسبه شد. همه اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شدند (۲۷).

روش آماری به‌کاررفته در این پژوهش به این صورت بود که ابتدا از طبیعی بودن توزیع داده‌ها به کمک آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۱</sup> اطمینان حاصل شد و در ادامه برای مقایسه بین گروهی داده‌ها پس از پایان مداخله، از تحلیل واریانس تک‌راه استفاده شد که در صورت معنادار شدن نتایج، داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و جیمز هاول (بسته به نتایج آزمون لون) مقایسه شدند. در تمام آزمون‌ها سطح اطمینان آماری برابر با ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

## نتایج

مقدار بیان ژنی miR-1 و miR-133 و همچنین مقدار کاسپاز سه قلب و وزن قلب در شکل‌های شماره یک تا چهار ارائه شده است.

1. Shapiro Wilk



شکل ۱- بیان miR-1 قلبی گروه‌ها

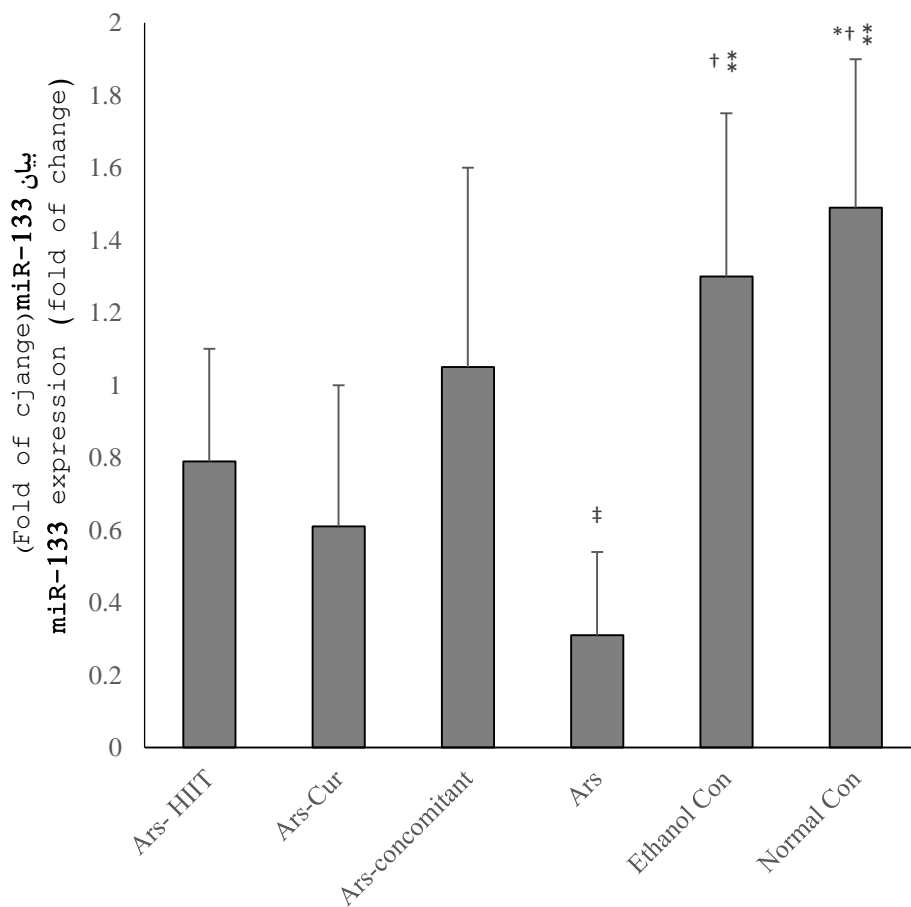
**Fig 1- Cardiac miR-1 Expression**

\*, †, ‡ و §: به ترتیب نمایانگر تفاوت معنادار در مقایسه با گروه‌های آرسنیک تمرین، آرسنیک کورکومین، آرسنیک-کورکومین-تمرین و آرسنیک (P < 0.05).

Ars: آرسنیک، HIIT: تمرین تناوبی شدید، Cur: کورکومین، concomitant: اثر توأم تمرین و کورکومین، Con: کنترل

\*, †, ‡ and §: P<0.05 Versus the Ars-HIIT, Ars-Cur, Ars-Concomitant and Ars Groups Respectively



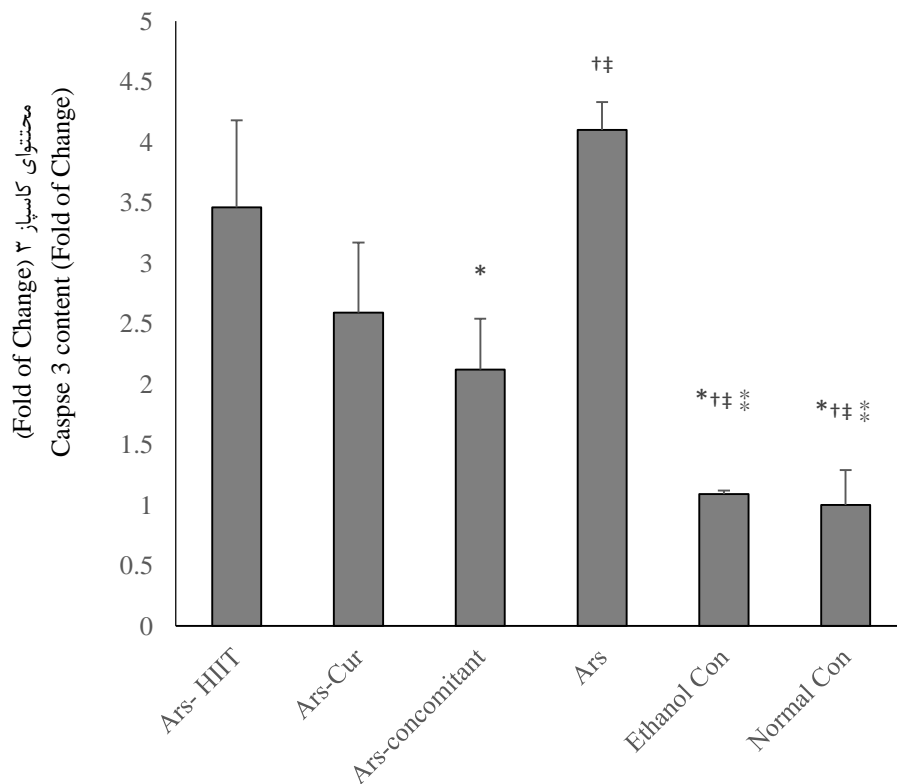


شکل ۲- بیان miR-133 قلبی گروه‌ها  
**Fig 2- Cardiac miR-133 Expression**

\*, †, ‡, and □: P < 0.05 versus the Ars-HIIT, Ars-Cur, Ars-Concomitant and Ars groups respectively.

Con: کورکومین-تمرین و کورکومین، Ars: آرسنیک، HIIT: تمرین تناوبی شدید، Cur: کورکومین، concomitant: اثر توأم تمرین و کورکومین، Ethanol Con: کورکومین-تمرین و آرسنیک (P < 0.05).

کنترل



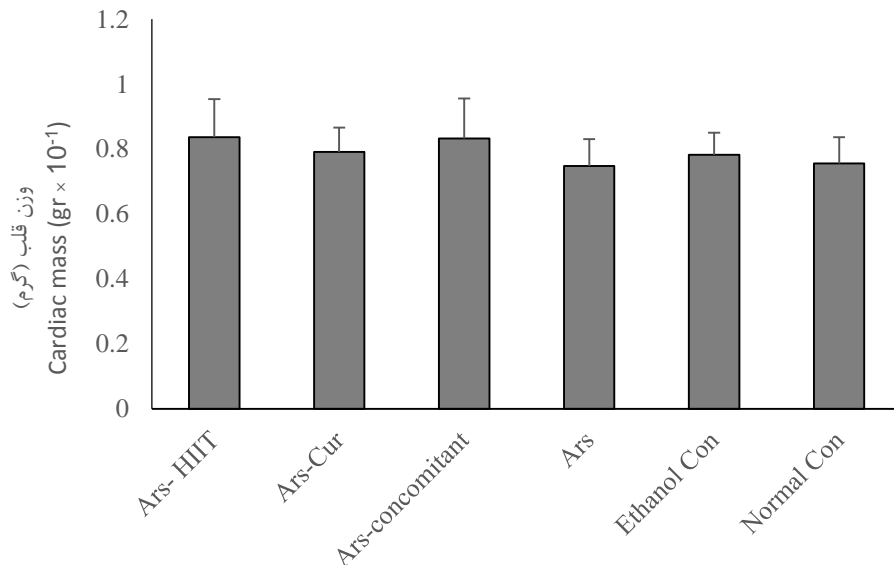
شکل ۳- مقدار کاسپاز سه قلب گروه‌ها

**Fig 3- Cardiac Caspase 3**

\*، †، ‡ و □: به ترتیب نمایانگر تفاوت معنادار نسبت به گروه‌های آرسنیک تمرین، آرسنیک کورکومین، آرسنیک-کورکومین-تمرین و آرسنیک (P < 0.05).

Ars: آرسنیک، HIIT: تمرین تناوبی شدید، Cur: کورکومین، concomitant: اثر توأم تمرین و کورکومین، Con: کنترل

\*، †، ‡ and □: P<0.05 Versus the Ars-HIIT, Ars-Cur, Ars-Concomitant and Ars Groups Respectively.



شکل ۴- وزن قلب گروه‌ها

Fig 4- Cardiac Mass

\*: تفاوت معنادار بین گروهی وجود ندارد ( $P > 0.05$ )

Ars: آرسنیک، HIIT: تمرین تناوبی شدید، Cur: کورکومین، concomitant: اثر توأم تمرین و کورکومین، Con: کنترل

\*: NS between Group Differences ( $P > 0.05$ )

### بحث و نتیجه‌گیری

ابتدا باید اشاره شود که شواهد مشابهی برای مقایسه با یافته‌های این پژوهش یا اشاره مستقیم به سازوکارهای مرتبط درگیر در دستکاری مقدار بیان میکروRNAهای بررسی‌شده ناشی از مکمل کورکومین و تمرین در کنار اثرات مواجهه با آرسنیک در قلب وجود ندارد.

در اولین بخش نتایج، مواجهه با آرسنیک سبب افزایش مقدار بیان ژن هر دوی miR-1 و miR-133 در قلب شد و فقط مصرف توأم کورکومین و تمرین تناوبی (اثر توأم) توانست بیان آن را کاهش دهد؛ باین حال، درباره هر دو متغیر، اثر توأم در مقایسه با فقط مصرف مکمل کورکومین یا فقط انجام‌شدن تمرین مزیت نداشت (جدول‌های شماره دو و شماره سه) که ممکن است بر وجود اثر تجمعی دلالت کند.

لازم است ذکر شود که اختلال بیان میکروRNAها در بیماری‌های قلبی درگیر است (۲۸). افزایش بیان miR-1 و miR-133 در تغییر ساختار سلول‌های قلبی نقش دارد (۱۵، ۳) و همچنین با هدف

قراردادن کاسپاز نه اثرات مخالفی بر آپوپتوز آنها دارند (۱۶)؛ به‌ویژه اینکه miR-133 در بیان خیلی از ژن‌ها و مسیرهای پیام‌رسانی از قبیل RhoA، MAPK، TGFβ/Smad و PI3K/Akt درگیر است. miR-133 حتی سبب کنترل هیپرتروفی قلب می‌شود و به‌عنوان شاخص تشخیص و درمان بیماری‌های قلبی نیز مطرح است (۲۹)؛ ولی بیان miR-1 در بسیاری از بیماری‌های قلبی کاهش می‌یابد که می‌تواند از طریق افزایش بیان ژن BCL-2 از کاردیومیوسیت‌ها در برابر آسیب آکسایشی محافظت کند (۳۰).

اگرچه miR-133 در تکثیر، تمایز، بقا، رشد هیپرتروفیک و هدایت الکتریکی سلول‌های قلبی مشارکت می‌کند که برای فیبروز، هیپرتروفی و آریتمی ضروری‌اند، نقش miR-133 در تغییر ساختار قلب دوپهلوی است و سازوکارهای پیچیده‌ای نیز در این بین وجود دارد؛ به‌طوری‌که حتی احتمالاً بتواند سبب تضعیف تغییرات ساختاری قلب نیز شود (۱۵)؛ بدین ترتیب، به‌نظر می‌رسد به‌سادگی نمی‌توان اثر خالص حاصل از افزایش مشاهده‌شده در بیان miR-133 قلب همهٔ موش‌های تحت مواجهه با آرسنیک (حتی آن‌هایی که در حال تمرین بوده‌اند و مکمل کورکومین مصرف کرده‌اند) را در جلوگیری از تغییرات ساختاری کاردیومیوسیت‌ها تبیین کرد و باید متغیرهای دیگری برای شفاف‌سازی بیشتر در این زمینه بررسی شوند.

همچنین شواهدی وجود دارد که جبران کاهش miR-1 می‌تواند سبب افزایش هیپرتروفی قلبی شود (۳۱). تحویل درمانی miR-1 به قلب سبب معکوس کردن هیپرتروفی قلبی ناشی از اضافه‌بار فشاری و کاهش تغییرات ساختاری پاتولوژیک می‌شود (۳۲)؛ بنابراین، با در نظر گرفتن قابلیت مواجهه با آرسنیک برای مستعد کردن افراد به پرفشارخونی و تحمیل اضافه‌بار فشاری، ما تصور کردیم که در بدن موش‌های تحت مواجهه با آرسنیک این پژوهش نیز احتمالاً افزایش miR-1 در نتیجهٔ تلاش ارگانیزم برای معکوس کردن هیپرتروفی قلبی ناشی از اضافه‌بار فشاری و کاهش تغییرات ساختاری روی داده است که به‌نوعی با یافته‌های پژوهش لی و همکاران (۳۱) هم‌راستا است؛ با این حال، به‌دلیل اندازه‌گیری‌نشدن فشارخون و فنوتیپ قلب، هنوز در این زمینه به بررسی‌های مستقیم نیاز است. به‌علاوه افزایش بیان miR-1 و miR-133 در تغییر آرایش منجرشونده به هدایت الکتریکی قلب نیز دخیل است (۳)؛ بنابراین نتیجه‌گیری می‌شود که شاید در این پژوهش در مواجهه با آرسنیک تغییر ساختار مرتبط با هدایت الکتریکی و انواعی از آریتمی‌های قلبی نیز وجود داشته است که می‌تواند موضوع جالبی برای بررسی در پژوهش‌های آینده باشد.

اما در کل هنوز نقش میکروRNAها در تغییر ساختار قلب کاملاً شفاف نیست و به‌ویژه در شرایط پاتولوژیک مانند تغییرات ناشی از عوامل مختلفی چون سمیت آرسنیک بر تغییرات ساختار کاردیومیوسیت‌ها هنوز باید پژوهش‌های خیلی بیشتری انجام شود. سازوکارهای پاتولوژیک قلبی

ناشی از آرسنیک به میکروRNAهای miR-423-5p و miR-454-5p گردش خون به‌عنوان عوامل سرکوب‌کننده پس‌ترجمه‌ای ربط داده شده‌اند که می‌توانند شاخص تشخیص زودهنگام بیماری‌های ناشی از آرسنیک باشند (۳۳). به‌علاوه بروز تغییرات ساختاری پاتولوژیک در کاردیومیوسیت‌ها از طریق پیام‌رسانی مسیر Wnt به‌واسطه miR-29 نیز تأیید شده است که مسیر Wnt می‌تواند سبب بروز مرگ سلولی مستقل از درگیری کاسپازها شود (۳۴)، اما در این پژوهش بیان میکروRNAهای miR-423-5p و miR-454-5p و همچنین بیان miR-29b به‌عنوان شاخص منعکس‌کننده بروز آپوپتوز از مسیر غیرکاسپازی به‌واسطه پیام‌رسانی مسیر Wnt ناشی از افزایش احتمالی بیان miR-29 و مقدار بافتی متالوپروتئین‌ها بررسی نشده‌اند و مشخص نشده است که آیا تأثیر احتمالی سمی مواجهه با آرسنیک بر ساختار و عملکرد کاردیومیوسیت‌ها و نقش محافظت احتمالی کورکومین و تمرین بدنی، از این منظرها نیز بروز کرده است یا خیر؛ این امر از محدودیت‌های دیگر پژوهش حاضر محسوب می‌شود.

از سویی تعداد پژوهش‌های موجود درباره تأثیر تمرین‌های ورزشی بر انواع miRNAها بسیار اندک است، ولی همین تعداد پژوهش‌ها نشان می‌دهد که هم‌فعالیت بدنی بر بیان و غلظت miRNAها اثر می‌گذارد و هم تغییر در miRNAها موجب ایجاد سازگاری‌های ناشی از فعالیت بدنی و تمرین‌های ورزشی می‌شود (۳۵)؛ البته هنوز انجام‌شدن پژوهش‌ها در این زمینه بسیار جدید است و همچنان به پژوهش‌های بیشتر برای شناسایی جزئیات سازوکارهای درگیر نیاز است.

شاید مهم‌ترین یافته این پژوهش این باشد مواجهه با آرسنیک از طریق آب آشامیدنی سبب افزایش مقدار بیان پروتئین کاسپاز سه در قلب شد و مصرف کورکومین به‌تنهایی و همچنین اثر توأم کورکومین و تمرین تناوبی این افزایش‌ها را کمتر کردند؛ با این حال، اثر توأم در مقایسه با فقط مصرف کورکومین مزیت نداشت. این امر حاکی از آن است که فقط مکمل کورکومین توانسته است افزایش بیان پروتئین کاسپاز سه ناشی از مواجهه با آرسنیک را خنثی کند و تمرین در این بین تأثیری نداشته است (شکل شماره یک).

ما افزایش مقدار کاسپاز سه در بافت قلب در اثر مواجهه با آرسنیک را به‌عنوان شاخص منعکس‌کننده مرگ آپوپتوزی قلمداد کردیم که البته اثرات بالقوه سمی ترکیبات حاوی آرسنیک در آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها تقریباً امری مسلم است (۲)، اما با توجه به اهمیت تغییر مقدار آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها در پاتوژنز و درمان بیماری‌های قلبی (۶)، به‌نظر می‌رسد شاید افزایش مقدار کاسپاز سه در اثر مواجهه با آرسنیک و تقلیل این روند در اثر مصرف کورکومین، به‌ترتیب بتوانند بر بروز نارسایی قلبی یا بهبود عملکرد قلبی دلالت کنند، اما چون اندازه‌گیری مستقیم عملکرد قلبی انجام نشد، امکان نتیجه‌گیری دقیق وجود ندارد.

نبود قابلیت تمرین در جلوگیری از افزایش کاسپاز سه ناشی از مواجهه با آرسنیک ممکن است حاصل زیادبودن شدت تمرین برای موش‌های تحت مواجهه با آرسنیک باشد. شدت زیاد ورزش مانند شدت تمرین‌های HIIT یا ورزش وامانده‌ساز حاد می‌تواند به آپوپتوز و نکروز کاردیومیوسیت‌ها منجر شود و حتی به ساختار کل میوکارد صدمه بزند (۳۶)؛ برای مثال، پیشنهاد شده است که تمرین در سرعت‌های حدود ۳۰ متر بر دقیقه (معادل ۸۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) روی نوار گردان توسط موش‌های صحرایی می‌تواند به‌عنوان سرعت بحرانی برای ظرفیت ضداکسایشی بافتی لحاظ شود؛ به‌طوری‌که با تمرین در سرعت‌های کمتر از آن افزایش فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و در سرعت‌های فراتر از آن نبود تغییر یا حتی کاهش فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز بافتی روی دهد (۱۱). از آنجاکه شدت تمرین در این پژوهش زیاد بود، کاهش ظرفیت ضداکسایشی قلب موش‌ها نیز احتمال وقوع داشته است.

از سویی رخداد و گسترش آپوپتوز با تولید رادیکال‌های آزاد، تجمع نوتروفیل‌ها، نبود تعادل در هوموستاز کلسیم و نارسایی سلول‌های اندوتلیال نیز در ارتباط است که همه این‌ها می‌توانند در هر دو شرایط ورزش‌های شدید رخ دهند (۳۷)؛ بنابراین با اینکه امروزه اهمیت کلی تمرین‌های HIIT در بهبود عملکرد و ساختار قلب در هر دو شرایط سلامتی و بیماری تقریباً روشن و تأیید شده است (۳۸)، هنوز درباره کارایی این نوع تمرین‌ها در جمعیت‌های مختلف و به‌ویژه از لحاظ تأثیر این نوع تمرین‌ها بر مسیرهای مختلف درگیر در پیام‌رسانی حیات و مرگ سلولی در شرایط مواجهه افراد با آرسنیک که قطعاً با بروز استرس اکسایشی همراه خواهد بود، به انجام‌دادن پژوهش‌های بیشتر نیاز است؛ البته می‌باید اشاره شود که به‌تازگی درباره تأثیر فعالیت بدنی به‌تنهایی یا در ترکیب با تأثیر سایر مداخلات بر آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها پژوهش‌های بسیار زیادی انجام گرفته است (۸، ۷) که بیشتر آن‌ها حاکی از آن هستند که انواع مختلف تمرین بدنی نقش درخور ملاحظه‌ای در کاهش آپوپتوز در کاردیومیوسیت‌ها دارند؛ با این حال امروزه تمرین‌های تناوبی شدید (HIIT) با فواصل استراحتی مناسبی که دارند، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، ولی شواهد تجربی چگونگی اثرات این تمرین‌ها بر تغییر شرایط آپوپتوز عضله قلب در شرایط مواجهه با آرسنیک را شفاف‌سازی نکرده‌اند (۹) که این موضوع به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد.

در این پژوهش فقط مکمل کورکومین توانست افزایش بیان پروتئین کاسپاز سه ناشی از مواجهه با آرسنیک را خنثی کند و تأثیرنداشتن تمرین در این بین شاید منطقی باشد. در این راستا پژوهش‌های گذشته از نقش محافظتی کورکومین در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از آرسنیک حمایت کرده‌اند (۱۰). کورکومین با جلوگیری از هاپیرتروفی قلبی ناشی از نورآدرنالین، یا آنزوتنسنین II (با مهارکردن LOX-1 توسط کورکومین) و جبران آسیب‌های ناشی از ایسکمی تزریق

مجدد و همچنین از طریق مهار فعالیت هیستون استیل ترانسفراز p300 از نارسایی قلبی جلوگیری می‌کند (۳۹)

همچنین کورکومین سبب کاهش مقدار MDA و قطعه‌قطعه‌شدن DNA در بافت قلب، افزایش غلظت SOD، کاتالاز و گلوکاتایون، کاهش بیان پروتئین  $\gamma$ H2AX و کاهش درصد سلول‌های تونل پوزیتیو<sup>۱</sup> (نمایانگر سلول‌های مرده) و کاسپاز سه پوزیتیو (کاهش مقدار مرگ سلولی) و افزایش درصد سلول‌های BCL-2 پوزیتیو (افزایش احتمال بقای سلولی) شده است (۴۰)؛ باین‌حال، تاکنون فقط در یک مطالعه<sup>۲</sup> موردی گزارش شده است که دریافت کورکومین سبب بلوک کامل دهلیزی بطنی در یک پیرمرد شده است (۴۱) که باید با بررسی بیشتر جزئیات در آینده درباره<sup>۳</sup> تجویز آن برای بیماران سالمند اطلاعات بیشتری فراهم شود.

در بخشی دیگر از یافته‌ها، در بین هیچ یک از گروه‌ها تفاوت معنی داری در وزن قلب مشاهده نشد (شکل ۲) که در کل می‌تواند حاکی از آن باشند که احتمالاً قلب موشها در پاسخ به تمرین به اندازه کافی، سازگاری ساختاری حاصل نکرده است. اما شواهدی وجود دارد که مواجهه با آرسنیک موجب افزایش ضخامت دیواره بطن چپ (LV) افراد جوان می‌شود و در افرادی که قبلاً به دنبال ابتلا به پرفشارخونی یا فشارخون اولیه، سازگاری‌های دیواره قلب را کسب کرده اند (بزرگ شدگی قلبی ناشی از پرفشارخونی)، مقدار هیپرتروفی قلبی ناشی از آرسنیک بیشتر است که در پژوهش ما این مساله تایید نشد (۴۲). ولی در یک مقاله انتقادی بر نتایج مطالعه پیچر و همکاران (۲۰۱۹) اشاره شده است که مقدار آرسنیک از روی دفع ادراری برآورد شده بود که نمایانگر مواجهه ۲۴ ساعته است و نمی‌تواند به مواجهه مزمن تعمیم یابد. به علاوه، در آن پژوهش آزمودنی‌های آنها تحت مواجهه با چندین نوع عنصر فلزی بودند که دارای اثرات تجمعی و مضر بر ساختار قلبی می‌باشد. پس باید به این یافته آنها در مورد تاثیر آرسنیک بر هیپرتروفی LV با احتیاط نگریسته شود (۴۳).

همچنین آرسنیک در نمونه‌های حیوانی سبب افزایش تولید  $TGF-\beta 1$  می‌شود که به فیبروز بافت قلبی و افزایش توده قلبی می‌انجامد (۴۴). افزون‌براین، نتایج پژوهش نوظهور و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده است که آرسنیک سبب التهاب بافت قلب می‌شود که با نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای در اطراف عروق خونی میوکارد همراه است و قطعه‌قطعه‌شدن و تحلیل فیبرهای عضلانی دارای هسته‌های پیکنوتیک و ادم در بخش‌های هیستولوژیک عضله قلب را نمایش می‌دهد (۴۵)، ولی ما التهاب و نه مورفولوژی ساختاری قلب و حتی فشارخون را بررسی نکردیم؛ بنابراین ممکن است براینده التهاب، هیپرتروفی و فیبروز بافت قلبی از یک سو و تحلیل بافت قلب (احتمالاً در اثر

آپوپتوز و حتی نکروز) از سوی دیگر، به تغییرکردن وزن قلب منجر شده باشد. از سویی ما هیچ شاخص عملکرد جسمانی مربوط به اثرگذاری تمرین‌ها را اندازه‌گیری نکردیم و مشخص نشد آیا واقعاً تمرین‌های بدنی انجام‌شده به اندازه کافی برای بروز سازگاری‌های مثبت جبرانی در توده قلبی کارایی داشته است یا اینکه تضعیف آمادگی جسمانی احتمالی ناشی از مواجهه با آرسنیک سبب شده است تمرین بدنی نتواند به اندازه کافی به هیپرتروفی قلبی منجر شود؛ بدین ترتیب برای شفاف‌سازی بیشتر در این زمینه همچنان باید پژوهش‌های بیشتری در آینده انجام شود. مهم‌ترین محدودیت این پژوهش این بود که هیچ متغیری در زمینه پیامدهای عینی ناشی از اثرات سمی احتمالی مواجهه با آرسنیک و اثرگذاری احتمالی تمرین و مصرف مکمل کورکومین بر ساختار و عملکرد قلب لحاظ و بررسی نشد. موش‌ها آرسنیک را فقط از آب آشامیدنی و به‌طور هم‌زمان با آغاز مصرف کورکومین و تمرین دریافت کردند که تعمیم نتایج به شرایط واقعی مواجهه افراد با آرسنیک از سایر منشأها (ازجمله غذا و ...) و به افراد در معرض مواجهه مزمن که تمرین بدنی و مصرف مکمل‌ها را فقط در دوره‌های معینی انجام می‌دهند، کمتر می‌کند. به‌علاوه موش‌های بررسی‌شده در این پژوهش روزانه دوز پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حل‌شده در دو میلی‌لیتر آب مقطر در روز را مصرف کردند که با در نظر گرفتن دوز مجاز موجود در آب آشامیدنی انسانی (۱۰ میکروگرم بر لیتر) و مصرف دو لیتر آب برای هر فرد، معمولی به‌نظر می‌رسد این دوز در مقایسه با حد مجاز در آب آشامیدنی انسانی زیاد بود؛ هرچند در پژوهش‌های گذشته درباره بررسی اثرات سمی آرسنیک از طریق آب آشامیدنی، تنوعی از دوزهای آرسنیک در دامنه یک تا ۲۰ میلی‌گرم در هر کیلو وزن بدن در روز نیز مطالعه شده است (۴۶) که غالباً دوز آن‌ها از دوز بررسی‌شده در این پژوهش بیشتر بوده است.

همچنین تعداد اندک آزمودنی‌ها، اطمینان‌نیافتن از بروز واقعی مرگ کاردیومیوسیتی و سرنوشت و مقدار جذب کورکومین، پایین‌بودن دوز و مدت مصرف کورکومین، اندازه‌گیری‌نشدن شاخص‌های منعکس‌کننده وضعیت آمادگی جسمانی و مقدار مسافت طی‌شده و سایر شاخص‌های بیوشیمیایی مربوط به پایش اثرات حاصل از تمرینات بدنی، در نظر نگرفتن گروه تمرین بدون مواجهه با آرسنیک، بررسی‌نشدن مقدار بیان miR-29 و پیام‌رسانی مرگ آپوپتوزی غیرکاسپازی ناشی از آن، تفکیک مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز و اتوفازی و استرس شبکه ER و همچنین تمایز آن از سایر انواع مرگ سلولی از قبیل نکروز، از سایر محدودیت‌های پژوهش حاضر بودند. همچنین تفاوت‌های ژنتیکی می‌توانند بر مقدار انتقال، تغییر شکل زیستی، پاسخ استرس اکسایشی و ترمیم DNA در برابر سمیت آرسنیک تأثیرگذار باشند و با اینکه این پژوهش روی موش‌های دارای ژنتیک مشابه انجام شد، امکان تعمیم نتایج به شرایط واقعی مواجهه با آرسنیک را (افراد در حال تمرین و مصرف مکمل



کورکومین و در ضمن دارای ژنتیک و عادات غذایی متفاوت) کمتر می‌کند. همچنین شاید نیاز بود به دلیل قرارداشتن بدن موش‌ها تحت استرس ناشی از آرسنیک، شدت کمتری از تمرین‌ها در نظر گرفته می‌شد و احتمالاً اثرات مشاهده شده درباره تمرین و اثر توأم تمرین و کورکومین نتوانسته‌اند به اندازه کافی بروز کنند.

از سویی ماهیت و سیر کلی پژوهش‌های مربوط به کورکومین و miRها، در گذشته غالباً به سرطان مربوط بوده است و درباره آثار ناشی از تمرین و کورکومین بر سمیت ناشی از آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها، به‌ویژه در شرایط *in vivo* اطلاعاتی بسیار اندک موجود است (۱۳)؛ بنابراین، بررسی تأثیر تمرین بدنی و مصرف مکمل کورکومین در شرایط *in vivo* مواجهه با آرسنیک، مهم‌ترین نکات قوت و نوآوری خاص این پژوهش هستند.

در مجموع یافته‌های پژوهش نشان دادند که مواجهه با آرسنیک سبب افزایش مستعدشدن کاردیومیوسیت‌ها به آپوپتوز می‌شود که در بروز نارسایی‌های مختلف قلبی نقش دارد. تغییر مقدار بیان miR-1 و miR-133 به مسیرهای مولکولی احتمالی درگیر در سمیت کاردیومیوسیتی آرسنیک اشاره می‌کند، اما آنچه مهم است و مشاهده شد این است که تمرین بدنی قادر به فرونشاندن کامل آثار سوء حاصل از مواجهه با آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها نیست و به‌جای آن مصرف مکمل کورکومین اثرگذاری مناسب‌تری دارد، اما به دلیل نبود شواهد پژوهشی مشابه در زمینه بررسی نقش تمرین بدنی و مکمل کورکومین بر آثار حاصل از مواجهه با آرسنیک در کاردیومیوسیت‌ها، اندازه‌گیری‌نشدن جامع بسیاری از عوامل تأثیرگذار، برای شفاف‌سازی سازوکارهای دقیق در این زمینه هنوز به انجام‌دادن پژوهش‌های بیشتری مربوط است.

**پیام مقاله:** به نظر می‌رسد تمرین HIIT به‌تنهایی قادر به برطرف‌کردن کامل آثار سوء مواجهه با آرسنیک بر آپوپتوز قلبی نیست، ولی مصرف کورکومین و عمدتاً اثر توأم اثرگذاری مناسب‌تری دارد.

## منابع

1. Singh AP, Goel RK, Kaur T. Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicol Int.* 2011;18(2):87-93.
2. Alamolhodaie NS, Shirani K, Karimi G. Arsenic cardiotoxicity: an overview. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015;40(3):1005-14.
3. Shan H, Zhang Y, Cai B, Chen X, Fan Y, Yang L, et al. Upregulation of microRNA-1 and microRNA-133 contributes to arsenic-induced cardiac electrical remodeling. *Int J Cardiol.* 2013;167(6):2798-805.
4. van Empel VP, Bertrand AT, Hofstra L, Crijns HJ, Doevendans PA, De Windt LJ. Myocyte apoptosis in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2005;67(1):21-9.

5. Chiong M, Wang Z, Pedrozo Z, Cao D, Troncoso R, Ibacache M, et al. Cardiomyocyte death: mechanisms and translational implications. *Cell Death Dis.* 2011;2(12): e244.
6. Mani K. Programmed cell death in cardiac myocytes: strategies to maximize post-ischemic salvage. *Heart Fail Rev.* 2008;13(2):193-209.
7. Ghajari H, Hosseini SA, Farsi S. The effect of endurance training along with cadmium consumption on Bcl-2 and Bax gene expressions in heart tissue of rats. *Annals of Military and Health Sciences Research.* 2019;17(1):e86795.
8. Zhao Y, Fu J, Gao B. Effects of different intensity exercise training on apoptosis-related microRNAs and the targeted proteins in cardiomyocytes. *Chinese Journal of Applied Physiology.* 2018;34(1):93-6.
9. Jiang H-K, Wang Y-H, Sun L, He X, Zhao M, Feng Z-H, et al. Aerobic interval training attenuates mitochondrial dysfunction in rats' post-myocardial infarction: roles of mitochondrial network dynamics. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):5304-22.
10. Pace C, Dagda R, Angermann J. Antioxidants Protect against arsenic induced mitochondrial cardio-toxicity. *Toxics.* 2017;5(4):38-46.
11. Gorzi A, Ekradi s. The effect of intake duration of curcumin supplementation during strenuous endurance training on GPX activity and MDA levels of liver, heart and skeletal muscle in male Wistar rats. *Sport Physiology.* 2020 (In Press).
12. Shehzad A, Lee YS. Molecular mechanisms of curcumin action: Signal transduction. *BioFactors.* 2013;39(1):27-36.
13. Ren X, Gaile DP, Gong Z, Qiu W, Ge Y, Zhang C, et al. Arsenic responsive microRNAs in vivo and their potential involvement in arsenic-induced oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015;283(3):198-209.
14. Sturchio E, Colombo T, Boccia P, Carucci N, Meconi C, Minoia C, et al. Arsenic exposure triggers a shift in microRNA expression. *Sci Total Environ.* 2014;472: 672-80.
15. Li N, Zhou H, Tang Q. miR-133: A Suppressor of cardiac remodeling? *Frontiers in Pharmacology.* 2018;9:903.
16. Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *J Cell Sci.* 2007;120(Pt 17):3045-52.
17. Hemmati AA, Olapour S, Varzi HN, Khodayar MJ, Dianat M, Mohammadian B, et al. Ellagic acid protects against arsenic trioxide-induced cardiotoxicity in rat. *Hum Exp Toxicol.* 2017;37(4):412-9.
18. Biswas J, Roy S, Mukherjee S, Sinha D, Roy MJAPjocpA. Indian spice curcumin may be an effective strategy to combat the genotoxicity of arsenic in Swiss albino mice. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2010;11(1):239.
19. Hoydal M, Wisloff U, Kemi O, Ellindsen O. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical omplications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007;14(6):753-60.

20. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al. The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. *Eur Heart J*. 2012;35(39):2722-31.
21. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al. Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):55-64.
22. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al. High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. *Appl Physiol*. 2011;111(5):1235-41.
23. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E. High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes*. 2013;62(7):2287-94.
24. Liou C-M, Tsai S-C, Kuo C-H, Ting H, Lee S-D. Cardiac Fas-Dependent and Mitochondria-Dependent Apoptosis after Chronic Cocaine Abuse. *Int J Mol Sci*. 2014;15(4):5988-6001.
25. Sun L, Sun S, Zeng S, Li Y, Pan W, Zhang Z. Expression of circulating microRNA-1 and microRNA-133 in pediatric patients with tachycardia. *Mol Med Rep*. 2015;11(6):4039-46.
26. Ruíz-Vera T, Ochoa-Martínez AC, Zarazúa S, Carrizales-Yáñez L, Pérez-Maldonado IN. Circulating miRNA-126, -145 and -155 levels in Mexican women exposed to inorganic arsenic via drinking water. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2019; 67:79-86.
27. Wu X-D, Zeng K, Liu W-L, Gao Y-G, Gong C-S, Zhang C-X, et al. Effect of aerobic exercise on miRNA-TLR4 signaling in atherosclerosis. 2014;35(04):344-50.
28. Yan B, Wang H, Tan Y, Fu WJCTiMC. microRNAs in Cardiovascular Disease: Small Molecules but Big Roles. *Curr Top Med Chem*. 2019;19(21):1918-47.
29. Liu Y, Liang Y, Zhang J-f, Fu W-m. MicroRNA-133 mediates cardiac diseases: Mechanisms and clinical implications. *Exp Cell Res*. 2017;354(2):65-70.
30. Zheng J, Cai Y, Cong H, Zhou JJTMJ. Down Regulation Microrna-1 Can Protect H2O2 injured Cardiomyocytes. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;(8):737-40.
31. Li Q, Song X-W, Zou J, Wang G-K, Kremneva E, Li X-Q, et al. Attenuation of microRNA-1 derepresses the cytoskeleton regulatory protein twinfilin-1 to provoke cardiac hypertrophy. *J Cell Sci*. 2010;123(14):2444-52.
32. Karakikes I, Chaanine AH, Kang S, Mukete BN, Jeong D, Zhang S, et al. Therapeutic cardiac-targeted delivery of miR-1 reverses pressure overload-induced cardiac hypertrophy and attenuates pathological remodeling. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(2): e000078.
33. Beck R, Bommarito P, Douillet C, Kanke M, Del Razo LM, García-Vargas G, et al. Circulating miRNAs associated with arsenic exposure. *Environ Sci Technol*. 2018;52(24):14487-95.

34. Sassi Y, Avramopoulos P, Ramanujam D, Grüter L, Werfel S, Giosele S, et al. Cardiac myocyte miR-29 promotes pathological remodeling of the heart by activating Wnt signaling. *Nat Commun.* 2017;8(1):1-11.
35. Tonevitsky AG, Maltseva DV, Abbasi A, Samatov TR, Sakharov DA, Shkurnikov MU, et al. Dynamically regulated miRNA-mRNA networks revealed by exercise. *BMC Physiol.* 2013;13(1):9-18.
36. Bolboli L, Sattari M, Hakimi V. Effect of High Intensity Interval Training and Moderate Intensity Continuous Training on Electrocardiographic Indices in Sedentary Men. *Journal of Applied Health Studies in Sport Physiology.* 2020;7(2): 53-8.
37. Yang Y, Li Z-h, Liu H, Zhang J. Inhibitory effect of tetramethylpyrazine preconditioning on overload training-induced myocardial apoptosis in rats. *Chin J Integr Med.* 2015;21(6):423-30.
38. Afousi AG, Gaeini A, Rakhshan K, Naderi N, Azar AD, Aboutaleb N. Targeting necroptotic cell death pathway by high-intensity interval training (HIIT) decreases development of post-ischemic adverse remodelling after myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Cell Commun Signal.* 2019; 13(2): 255-267.
39. Gao S, Duan X, Wang X, Dong D, Liu D, Li X, et al. Curcumin attenuates arsenic-induced hepatic injuries and oxidative stress in experimental mice through activation of Nrf2 pathway, promotion of arsenic methylation and urinary excretion. *Food Chem Toxicol.* 2013; 59:739-47.
40. Rauf A, Imran M, Orhan IE, Bawazeer S. Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review. *Trends Food Sci Technol.* 2018; 74:33-45.
41. Lee S-W, Nah S-S, Byon J-S, Ko HJ, Park S-H, Lee S-J, et al. Transient complete atrioventricular block associated with curcumin intake. *Int J Cardiol.* 2011;150(2): 50-2.
42. Pichler G, Grau-Perez M, Tellez-Plaza M, Umans J, Best L, Cole S, et al. Association of arsenic exposure with cardiac geometry and left ventricular function in young adults. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2019;12(5): 009018.
43. Chowdhury R, van Daalen K. Arsenic: a metal that might break your heart. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2019; 12:12: e009185.
44. Phan NN, Wang C-Y, Lin Y-CJT. The novel regulations of MEF2A, CAMKK2, CALM3, and TNNI3 in ventricular hypertrophy induced by arsenic exposure in rats. *Toxicology.* 2014; 324:123-35.
45. Nozohour Y, Jalilzadeh-Amin GJJ<sub>o</sub>ABR. Histopathological changes and antioxidant enzymes status in oxidative stress induction using Sodium arsenite in rats. *Journal of Applied Biotechnology Reports.* 2019;6(1):40-4.
46. Srivastava P, Yadav RS, Chandravanshi LP, Shukla RK, Dhuriya YK, Chauhan LKS, et al. Unraveling the mechanism of neuroprotection of curcumin in arsenic induced cholinergic dysfunctions in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014;279(3):428-40.

**استناد به مقاله**

مجیدی ابوالفضل، پوزش جدیدی رقیه، نورآذر میرعلیرضا، بشیری جبار، آزالی علمداری کریم. اثرات تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کورکومین بر بیان کاسپاز ۳ و میکروRNAهای آپوپتوزی بافت قلب موش‌های صحرایی در مواجهه با آرسنیک. فیزیولوژی ورزشی. زمستان ۱۳۹۹؛ ۱۲(۴۸): ۳۹-۶۰. شناسه دیجیتال: 10.22089/spj.2020.8706.2012

Majidi A, Pouzesh Jadidi R, Nourazar M. A. R, Bashiri J, Azali Alamdari K. Effects of Aerobic Training and Curcumin Supplementation on Cardiomyocyte Apoptosis and MiRNAs Expression in Rats Exposed to Arsenic. Sport Physiology. Winter 2021; 12 (48): 39-60. (In Persian). Doi: 10.22089/spj.2020.8706.2012