JME
https://jme.guilan.ac.ir/
https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

دوفصلنامه سوخت و ساز و فعالیت ورزشی
سال دوازدهم، جلد دوازدهم، شماره ۱

Open Access
مقاله پژوهشی

اثرات تمرین تناوبی شدید و مکمل کورکومین بر مقدار پروتئین‌های شوک گرمایی ۶۰ و ۲۰ و بیان میکرو RNAهای ۲۱ و ۳۰ در بافت قلب موش‌های صحرایی تحت مواجهه با آرسنیک

عقیل مهدوی[۱]، رقیه پوزش جدیدی[۲]، کریم آزالی علمداری[۳*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲ تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۲/۰۱

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کورکومین بر مقدار پروتئین‌های شوک گرمایی و بیان ژن میکرو RNAهای بافت قلبی موش‌های صحرایی تحت مواجهه با آرسنیک بود.

روش‌کار: در این تحقیق تجربی ۳۲ سر رت نر نژاد ویستار(۲۴/۷۷ ± ۳۴۰/۳۱ گرم) به‌طور تصادفی به چهار گروه ده‌تایی شامل کنترل، کورکومین، تمرین و توام(کورکومین+تمرین) تقسیم شدند. آرسنیک پنج میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز و کورکومین ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز در کل دوره تحقیق به‌صورت خوراکی مصرف شد. تمرین تناوبی شدید به مدت هشت هفته و پنج جلسه در هفته، ۶۰ دقیقه در هر جلسه(متشکل از ۱۰ تناوب دویدن ۴ دقیقه‌ای با شدت معادل ۸۵-۹۰ درصد vo2max و با دوره‌های استراحتی فعال ۲ دقیقه‌ای) اجرا شد. مقدار پروتئین و بیان ژنی به ترتیب توسط روش‌های وسترن بلات و PCR اندازه‌گیری شدند. از روش‌های آماری ANOVA دوراهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری α=۰/۰۵ برای تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها: در هر سه گروه مداخله، مقدار پروتئین‌های HSP60، HSP20 و بیان ژن miR-30 به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود(P=۰/۰۰۱ در تمام موارد). همچنین مقدار پروتئین‌های HSP60، HSP20 در گروه توام بیشتر از هر دو گروه تمرین و یا کورکومین بود(P=۰/۰۰۱ در تمام موارد). مقدار بیان miR-21 تفاوت بین‌گروهی نداشت (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: مواجهه با آرسنیک از طریق تغییر مقدار پروتئین‌های شوک‌گرمایی و نیز بیان میکروRNAها شاید سبب افزایش آسیب‌پذیری کاردیومیوسیت‌ها شود. تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کورکومین هم شاید در کاهش اثرات مضر آرسنیک در بافت قلب مؤثر باشند، ولی احتمالاً مداخله توام فواید بیشتری به همراه داشته باشد. اما به دلیل نبود شواهد تحقیقی مشابه و عدم اندازه‌گیری جامع عوامل تأثیرگذار، هنوز نیاز به انجام تحقیقات بیشتر باقی است.

واژگان کلیدی: آرسنیک، کاردیومیوسیت، فعالیت بدنی، کورکومین

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران، ۲. استادیار فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران، ۳. دانشیار فیزیولوژی ورزشی، گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

* نشانی الکترونیک نویسنده مسئول k.azali@azaruniv.ac.ir

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

مقدمه

آرسنیک فلزی طبیعی و سمی است که توسط غذاها(برنج و سیب‌زمینی)، آب آشامیدنی و خاک نواحی آتش‌فشانی وارد بدن انسان می‌شود (۲۲). در بیش از سی کشور جهان، آلودگی آب به آرسنیک گزارش شده است. در مناطق مختلف ایران شامل کردستان، شمال، مشهد، سیستان و آذربایجان شرقی نیز غلظت بالاتر از حد مجاز آرسنیک تائید شده است (۳۹, ۴۵). طبق جدیدترین گزارش سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (ICS: 13.060.020)، حد مجاز آرسنیک موجود در آب آشامیدنی در ایران برابر با ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر تعیین‌شده است (۳۱)، درحالی‌که در گزارش دفتر آب و خاک سازمان حفاظت محیط‌زیست، برای آب کشاورزی این مقدار برابر با ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر(۱۰ برابر بیش از آب شرب) در نظر گرفته‌شده است که کاملاً جای سؤال دارد (۲۲). در یک تحقیق دیگر (۴۰)، در آذربایجان شرقی فقط از بین ۲۰۰ روستای شهرستان هشترود، درمجموع حدود ۴۲ درصد از روستائیان تحت مواجهه با آرسنیک بودند که ازاین‌بین، مقدار آرسنیک موجود در آب آشامیدنی، در تعداد نه روستا، بالاتر از حد مجاز تعیین‌شده در آن زمان (یعنی ۵۰ میکروگرم بر لیتر، برحسب گزارش سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، نسخه سال ۱۳۷۶) بود که به نظر می‌رسد با در نظر گرفتن استاندارد جدید (۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر) شیوع وجود آرسنیک بیش‌ازحد، بالاتر رود.

تشخیص آرسنیک به خاطر نداشتن بو و مزه مشکل است و بنابراین معمولاً تا تشخیص اولیه و بروز علائم بیماری، افراد مقادیر بیشتری از آرسنیک را دریافت خواهند کرد. مصرف حاد آرسنیک باعث آسیب‌های قلبی، کلیه، کبد و روده و مغز می‌شود، اما سیستم قلب و عروقی به‌عنوان یکی از حساس‌ترین بخش‌های بدن، بیشترین تأثیر را متحمل می‌شود (۵۸). تغییرات ECG، تاکی‌کاردی، کاهش حجم خون و نشت مویرگی همراه با افزایش فشارخون از اختلالات آرسنیک در قلب هستند (۵۲). مواجهه با آرسنیک همچنین به تغییر بیان برخی از miRNAهای دخیل در تنظیم بیان ژن منجر می‌شود (۴۱, ۵۶) که این کنترل بیان سایر ژن‌ها توسط آن‌ها در حین بیماری‌های قلبی عروقی و عضلانی اهمیت ویژه‌ای دارد (۶۳). مثلاً تاثیر آرسنیک بر افزایش بیان mir-21 (۶۸) و mir-30(۶۱) در بافت‌های مختلف هم تأییدشده است. ولی بااینکه در کل تعداد تحقیقات انجام‌شده مربوط به پاسخ

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

miRNAها در مواجهه با آرسنیک بسیار اندک است (۴۷)، اما با در نظر گرفتن آثار مورد انتظار از این دو میکروRNA(شامل mir-21، mir-30) در آنژیوژنز (۳۰)، مرگ سلولی (۶۶) و بازسازی توده قلبی (۵۱)، به نظر می‌رسد بررسی بیان ژنی آن‌ها در پاسخ به مداخلات مختلف در حین مواجهه با آرسنیک اهمیت ویژه‌ای دارد.

به‌علاوه مقدار پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs) هم در مواجهه با آرسنیک تغییر می‌کند (۱۲). بخشی از خانواده HSPs شامل HSP20، HSP60 و HSP70 هستند که نقش HSP20 در روند آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها تائید شده است (۱۵, ۵۴). همچنین فعال‌سازی آپوپتوز با کاهش بیان HSP60 و HSP70 همراه است (۶۶) که در اثر مواجهه با آرسنیک در قلب شدت می‌گیرد (۳۲).

اما به‌هرحال، در مناطق دارای آرسنیک بالا در آب آشامیدنی نیز، همواره تعدادی افراد به دلایل مختلفی (تفریح، سلامتی یا قهرمانی) در برنامه‌های فعالیت‌بدنی مشارکت دارند. ولی هنوز معلوم نیست که بالاخره این فعالیت بدنی می‌تواند به‌عنوان یک استرس اضافی از حد تحمل بدن فراتر رود و یا اینکه باعث جبران بخشی از اثرات سمی آرسنیک بر قلب شود؟ همچنین درحالی‌که تمرین استقامتی موجب افزایش سطوح HSPs در عضله قلب می‌شود (۲۱, ۵۲)، اما مقدار HSPs توسط عوامل هیپوکسی، گونه‌های فعال اکسیژن و استرس گرمایی افزایش می‌یابد و برخی مطالعات دیگر هم از کاهش این فاکتورها در اثر تمرینات بدنی حمایت کرده‌اند (۳۴). به‌علاوه، با در نظر گرفتن مسیرهای آپوپتوز قلبی ناشی از HSPهای ۲۰ و ۶۰ (۲۷) به نظر می‌رسد که در طراحی مداخلات مؤثر بر آپوپتوز قلب، احتمالاً اندازه‌گیری این دو متغیر کمک‌کننده خواهد بود (۲۳). ولی امروزه تمرینات تناوبی شدید (HIIT) به دلیل دارا بودن فواصل استراحت مناسب، حجم کمتر و بهره‌وری زمانی بهتر نسبت به تمرینات تداومی سنتی به انتخاب بهتری برای بیماران تبدیل‌شده‌اند (چه در درمان‌های بالینی و چه در برنامه‌های بازتوانی قلبی). اما به دلیل بالا بودن شدت این نوع تمرینات، تصور می‌شود در شرایط مواجهه با آرسنیک به دلیل تحت‌فشار گرفتن سیستم‌های ساختاری و فراساختاری مختلف مانند تنظیم ردوکس و دفاع ضداکسایشی (۵۵)، شاید هم انجام این نوع تمرینات به دلیل احتمال فرا رفتن شدت از حد تحمل بدن، حتی با آثار سوئی نیز همراه باشد.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

اما تاکنون در این زمینه اطلاعات مستقیمی فراهم نشده است که نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد.

از سوئی، امروزه گیاهان دارویی به میزان زیادی برای کنترل بهتر و مدیریت بیماری‌ها استفاده می‌شوند. کورکومین با خاصیت سم‌زدایی و ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی یکی از منابع مهم در تقابل با آرسنیک به شمار می‌رود (۴, ۵) و در کاهش خطرات این ماده می‌تواند نقش مهمی داشته باشد (۵۷). کورکومین همچنین سبب کاهش سطح چربی خون(تری گلیسرید) و کلسترول شده و سطح HDL را افزایش می‌دهد. بنابراین در کاهش بروز بیماری‌های قلبی و عروقی نیز مؤثر است (۶۵). البته تاکنون نقش کورکومین بر بیان miR-21 (عموماً در سلول‌های سرطانی مختلف بررسی شده است (۸) و اطلاعات زیادی در مورد سلول‌های قلبی و در پاسخ به‌مواجهه کاردیومیوسیتها با آرسنیک فراهم نشده است. اما نشان داده شده است کورکومین که در سلول‌های تحت استرس اکسایشی، بیان miR-30 را(از بین سایر میکروRNAهای قادر به تغییر بیان ژن‌های درگیر در مسیر استرس اکسایشی و آنژیوژنز) به بیشترین مقدار کاهش می‌دهد (۳۷). به‌علاوه، دریافت کورکومین همراه با تمرینات استقامتی در بافت قلبی نیز تأثیر مثبتی بر HSPs دارد (۱۰, ۲۳, ۳۵, ۴۴) که دارای یک نقش حمایتی مهم از سلول‌ها یا تارهای عضلانی درگیر در فعالیت‌های بدنی در برابر عوامل استرس‌زای حین تمرین می‌باشند.

بااین‌حال مطالعات گذشته کمترین تمرکز را بر تأثیر آرسنیک در سیستم قلبی و عروقی داشته‌اند (۴۸). همچنین در مورد تأثیر مداخلات جبرانی ازجمله ورزش و مکمل‌هایی چون کورکومین بر عوارض احتمالی ناشی از مواجهه با آرسنیک در سیستم قلبی عروقی، اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد (۴۲). بدین‌ترتیب، هنوز مشخص نیست که در افراد تحت مواجهه با آرسنیک، قرارگیری در معرض استرس متناوب تمرین ورزشی آیا می‌تواند اثرات سو احتمالی از این ماده سمی را در سیستم قلبی عروقی جبران کند؟ از طرفی با توجه به اثرات منفی آرسنیک بر کاردیومیوسیت‌ها و نقش مثبت کورکومین در بهبود عملکرد پروتئین‌های شوک گرمایی و miRNAهای درگیر، به نظر می‌رسد که بررسی اثرات تمرین تناوبی شدید با مصرف کورکومین بر پروتئین‌های شوک گرمایی و برخی miRNAهای بافت قلب در جمعیت حیوانی(موش‌های صحرایی) تحت مواجهه با آرسنیک ضروری باشد

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

که هدف این تحقیق بود. به نظر می‌رسد که تحقیق حاضر می‌تواند پیشرو و زمینه‌ساز تحقیقات بیشتر در آینده باهدف تعیین جزئیات بهترین زمان و دوز مصرف کورکومین و یا ویژگی‌های جمعیتی افراد در حال ورزش ازجمله ورزشکاران و بیماران و سالمندان ازلحاظ تعیین کفایت و یا عدم‌کفایت استفاده از کورکومین و یا سایر مداخلات مکملی/داروئی برای غلبه بر عوارض مختلف آرسنیک و به‌ویژه در قلب باشد.

روش پژوهش

پس از تصویب طرح پژوهشی در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز(کد: IR.IAU.TABRIZ.REC. 1398. 098) ، در این تحقیق تجربی، ۳۲ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۳۰۰ تا ۳۷۰ گرم (۲۴/۷۷ ± ۳۴۰/۳۱ گرم) با دسترسی آزاد به آب و غذا و دارای چرخه‌ی ۱۲ ساعت خواب و بیداری و با درجه حرارت محیط ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط منطبق با قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) قرار داده شدند.

ابتدا به‌منظور آشناسازی رت‌های گروه‌های تمرین به مدت یک هفته در طی پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه با سرعت ۸-۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. شیب نوارگردان به‌تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسه چهارم و پنجم به ۲۵ درجه رسید. در ادامه از پروتکل غیرمستقیم فعالیت بر روی نوارگردان با شیب ۲۵ درجه جهت برآورد توان هوازی استفاده شد. بر این اساس، بعد از ۱۰ دقیقه گرم کردن با شدت پایین، آزمون دویدن شروع شد و سرعت نوارگردان هر ۲ دقیقه یک‌بار به میزان ۰/۰۳ m/s (۱/۸ m/min تا ۲) افزایش یافت تا جایی که موش‌های صحرائی دیگر قادر به دویدن نباشند. سرعت رسیدن به VO2max(v VO2max) به‌عنوان سرعت حداکثر تعریف شد (۱۷).

سپس موش‌های صحرائی به‌طور تصادفی چهار گروه شامل آرسنیک-تمرین، آرسنیک-کورکومین، توام(شامل آرسنیک-تمرین-کورکومین) و کنترل(آرسنیک) تقسیم شدند. همه گروه‌ها به مدت شش هفته از طریق آب آشامیدنی تحت مواجهه با آرسنیک تری اکسید با دوز(۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حل‌شده در ۴ میلی‌لیتر آب مقطر در روز) قرار گرفتند که هر روز دو بار(که در هر وهله نصف

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

دوز مصرف شد) به صورت گاواژ خوراکی استفاده شد(۱۶).

مصرف کورکومین ساخت شرکت سیگما(C1386 Sigma Aldrich) روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن(۳) به صورت حل شده در ۴ میلی‌لیتر آب مقطر) در طی دو وهله(که در هر وهله نصف دوز مصرف شد) به صورت گاواژ خوراکی انجام شد. لازم به ذکر است که آرسنیک یک ساعت پس از کورکومین مصرف می‌شد.

در جلسات تمرین HIIT، قبل شروع فاز اصلی، گرم کردن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵ متر در دقیقه انجام می‌شد (۶۲). در کل شش هفته، تعداد جلسات تمرین پنج روز در هفته بود (۲۵) که هر جلسه شامل ۶۰ دقیقه دویدن تناوبی روی نوارگردان با شیب ۲۵ درجه بود. در هفته اول، هر تناوب شامل ۴ دقیقه دویدن با سرعت نوارگردان حدود ۱۷ متر بر دقیقه(معادل شدت ۹۰-۸۵ درصد از v VO2max) و ۲ دقیقه ریکاوری فعال با سرعت نوارگردان در حدود ۸ متر بر دقیقه (معادل شدت ۶۰ – ۵۰ درصد v VO2max) بود (۱۳, ۱۴) که در هفته‌های بعدی، همان تناوب‌های زمانی تکرار شدند و فقط در هر هفته، سرعت وهله‌های دویدن به میزان ۱۲۰ سانتی‌متر در دقیقه افزایش یافت.

دو روز پس از پایان مداخله، موش‌های صحرائی تشریح شدند. برای تشریح ابتدا بی‌هوشی با کتامین(۱۵۰ mg/kg) و زایلازین (۱۵ mg/kg) انجام شد و در ادامه پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، قلب خارج شد.

استخراج نمونه‌های بافتی از طریق هوموژن کردن در بافر لیز با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر انجام شد.

نمونه‌های هوموژن به مدت ۴۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس بخش سطحی سانتریفیوژ جمع‌آوری‌شده 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٪ ، جداسازی شد (SDS-PAGE). پروتئین‌های الکتروفوژ شده از طریق دستگاه انتقال به غشای PVDF1 (Millipore, Bedford, MA, 0.45 µm pore size) منتقل‌شده و سپس در بافر TBS با شیر خشک ۵٪ انکوبه شد. سپس آنتی‌بادی‌های HSP20 و HSP60 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) در بافر متصل‌شونده به

1- polyvinylidene difluoride

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

آنتی‌بادی در طول شب در دمای ۴ درجه با غلظت ۱ به ۵۰۰ رقیق‌سازی شد. سپس نمونه‌های ایمنوبلات سه بار در بافر TBS به مدت ۱۰ دقیقه شستشو شده و سپس در محلول آنتی‌بادی ثانوی به‌طور رقیق‌شده با نسبت یک به ۵۰۰ به مدت یک ساعت انکوبه شدند. در ادامه پروتئین‌های ایمنوبلات شده پس از سه بار شستشو در بافر TBS، با استفاده از معرف لومینال ECL(Santa Cruz Biotechnology)، آشکارسازی شدند. سپس بعد از پوشانده شدن با ورقه نایلونی، فیلم رادیوگرافی در معرض نور لومینسانس قرار داده شد(۲۹) و چگالی باندها بعد از نرمال کردن با بتا اکتین با استفاده از نرم‌افزار(Image J، Maryland, USA) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری مقدار میکرو RNA ها ابتدا معرف TRIZOL برای به دست آوردن RNA ها از نمونه سرم(۲۵۰ میکرو لیتر در هر نمونه) استفاده شد. سپس مقدار ۵ نانومول بر لیتر از Caenorhabditis Elegans miR-39(cel-miR-39) ساخت شرکت applied biosystems, USA به تمام نمونه‌های سرم اضافه شد. سپس یک آنالیز اسپکتوفتومتری در طیف ۲۶۰ نانومتر برای ارزیابی غلظت نهایی RNA موجود در هر نمونه انجام شد و سپس نمونه‌ها موجود در دمای ۸۰ - فریز شدند. مقدار بیان هر یک از انواع میکرو RNAها در زمان تحلیل با استفاده از معرف‌ها (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) پرایمرهای TaqMan miRNA qRT-PCR تعیین شد. نمونه‌های جداسازی شده(RNA) به‌طور معکوس برای به دست آوردن 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 عمل Real-Time PCR انجام شد. سپس مقدار هر یک از miRNAها طبق جزئیات روش (۵۰) اندازه‌گیری شدند.

ارزش‌های Ct 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 موردنظر به دست آمد که باز از مقدار به‌دست‌آمده در نمونه مرجع(کنترل) کسر شد. fold change با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد (۶۴).

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

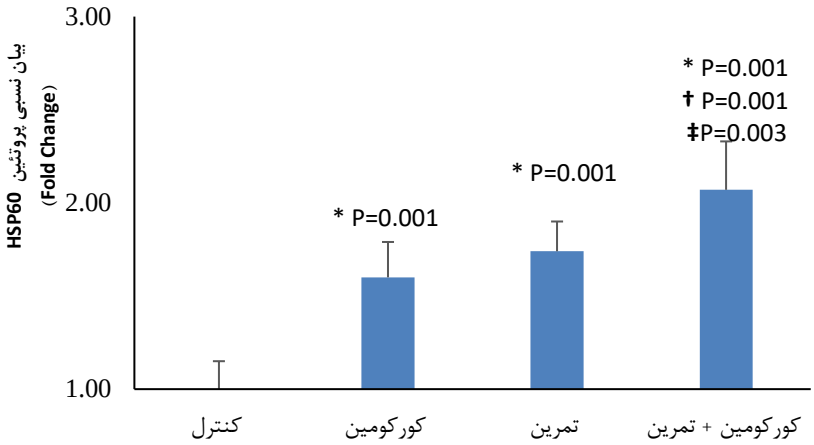
https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

روش آماری: ابتدا از طبیعی بودن توزیع داده‌ها به کمک آزمون شاپیرو ویلک اطمینان حاصل شد و در ادامه برای مقایسه بین گروهی داده‌ها، از تحلیل واریانس دوراهه عاملی و همچنین تحلیل واریانس تک راهه استفاده شد که در صورت معنی‌دار شدن نتایج، داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و یا جیمز هاول(برحسب نتایج آزمون لون) مقایسه شدند. در تمام آزمون‌ها سطح اطمینان آماری ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

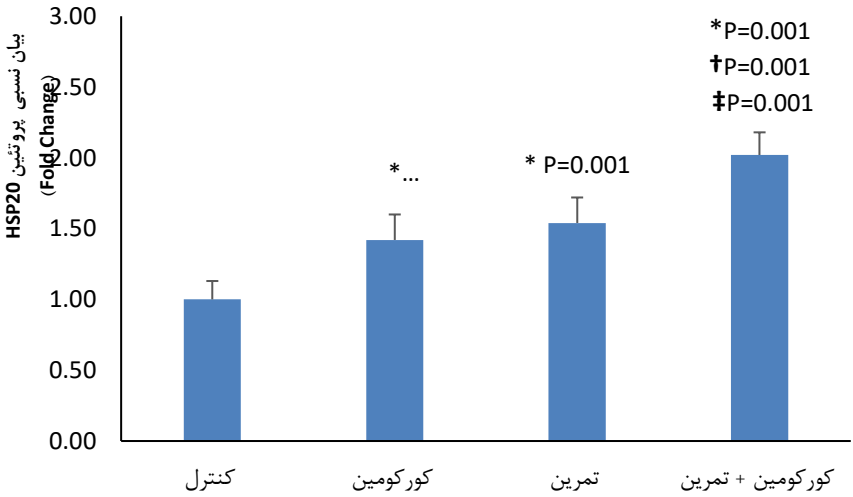
وزن بطن چپ در زمان کشتار (کنترل: ۰/۸± ۰/۷۴ گرم، کورکومین: ۰/۰۷± ۰/۷۹ گرم، تمرین ۰/۱۱± ۰/۸۳ گرم و کورکومین + تمرین ۰/۱۲± ۰/۸۳ بود که در هر سه گروه مداخله به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود(p=۰/۰۰۱ در همه موارد).

در تحلیل واریانس دوراهه، با توجه به مشاهده اثرات معنی‌دار عاملی یا تعاملی برای نسبت بیان HSP60 (وضعیت مصرف مکمل (P=۰/۱۷)، سطح فعالیت(p=۰/۱۳) و تعامل کورکومین×تمرین (p۰/۰۴۲)) با مجذور اتا برای عامل‌ها و اثر تعاملی به ترتیب شامل ۰/۹۲، ۰/۹۵ و ۰/۱۱ و یا HSP20(وضعیت مصرف مکمل (P=۰/۰۳۷)، سطح فعالیت(p=۰/۰۲۹) و تعامل کورکومین×تمرین (p=۰/۶۲)) با مجذور اتا برای عامل‌ها و اثر تعاملی به ترتیب شامل ۰/۹۹، ۰/۹۹ و ۰/۰۰۷، در ادامه تحلیل واریانس تک راهه انجام شد و مشاهده شد که مقدار این دو متغیر در هر سه گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بوده است. همچنین در این دو مورد، تأثیر مداخله توام بهتر از هر دوی شرایط تمرین و کورکومین به‌تنهایی بود (P<۰/۰۰۱ در همه موارد). نتایج مقایسه‌های تعقیبی در مورد هر دو متغیر در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.



*، † و ‡ به ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، کورکومین و تمرین(p<۰/۰۵).

شکل ۱. بیان نسبی پروتئین HSP60

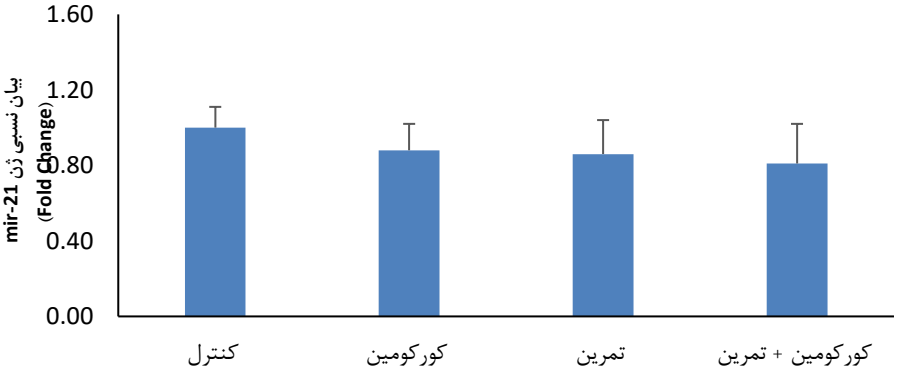


*، † و ‡ به ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، کورکومین و تمرین(p<۰/۰۵).

شکل ۲. بیان نسبی پروتئین HSP20

Copyright © The Authors

اما در مورد نسبت بیان ژن miR21 به U6 نتایج تحلیل واریانس عاملی (۲×۲) حاکی از عدم تاثیر معنی‌دار وضعیت مصرف مکمل (P=۰/۲۵)، سطح فعالیت (p=۰/۲۰) و تعامل کورکومین×وضعیت تمرین (p=۰/۵۳) بود (مجذور اتا برای عامل‌ها و اثر تعاملی به ترتیب شامل ۰/۸۵، ۰/۹۰ و ۰/۰۱۱). بنابراین نتیجه‌گیری شد که تمرین تناوبی شدید و مصرف مکمل کورکومین بر مقدار بیان miR-21 در بافت قلبی موش‌های صحرائی تحت مواجهه با آرسنیک تأثیر ندارند (P>۰/۰۵).



*: تفاوت معنی‌دار بین گروهی مشاهده نشد(p>۰/۰۵).

شکل ۳. بیان نسبی ژن miR-21

اما در مورد نسبت بیان ژن miR-30 نیز نتایج تحلیل واریانس عاملی (۲×۲) حاکی از وجود تاثیر معنی‌دار وضعیت مصرف مکمل (P=۰/۳۲۲)، سطح فعالیت (P=۰/۲۷۸) و تعامل کورکومین×وضعیت تمرین (p=۰/۰۰۱) بود (مجذور اتا برای عامل‌ها و اثر تعاملی به ترتیب شامل ۰/۷۶، ۰/۸۲ و ۰/۳۲). در ادامه طبق مقایسه‌های تعقیبی (شکل ذیل) نیز، در هر سه گروه مداخله تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده شد. اما در این مورد، تأثیر مداخله توام فقط نسبت به گروه کورکومین مزیت داشت (P=۰/۰۰۱) که اهمیت خاصی نسبت به مداخله توام (در مقایسه با انجام HIIT به‌تنهایی (P=۰/۰۷۱)) مطرح نمی‌کند.

* و †: به ترتیب نمایانگر تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل، کورکومین(p<۰/۰۵).

شکل ۴. بیان نسبی ژن miR-30

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نه در اثر مواجهه با آرسنیک و نه با انجام تمرین بدنی، مصرف مکمل کورکومین یا مداخله توام، مقدار بیان ژن miR-21 تغییر نیافت، اما بیان ژن miR-30 و همچنین مقدار بیان پروتئینی HSP60 و HSP20 از گروه‌های در معرض آرسنیک تحت مداخله (تمرین، کورکومین و توام) نسبت به گروه کنترل کمتر بود. لازم به ذکر است که انواع مختلف miR-21 شامل miRR-21, miR-21-5p, miR-21-a5p از طریق افزایش بقا و بهبود عملکرد سلول‌های قلب و کاهش فیبروز دارای اثرات محافظت قلبی هستند (۳۶).

بنابراین به نظر می‌رسد که عدم‌تغییر بیان miR-21 در اثر مواجهه با آرسنیک به معنی عدم دستکاری بقا و یا عملکرد و یا فیبروز کاردیومیوسیت‌ها در اثر مواجهه با آرسنیک و یا در اثر تمرین و مصرف کورکومین در سایر گروه‌های در معرض آرسنیک باشد. به‌علاوه، miR-21 از طریق فعال‌سازی AKT و ERK و افزایش بیان HIF-1α، در افزایش آنژیوژنز هم دخالت دارد (۳۰). بنابراین شاید عدم‌تغییر بیان miR-21 در همه گروه‌ها به معنی عدم‌تغییر در روند آنژیوژنز قلبی بوده باشد.

به‌علاوه گزارش شده است که افزایش بیان miR-21 در کبد می‌تواند احتمال آسیب‌های بافتی ناشی از آرسنیک را افزایش دهد (۶۸). بنابراین عدم‌تغییر بیان miR-21 در همه گروه‌ها، شاید به معنی آن باشد که غلظت آرسنیک برای

Copyright © The Authors

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

ایجاد آسیب‌های بافتی در قلب در حد خیلی بالایی نبوده است. البته در شرایط واقعی هم مقدار آرسنیک در آب آشامیدنی هم در حدی نیست که خیلی مهلک و زیان‌بار باشد و معمولاً مواجهه مزمن اثرات سمی آرسنیک را جلوه می‌دهد.

بااین‌حال، کورکومین دارای اثرات ضدالتهابی و ضداکسایشی است و در تحقیقات مختلف نقش آن در کاهش سطح miR-21 به‌عنوان شاخص هیپرتروفی مرضی قلب تائید شده است (۶۷, ۶۹). به‌علاوه، فعالیت‌های ورزشی هم باعث کاهش هیپرتروفی قلب مرتبط با کاهش miR-21 می‌شوند. مثلاً در یک تحقیق (۱۸) کاهش miR-21 پس از تمرین مشاهده شد که البته آزمودنی‌های آن تحت مواجهه با آرسنیک نبودند. بدین ترتیب با در نظر گرفتن شواهد قبلی مؤید اثرگذاری آرسنیک (۶۸)، تمرین‌بدنی (۱۸) و کورکومین (۶۷, ۶۹) بر بیان miR-21، به نظر می‌رسد که شاید مدت و دوز مواجهه با آرسنیک و یا وضعیت سنی و جسمی موش‌های موردبررسی در این تحقیق در حدی نبوده است که با تغییرات معنی‌داری در بیان miR-21 همراه شود. به‌هرحال، در یک مطالعه بسیار اخیر هم اشاره شده است که miR-21 در قلب دچار ایسکمی تزریق مجدد دارای اثرات محافظتی است، اگرچه که هنوز در مورد شناسایی بهتر نقش این میکروRNA در بیماری‌های قلبی عروقی نیاز به بررسی‌های بیشتر باقی است (۲۶).

اما در مورد miR-30 باید اشاره شود که سایر تحقیقات نیز اثرات مثبت تمرینات بدنی(شنا) بر افزایش بیان miR-30 در قلب و همچنین کاهش پیام‌رسانی مسیر آپوپتوز قلبی را تائید کرده‌اند (۴۶, ۷۲). لازم به ذکر است که هیپرتروفی فیزیولوزیک قلبی در اثر ورزش منظم روی می‌دهد. اما با وجود تعداد زیاد بررسی‌های انجام شده مربوط به نقش انواع میکروRNAها در هیپرتروفی پاتولوژیک(مرضی) قلبی، تعداد تحقیقات انجام شده مربوط به ورزش در این حوزه بسیار اندک هستند. در یک تحقیق نشان داده شد که در اثر تمرین شنا، میکروRNAهای مختلف ازجمله miR-30 سبب دستکاری ژن‌های مربوط به تکثیر و مرگ سلولی می‌شوند (۴۶). اما در کل اشاره شده است که کاهش بیان miR-30 در هیپرتروفی پاتولوژیک قلبی سبب فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی کلسیم، آپوپتوز و اتوفاژی می‌شود که به نظر می‌رسد هر سه مسیر مذکور به همراه هیپرتروفی مرضی در اثر مواجهه با آرسنیک (۱۹)

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

هم روی دهند. ولی از سوئی نیز اشاره شده است که افزایش بیان miR-30 می‌تواند در اثر تمرینات ورزشی در قلب منجر به بروز هیپرتروفی فیزیولوژیک شود (۴۶). بنابراین اگرچه که در این تحقیق از طریق اکوکاردیوگرافی سنجش مستقیم از مقدار و نوع هیپرتروفی قلبی به عمل آورده نشد، اما به نظر می‌رسد که افزایش بیان miR-30 در هر سه گروه مداخله نسبت به گروه کنترل می‌تواند حاکی از احتمال بروز هیپرتروفی قلبی فیزیولوژیک در قلب موش‌های تحت مواجهه با آرسنیک تحت مداخله تمرین و یا کورکومین باشد.

همچنین miR-30 در تغییر ساختار ماتریکس برون‌سلولی قلب هم دخالت دارد و در نمونه‌های پرفشارخونی عمومی و پرفشارخونی ریوی نیز بیان می‌شود (۷). بنابراین با توجه نقش آرسنیک در گسترش پرفشارخونی (۱) و حتی پرفشارخونی ریوی (۲)، به نظر می‌رسد که با توجه به افزایش بیان miR-30 در هر سه گروه، احتمالاً فشارخون عمومی و حتی ریوی موش‌های سه گروه مورد مداخله نیز کاهش یافته باشد که تائید این مسئله نیز نیازمند اندازه‌گیری مستقیم فشارخون در تحقیقات مشابه آینده است.

به‌علاوه، افزایش سطوح miR-30c(یکی از اشکال miR-30) از طریق کاهش ترشح کلسترول سبب کاهش چربی‌های پلاسما (۴۹) و کاهش تشکیل پلاک (۵۳) می‌شود. بدین ترتیب با در نظر گرفتن نقش آرسنیک در افزایش چربی‌های خون و احتمال افزایش آترواسکلروز (۷۱)، به نظر می‌رسد که در هر سه گروه مورد مداخله در این تحقیق بهبود چربی‌های خون و کاهش خطر اترواسکلروز هم وجود داشته است که باز تائید ان نیازمند اندازه‌گیری مستقیم می‌باشد.

همچنین آرسنیک حتی با بروز و تشدید آسیب‌های ناشی از ایسکمی تزریق مجدد در قلب مرتبط است (۵۹). به‌علاوه، miR-21 و miR-30 (۶۰) هم در آسیب‌های ایسکمی تزریق مجدد پس از سکته قلبی هم درگیر هستند. بنابراین با در نظر گرفتن آثار کورکومین (۲۸) و تمرینات ورزشی (۶, ۴۳) در رفع آسیب‌های ناشی از ایسکمی تزریق مجدد در قلب، به نظر می‌رسد که یکی از دلایل تغییرات مشاهده‌شده در بیان هر سه میکروRNA موردبررسی در این تحقیق به رفع آسیب‌های مربوط به ایسکمی تزریق مجدد مرتبط با آرسنیک هم مرتبط باشد. ولی باز هم به دلیل عدم

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

انجام بررسی‌های مستقیم هیستولوژیک برای بررسی کیفیت بروز این نوع آسیب‌ها، هنوز باید تحقیقات بیشتری در این زمینه فراهم شود.

به‌علاوه باید اشاره شود که چندین میکروRNA در تنظیم ساختار و عملکرد قلبی دخالت دارند و هر یک از آن‌ها به‌طور مستقل در تعیین فرآیندهای پاتولوژیک درون قلب دخالت می‌کند. بنابراین با توجه به تنوع نسبتاً بالای میکروRNAهای مؤثر بر قلب، فقط با بررسی سه نوع از آن‌ها در این تحقیق هنوز امکان استخراج نتیجه شفاف در این زمینه فراهم نمی‌شود و نیاز به بررسی‌های جامع‌تری وجود دارد. بااین‌حال، مجدد یادآوری می‌شود که ما ساختار و عملکرد قلب را نیز به‌عنوان پیامد نهایی حاصل از برآیند تمام مسیرهای پیام‌رسانی میکروRNAها در قلب بررسی نکردیم که نیازمند بررسی مستقیم در تحقیقات آینده است.

همچنین این نکته نیز باید در نظر گرفته شود که صرفاً تغییر در بیان ژنی میکروRNAها نمی‌تواند دلیل محکمی بر بروز تغییرات فنوتیپی و عملکردی در سطح سلولی یا بافتی باشد و قطعاً نتیجه‌گیری بهتر در این زمینه نیاز به اندازه‌گیری دقیق عملکرد قلبی و بررسی ساختاری و هیستولوژیک قلب دارد.

در بخش دیگر یافته‌ها، بیان پروتئین‌های HSP60 و HSP20 با الگوی بیان ژنی miR-30 کاملاً مشابه بود، ولی نشان داده شد در گروه مداخله توام اثرات بیشتری در مقایسه با هر یک از گروه‌های تمرین و یا کورکومین اتفاق می‌افتد. لازم به ذکر است که HSP60 در فرآیند آپوپتوز و تحلیل سلول‌های قلبی نقش بارزی دارد (۲۴). اما هیپرتروفی بطن چپ هم با افزایش بیان HSP60 مرتبط است (۱۱) و بنابراین اگرچه که در مورد پیامد نهایی افزایش مشاهده‌شده در HSP60 در هر سه گروه مداخله نسبت به گروه کنترل هنوز تناقض وجود دارد، ولی به نظر می‌رسد که این افزایش با جنبه مثبت و سازگاری مفید مرتبط با آن بیشتر مرتبط باشد. به‌علاوه در تحقیقات گذشته قابلیت آرسنیک بر کاهش مقدار پروتئین‌های شوک گرمایی (HSPs) هم تائید شده است (۱۲). اگرچه که یک نکته محدودیت این تحقیق در نبود گروه کنترل بدون مواجهه با آرسنیک برای تعیین اثر دقیق آرسنیک بر HSPs در قلب بود. بااین‌حال، بر مبنای شواهد موجود به نظر می‌رسد که کاهش بیان HSP60 و HSP70 بتواند احتمال فعال‌سازی آپوپتوز را افزایش دهد (۶۶). بنابراین ما تصور کردیم که احتمالاً فعال‌سازی آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها هم

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

در اثر مواجهه با آرسنیک شدت یابد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که برای به حداکثر رساندن فواید حاصل از تمرین بدنی و یا مصرف کورکومین در جبران آثار سوء مواجهه با آرسنیک(از قبیل ایجاد هیپرتروفی فیزیولوژیک و یا کاهش آتروفی سلول‌های قلبی) بهتر است که از مداخله توام تمرین هم‌زمان با مصرف کورکومین استفاده شود. ولی این نکته هم باید در نظر گرفته شود که شواهد اشاره شده در مورد افزایش احتمال فعال‌سازی آپوپتوز در اثر کاهش بیان HSPs اطلاعات اندکی موجود است (۷۰) و شواهد مربوطه معمولاً از بافت‌های دیگری به‌غیراز کاردیومیوسیتها فراهم شده‌اند. بنابراین بهتر است که آثار دقیق کاهش مقدار HSPs بر آپوپتوز کاردیومیوسیت‌های قلب در اثر مواجهه با آرسنیک در تحقیقات invitro به‌صورت مستقیم تائید شود که موضوع جالبی برای تحقیقات آینده خواهد بود.

اما HSPها همچنین نقش مهمی در حفظ یکپارچگی ساختاری دارند و از اسکلت سلولی در هنگام استرس محافظت می‌کنند. Hspها همچنین استرس اکسیداتیو را با تسهیل مسیرهای آنتی‌اکسیدانی مختلف کاهش می‌دهند. بنابراین افزایش آن‌ها در اثر تمرین ورزشی یک سازگاری مفید در قلب محسوب می‌شود. از سوئی مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کورکومین، محتوای پایه HSP60 را به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهد و همچنین افزایش سطح پایه HSP60 و HSP20 در اثر تمرین هم، نقش مهمی ازنظر بهبود ساختار و عملکرد میتوکندریایی خواهد داشت.

ولی در کل، اگرچه که افزایش بیش‌ازحد Hspها می‌تواند به آپوپتوز قلبی منجر شود که در این تحقیق چون مقدار HSPهای ۲۰ و ۶۰ با روش وسترن اندازه‌گیری شدند، فقط مشخص شد که بیان آن‌ها نسبت به بیان پروتئین مرجع چند برابر، افزایش یافته است و دقیقاً معلوم نشد که آیا این مقدار بالاخره به آپوپتوز قلب(که اثر نامناسبی می‌باشد) منجر خواهد شد یا نه؟ بنابراین پیشنهاد می‌شود که تحقیقات مشابه آینده از روش الایزا برای تعیین مقدار بافتی HSPهای ۲۰ و ۶۰ در قلب استفاده کنند. به‌هرحال، در این تحقیق عدم اندازه‌گیری بسیاری از متغیرها، سبب شد تا امکان شفاف‌سازی و نتیجه‌گیری قاطع در مورد پیامد نهایی حاصل از تمرین بدنی و مصرف کورکومین بر آثار سوء احتمالی ناشی از آرسنیک میسر نشود.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

اما باید اشاره شود که عمده تحقیقات موجود در مورد کورکومین و میکروRNAها بر سلول‌های سرطانی متمرکزشده‌اند و هنوز اطلاعات بسیار اندکی در مورد تاثیر کورکومین بر میکروRNAها در قلب تحت مواجهه با آرسنیک وجود دارد. اما یافته‌های این تحقیق می‌توانند به‌عنوان شواهد اولیه وجود چنین اثرات مثبتی از کورکومین در قلب در شرایط مواجهه با آرسنیک را مطرح کنند. همچنین اگرچه که امروزه فرآورده‌های مشتق از کورکومین (عموماً کاربرد گسترده‌ای در درمان نارسایی‌های مرتبط با قلب دارند، اما هنوز در مورد دوز مطلوب برای افزایش بازسازی قلب، مدت استفاده، و سایر جزئیات مربوط به بهبود فراهمی و پایداری آن در بدن و همچنین احتمال سمیت کوتاه‌مدت و طولانی‌مدت آن برای بدن انسان هنوز توافق نظر وجود ندارد (۲۰). بنابراین این مسئله باعث کاهش قوت توصیه‌ها و نسخه‌های تجویزی مربوطه در این زمینه شده است. ولی مجدداً باید یادآوری شود که به دلیل محدودیت‌های مالی آثار فنوتیپی و پیامد نهایی از تغییر بیان میکروRNAها در اثر مصرف کورکومین در این تحقیق بررسی نشد که اثبات قطعی‌تر اثرات کورکومین در این زمینه نیازمند انجام بررسی‌های بیشتر در آینده است. به‌علاوه به دلیل کمبود شواهد مستقیم در مورد تاثیر تمرین بدنی بر متغیرهای موردبررسی، امکان توجیه جزئی‌تر مکانیسم‌های احتمالی ویژه مربوط به تمرین تناوبی شدید میسر نشد. ولی باید اشاره شود که اثرات محافظت‌کننده قلبی حاصل از تمرین بدنی ازنظر تغییر ساختار و بازسازی بافت قلبی (عموماً به ۱) فعال‌سازی مسیرهای مختلف درون‌سلولی و برون سلولی شامل اینوزیتول تری فسفات، پروتئین کیناز B، mTOR، EGFR/JNK/SP-1، نیتریک اکسید(NO) و وزیکول‌های برون سلولی، ۲) دستکاری بیان ژنی از طریق میکروRNAهای مختلف و ۳) دستکاری متابولیسم سلول‌های قلبی و سازگاری‌های میتوکندری قابل استناد می‌باشد که اطلاعات جزئی‌تر در این زمینه در منبع (۵۱) قابل‌دسترسی می‌باشد. بااین‌حال، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های این تحقیق باید اشاره شود که در خصوص توجیه مکانیسم‌های مختص به تمرین تناوبی شدید نسبت به سایر انواع تمرین امکان ارائه اطلاعات زیادی وجود ندارد. البته قبلاً پیشنهادشده است که شدت بالای تمرینات ممکن است که بر مقدار بیان میکروRNA تأثیرگذار باشد (۹) و همچنین تفاوت در نوع، شدت و مدت

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

ورزش بر پاسخ HSPs به تمرین ورزشی (۳۳) هم تاثیر ویژه‌ای خواهد داشت. مثلاً اشاره شده است که تمرینات تناوبی شدید ممکن است که به دلیل تاثیر بیشتر بر عوامل فعال‌کننده پاسخ استرسی مرتبط با ورزش شامل تولید بیشتر رادیکال‌های آزاد، کاهش بیشتر pH و تخلیه بیشتر گلیکوژن در طی هر وهله فعالیت (در مقایسه با تمرینات تداومی متوسط)، احتمالاً قابلیت بیشتری برای ایجاد تغییرات در مقدار HSPs را دارا خواهند بود(۳۸). بااین‌حال، در پیشینه موجود، در مورد پاسخ HSPs و سه میکرو RNA موردبررسی به انواع تمرین بدنی در قلب تحت مواجهه با آرسنیک، اطلاعات زیادی وجود ندارد و کسب اطلاعات بیشتر در مورد مکانیسم‌های خاص تمرین تناوبی شدید، نیازمند فراهم شدن تحقیقات بیشتر و مقایسه نتایج انواع تمرین‌ها(HIIT در مقایسه با MICT) می‌باشد. همچنین فقدان یک گروه کنترل سالم در طرح تحقیق و امکان تداخل آرسنیک و کورکومین بر روند جذب همدیگر از سایر محدودیت‌هایی هستند که ممکن است بر نتایج تاثیر گذار بوده باشند.

در کل نشان داده شد که در شرایط مواجهه با آرسنیک هر سه مداخله(HIIT، مصرف کورکومین و مداخله توام)، سبب افزایش مقدار پروتئین‌های HSP60، HSP20 و بیان ژن miR-30 در کاردیومیوسیت‌ها می‌شوند. بااین‌حال، مداخله اثر توام ازلحاظ مقدار افزایش مقدار پروتئین‌های HSP60، HSP20 نسبت به هر دو مداخله تمرین و یا کورکومین بهتر بود که برای افراد تحت مواجهه با آرسنیک، بر لزوم استفاده از مصرف توام کورکومین همراه با انجام تمرینات HIIT برای کاهش آسیب قلب دلالت می‌کند. بااین‌حال، به دلیل نبود شواهد تحقیقی مشابه و عدم اندازه‌گیری جامع بسیاری از عوامل تأثیرگذار، هنوز نیاز به انجام تحقیقات بیشتر باقی است.

منابع

1. Abhyankar LN, Jones MR, Guallar E, Navas-Acien AJEhp. (2012). Arsenic exposure and hypertension: A systematic review.120(4):494-500.
2. Bhattacharyya P, Sen P, Ghosh A, Saha C, Bhattacharya PP, Das A, et al.(2014). Chronic lung disease and detection of pulmonary artery dilatation in high resolution computerized tomography of chest in chronic arsenic exposure.49(13):1453-61.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

3. Biswas J, Roy S, Mukherjee S, Sinha D, Roy MJAPjocpA.(2010). Indian spice curcumin may be an effective strategy to combat the genotoxicity of arsenic in swiss albino mice.11(1):239.

4. Boarescu P-M, Boarescu I, Bocșan IC, Pop RM, Gheban D, Bulboacă AE, et al.(2019). Curcumin nanoparticles protect against isoproterenol induced myocardial infarction by alleviating myocardial tissue oxidative stress, electrocardiogram, and biological changes. Molecules.24(15):2802.

5. Boarescu P-M, Chirilă I, Bulboacă AE, Bocșan IC, Pop RM, Gheban D, et al.(2019). Effects of curcumin nanoparticles in isoproterenol-induced myocardial infarction. Oxidative medicine and cellular longevity.2019.

6. Borges JP, da Silva Verdoorn K. Cardiac ischemia/reperfusion injury: The beneficial effects of exercise.(Springer;2017). Exercise for cardiovascular disease prevention and treatment. p. 155-79.

7. Caruso P, MacLean MR, Khanin R, McClure J, Soon E, Southgate M, et al.(2010). Dynamic changes in lung microrna profiles during the development of pulmonary hypertension due to chronic hypoxia and monocrotaline.30(4):716-23.

8. Chen J, Xu T, Chen CJAotm.(2015). The critical roles of mir-21 in anti-cancer effects of curcumin.3(21).

9. Clauss S, Wakili R, Hildebrand B, Kääb S, Hoster E, Klier I, et al.(2016). Micrornas as biomarkers for acute atrial remodeling in marathon runners(the mirathon study – a sub-study of the munich marathon study). PLOS ONE.11(2):e0148599.

10. Dabidi-Roshan V, Rahnama N, Hamzehkolaei HA, Mohammadi ZF.(2009). Heat shock protein responses to eccentric weight or treadmill exercise in active young females. Sport Sciences for Health.5(2):75-80.

11. Ferenčić A, Cuculić D, Stemberga V, Šešo B, Arbanas S, Jakovac HJSjoc, et al.(2020). Left ventricular hypertrophy is associated with overexpression of hsp60, tlr2, and tlr4 in the myocardium.80(3):236-46.

12. Guo M, Zhao H, Wang Y, Liu J, Fei D, Yang X, et al.(2019). Elemental imbalance elicited by arsenic and copper exposures leads to oxidative stress and immunotoxicity in chicken gizzard, activating the protective effects of heat shock proteins. Environmental Science and Pollution Research.1-11.

13. Hafstad AD, Boardman NT, Lund J, Hagve M, Khalid AM, Wisløff U, et al.(2011). High intensity interval training alters substrate utilization and reduces oxygen consumption in the heart. Journal of Applied Physiology.111(5):1235-41.

14. Hafstad AD, Lund J, Hadler-Olsen E, Höper AC, Larsen TS, Aasum E.(2013). High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. Diabetes.62(7):2287-94.

15. He F, Shi E, Yan L, Li J, Jiang X.(2015). Inhibition of micro-ribonucleic acid-320 attenuates neurologic injuries after spinal cord ischemia. The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.150(2):398-406.

16. Hemmati AA, Olapour S, Varzi HN, Khodayar MJ, Dianat M, Mohammadian B, et al.(2017). Ellagic acid protects against arsenic trioxide–induced cardiotoxicity in rat. Human & Experimental Toxicology.37(4):412-9.

17. Hoydal M, Wisloff U, Kemi O, Ellindsen O.(2017). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: Practical omplications for exercise training. European Journal of Crdiovascular Prevention and Rehabilitation 14(6):753-60.

18. Isanejad A, Alizadeh AM, Shalamzari SA, Khodayari H, Khodayari S, Khori V, et al.(2016). Microrna-206, let-7a and microrna-21 pathways involved in the anti-angiogenesis effects of the interval exercise training and hormone therapy in breast cancer.151:30-40.

19. Kabir R. Investigating inorganic arsenic exposure and cardiac hypertrophy: Johns Hopkins University; 2020.

20. Kargozar S, Baino F, Hoseini SJ, Verdi J, Asadpour S, Mozafari M.(2019). Curcumin: Footprints on cardiac tissue engineering. Expert Opinion on Biological Therapy.19(11):1199-205.

21. Kelly D, Tiidus P, Houston M, Noble E.(1996). Effect of vitamin e deprivation and exercise training on induction of hsp70. Journal of Applied Physiology.81(6):2379-85.

22. Keshavarzi B, Moore F, Mosaferi M, Rahmani F.(2011). The source of natural arsenic contamination in groundwater, west of iran. Water Quality, Exposure and Health.3(3-4):135-47.

23. Kim K-B, Kim M-H, Lee D-J.(2004). The effect of exercise in cool, control and hot environments on cardioprotective hsp70 induction. Journal of physiological anthropology and applied human science.23(6):225-30.

24. Kim S-C, Stice JP, Chen L, Jung JS, Gupta S, Wang Y, et al.(2009). Extracellular heat shock protein 60, cardiac myocytes, and apoptosis.105(12):1186-95.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

25. Kraljevic J, Marinovic J, Pravdic D, Zubin P, Dujic Z, Wisloff U, et al.(2013). Aerobic interval training attenuates remodelling and mitochondrial dysfunction in the post-infarction failing rat heart. Cardiovascular research.99(1):55-64.

26. Kura B, Kalocayova B, Devaux Y, Bartekova M.(2020). Potential clinical implications of mir-1 and mir-21 in heart disease and cardioprotection.21(3):700.

27. Li P.(2010). Micrornas in cardiac apoptosis. Journal of cardiovascular translational research.3(3):219-24.

28. Liao C-L, Liu Y, Huang M-Z, Liu H-Y, Ye Z-L, Su Q.(2021). Myocardial ischemia reperfusion injury is alleviated by curcumin-peptide hydrogel via upregulating autophagy and protecting mitochondrial function. Stem Cell Research & Therapy.12(1):89.

29. Liou C-M, Tsai S-C, Kuo C-H, Ting H, Lee S-D.(2014). Cardiac fas-dependent and mitochondria-dependent apoptosis after chronic cocaine abuse. International Journal of Molecular Sciences.15(4):5988-6001.

30. Liu L-Z, Li C, Chen Q, Jing Y, Carpenter R, Jiang Y, et al.(2011). Mir-21 induced angiogenesis through akt and erk activation and hif-1α expression.6(4):e19139.

31. Mahram M, Shahsavari D, Oveisi S, Jalilolghadr SJJorimstojoIUoMS.(2013). Comparison of hypertension and diabetes mellitus prevalence in areas with and without water arsenic contamination.18(5):408.

32. Majidi A, Poozesh Jadidi R, Nourazar MAR, Bashiri J, Azali Alamdari KJSP.(2020). Effects of aerobic training and curcumin supplementation on cardiomyocyte apoptosis and mirnas expression in rats exposed to arsenic.12(48):39-60.

33. Mc Naughton L, Lovell R, Madden LJJoES, Physiotherapy.(2006). Heat shock proteins in exercise: A review.2:13-26.

34. Melling CJ, Thorp DB, Milne KJ, Krause MP, Noble EG.(2007). Exercise-mediated regulation of hsp70 expression following aerobic exercise training. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.293(6):H3692-H8.

35. Milne KJ, Noble EG.(2002). Exercise-induced elevation of hsp70 is intensity dependent. Journal of Applied Physiology.93(2):561-8.

36. Moghaddam AS, Afshari JT, Esmaeili S-A, Saburi E, Joneidi Z, Momtazi-Borojeni AA.(2019). Cardioprotective micrornas: Lessons from stem cell-derived exosomal micrornas to treat cardiovascular disease. Atherosclerosis.285:1-9.

37. Momtazi AA, Derosa G, Maffioli P, Banach M, Sahebkar A.(2016). Role of microrna in the therapeutic effects of curcumin in non-cancer diseases. Molecular Diagnosis & Therapy.20(4):335-45.

38. Morton JP, Holloway K, Woods P, Cable NT, Burniston J, Evans L, et al.(2009). Exercise training–induced gender-specific heat shock protein adaptations in human skeletal muscle.39(2):230-3.

39. Mosaferi M, Sheykholeslami S, Dastgiri S, Shakerkhatibi M.(2017). Determination of arsenic in recreational hot water springs in sarein- ardabil region considering possible dermal exposure.39(2):70-6.

40. Mosaferi M, Taghipour H, Hassani A, Borghei M, Kamali Z, Ghadirzadeh A.(2008). Study of arsenic presence in drinking water sources: A case study. Iranian Journal of Health and Environment.1(1):19-28.

41. Navas-Acien A, Sanchez TR, Mann K, Jones MR.(2019). Arsenic exposure and cardiovascular disease: Evidence needed to inform the dose-response at low levels. Current Epidemiology Reports.6(2):81-92.

42. Oremland RS, Stolz JF.(2003). The ecology of arsenic. Science.300(5621):939-44.

43. Otaka N, Shibata R, Ohashi K, Uemura Y, Kambara T, Enomoto T, et al.(2018). Myonectin is an exercise-induced myokine that protects the heart from ischemia-reperfusion injury.123(12):1326-38.

44. Paulsen G, Vissing K, Kalhovde JM, Ugelstad I, Bayer ML, Kadi F, et al.(2007). Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed hsp70 response in humans. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.293(2):R844-R53.

45. Pirsaheb M, Dargahi A, Golestanifar H.(2013). Determination of arsenic in agricultural products, animal products and drinking water of rural areas of bijar and gharve, kurdestan province %j food hygiene. Food Hygiene.2(4(8)):33-42.

46. Ramasamy S, Velmurugan G, Shanmugha Rajan K, Ramprasath T, Kalpana K.(2015). Mirnas with apoptosis regulating potential are differentially expressed in chronic exercise-induced physiologically hypertrophied hearts. PLOS ONE.10(3):e0121401.

47. Ren X, Gaile DP, Gong Z, Qiu W, Ge Y, Zhang C, et al.(2015). Arsenic responsive microrna in vivo and their potential involvement in arsenic-induced oxidative stress. Toxicology and applied pharmacology.283(3):198-209.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

48. Roshan VD, Rahimi M, Shirinbayan V, Mahjoub S, Hosseinzadeh M.(2012). Protective effect of the combination of exercise and curcumin supplementation on cardiac system in rats exposed to lead. International Journal of Nutrition and Metabolism.4(8):114-20.

49. Rotllan N, Price N, Pati P, Goedeke L, Fernández-Hernando CJA.(2016). Micrornas in lipoprotein metabolism and cardiometabolic disorders.246:352-60.

50. Ruíz-Vera T, Ochoa-Martínez ÁC, Zarazúa S, Carrizales-Yáñez L, Pérez-Maldonado IN.(2019). Circulating mirna-126, -145 and -155 levels in mexican women exposed to inorganic arsenic via drinking water. Environmental Toxicology and Pharmacology.67:79-86.

51. Schüttler D, Clauss S, Weckbach LT, Brunner S.(2019). Molecular mechanisms of cardiac remodeling and regeneration in physical exercise. Cells.8(10).

52. Shirinbayan V, Roshan VD.(2012). Pretreatment effect of running exercise on hsp 70 and dox-induced cardiotoxicity. Asian pacific journal of cancer prevention.13(11):5849-55.

53. Soh J, Iqbal J, Queiroz J, Fernandez-Hernando C, Hussain MMJNm.(2013). Microrna-30c reduces hyperlipidemia and atherosclerosis in mice by decreasing lipid synthesis and lipoprotein secretion.19(7):892-900.

54. Song C-L, Liu B, Diao H-Y, Shi Y-F, Li Y-X, Zhang J-C, et al.(2014). The protective effect of microrna-320 on left ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury in the rat model. International journal of molecular sciences.15(10):17442-56.

55. Souza ACF, de Paiva Coimbra JL, Ervilha LOG, Bastos DSS, Cossolin JFS, Santos EC, et al.(2020). Arsenic induces dose-dependent structural and ultrastructural pathological remodeling in the heart of wistar rats.257:118132.

56. Sturchio E, Colombo T, Boccia P, Carucci N, Meconi C, Minoia C, et al.(2014). Arsenic exposure triggers a shift in microrna expression. Science of the Total Environment.472:672-80.

57. Sunagawa Y, Sono S, Katanasaka Y, Funamoto M, Hirano S, Miyazaki Y, et al.(2014). Optimal dose-setting study of curcumin for improvement of left ventricular systolic function after myocardial infarction in rats. Journal of pharmacological sciences.126(4):329-36.

58. Tajoddini S, Esmaeili A, Hoseini F, Dadpour B.(2016). A rare case of acute myocardial infarction associated with arsenic poisoning. Asia Pacific Journal of Medical Toxicology.5(4):130-1.

https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

59. Veenema R, Casin KM, Sinha P, Kabir R, Mackowski N, Taube N, et al.(2019). Inorganic arsenic exposure induces sex-disparate effects and exacerbates ischemia-reperfusion injury in the female heart.316(5):H1053-H64.

60. Wang J-j, Bie Z-d, Sun C-f.(2019). Long noncoding rna ak088388 regulates autophagy through mir-30a to affect cardiomyocyte injury.120(6):10155-63.

61. Wang L, Liu L-Z, Jiang B-H. Dysregulation of micrornas in metal-induced angiogenesis and carcinogenesis.(Elsevier;2021). Seminars in Cancer Biology.

62. Waring CD, Vicinanza C, Papalamprou A, Smith AJ, Purushothaman S, Goldspink DF, et al.(2012). The adult heart responds to increased workload with physiologic hypertrophy, cardiac stem cell activation, and new myocyte formation. European heart journal.35(39):2722-31.

63. Williams AH, Liu N, Van Rooij E, Olson EN.(2009). Microrna control of muscle development and disease. Current opinion in cell biology.21(3):461-9.

64. Wu X-D, Zeng K, Liu W-L, Gao Y-G, Gong C-S, Zhang C-X, et al.(2014). Effect of aerobic exercise on mirna-tlr4 signaling in atherosclerosis.35(04):344-50.

65. Xiao J, Sheng X, Zhang X, Guo M, Ji X.(2016). Curcumin protects against myocardial infarction-induced cardiac fibrosis via sirt1 activation in vivo and in vitro. Drug design, development and therapy.10:1267.

66. Xu C, Lu Y, Pan Z, Chu W, Luo X, Lin H, et al.(2007). The muscle-specific micrornas mir-1 and mir-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting hsp60, hsp70 and caspase-9 in cardiomyocytes. Journal of cell science.120(17):3045-52.

67. Yeh W-L, Lin H-Y, Huang C-Y, Huang B-R, Lin C, Lu D-Y, et al.(2015). Migration-prone glioma cells show curcumin resistance associated with enhanced expression of mir-21 and invasion/anti-apoptosis-related proteins. Oncotarget.6(35):37770.

68. Zeng Q, Zou Z, Wang Q, Sun B, Liu Y, Liang B, et al.(2019). Association and risk of five mirnas with arsenic-induced multiorgan damage. Science of The Total Environment.680:1-9.

69. Zhang L, Liu Y, Wang X, Li C, Shen M, Di L, et al.(2020). Curcumin alleviates tgf-β1-induced fibrosis in nrk-49f cells via suppression of mir-21 expression, and regulation of the tgf-β1/smad3 signaling pathway. Journal of Traditional Chinese Medical Sciences.7(1):68-74.

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan

70. Zhao H, Wang Y, Liu J, Guo M, Fei D, Yu H, et al.(2019). The cardiotoxicity of the common carp(cyprinus carpio) exposed to environmentally relevant concentrations of arsenic and subsequently relieved by zinc supplementation.253:741-8.

71. Zhao Y, Li M, Tian X, Xie J, Liu P, Ying X, et al.(2021). Effects of arsenic exposure on lipid metabolism: A systematic review and meta-analysis.31(3):188-96.

72. Zhao Y, Ma Z.(2016). Swimming training affects apoptosis-related micrornas and reduces cardiac apoptosis in mice. Gen Physiol Biophys.35(4):443-50.

JME https://jme.guilan.ac.ir/
https://doi.org/10.22124/jme.2023.21057.223

Metabolism and Exercise
A bioannual journal

Vol 12, Number 1, 2022

University Of Guilan

Effect of High-Intensity Interval Training and Curcumin Supplementation on Cardiac Tissue HSP60 and HSP20 Levels and Gene Expression levels of miR-21 and miR-30 in Rats Exposed to Arsenic

Mahdavi A [1], Pouzesh Jadidi R [2], Azali Alamdari K[3*]

Received: 09/11/2022 Accepted: 13/03/2023 Published: 21/04/2023

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the effects of high-intensity interval training (HIIT) and curcumin supplementation on cardiac heat shock proteins' level and two microRNAs' gene expression level in rats exposed to arsenic.

Method: In this experimental study 32 male Wistar rats (weight: 340.31 ± 24.77 gr) were randomly divided into four groups of Control, Curcumin, Exercise and concomitant (Curcumin+Exercise). Arsenic 5 mg/kg.day and curcumin 15 mg/kg.day, were consumed orally for entire the study period. HIIT were conducted for six weeks (5 d/w, 60 min/session (consisted of 10 intervals of running (4 min) at 85-90% of Vo2max with 2 min recovery at 50-60% of Vo2max). Tissue protein content and gene expression levels were assessed by Western blotting and PCR methods respectively. Two-way ANOVA and Tukey post hoc statistical methods were used to analyze the data at a significance level of α=0.05.

Results: The cardiac HSP60, HSP20 levels and the gene expression levels of miR-30 was significantly higher in all three intervention groups compared to Control group (P=0.001 in all circumstances). Moreover, the cardiac HSP60, HSP20 content was significantly higher in concomitant group compared to both groups of Exercise and Curcumin (P=0.001 in all circumstances). No between group difference was observed for gene expression levels of miR-21(P>0.05).

Conclusion: Arsenic exposure may likely increase the vulnerability of cardiomyocytes to injury by altering the amount of heat shock proteins content and the expression levels of microRNAs.Both HIIT and curcumin supplementation could be likely effective to reduce the hazards of arsenic within heart tissue, However, the concomitant intervention might be had more beneficial effects. However, more research is still needed to be done due to the lack of similar evidence and no comprehensive measurement of the influential factors.

Keywords: Arsenic, Cardiomyocyte, Physical Activity, Curcumin

1. Department of Sport Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran, 2. Department of Physical Education, Tabriz branch, Islamic Azad University, Pasdaran Highway, Tabriz, Iran, 3. Department of Sport Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
*Email: k.azali@azaruniv.ac.ir

Copyright © The Authors Publisher: University of Guilan