University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Spring 2022, 10(21), 54-65

Received: Jun 21, 2020 Accepted: Nov 17, 2020

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

Effects of high intensity interval training and curcumin consumption on brain lipid peroxidation, homocysteine and caspase activation in rats exposed to arsenic

Abdollah Hosseinlou[1], Roghayeh Pouzesh Jadidi[2*], Karim Azali Alamdari[3],Jabbar Bashiri[4], Mir Ali Reza Nourazar[5]

1. PhD Student of Exercise Physiology, Department of Physical Education and Sport Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Associate Professor, Department of Sport Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.
4. Associate Professor, Department of Physical Education and Sport Sciences, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Veterinary, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Abstract

Background and Aim: Little is known about the concomitant effects of high intensity interval training (HIIT) and curcumin on arsenic toxicity in the brain. The aim of the present study was to evaluate the effects of HIIT and curcumin supplementation on cerebral malondialdehyde (MDA), nitrite, homocysteine and also expression of caspase-3, caspae-8 and caspase-9 protein in rats exposed to arsenic. **Material and Methods**: In this experimental study, 48 male rats were randomly divided into six groups: arsenic+training, arsenic+curcumin, arsenic+training+curcumin (concomitant), arsenic, ethanol-control and normal-control. Arsenic five mg/kg/day and curcumin 15 mg/kg/day were consumed orally (gavaged) for six weeks. HIIT were conducted for six weeks (five sessions/week, each session lasted 60 min) consisted of four min running bouts at 85-90% of vVO_{2max} with two min recovery intervals at 50-60% of vVO_{2max}. Elisa, Western blot and also TBARS as well as Grace reaction methods were used to quantify cerebral homocysteine, caspase expression, MDA and nitrite levels respectively. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc tests at the $p<0.05$ level. **Results**: Arsenic exposure significantly elevated brain caspase-3, -8 and -9 expression, as well as MDA and homocysteine levels ($p<0.05$). All of three interventions including HIIT, curcumin and their concomitance obviated arsenic induced cerebral MDA elevation compared to normal control group ($p<0.05$), however; it could not fully corrected homocysteine levels ($p>0.05$). Caspae-8 and -9 protein expression levels were restored to normal control group level, just in concomitant group ($p<0.05$). **Conclusion**: Arsenic exposure leads to an increased rat cerebral homocysteine, lipid peroxidation as well as intrinsic and extrinsic apoptotic pathways activation. While HIIT, curcumin and their concomitance prevented arsenic induced cerebral lipid peroxidation, only with curcumin supplementation remarkable benefits were observed for rest of variables. Further, only in the concomitant group, the arsenic induced elevations in the activity of both the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways were fully prevented. However, more researches should to be done because of the study limitations and lack of similar evidence in human population.

Keywords: Brain tissue, Oxidative stress, Hemocysteine, Exercise Training, Curcumin.

Cite this article:

Hosseinlou, A., Pouzesh Jadidi, R., Azali Alamdari, K., Bashiri, J., & Nourazar, M.A.R. (2022). Effects of high intensity interval training and curcumin consumption on brain lipid peroxidation, homocysteine and caspase activation in rats exposed to arsenic. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 10***(21), 54-65.**

***Corresponding Author; Address: Department. of Physical Education and Sports Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran;**

Email: poozesh2016@gmail.com

https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.3484.1563

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش
مقاله پژوهشی
بهار ۱۴۰۱، دوره ۱۰، شماره ۲۱، ص ۶۵-۵۴
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۸/۲۷

اثر تمرین تناوبی شدید و کورکومین بر پراکسیداسیون لیپیدی، هموسیستئین و فعال‌سازی کاسپازی در مغز موش‌های صحرائی در معرض آرسنیک

عبدالله حسینلو[۱]، رقیه پوزش جدیدی[۲*]، کریم آزالی علمداری[۳]، جبار بشیری[۴]، میرعلی رضا نورآذر[۵]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲. استادیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی،تبریز، ایران.
۳. دانشیار گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.
۴. دانشیار گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۵. استادیار گروه دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: در مورد تاثیر توام تمرین و کورکومین بر آثار سمی آرسنیک در مغز، اطلاعات اندکی موجوداست. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تمرین تناوبی شدید (HIIT) و مصرف کورکومین بر مالون دی آلدهید (MDA)، نیتریت، هموسیستئین و بیان کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ مغز موش های صحرائی تحت مواجهه با آرسنیک به اجرا درآمد. **روش تحقیق**: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۸ سر موش صحرائی نر به شش گروه شامل آرسنیک+تمرین، آرسنیک+کورکومین، توام (آرسنیک+تمرین+ کورکومین)، آرسنیک، کنترل اتانول و کنترل آب مقطر تقسیم شدند. آرسنیک به مدت ۶ هفته روزانه از طریق آب آشامیدنی با دوز پنج میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن و کورکومین روزانه با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاواژ خورانده شد. تمرین HIIT به مدت شش هفته با تکرار پنج روز در هفته، مشتمل بر ۶۰ دقیقه تمرین تناوبی در هر جلسه (هر تناوب شامل چهار دقیقه دویدن با شدت ۹۰-۸۵ درصد vVO_{2max} و دو دقیقه ریکاوری فعال با شدت ۶۰-۵۰ درصد vVO_{2max}) به اجرا درآمد. از روش‌های الایزا، وسترن بلات و واکنش های اسید تیوباربیتوریک وگریس به ترتیب برای اندازه گیری هموسیستئین، بیان کاسپازها، غلظت MDA و نیتریت مغزی استفاده شد. داده‌ها با روش تحلیل واریانس یک راهه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری $p<0/05$ تحلیل شدند. **یافته‌ها**: مواجهه با آرسنیک، سبب افزایش بیان کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ و مقدار MDA و هموسیستئین مغز شد ($p<0/05$). هر سه مداخله شامل تمرین، کورکومین و یا اثر توام آن ها در مقایسه با گروه کنترل معمولی، افزایش MDA مغزی ناشی از آرسنیک را برطرف کرد ($p<0/05$)، ولی موجب اصلاح کامل افزایش هموسیستئین نشد ($p>0/05$). از طرف دیگر، بیان کاسپازهای ۸ و ۹ مغز، تنها در گروه توام به سطوح مشابه با گروه کنترل معمولی رسید ($p<0/05$). **نتیجه‌گیری**: مواجهه با آرسنیک می‌تواند به افزایش هموسیستئین، پراکسیداسیون لیپیدی و فعال‌شدن مسیرهای درونی و بیرونی آپوپتوزیس در مغز موش ها منجر شود. با این که انجام تمرین، مصرف کورکومین و اثر توام آن ها، از پراکسیداسیون لیپیدی مغزی ناشی از آرسنیک جلوگیری کرد، ولی در مورد سایر متغیرها، فقط در گروه‌های مصرف کورکومین اثرات مفید قابل ملاحظه ای مشاهده شد. همچنین اثر آرسنیک بر افزایش فعالیت مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوزیس مغز، فقط در گروه توام به طور کامل مهار گردید. با این حال، به دلیل پاره ای محدودیت ها و کمبود تحقیقات انسانی، به بررسی‌های بیشتر نیاز است.

واژه‌های کلیدی: بافت مغز، استرس اکسایشی، هموسیستئین، تمرین ورزشی، کورکومین.

*نویسنده مسئول، آدرس: تبریز، مجتمع دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی؛
پست الکترونیک: poozesh2016@gmail.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2020.3484.1563

مقدمه

با توجه به فراوانی آرسنیک[1] (رتبه بیستم عناصر پوسته زمین)، آثار ضدسلامتی ناشی از مواجهه مزمن انسان با آن اجتناب‌ناپذیر است. آرسنیک قابلیت عبور از سد خونی مغز را دارد و میل ترکیبی آن برای اتصال به عوامل ضداکسایشی سطحی سلول، تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد (آرنر و هولمگرین[2]، ۲۰۰۰). به دلیل وجود مقدار زیادی از لیپیدها و فلزات اکسید شده در مغز، بروز استرس اکسایشی در مغز راحت‌تر است؛ این در حالی است که استرس اکسایشی به شدت در تحلیل سلول عصبی درگیر است (لیگوری[3] و دیگران، ۲۰۱۸). از سوی دیگر، مواجهه طولانی با آرسنیک از طریق افزایش آپوپتوزیس[4] در مغز، با بیماری آلزایمر[5] رابطه دارد (فلورا[6] و دیگران، ۲۰۱۲). در نواحی جغرافیایی دارای غلظت بالای آرسنیک در آب آشامیدنی، شیوع بالای افزایش هموسیستئین[7] خون نیز مشاهده شده است، وضعیتی که سبب مرگ چندین نوع از سلول‌های عصبی می شود (پارک[8] و دیگران، ۲۰۱۳). هموسیستئین همچنین سبب تغییر استعداد سلول‌های عصبی هیپوکامپ[9] به آسیب اکسایشی می گردد (وانگ[10] و دیگران، ۲۰۱۲). با این حال، تاکنون در تحقیقات کمی اثر هموسیستئین ناشی از سمیت آرسنیک در هیپوکامپ، بررسی شده است (سان[11] و دیگران، ۲۰۱۷)؛ در حالی که به دلیل نو بودن موضوع، نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

معمولا انتخاب‌های محدودی برای درمان یا جلوگیری از بیماری‌های تحلیل سلول عصبی وجود دارد و در این بین، نقش تمرینات ورزشی در کاهش نارسایی‌های عصبی تایید شده است (اسوینسون[12] و دیگران، ۲۰۱۴). ورزش در نواحی مختلف مغز و به ویژه در هیپوکامپ، بر ساختار و قدرت سیناپسی تاثیر مستقیم دارد و با تقویت عصب‌زایی[13] و بهبود متابولیسم و عملکرد عروقی؛ سبب افزایش شکل پذیری عصبی می‌شود (بیک[14]، ۲۰۱۶). حتی در مدل‌های حیوانی سالم و آلزایمری هم، تاثیر تمرین بدنی بر افزایش حافظه تایید شده است. به علاوه، ورزش عوامل خطر پیرامونی از قبیل دیابت، فشار خون و بیماری‌های قلبی عروقی موثر بر تحلیل عصبی را کاهش می‌دهد و حتی تاثیر تمرین هوازی شدید هم، بر ساختار، متابولیسم و پاسخ التهابی هیپوکامپ افراد جوان سالم نشان داده شده است (واگنر[15] و دیگران، ۲۰۱۵). به علاوه، تمرین تناوبی شدید هم بر دست کاری مقدار استرس اکسایشی در هیپوکامپ، عامل رشد عصبی مشتق از مغز[16] (BDNF) و شاخص‌های التهابی موثر است (فریتاس[17] و دیگران، ۲۰۱۸).

علاوه بر تمرینات ورزشی، تحقیقات زیادی اثرات انواع عوامل ضداکسایشی و به ویژه کورکومین[18]، ماده‌ای با ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن[19] (ORAC) بسیار بالا، در جلوگیری از تحلیل عصبی را تایید کرده‌اند (عشرت[20] و دیگران، ۲۰۰۹). اخیرا در یک مطالعه مروری، چنین گزارش شده که کورکومین حتی در دامنه‌ای از دوزهای مصرفی و مدت مواجهه با سموم مختلف و حتی مستقل از زمان مصرف (قبل، در حین و یا بعد از مواجهه با سموم)؛ اثر ضداکسایشی قابل ملاحظه‌ای (در چندین مدل سلولی تحلیل عصبی) دارد (آبراهامز[21] و دیگران، ۲۰۱۹). کورکومین با به دام انداختن گونه‌های فعال مانند سوپراکساید[22]، هیدروژن پراکساید[23] و رادیکال نیتریت[24]، نقش مهمی در مقابله با التهاب بازی می کند (لی[25] و دیگران، ۲۰۱۶). در شرایط التهاب سیستمیک، سایتوکاین‌ها[26] تولید نیتریک اکساید[27] را القاء می‌کنند که خود به نیتریت و پراکسی‌نیتریت تبدیل می‌شود (آندراخوف[28] و دیگران، ۲۰۱۳). با وجود شواهدی مبنی بر تاثیر کورکومین بر تولید نیتریت (چان[29] و دیگران، ۱۹۹۵؛ برینکلی[30] و دیگران، ۲۰۰۹)، عدم تغییر تولید نیتریت بر اثر تمرین هوازی نیز گزارش شده است. این یافته‌ها دال بر ضرورت بررسی بیشتر تاثیر توام تمرین و کورکومین بر نیتریت مغزی ناشی از آرسنیک می‌باشد.

اگرچه در اکثر تحقیقات گذشته اثرات کورکومین در مدل‌های استرس اکسایشی حیوانات مسموم شده با سموم، یون‌های فلزی و عوامل القای تحریکی-سمی[31] تایید شده است (آبراهامز و دیگران، ۲۰۱۹)؛ در مورد رفع اثرات سمی آرسنیک بر مغز اطلاعات بسیار اندکی وجود دارد. در تحقیقی طی ۲۴ هفته مصرف کورکومین در دو

1. Arsenic
2. Arner & Holmgren
3. Liguori
4. Apoptosis
5. Alzheimer›s disease
6. Flora
7. Homocysteine
8. Park
9. Hippocampus
10. Wang
11. Sun
12. Svensson
13. Neurogenesis
14. Baek
15. Wagner
16. Brain-derived neurotrophic factor
17. Freitas
18. Curcumin
19. Oxygen radical absorbance capacity value
20. Ishrat
21. Abrahams
22. Superoxide
23. Hydrogen peroxide
24. Nitrite radical
25. Li
26. cytokines
27. Nitric oxide
28. Andrukhov
29. Chan
30. Brinkley
31. Excitotoxic inducers

دوز ۲ و ۴ گرم در هر روز، تغییری در آمیلوئید بتا[1] (Aβ) و پروتئین تائو[2] پلاسمایی بیماران آلزایمری مشاهده نشده است (رینگمن[3] و دیگران، ۲۰۱۲)؛ اما تاثیر توام تمرین هوازی و کورکومین، کاهش مالون دی آلدهید[4] (MDA) هیپوکامپ و پلاسما، و افزایش ظرفیت ضداکسایشی تام را به دنبال دریافت استات سرب[5] به همراه داشته است (حسین‌زاده و دیگران، ۲۰۱۳). چنین یافته‌هایی حاکی از آن است که برای تایید کارآیی کورکومین در انسان، نیاز به تحقیقات بیشتری است (فرخنده و دیگران، ۲۰۱۶)، به علاوه، در مطالعات قبلی اشاره شده که برای تایید کارآیی همراه با مصرف کورکومین و تمرین بدنی در برابر آثار سمی آرسنیک بر مرگ سلولی در مغز هم، نیاز به تحقیقات بیشتری وجود دارد (فرخنده و دیگران، ۲۰۱۶). از طرف دیگر، بررسی مستقیم اثر مصرف کورکومین در افراد در حال تمرین بدنی (چه ورزشکاران و چه بیماران در حال ورزش درمانی) بر اثرات سمی آرسنیک در مغز؛ اهمیت کاربردی دارد و می‌تواند پیشروی تحقیقات بیشتر در آینده باشد. از این رو، در این تحقیق تاثیر توام تمرین تناوبی شدید و مکمل کورکومین بر مقدار MDA، نیتریت، هموسیستئین و کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ مغز موش‌های صحرائی تحت مواجهه با آرسنیک بررسی شد.

روش تحقیق

تحقیق حاضر به لحاظ هدف، از نوع کاربردی و بر اساس روش اجرا، از نوع مطالعات تجربی بود. تعداد ۴۸ سر موش نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۳۰۰ تا ۳۷۰ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، تعداد سه سر رت در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی و طبق چرخه ۱۲ ساعت خواب و بیداری؛ نگه‌داری شدند. درجه حرارت اتاق در محدوده ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و شرایط نگهداری و کار با حیوانات بر اساس توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام گرفت. موش‌ها ابتدا به شش گروه شامل گروه های آرسنیک+تمرین، آرسنیک+کورکومین، توام (آرسنیک+تمرین+ کورکومین)، آرسنیک، کنترل اتانول[6] و کنترل آب مقطر تقسیم شدند. چهار گروه از کل موش‌ها، شامل گروه‌های آرسنیک+تمرین، آرسنیک+کورکومین، توام و آرسنیک؛ به مدت شش هفته از طریق آب آشامیدنی تحت مواجهه با آرسنیک تری‌اکسید[7] با دوز پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن/ روز که در چهار میلی لیتر آب مقطر حل شده بود؛ قرار گرفتند. این طرز مصرف هر روز دو بار (هر وهله نصف دوز) به صورت گاواژ خوراکی استفاده شد. دو گروه از موش‌ها هم شامل گروه‌های کنترل معمولی و کنترل اتانول، تحت مواجهه با آرسنیک، کورکومین و تمرین قرار نگرفتند. به دلیل این که کورکومین در اتانول حل گردید، برای تعیین اثر اتانول، گروه اتانول کنترل نیز در نظر گرفته شد. به علاوه، کورکومین روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت حل شده در چهار میلی لیترآب مقطر در طی دو وهله (هر وهله نصف دوز) به صورت گاواژ به موش‌ها خورانده شد (بیسواز[8] و دیگران، ۲۰۱۰). لازم به ذکر است که آرسنیک یک ساعت پس از کورکومین مورد استفاده قرار گرفت.

قبل از مداخله ورزشی و به منظور آشناسازی، موش‌ها به مدت یک هفته، پنج جلسه در هفته، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه، با سرعت ۸ تا ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. در این جلسات، به منظور آشناسازی موش‌ها با پروتکل‌های اصلی، شیب نوارگردان به تدریج افزایش پیدا کرد تا در جلسه چهارم و پنجم به شیب ۲۵ درجه رسید. در ادامه با توجه به عدم دسترسی به دستگاه تجزیه و تحلیل‌گر گازهای تنفسی، از پروتکل غیر مستقیم 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 دو دقیقه یکبار به ۰/۰۳ متر بر ثانیه (۱/۸تا دو متر بر دقیقه)، افزایش یافت، تا جایی که موش‌ها دیگر قادر به دویدن نبودند. سرعت رسیدن به VO_{2max} به عنوان سرعت حداکثر (vVO_{2max}) تعریف شد (هویدال[9] و دیگران، ۲۰۰۷).

به منظور اجرای پروتکل تمرین ورزشی با شدت بالا، موش‌ها قبل از شروع فاز اصلی تمرین، به مدت پنج دقیقه با سرعت پنج متر در دقیقه، گرم کردند. شیب نوارگردان در تمام طول دوره تمرینی، ۲۵ درجه بود. درکل شش هفته تمرین، پنج جلسه تمرین در هفته شامل ۶۰ دقیقه دویدن تناوبی در نظر گرفته شد. درهفته اول، هر تناوب تمرین به صورت چهار دقیقه دویدن با سرعت حدود ۱۷ متر بر دقیقه (معادل شدت ۹۰-۸۵ درصد از سرعت رسیدن به VO_{2max} به عنوان vVO_{2max} و دو دقیقه ریکاوری فعال با سرعت در حدود هشت متر بر دقیقه (معادل شدت ۶۰-۵۰ درصد vVO_{2max}) اجرا شد

1. Amyloid beta
2. Tau proteine
3. Ringman
4. Malondialdehyde
5. Lead acetate
6. Ethanol
7. Arsenic trioxide
8. Biswas
9. Hoydal

(هافستاد[1] و دیگران، ۲۰۱۳)؛ اما در هفته‌های بعدی، هر هفته ۰/۰۲ متر در ثانیه به این سرعت اضافه گردید.
پس از پایان مداخله ورزشی، ابتدا موش‌ها با کتامین[2] (۱۵۰ میلی‌گرم بر هرکیلوگرم وزن بدن) و زایلازین[3] (۱۵ میلی‌گرم بر هرکیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. سپس به پشت روی تخته تشریح خوابانده شدند و پس از تزریق سالین سرد، بخشی از مغز از خون پاکسازی شد و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردید. نمونه‌های بافتی بخش دیگری از مغز در بافر لیز[4] در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در یک میلی‌لیتر بافر، هموژن شدند. نمونه‌های هموژن شده بر روی یخ قرار داده شد و به مدت ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ[5] گردید. سپس هم بخش سطحی و هم سایر بخش‌های نمونه سانتریفیوژ شده (به طور مجزا) تا زمان تحلیل، در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند.
مقدار MDA نمونه‌های هموژن با واکنش TBARS[6] اندازه‌گیری شد (فونچاگو[7] و دیگران، ۲۰۱۵). برای تعیین محتوای نیتریت، مقدار تولید نیتریک اکساید سوپرناتانت[8] طبق روش (فریتاس و و دیگران، ۲۰۰۵)، با استفاده از واکنش گریس[9] تعیین شد. اندازه‌گیری هموسیستئین طبق جزئیات روش لی و دیگران (۲۰۱۶) توسط کیت الایزا[10] شرکت کازابایو[11] ساخت کشور چین (CSB-E13376r) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. مقدار بیان کاسپازهای- ۳، ۸ و ۹ با استفاده از آنتی‌بادی‌های ساخت شرکت سانتاکروز[12] (Santa Cruz Biotechnology, CA) به روش وسترن بلات[13] انجام شد. چگالی باندها، با استفاده از نرم‌افزار Image J ساخت مریلند آمریکا[14] تعیین گردید و بر حسب مقدار بتا اکتین[15]، نرمال سازی شد.
برای استخراج نتایج، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو - ویلک[16] بررسی شد. در ادامه، برای مقایسه بین‌گروهی داده‌ها از روش تحلیل واریانس تک راهه استفاده شد. همه مقایسه‌های زوجی با استفاده از آزمون تعقیبی توکی[17] (بسته به نتایج آزمون لون[18]) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و در سطح اطمینان آماری برابر با ۹۵ درصد، انجام شدند.

یافته‌ها

نتایج آزمون تحلیل واریانس تک راهه (جدول ۱) حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین‌گروهی در مورد تمام متغیرها به جز نیتریت بود ($p<0/05$).
بر طبق نتایج آزمون تعقیبی توکی در هیچ یک از متغیرها، تفاوتی بین گروه های اتانول کنترل و کنترل معمولی وجود نداشت ($p>0/05$). بنابراین در مقایسه‌های تعقیبی گروه‌ها، فقط گروه کنترل معمولی به عنوان ملاک مقایسه در نظر گرفته شد (جدول ۲). آرسنیک در مقایسه با گروه کنترل معمولی، سبب افزایش بیان کاسپازهای- ۳، ۸ و ۹ ، مقدار MDA و هموسیستئین مغز شد (جدول ۲). بیان کاسپازهای- ۳، ۸ و ۹ فقط در گروه‌های مصرف کورکومین (شامل دو گروه آرسنیک-کورکومین و توام) به طور معنی‌داری کمتر از گروه آرسنیک بودند؛ اما در گروه تمرین تفاوتی نسبت به گروه آرسنیک نداشتند. با این که در گروه آرسنیک-کورکومین، مقدار بیان هر سه کاسپاز- ۳، ۸ و ۹ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل طبیعی داشت، اما بیان کاسپازهای- ۸ و ۹ مغز گروه توام، به سطوح مشابه با گروه کنترل معمولی رسید (جدول ۲). مقدار هموسیستئین در هر سه گروه مورد مداخله (آرسنیک-تمرین، آرسنیک-کورکومین و توام)، کمتر از گروه آرسنیک بود، اما با مصرف کورکومین تغییر بیشتری داشت؛ این در حالی بود که در هیچ یک از گروه‌ها، به سطح مشابه با گروه کنترل نرسید (جدول ۲). از طرف دیگر، مقدار MDA در هر سه گروه مورد مداخله، تفاوت معنی داری با گروه کنترل طبیعی نداشت (جدول ۲).

بحث

افزایش بیان کاسپازهای- ۳، ۸ و ۹ بافت مغز در اثر آرسنیک (مشاهده شده در مطالعه حاضر)، دلیل نسبتا محکمی برای بروز آپوپتوزیس غیرقابل برگشت و تحلیل سلول‌های عصبی به حساب می‌آید (مای و لیو[19]، ۲۰۰۹). از طرف دیگر، فقط کورکومین (در هر دو گروه آرسنیک-کورکومین و توام) توانست این اثر را کمتر کند و تمرین به تنهایی تاثیری بر آن نداشت. مواجهه با آرسنیک موجب التهاب سیستمیک می‌شود (پراساد[20] و دیگران، ۲۰۱۷). همچنین بدیهی است که آسیب میتوکندریایی سلول‌های عصبی و آسیب DNA ناشی از آرسنیک (پراکاش و کومار[21]، ۲۰۱۶)، احتمال پیام‌رسانی مرگ سلولی از هر دو مسیر داخلی و بیرونی در مغز گروه آرسنیک-تمرین را تایید می‌کند. با این حال، شاید هم در آپوپتوزیس ناشی از آرسنیک، بین فعال‌سازی از مسیر درونی و بیرونی برهم کنشی

1. Hafstad
2. Ketamine
3. Xylazine
4. Lysis buffer
5. Centrifugus
6. Thiobarbituric acid reactive substances
7. Phunchago
8. Nitric oxide supernatant
9. Grace reaction
10. Elisa
11. Cusabio
12. Santa Cruz
13. Western blot
14. Maryland
15. β actin
16. Shapiro-Wilks
17. Tukey
18. Leven
19. Mai & Liu
20. Prasad
21. Prakash & Kumar

جدول ۱. توصیف متغیرهای وابسته تحقیق و نتایج آزمون تحلیل واریانس یک راهه

متغیرها	گروه ها	میانگین ± انحراف استاندارد	p بین گروهی
بیان پروتئین کاسپاز ۸ در مغز (fold change)	آرسنیک – تمرین	۳/۴۵ ± ۰/۴۸	۰/۰۰۱*
	آرسنیک – کورکومین	۲/۵۳ ± ۰/۵۶	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۱/۶۱ ± ۰/۶۴	
	آرسنیک	۴/۳۶ ± ۰/۴۲	
	اتانول – کنترل	۱/۰۰۸ ± ۰/۰۰۸	
	کنترل معمولی	۱/۰۰ ± ۱/۰۳	
بیان پروتئین کاسپاز ۹ در مغز (fold change)	آرسنیک– تمرین	۲/۸۷ ± ۰/۳۶	۰/۰۰۱*
	آرسنیک – کورکومین	۱/۵۳ ± ۰/۲۳	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۱/۴۹ ± ۰/۵۰	
	آرسنیک	۲/۸۷ ± ۰/۲۳	
	اتانول– کنترل	۰/۹۲ ± ۰/۱۲	
	کنترل معمولی	۱/۰۰ ± ۰/۳۶	
بیان پروتئین کاسپاز ۳ در مغز (fold change)	آرسنیک– تمرین	۳/۰۳ ± ۰/۲۷	۰/۰۰۱*
	آرسنیک – کورکومین	۱/۶۸ ± ۰/۲۶	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۱/۴ ± ۰/۲۰	
	آرسنیک	۳/۱۰ ± ۰/۲۹	
	اتانول– کنترل	۰/۹۲ ± ۰/۱۱	
	کنترل معمولی	۱/۰۰ ± ۰/۷۶	
هموسیستئین در مغز (نانومول/گرم)	آرسنیک– تمرین	۱۴/۷۲ ± ۱/۰۵	۰/۰۰۱*
	آرسنیک – کورکومین	۱۱/۷۷ ± ۱/۰۱	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۱۲/۱۲ ± ۰/۶۶	
	آرسنیک	۱۶/۹۸ ± ۱/۱۰	
	اتانول– کنترل	۹/۰۵ ± ۰/۴۱	
	کنترل معمولی	۸/۵۱ ± ۰/۴۱	
MDA مغز (نانومول/میلی گرم)	آرسنیک– تمرین	۲/۸۱ ± ۰/۸۶	۰/۰۰۱*
	آرسنیک – کورکومین	۱/۲۱ ± ۰/۶۵	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۰/۹۰ ± ۰/۲۶	
	آرسنیک	۴/۴۶ ± ۰/۹۹	
	اتانول– کنترل	۱/۰۱ ± ۰/۲۴	
	کنترل معمولی	۱/۹۰ ± ۰/۷۳	
نیتریت مغز (پیکومول/میلی‌گرم)	آرسنیک– تمرین	۴/۳۵ ± ۰/۲۷	۰/۱۰
	آرسنیک – کورکومین	۴/۲۰ ± ۰/۴۲	
	توام (آرسنیک – کورکومین – تمرین)	۳/۵۹ ± ۰/۸۲	
	آرسنیک	۳/۶۳ ± ۱/۰۱	
	اتانول– کنترل	۳/۵۹ ± ۰/۷۸	
	کنترل معمولی	۳/۷۸ ± ۰/۴۱	

*نشانه تفاوت معنی‌دار بین گروه ها در سطح p<۰/۰۵.

جدول ۲. نتایج آزمون تعقیبی توکی در مورد مقایسه زوجی گروه‌ها

گروه ها	کاسپاز ۸ اختلاف میانگین (p)	کاسپاز ۹ اختلاف میانگین (p)	کاسپاز ۳ اختلاف میانگین (p)	هموسیستئین اختلاف میانگین (p)	MDA اختلاف میانگین (p)
آرسنیک-تمرین با آرسنیک-کورکومین	۰/۹۲ ± ۰/۳۰ (۰/۰۴)*	۱/۳۳ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۱/۳۵ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۲/۹۵ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۱/۶۰ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-تمرین با آرسنیک-کورکومین-تمرین	۱/۸۳ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۱/۳۷ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۱/۶۳ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۲/۶۰ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۱/۹۰ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-تمرین با آرسنیک	-۰/۹۰ ± ۰/۳۰ (۰/۰۵۲)	۰/۰۰۳ ± ۰/۱۶ (۰/۹۹۹)	-۰/۰۷ ± ۰/۱۹ (۰/۹۹۹)	-۲/۲۵ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	-۱/۶۵ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-تمرین با اتانول-کنترل	۲/۴۴ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۱/۹۵ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۲/۱۱ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۵/۶۶ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۱/۷۹ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-تمرین با کنترل	۲/۴۵ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۱/۸۷ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۲/۰۳ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۶/۲۰ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۰/۹۰ ± ۰/۳۴ (۰/۰۱۱)*
آرسنیک-کورکومین با آرسنیک-کورکومین-تمرین	۰/۹۱ ± ۰/۳۰ (۰/۰۴۷)*	۰/۰۴ ± ۰/۱۶ (۰/۹۹۹)	۰/۲۸ ± ۰/۱۹ (۰/۶۸)	-۰/۳۴ ± ۰/۴۱ (۰/۹۵)	۰/۳۰ ± ۰/۳۴ (۰/۹۴)
آرسنیک-کورکومین با آرسنیک	-۱/۸۲ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	-۱/۳۳ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	-۱/۴۲ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	-۵/۲۱ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	-۳/۲۵ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-کورکومین با اتانول-کنترل	۱/۵۲ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۰/۶۱ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۷)*	۰/۷۵ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۳)*	۲/۷۱ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۰/۱۹ ± ۰/۳۴ (۰/۹۹)
آرسنیک-کورکومین با کنترل	۱/۵۳ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۰/۵۳ ± ۰/۱۶ (۰/۰۲۴)*	۰/۶۸ ± ۰/۱۹ (۰/۰۱۱)*	۳/۲۵ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	-۰/۶۹ ± ۰/۳۴ (۰/۳۴)
آرسنیک-کورکومین-تمرین با آرسنیک	-۲/۷۴ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	-۱/۳۷ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	-۱/۷۰ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	-۴/۸۶ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۳/۵۵ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک-کورکومین-تمرین با اتانول-کنترل	۰/۶۱ ± ۰/۳۰ (۰/۳۵)	۰/۵۷ ± ۰/۱۶ (۰/۰۱۳)*	۰/۴۷ ± ۰/۱۹ (۰/۱۴)	۳/۰۶ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۰/۱۱ ± ۰/۳۴ (۰/۹۹)
آرسنیک-کورکومین-تمرین با کنترل	۰/۶۱ ± ۰/۳۰ (۰/۳۴)	۰/۴۹ ± ۰/۱۶ (۰/۰۴۵)*	۰//۴ ± ۰/۱۹ (۰/۳۰)	۳/۶۰ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۰/۹۹ ± ۰/۳۴ (۰/۰۵۸)
آرسنیک با اتانول-کنترل	۳/۳۵ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۱/۹۴ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۲/۱۸ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۷/۹۲ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	-۳/۴۴ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
آرسنیک با کنترل	۳/۳۶ ± ۰/۳۰ (۰/۰۰۱)*	۱/۸۷ ± ۰/۱۶ (۰/۰۰۱)*	۲/۱۰ ± ۰/۱۹ (۰/۰۰۱)*	۸/۴۶ ± ۰/۴۱ (۰/۰۰۱)*	۲/۵۶ ± ۰/۳۴ (۰/۰۰۱)*
اتانول-کنترل با کنترل	۰/۰۰۸ ± ۰/۳۰ (۰/۹۹۹)	-۰/۰۷ ± ۰/۱۶ (۰/۹۹)	-۰/۰۷ ± ۰/۱۹ (۰/۹۹۹)	۰/۵۴ ± ۰/۴۱ (۰/۷۸)	-۰/۸۸ ± ۰/۳۴ (۰/۱۲)

*نشانه تفاوت معنی دار بین گروهی در سطح p<۰/۰۵.

وجود داشته باشد؛ اما در مطالعه حاضر تعامل احتمالی در مسیرهای درونی و بیرونی مورد بررسی قرار نگرفت.

در بخش دیگر یافته‌ها، تنها در مورد جلوگیری از افزایش کاسپاز-۸ ناشی از آرسنیک، مداخله توام تمرین و کورکومین نسبت به مصرف کورکومین تنها، اثر بیشتری داشت. با توجه فعال سازی کاسپاز-۸ از مسیر بیرونی (کنتاری و والزک[1]، ۲۰۱۱)، این نکته تا حد خیلی ضعیفی می‌تواند بر قابلیت تمرین در جلوگیری بیشتر از مسیر مرگ آپوپتوزی خارجی (مسیر گیرنده Fas) نسبت به مسیر آپوپتوزی داخلی یا میتوکندریایی دلالت کند (کنتاری و والزک، ۲۰۱۱). به بیان دیگر، این تغییرات بیشتر به قابلیت های ضدالتهابی تمرین مرتبط است؛ اما به دلیل کمبود شواهد در مورد آثار ضدالتهابی تمرین در مواجهه با آرسنیک، این مساله نیازمند بررسی بیشتر در آینده

1. Kantari & Walczak

است. در تحقیق حاضر، مرگ سلولی آپوپتوزی به طور مستقیم بررسی نشد و فقط افزایش شکل فعال کاسپاز-۳ به عنوان دلیل غیرقابل برگشت پذیر بودن آپوپتوزیس لحاظ گردید. این اثر قبلا هم تایید شده و به استرس اکسایشی، التهاب، نقص در اتوفاژی[1] و تجمع پروتئین ها در درون سلول، استرس شبکه اندوپلاسمی و نارسایی عملکرد میتوکندری نسبت داده شده است (ولف[2]، ۲۰۱۸). با این‌حال، افزایش کاسپاز-۳ همیشه دلیل مستقیم بر رخداد آپوپتوزیس نیست و حتی می‌تواند در تنظیم عصب‌زایی و فعالیت سیناپسی نقش داشته باشد (دی‌آملیو[3] و دیگران، ۲۰۱۰). به علاوه، ما بافت مخلوط مغز را بررسی کردیم؛ در حالی که سهم دقیق سلول‌های عصبی و غیرعصبی (مانند نوروگلیا) از این مقدار افزایش کاسپاز-۳، معلوم نیست.

تاثیر آرسنیک بر مرگ سلولی آپوپتوزی و نکروزی به دوز و مدت مواجهه نیز بستگی دارد. مرگ آپوپتوزی بیشتر در طولانی مدت (بیش از ۴۰ ساعت) اتفاق می‌افتد، ولی مرگ نکروزی خیلی زود رخ می‌دهد و حداکثر تا حدود ۴۰ ساعت ادامه دارد (سلوراج[4] و دیگران، ۲۰۱۳). بنابراین به نظر می‌رسد که در بررسی نقش کورکومین و تمرین در مواجهه با آرسنیک، بررسی آپوپتوزیس اولویت داشته باشد، چرا که معمولا مواجهه انسان در مدت طولانی اتفاق می‌افتد و معمولا دوز مربوطه آنقدر بالا نیست که مرگ سریع را به همراه داشته باشد. به هرحال، این یافته در مورد کاهش احتمال بروز آپوپتوزیس مغز موش های تحت مواجهه با آرسنیک توسط کورکومین، می‌تواند زمینه‌ساز تجویز آن هنگام اجرای فعالیت‌بدنی در مواجهه با آرسنیک باشد. همچنین، اگرچه اثر کورکومین در محافظت از آپوپتوزیس عصبی ناشی از آرسنیک قبلا هم تایید شده است، ولی حل‌پذیری پایین در آب، جذب روده‌ای پایین، نفوذ محدود به سد خونی مغزی و تجزیه سریع آن؛ قابلیت‌های درمانی آن را زیر سوال برده است. همچنین طبق برخی شواهد، اثرات مثبت کورکومین در حیوانات ممکن است قابل تعمیم به انسان نباشد که امکان کاربرد نتایج تحقیقات حیوانی را کم می‌کند (فرخنده و دیگران، ۲۰۱۶).

در بخش دیگر یافته‌ها مشخص گردید که آرسنیک سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی مغز (بر اساس افزایش MDA) می‌شود. قبلا هم گزارش شده است که آرسنیک می‌تواند از سد خونی مغزی عبور کند و میل ترکیبی بالای آن برای اتصال به گروه‌های سولفوهیدریل[5] (قوی‌ترین مواد ضداکسایشی سطحی سلول) اثرات سمی معینی دارد که سبب تخلیه ذخایر گلوتاتیون[6] (GSH) و بروز استرس اکسایشی می‌شود (آرنر و هولمگرین، ۲۰۰۰). ولی هم تمرین تناوبی شدید و هم کورکومین و هم اثر توام آن ها، از این اثر سوء آرسنیک بر افزایش پراکسیداسیون لیپیدی مغز جلوگیری کردند. این یافته نیز به خوبی با اثرات محرز تمرین در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی مغز (شیروانی و دیگران، ۲۰۱۹) همسو است. به علاوه، در مطالعه‌ای نسبتا مشابه، دریافت کورکومین و تمرین هوازی به دنبال دریافت استات سرب، به کاهش MDA هیپوکامپ و پلاسما و افزایش ظرفیت ضداکسایشی منجر شده است (حسین‌زاده و دیگران، ۲۰۱۳) که با نتایج ما همخوانی دارد. ولی باید توجه نمود که پراکسیداسیون لیپیدی، همه رویدادهای مربوط به استرس اکسایشی در مغز را در بر نمی‌گیرد. همچنین اگرچه معمولا متداول‌ترین روش سنجش MDA استفاده از مواد TBARS است، ولی به دلیل واکنش پذیری آن سایر اجزای سلولی به غیر از انواع مشتق شده از پراکسیداسیون لیپیدی؛ حساسیت و ویژگی کافی برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدی را ندارد. در بخش دیگر یافته‌ها، مواجهه با آرسنیک سبب افزایش مقدار هموسیستئین بافت مغز شد؛ و در حالی که هم مصرف کورکومین، هم تمرین و هم اثر آرسنیک-کورکومین-تمرین تا حدودی این تغییرات را کم رنگ کردند، اما این اثر سوء آرسنیک کاملا جبران نشد. به علاوه، اثر کورکومین در جلوگیری از این افزایش هموسیستئین مغزی، قوی‌تر از اثر متناظر تمرین بود. هموسیستئین بالای خون همچنین می‌تواند یک عامل خطر متابولیک برای بیماری‌های تحلیل عصبی باشد که خود ریشه در آپوپتوزیس دارد (ساچدیف[7] و دیگران، ۲۰۰۵). همچنین افزایش هموسیستئین و یا کمبود ویتامین های B9 و B12 می‌توانند سبب افزایش آپوپتوزیس و مرگ سلول عصبی شوند (ابید[8] و دیگران، ۲۰۰۶). به هرحال، نتایج این تحقیق در مورد مشاهده آثار کورکومین بر کاهش مقدار هموسیستئین مغزی ناشی از مواجهه با آرسنیک، با اثرات محافظتی کورکومین در برابر نارسایی شناختی و استرس اکسایشی ناشی از هموسیستئین (وانگ[9] و دیگران، ۲۰۱۲) هم راستا هستند و همه آن ها برکاهش استرس اکسایشی و نارسایی‌های تحلیل عصبی متعاقب این نوع مداخله اشاره می‌کنند.

اثر تمرینات ورزشی بر کاهش مقدار هموسیستئین خون

1. Autophagy
2. Wolfe
3. D'amelio
4. Selvaraj
5. Sulfhydryl
6. Glutathione
7. Sachdev
8. Obeid
9. Wang

هم، در تحقیقات زیادی تایید شده است (وینسنت[1] و دیگران، ۲۰۰۳؛ تسای[2] و دیگران، ۲۰۱۵)؛ اما مکانیسم‌های دقیق آن هنوز شناخته نشده است. به دلیل متابولیزه شدن هموسیستئین توسط سوکسینیل کوآ[3] (یکی از واسطه‌های چرخه کربس)، احتمال دارد افزایش نیاز انرژی در هر جلسه تمرین، سبب تبدیل هموسیستئین به سوکسینیل کوآ شده و بدین ترتیب، کاهش آن در اثر تمرین ایجاد شود. همچنین چندین عامل از جمله ویتامین B9 در تسهیل دفع آرسنیک نقش دارند و شیوع بالای افزایش هموسیستئین خون و کمبود این ویتامین در افراد در معرض آرسنیک گزارش شده است (گامبل[4] و دیگران، ۲۰۰۵). از این رو، گرچه هم تمرین اجرا شده و هم کورکومین تا حدودی افزایش هموسیستئین ناشی از آرسنیک را تعدیل کردند، اما به نظر می‌رسد برای جبران کامل آن، نیاز به مصرف فولات نیز وجود دارد؛ که نیازمند بررسی بیشتر در آینده می‌باشد.

در بخش دیگر نتایج، هم مواجهه با آرسنیک و هم مکمل کورکومین و تمرین؛ تاثیری بر مقدار نیتریت مغزی موش‌ها نداشتند. آرسنیک موجب التهاب سیستمیک می‌شود (پراساد[5] و دیگران، ۲۰۱۷) که در این شرایط سایتوکاین‌ها تولید نیتریک اکساید را القاء می‌کنند و نیتریت و پروکسی نیتریت تولید می‌شود (آندراخوف و دیگران، ۲۰۱۳). تبدیل نیتریت به نیتریک اکساید فعال، عمدتا در شرایط کمبود اکسیژن و به منظور افزایش جریان خون موضعی بیشتر می شود (شیباتا و دیگران، ۱۹۹۶). به علاوه، اگرچه قبلا تاثیر کورکومین (چان و دیگران، ۱۹۹۵) بر تولید نیتریت مشاهده شده است، ولی عدم تغییر مقدار تولید نیتریت پس از تمرین هوازی هم گزارش شده است (برینکلی و دیگران، ۲۰۰۹). بدین ترتیب، تصور می‌شود در تحقیق حاضر، دوز و مدت مواجهه با آرسنیک در حدی نبوده که از طریق التهاب سیستمیک، نیتریت مغز را تغییر دهد. همچنین مقدار هیپوکسی مغزی ناشی از مواجهه با آرسنیک نیز احتمالا در حدی نبوده که مقدار نیتریک اکساید و نیتریت مغزی را تعدیل (کاهش) نماید.

موضوع قابل توجه آن است که نتایج حاصل از اثرات کورکومین در مطالعه حاضر، به انسان ها قابل تعمیم نیست. به علاوه، متغیرهای مرتبط با پیامدهای عینی ناشی از اثرات سمی احتمالی مواجهه با آرسنیک و اثرگذاری احتمالی تمرین و مصرف مکمل کورکومین بر ساختار و عملکرد مغز در مطالعه حاضر بررسی نشد. تعداد اندک آزمودنی‌ها، عدم کسب اطمینان از بروز واقعی مرگ سلول عصبی و سرنوشت و مقدار جذب کورکومین، عدم اندازه‌گیری شاخص‌های منعکس کننده وضعیت آمادگی جسمانی و مقدار مسافت طی شده، و سایر شاخص‌های بیوشیمیایی مربوط به پایش اثرات حاصل از تمرینات بدنی، در نظر نگرفتن گروه تمرین بدون مواجهه با آرسنیک، تفکیک مرگ سلولی ناشی از آپوپتوزیس و اتوفاژی، و همچنین تمایز آن از سایر انواع مرگ سلولی از قبیل نکروزیس؛ از جمله محدودیت های مطالعه حاضر هستند. بدیهی است برای رسیدن به نتایج شفاف و قطعی در این زمینه، لازم است در تحقیقات آینده به این موارد توجه شود.

نتیجه گیری: مواجهه با آرسنیک می‌تواند به افزایش هموسیستئین، پراکسیداسیون لیپیدی و فعال‌شدن مسیرهای آپوپتوزی در مغز موش ها منجر شود. با این حال، هر سه مداخله شامل تمرین تناوبی شدید، کورکومین و اثر توام آن ها، مقدار پراکسیداسیون لیپیدی مغزی ناشی از آرسنیک را جبران کردند، اما در مورد سایر متغیرها، تمرین به تنهایی تاثیری نداشت. در سایر متغیرها بیشتر در گروه‌های مصرف کورکومین و به ویژه در مورد مسیرهای آپوپتوزیس درونی و بیرونی، تنها در گروه توام، از اثرات آرسنیک بر مغز کاملا جلوگیری شد. با این حال، به دلیل محدودیت های تحقیق و به ویژه کمبود تحقیقات انسانی، نیاز است در این زمینه بیشتر مطالعه شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی در مقاله حاضر وجود ندارد.

قدردانی و تشکر

پژوهشگران بدین‌وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولان محترم آزمایشگاه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و کسانی که در اجرای پروتکل تحقیق ما را یاری کردند، اعلام می‌دارند.

1. Vincent
2. Tsai
3. Succinyl-CoA
4. Gamble
5. Prasad

منابع

Abrahams, S., Haylett, W. L., Johnson, G., Carr, J. A., & Bardien, S. (2019). Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. *Neuroscience*, *406*, **1-21.**

Andrukhov, O., Haririan, H., Bertl, K., Rausch, W. D., Bantleon, H. P., Moritz, A., & Rausch-Fan, X. (2013). Nitric oxide production, systemic inflammation and lipid metabolism in periodontitis patients: possible gender aspect. *Journal of Clinical Periodontology, 40*(**10**), **916-923.**

Arnér, E. S., & Holmgren, A. (2000). Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *European Journal of Biochemistry, 267*(**20**), **6102-6109.**

Baek, S. S. (2016). Role of exercise on the brain. *Journal of Exercise Rehabilitation, 12*(**5**), **380-385.**

Biswas, J., Roy, S., Mukherjee, S., Sinha, D., & Roy, M. (2010). Indian spice curcumin may be an effective strategy to combat the genotoxicity of arsenic in Swiss albino mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 11*(**1**), **239-47.**

Brinkley, T. E., Fenty-Stewart, N. M., Park, J. Y., Brown, M. D., & Hagberg, J. M. (2009). Plasma nitrate/nitrite levels are unchanged after long-term aerobic exercise training in older adults. *Nitric Oxide, 21*(**3-4**), **234-238.**

Chan, M. M. Y., Ho, C. T., & Huang, H. I. (1995). Effects of three dietary phytochemicals from tea, rosemary and turmeric on inflammation-induced nitrite production. *Cancer Letters, 96*(**1**), **23-29.**

D'amelio, M., Cavallucci, V., & Cecconi, F. (2010). Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. *Cell Death and Differentiation, 17*(**7**), **1104-1114.**

Farkhondeh, T., Samarghandian, S., & Samini, F. (2016). Antidotal effects of curcumin against neurotoxic agents: An updated review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 9*(**10**), **947-953.**

Flora, S. J., Mittal, M., Pachauri, V., & Dwivedi, N. (2012). A possible mechanism for combined arsenic and fluoride induced cellular and DNA damage in mice. *Metallomics, 4*(**1**), **78-90.**

Freitas, D. A., Rocha-Vieira, E., Soares, B. A., Nonato, L. F., Fonseca, S. R., Martins, J. B., ... & Meeusen, R. (2018). High intensity interval training modulates hippocampal oxidative stress, BDNF and inflammatory mediators in rats. *Physiology and Behavior, 184*, **6-11.**

Freitas, R. M., Vasconcelos, S. M., Souza, F. C., Viana, G. S., & Fonteles, M. M. (2005). Oxidative stress in the hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus in Wistar rats. *The FEBS Journal, 272*(**6**), **1307-1312.**

Gamble, M. V., Liu, X., Ahsan, H., Pilsner, J. R., Ilievski, V., Slavkovich, V., ... & Graziano, J. H. (2005). Folate, homocysteine, and arsenic metabolism in arsenic-exposed individuals in Bangladesh. *Environmental Health Perspectives, 113*(**12**), **1683-1688.**

Hafstad, A. D., Lund, J., Hadler-Olsen, E., Höper, A. C., Larsen, T. S., & Aasum, E. (2013). High-and moderate-intensity training normalizes ventricular function and mechanoenergetics in mice with diet-induced obesity. *Diabetes, 62*(**7**), **2287-2294.**

Høydal, M. A., Wisløff, U., Kemi, O. J., & Ellingsen, Ø. (2007). Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, 14*(**6**), **753-760.**

Hosseinzadeh, S., Roshan, V. D., & Mahjoub, S. (2013). Continuous exercise training and curcumin attenuate changes in brain-derived neurotrophic factor and oxidative stress induced by lead acetate in the hippocampus of male rats. *Pharmaceutical Biology, 51*(**2**), **240-245.**

Ishrat, T., Hoda, M. N., Khan, M. B., Yousuf, S., Ahmad, M., Khan, M. M., ... & Islam, F. (2009). Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by curcumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT). *European Neuropsychopharmacology, 19***(9), 636-647.**

Kantari, C., & Walczak, H. (2011). Caspase-8 and bid: caught in the act between death receptors and mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 1813***(4), 558-563.**

Li, W., Suwanwela, N. C., & Patumraj, S. (2016). Curcumin by down-regulating NF-kB and elevating Nrf2, reduces brain edema and neurological dysfunction after cerebral I/R. *Microvascular Research, 106***, 117-127.**

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging, 13***, 757.**

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.**

Mai, Z., & Liu, H. (2009). Boolean network-based analysis of the apoptosis network: irreversible apoptosis and stable surviving. *Journal of Theoretical Biology, 259***(4), 760-769.**

Obeid, R., & Herrmann, W. (2006). Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *Federation of the European Biochemical Societies, 580***(13), 2994-3005.**

Park, Y. J., Ko, J. W., Jang, Y., & Kwon, Y. H. (2013). Activation of AMP-activated protein kinase alleviates homocysteine-mediated neurotoxicity in SH-SY5Y cells. *Neurochemical Research, 38***(8), 1561-1571.**

Phunchago, N., Wattanathorn, J., & Chaisiwamongkol, K. (2015). Tiliacora triandra, an anti-intoxication plant, improves memory impairment, neurodegeneration, cholinergic function, and oxidative stress in hippocampus of ethanol dependence rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity***, 918426.**

Prakash, C., & Kumar, V. (2016). Arsenic-induced mitochondrial oxidative damage is mediated by decreased PGC-1α expression and its downstream targets in rat brain. *Chemico-Biological Interactions, 256***, 228-235.**

Prasad, P., & Sinha, D. (2017). Low-level arsenic causes chronic inflammation and suppresses expression of phagocytic receptors. *Environmental Science and Pollution Research, 24***(12), 11708-11721.**

Ringman, J. M., Frautschy, S. A., Teng, E., Begum, A. N., Bardens, J., Beigi, M., ... & Porter, V. (2012). Oral curcumin for Alzheimer's disease: tolerability and efficacy in a 24-week randomized, double blind, placebo-controlled study. *Alzheimer's Research and Therapy, 4***(5), 43.**

Sachdev, P. S. (2005). Homocysteine and brain atrophy. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 29***(7), 1152-1161.**

Selvaraj, V., Armistead, M. Y., Cohenford, M., & Murray, E. (2013). Arsenic trioxide (As2O3) induces apoptosis and necrosis mediated cell death through mitochondrial membrane potential damage and elevated production of reactive oxygen species in PLHC-1 fish cell line. *Chemosphere, 90***(3), 1201-1209.**

Shibata, M., Araki, N., Hamada, J., Sasaki, T., Shimazu, K., & Fukuuchi, Y. (1996). Brain nitrite production during global ischemia and reperfusion: an in vivo microdialysis study. *Brain Research, 734***(1-2), 86-90.**

Shirvani, H., Aslani, J., Mohammadi, Z. F., & Arabzadeh, E. (2019). Short-term effect of low-, moderate-, and high-intensity exercise training on cerebral dopamine neurotrophic factor (CDNF) and oxidative stress biomarkers in brain male Wistar rats. *Comparative Clinical Pathology, 28***(2), 369-376.**

Sun, H., Yang, Y., Shao, H., Sun, W., Gu, M., Wang, H., ... & Gao, Y. (2017). Sodium arsenite-induced learning and memory impairment is associated with endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in rat hippocampus. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 10*, **286.**

Svensson, M., Lexell, J., & Deierborg, T. (2015). Effects of physical exercise on neuroinflammation, neuroplasticity, neurodegeneration, and behavior: what we can learn from animal models in clinical settings. *Neurorehabilitation and Neural Repair, 29*(**6**), **577-589.**

Tsai, C. L., Wang, C. H., Pan, C. Y., & Chen, F. C. (2015). The effects of long-term resistance exercise on the relationship between neurocognitive performance and GH, IGF-1, and homocysteine levels in the elderly. *Frontiers In Behavioral Neuroscience, 9, 23*.

Vincent, K. R., Braith, R. W., Bottiglieri, T., Vincent, H. K., & Lowenthal, D. T. (2003). Homocysteine and lipoprotein levels following resistance training in older adults. *Preventive Cardiology, 6*(**4**), **197-203.**

Wagner, G., Herbsleb, M., Cruz, F. D. L., Schumann, A., Brünner, F., Schachtzabel, C., ... & Reichenbach, J. R. (2015). Hippocampal structure, metabolism, and inflammatory response after a 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults: a controlled trial. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 35*(**10**), **1570-1578.**

Wang, X., Mandal, A. K., Saito, H., Pulliam, J. F., Lee, E. Y., Ke, Z. J., ... & Tucker, T. (2012). Arsenic and chromium in drinking water promote tumorigenesis in a mouse colitis-associated colorectal cancer model and the potential mechanism is ROS-mediated Wnt/β-catenin signaling pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology, 262*(**1**), **11-21.**

Wolfe, M. S. (Ed.). (2018). *The Molecular and Cellular Basis of Neurodegenerative Diseases: Underlying Mechanisms*. **1st Edition, Kindle Edition, Academic Press.**

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی