University of Birjand

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport Research Paper

Fall 2022, 10(23), 90-103

Received: Sep 25, 2020 Revised: Jan 12, 2021 Accepted: Jan 16, 2021

Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport

Effects of high intensity interval training and curcumin on blood total antioxidant capacity and hepatic NRF2 and caspase-3 level in rats exposed to arsenic

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

1.PhD student in Exercise Physiology, Department of Physical Education, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Physical Education, 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, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

5. Assistant Professor, Department of Veterinary, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

Abstract

Background and Aim: Arsenic exposure could likely lead to hepatic apoptosis and metabolic disturbances and high intensity interval training (HIIT) as well as curcumin supplementation seems to improve this condition. The aim of the present study was to investigate the effects of HIIT and curcumin supplementation on hepatic nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) and caspase-3 as well as blood total antioxidant capacity (TAC), glucose, triglyceride (TG), and high density lipoprotein cholesterol (HDL) in rats exposed to arsenic**. Materials and Methods**: During the experimental study, 48 male rats were randomized into six groups of arsenic-HIIT (HIIT), arsenic-curcumin (curcumin), arsenic-HIIT-curcumin (concomitant), arsenic, ethanol control, and normal control. Arsenic and curcumin (5 and 15 mg/bw/day respectively) were consumed by gavage method. HIIT performed six weeks, five d/w, 60 min/session, consisted of running bouts (four min) at 85-90% of vVo_2max with two min active rest intervals. The data were measured using colorimetry and Wester blotting and were analyzed by one-way ANOVA at the $p<0.05$. **Results**: Hepatic caspase-3 as well as blood glucose and TG were significantly higher, and blood TAC and HDL levels were lower in arsenic group compared to normal control ($p=0.001$ under any circumstances). However, blood HDL, glucose and TAC in all three groups of HIIT, curcumin and concomitant as well as liver caspase-3 just in concomitant group had not significant difference as compared to control group ($p>0.05$). Additionally, hepatic NRF2 were elevated to levels even higher than control group in curcumin and concomitantc groups ($p=0.001$). **Conclusion**: Although the up-regulated blood TG-induced by arsenic could not restore with HIIT, curcumin or concomitant interventions, however, three interventions efficiently restore the elevated blood glucose and also the lowered HDL and TAC. Moreover, increased hepatic caspase-3 was only corrected with concomitant intervention, while only curcumin could restore the lowered levels of hepatic NRF2 induced by arsenic.

Keywords: Apoptosis, Arsenic, High intensity interval training, Curcumin.

Cite this article:
Salehi Aghdam, N., Pouzesh Jadidi, P., Azali Alamdari, K., Bashiri, J., & Nourazar, M.A.R. (2022). Effects of high intensity interval training and curcumin on blood total antioxidant capacity and hepatic NRF2 and caspase-3 level in rats exposed to arsenic. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 10***(23), 90-103.**

***Corresponding Author; Address: Dept. of Physical Education, Islamic Azad University, Tabriz, Iran;**
Email: poozesh2016@gmail.com

https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3754.1590

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee **Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport (JPSBS)**. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

نشریه مطالعات کاربردی علوم‌زیستی در ورزش
مقاله پژوهشی
پاییز ۱۴۰۱، دوره ۱۰، شماره ۲۳، ص ۱۰۳-۹۰
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۰۴ تاریخ ویرایش: ۹۹/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۷
دانشگاه بیرجند
نشریه مطالعات کاربردی علوم زیستی در ورزش

تاثیر تمرین تناوبی شدید و کورکومین بر ظرفیت ضداکسایشی تام خون، NRF2 و کاسپاز-۳ کبدی موش‌های نر تیمار شده با آرسنیک

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

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

چکیده

زمینه و هدف: مواجهه با آرسنیک با احتمال وقوع آپوپتوزیس در کبد و نارسایی‌های متابولیک همراه است؛ در حالی که تمرین تناوبی شدید (HIIT) و کورکومین می‌توانند این شرایط را به طور مثبت تعدیل نمایند. هدف تحقیق حاضر، بررسی تاثیر HIIT و کورکومین بر عامل دو وابسته به عامل هسته‌ای اریتروئید-۲ (NRF2) و کاسپاز-۳ کبدی، و ظرفیت ضداکسایشی تام (TAC)، گلوکز، تری‌گلیسرید (TG) و لیپوپروتئین کلسترول پرچگال (HDL) خون در موش‌های در معرض آرسنیک بود. **روش تحقیق**: در این تحقیق تجربی، ۴۸ موش نر به شش گروه شامل آرسنیک-HIIT (تمرین)، آرسنیک-کورکومین (کورکومین)، آرسنیک-کورکومین-تمرین (توام)، آرسنیک، کنترل اتانول، و کنترل معمولی تقسیم شدند. آرسنیک و کورکومین به ترتیب با دوز ۵ و ۱۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در روز از طریق گاواژ به موش‌ها خورانده شدند. پروتکل HIIT به مدت شش هفته، پنج روز در هفته و هر جلسه شامل ۶۰ دقیقه فعالیت (تناوب‌های چهار دقیقه‌ای دویدن با شدت ۹۰-۸۵ درصد vVO_{2max}، با دو دقیقه استراحت فعال) اجرا شد. داده‌ها با روش‌های رنگ‌سنجی و وسترن بلات استخراج شدند و با روش تحلیل واریانس یک راهه در سطح $p<0/05$ مقایسه گردیدند. **یافته‌ها**: در گروه آرسنیک، میزان کاسپاز-۳ کبد، گلوکز و TGخون بالاتر؛ و TAC و HDL خون پایین‌تر از گروه کنترل معمولی بود ($p=0/001$ در همه موارد)؛ در حالی که HDL، گلوکز و TAC خون در سه گروه تمرین، کورکومین و توام؛ و کاسپاز -۳ کبد تنها در گروه توام؛ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل معمولی نداشتند ($p>0/05$). به علاوه، NRF2 کبدی فقط در گروه‌های کورکومین و توام به بالاتر از سطح گروه کنترل رسید ($p=0/001$). **نتیجه‌گیری**: با این که تاثیر آرسنیک بر افزایش TG خون، با مداخله تمرین، کورکومین و یا اثر توام آن‌ها، اصلاح نشد؛ ولی هر سه مداخله افزایش قند و کاهش HDL و TAC خون را اصلاح کردند. از طرف دیگر، افزایش کاسپاز-۳ کبدی فقط با مداخله توام؛ و کاهش NRF2 کبدی فقط با کورکومین اصلاح شد.

واژه های کلیدی: آپوپتوزیس، آرسنیک، تمرین تناوبی شدید، کورکومین.

نویسنده مسئول، آدرس: تبریز، مجتمع دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، گروه تربیت بدنی؛
پست الکترونیک: poozesh2016@gmail.com
https://doi.org/10.22077/jpsbs.2021.3754.1590

مقدمه

آرسنیک[1] یک فلز سمی است که از طریق پوست، استنشاق شده و با آب آشامیدنی وارد بدن می‌شود. تشخیص آن به دلیل نداشتن مزه و بو مشکل است و اثرات آن سریع مشاهده نمی شوند؛ همین موضوع باعث می‌شود دریافت آن به طور مزمن ادامه یابد. به علاوه، آرسنیک یکی از عواملی است به طور بالقوه، موجب سمی شدن کبد می گردد (موتومانی و پرابو[2]، ۲۰۱۲) و در آرسنیکوز[3] ناشی از آلودگی آب آشامیدنی، بیماری مزمن کبدی متداول است (رنو[4] و دیگران ۲۰۲۰). آرسنیک به دلیل افزایش استرس اکسایشی هم، با آسیب‌های کبدی رابطه دارد (سینگ و دیگران[5]، ۲۰۱۱) و در مواجهه مزمن، از طریق تخلیه ذخایر گلوتاتیون (بینو[6] و دیگران، ۲۰۱۷)، سبب افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن[7] (ROS) می‌شود (دخیل[8] و دیگران ۲۰۲۰)؛ و با پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش اکسایش پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و آسیب به DNA، آپوپتوزیس[9] را تسهیل می‌کند (جوموا[10] و دیگران، ۲۰۱۱). همچنین به دلیل این که کبد جایگاه اصلی متیلاسیون آرسنیک[11] می‌باشد، آپوپتوزی شدن کبدی پس از مواجهه با آرسنیک، بسیار محتمل است (ماجومدار[12] و دیگران، ۲۰۱۱) و سبب تسریع مسیرهای آپوپتوزی وابسته به میتوکندری (با رهاسازی سیتوکروم c) و تغییر بیان پروتئین‌های آپوپتوزی به ویژه کاسپاز-۳ می‌شود (میلتونپرابو[13] و دیگران، ۲۰۱۴). به علاوه، ROS تولید شده توسط آرسنیک ممکن است به آپوپتوزیس و افزایش شاخص ضد استرس اکسایشی عامل دو وابسته به عامل هسته‌ای اریتروئید ۲[14] (NRF2) منجر شود (پرابو و دیگران، ۲۰۱۲). در همین راستا گزارش شده که مواجهه با آرسنیک، سبب آغاز آپوپتوزیس کبدی از مسیر وابسته به ROS، افزایش انتقال NRF2 به هسته و اتصال به عامل هسته ای کاپا بی[15] (NF-KB) می‌شود. از این رو، این اطلاعات حاکی از آن است که مواجهه با آرسنیک در کبد، سبب بروز آپوپتوزیس شده و به نظر می‌رسد که هر گونه دستکاری که بتواند سبب بهبود وضعیت ضداکسایشی سلول‌های کبدی شود، اثرات مفیدی در کاهش و یا جلوگیری از آپوپتوزیس کبدی ناشی از مواجهه با آرسنیک خواهد داشت.

از سوی دیگر، تحقیقات گذشته از نقش محافظتی کورکومین[16] در جلوگیری از آپوپتوزیس کبدی ناشی از آرسنیکوز حمایت کرده‌اند (گائو[17] و دیگران، ۲۰۱۳؛ گارسیا[18] و دیگران، ۲۰۱۴؛ موتومانی[19] و دیگران، ۲۰۱۵). طبق یک بازنگری مروری، کورکومین 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 دارد (آبراهامز[20] و دیگران، ۲۰۱۹) و بنابراین، کارآیی کورکومین و یا ترکیبات مشتق از آن در جبران و یا جلوگیری از آپوپتوزیس کبدی هنگام مواجهه با آرسنیک، محرز به نظر می‌رسد (گائو و دیگران، ۲۰۱۳؛ گارسیا و دیگران، ۲۰۱۴؛ موتومانی و دیگران، ۲۰۱۵). این بدان معنی است که کورکومین می‌تواند به عنوان یک استراتژی موثر، در زمینه کاهش عوارض مواجهه مزمن با آرسنیک، بازداری مرگ سلولی آپوپتوتیک کبدی و تعدیل عوارض و بیماری‌های مرتبط با آن؛ مورد استفاده قرار گیرد.

فعالیت بدنی در بهبود آسیب‌های کبدی نقشی بدیهی دارد (دادبان و دیگران، ۲۰۱۸)؛ اما در مورد مکانیسم‌های مولکولی منجر شونده به این بهبودی‌ها در بافت کبد آسیب دیده، شفاف‌سازی بیشتری لازم است. بر طبق دانش ما، تاکنون بندرت تاثیر تمرین شنا بر آسیب اکسایشی کبد ناشی از آرسنیک در موش‌ها بررسی شده است (حبیب و دیگران، ۲۰۱۹). اطلاعات بسیار اندکی در مورد قابلیت تاثیر تمرینات ورزشی و به ویژه تمرینات تناوبی شدید[21] (HIIT) - که دارای مزیت نسبی به تمرینات سنتی تداومی از نظر نیاز به وقت کمتر و کارآیی بالاتر هستند- بر آپوپتوزیس کبدی (فرخی و دیگران، ۲۰۲۰) و یا افزایش قند خون (اکبرزاده و فلاحی، ۲۰۱۸) ناشی از آرسنیک وجود دارد. همچنین به نظر می‌رسد که بین اثرات احتمالی تمرینات بدنی و کورکومین، در جلوگیری از آثار سوء آرسنیک بر آپوپتوزیس سلول‌های کبدی، بر هم کنشی وجود داشته باشد؛ موضوعی که نیازمند بررسی بیشتر و مستقیم می‌باشد. آرسنیک به چاقی و دیابت هم منجر می‌شود و اعتقاد بر آن است که التهاب، استرس اکسایشی و آپوپتوزیس؛ در آسیب زایی دیابت پس از مواجهه با آرسنیک نقش دارد (فرخنده و دیگران، ۲۰۱۹). این بدان معناست که استفاده از تمرینات ورزشی در کنار کورکومین، علاوه بر احتمال جلوگیری و یا کاهش آپوپتوزیس کبدی؛ می‌تواند شاخص‌های متابولیک کنترل کننده دیابت را هم تعدیل نماید. تصور می‌شود با بررسی تعامل HIIT و مکمل

1. Arsenic
2. Muthumani and Prabu
3. Arsenicosis
4. Renu
5. Singh
6. Binu
7. Reactive oxygen species
8. Dkhil
9. Apoptosis
10. Jomova
11. Arsenic methylation
12. Majumdar
13. Miltonprabu
14. Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
15. Nuclear factor kappa B
16. Curcumin
17 Gao
18. García
19. Muthumani
20. Abrahams
21. High intensity Interval training

کورکومین بر آپوپتوزیس سلول‌های کبدی (تحت مواجهه با آرسنیک)، اطلاعات کاربردی ارزشمندی در مورد کنترل شاخص‌های متابولیک هم فراهم شود.

به طور کلی، در شرایط مواجهه مزمن با آرسنیک، آسیب‌های گسترده‌ای در اکثر سیستم‌های بدن روی می‌دهد (عبدل[1] و دیگران، ۲۰۱۵) و ظرفیت سیستم دفاع ضداکسایشی و ایمنی بدن تحت تاثیر قرار می‌گیرد (فراریو[2] و دیگران، ۲۰۱۶)؛ تغییراتی که احتمال می‌رود با استرس ناشی از هر جلسه تمرین ورزشی همراه شده و نتیجه دلخواه از نظر کسب سازگاری در ظرفیت ضداکسایشی را با مشکل مواجه سازد. به بیان دیگر، در افراد تحت مواجهه مزمن با آرسنیک، ظرفیت بدن برای کسب سازگاری با تلاش جسمانی کمتر می‌شود و اهمیت چنین موضوعی این ضرورت را ایجاب می‌کند که ضمن مداخله مستقیم، نوع تمرین و شدت‌های مختلف تمرین مورد بررسی قرار گیرند تا زمینه بهینه‌سازی نسخه‌های تمرینی فراهم شود. از این رو، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر HIIT و مکمل کورکومین بر ظرفیت ضداکسایشی تام خون، NRF2 و کاسپاز-۳ کبدی و سایر شاخص‌های متابولیک در موش‌های نر تیمار شده با آرسنیک به اجرا درآمد.

روش تحقیق

روش تحقیق از نوع تجربی بود. تعداد ۴۸ سر موش نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با میانگین وزنی ۲۴/۷۷ ± ۳۴۰/۳۱ گرم از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. پروتکل پژوهشی در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز با شناسه IR.IAU.TABRIZ.REC. 1398. 098 به تصویب رسید. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، تعداد سه سر موش در هر قفس با دسترسی آزاد به آب و بسته‌های غذایی و طبق چرخه ۱۲ ساعت تاریکی-روشنایی نگه‌داری شدند. درجه حرارت اتاق، در محدوده ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و شرایط نگهداری و کار با حیوانات بر اساس دستورالعمل اخلاقی هلسینکی انجام گرفت. موش‌ها ابتدا به طور تصادفی به شش گروه شامل آرسنیک-تمرین، آرسنیک-کورکومین، آرسنیک-کورکومین-تمرین (توام)، آرسنیک، کنترل اتانول، و کنترل معمولی (کنترل آب مقطر) تقسیم شدند. موش‌های گروه‌های تحت مواجهه با آرسنیک به مدت شش هفته از طریق آب آشامیدنی تحت مواجهه با آرسنیک تری اکسید[3] خریداری شده از شرکت سیگما[4] ساخت کشور آلمان، با دوز پنج میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز قرار گرفتند؛ به گونه ای که آرسنیک در چهار میلی لیتر آب مقطر حل شد و هر روز دو بار (هر وهله در نصف دوز) به صورت گاواژ (خوراکی) به موش‌ها داده شد. لازم به ذکر است که به دلیل جامد بودن آرسنیک، ابتدا محلول آن تهیه شد و به دلیل حل‌پذیری بسیار اندک آن در آب، ابتدا در اتانول داغ مخلوط گردید و سپس در آب مقطر رقیق‌سازی شد. بنابراین، برای تعیین تاثیر احتمالی اتانول بر متغیرها، گروه کنترل اتانول نیز در نظر گرفته شد.

کورکومین مورد استفاده نیز از شرکت سیگما تهیه شد و روزانه ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت حل شده در چهار میلی لیتر آب مقطر به موش‌ها داده شد. طول مدت استفاده شش هفته بود و هر روز طی دو وهله (هر وهله نصف دوز) به صورت گاواژ مصرف شد. لازم به ذکر است که آرسنیک هر روز ۶۰ دقیقه پس از کورکومین، به حیوانات خورانده می‌شد.

موش های گروه‌های HIIT و توام یک هفته با تکرار پنج جلسه به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در هر جلسه، با سرعت ۸ تا ۱۰ متر در دقیقه بر روی نوارگردان به فعالیت پرداختند. شیب نوارگردان به تدریج در هر جلسه افزایش پیدا کرد تا در جلسه چهارم و پنجم به ۲۵ درجه رسید. در ادامه 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، سرعت نوارگردان هر دو دقیقه یک بار به میزان ۰/۰۳ متر بر ثانیه افزایش یافت و تا زمانی که موش ها قادر به دویدن نبودند، ادامه یافت. سرعت رسیدن به VO_{2max} (vVO_{2max}) به عنوان سرعت حداکثر تعریف شد (هویدال[5] و دیگران، ۲۰۰۷).

مداخله HIIT به مدت شش هفته، با تکرار پنج روز در هفته، هر جلسه ۶۰ دقیقه، به صورت دویدن تناوبی روی نوارگردان با شیب ۲۵ درجه (در تمام طول دوره تمرینی) به اجرا درآمد (کرالویچ[6] و دیگران، ۲۰۱۳). موش‌ها قبل از شروع بخش اصلی تمرین، به مدت پنج دقیقه با سرعت پنج متر در دقیقه گرم کردند (وارینگ[7] و دیگران، ۲۰۱۲). در هفته اول، هر تناوب (۱۰ وهله) شامل چهار دقیقه دویدن با سرعت ۱۷ متر بر دقیقه (معادل ۹۰-۸۵ درصد vVO_{2max}) و دو دقیقه ریکاوری فعال با سرعت هشت متر بر دقیقه (معادل ۶۰ – ۵۰ درصد vVO_{2max}) بود (هافاستاد[8] و دیگران، ۲۰۱۳). در هفته‌های بعدی، سرعت دویدن هر هفته به میزان حدودا ۰/۰۲ متر در ثانیه افزایش یافت. لازم

1. Abdul
2. Ferrario
3. Trioxide
4. Sigma
5. Hoydal
6. Kraljevic
7. Waring
8. Hafstad

به ذکر است که از شوک الکتریکی استفاده نشد و فقط با هل دادن حیوانات با استفاده از اهرم، موش‌ها وادار به دویدن شدند (شرایطی که فقط در هفته اول به صورت محدود اتفاق افتاد).

پس از پایان مداخله، ابتدا از حیوان به مقدار دو میلی‌لیتر خون اخذ گردید و سپس موش ها تشریح شدند. برای این کار، ابتدا موش ها با کتامین[1] (۱۵۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین[2] (۱۵ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند و در نهایت، پس از شکافتن و کنار زدن بافت‌های سطحی، کبد خارج شد. گلوکز خون با کیت پارس آزمون ایران با حساسیت پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر؛ لیپوپروتئین کلسترول پر چگال (HDL) خون با با کیت پارس آزمون ایران با حساسیت یک میلی‌گرم در دسی‌لیتر؛ تری‌گلیسرید (TG) خون با با کیت پارس آزمون ایران حساسیت پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر؛ با روش آنزیمی اندازه گیری گردیدند. به علاوه، ظرفیت ضداکسایشی تام به روش رنگ‌سنجی با کیت کد MBS841488 با حساسیت ۰/۶۲ واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر ساخت شرکت MyBio-Source کشور چین اندازه‌گیری شد. بیان ژن‌های کاسپاز-۳ و NRF2 به روش وسترن بلات[3] اندازه گیری شدند؛ بدین صورت که ابتدا نمونه‌های هموژن کبد بر روی یخ قرار داده شد و سپس به مدت ۴۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس بخش سطحی نمونه‌های سانتریفیوژ شده جمع‌آوری گردید. ابتدا بخش پروتئینی نمونه‌ها با الکتروفورز جداسازی شد و به غشای PVDF4 (Millipore, Bedford, MA, 0.45 µm poresize) منتقل شدند. سپس غشاهای PVDF در بافر TBS با شیر خشک پنج درصد انکوبه شد. سپس آنتی‌بادی‌های کاسپاز-۳ (Santa Cruz Biotechnology, CA) و NRF2 Assay Solution,) (China ASA-B1413 اضافه شد و در طول شب در دمای چهار درجه نگهداری گردید. سپس نمونه‌های ایمنوبلات[4] پس از سه بار شستشو در محلول آنتی‌بادی ثانویه دارای نور لومینسانس[5]، انکوبه شدند. در ادامه، پس از شستشوی مجدد، پروتئین‌های ایمنوبلات شده با فیلم رادیوگرافی پوشانده شد (لیو و دیگران[6]، ۲۰۱۴) و چگالی باندهای آشکار شده، با استفاده از نرم‌افزار Image J، Maryland, USA تعیین شد و بر حسب مقدار بتا- اکتین[7] نرمال‌سازی گردید.

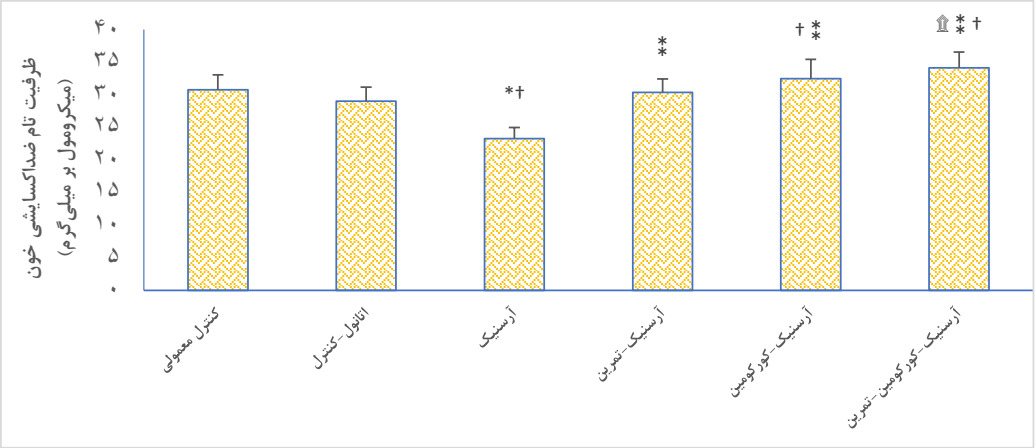
برای استخراج نتایج، ابتدا توزیع طبیعی داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک[8] بررسی شد در ادامه برای مقایسه بین‌گروهی داده‌ها، از روش تحلیل واریانس یک راهه[9] استفاده شد و در صورت معنی‌دار شدن نتایج، داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی[10] و یا جیمز هاول[11] (بسته به نتایج آزمون لون[12])؛ مقایسه شدند. تمام عملیات آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ و در سطح اطمینان ۹۵ درصد صورت گرفت.

یافته‌ها

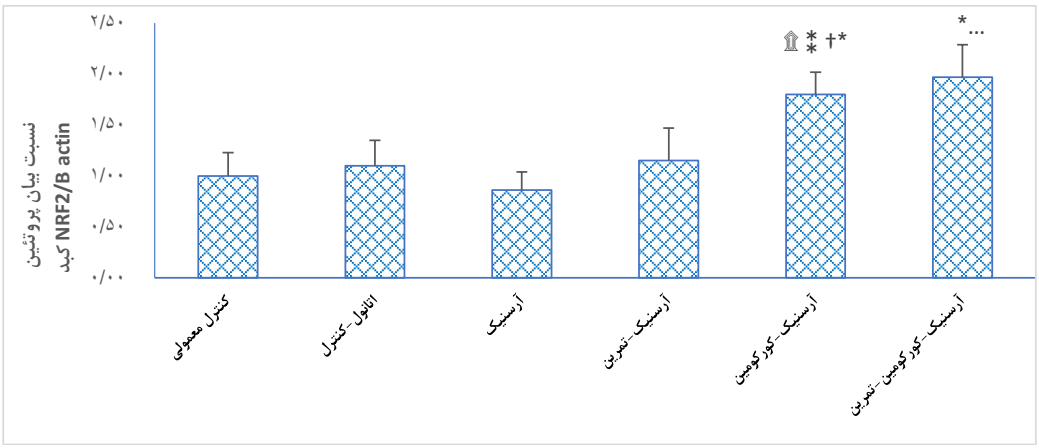
تمام موش ها (۴۸ سر در قالب شش گروه) دوره مداخله را تکمیل کردند. در مورد هیچ یک از متغیرها، بین گروه‌های کنترل اتانول و کنترل آب مقطر، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). بنابراین در گزارش نویسی‌ها و تفسیرها، گروه کنترل معمولی به عنوان مبنا لحاظ شد. نتایج تحلیل واریانس یک راهه حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین‌گروهی در مورد تمام متغیرها شامل TAC ($p=0/001$، $F_{5, 42}=21/45$)، NRF2 ($p=0/001$، $F_{5, 42}=24/31$)، کاسپاز-۳ ($p=0/001$، $F_{5, 42}=54/57$)، گلوکز خون ($p=0/001$، $F_{5,}=10/04$ $_{42}$)، HDL ($p=0/02$، $F_{5, 42}=2/91$) و TG ($p=0/001$، $F_{5, 42}=60/57$) بود. مقایسه‌های بین‌گروهی (با آزمون تعقیبی) نشان داد که مواجهه با آرسنیک، سبب افزایش مقدار کاسپاز-۳ کبد و همچنین گلوکز و TG خون شده است؛ در حالی‌که ظرفیت TAC و HDL خون و NRF2 کبد کاهش یافتند. از طرف دیگر، مداخلهHIIT و مکمل کورکومین اثرات قابل ملاحظه‌ای بر جبران این تغییرات داشتند (شکل‌های ۱ تا ۶).

مواجهه با آرسنیک در مقایسه با گروه کنترل، سبب کاهش TAC خون شد ($p=0/001$)؛ در حالی که تمرین ($p=0/001$)، مصرف مکمل کورکومین ($p=0/001$)، و اثر توام آن ها ($p=0/001$)؛ سبب اصلاح و حتی افزایش این شاخص (نسبت به گروه آرسنیک) گردید. همچنین مداخله توام (تمرین و مکمل) از انجام تمرین صرف، موثرتر بود ($p=0/001$)؛ اما نسبت به مصرف کورکومین، مزیتی نداشت ($p=0/72$). مهم‌تر آن که TAC در هر سه گروه تمرین ($p=0/99$)، کورکومین ($p=0/66$) و همچنین مداخله توام ($p=0/06$)؛ با گروه کنترل معمولی، تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱). آرسنیک (در مقایسه با گروه کنترل)، تاثیری بر مقدار بیان NRF2 کبد نداشت ($p=0/90$)، اما مقدار بیان NRF2 کبدی در گروه آرسنیک-کورکومین ($p=0/001$) و گروه توام ($p=0/001$) بیشتر از هر دو گروه کنترل معمولی و آرسنیک بود (شکل ۲).

1. Ketamine
2. Xylesin
3. Western blot
4. Immunoblotting
5. Chemiluminance
6. Liou
7. Beta-actin
8. Shapiro-Wilk
9. One--way analysis of variance
10. Tukey
11. Games Howel
12. Levene



شکل ۱. مقایسه ظرفیت ضداکسایشی تام خون. *، †، ‡ و ⇑: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی، اتانول- کنترل، آرسنیک و آرسنیک - تمرین در سطح p<۰/۰۵.



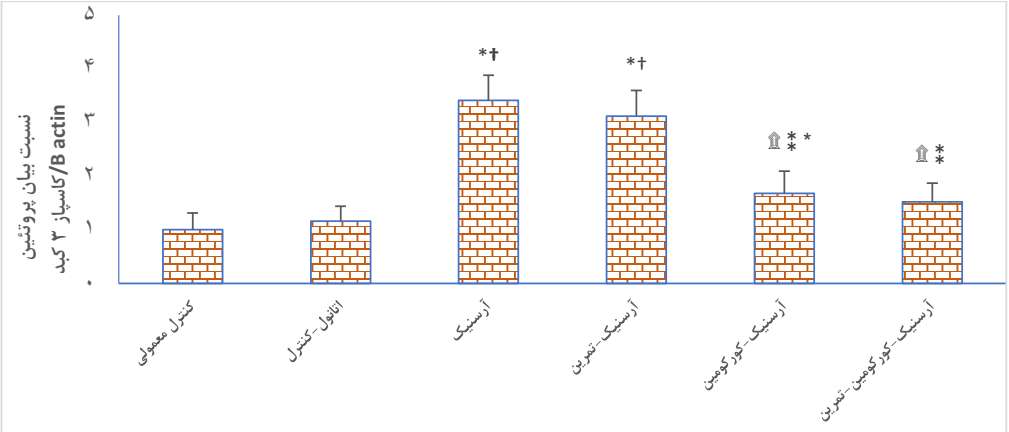
شکل ۲ . مقایسه نسبت بیان پروتئین NRF2 به بتا اکتین در بافت کبد موش ها. *، †، ‡ و ⇑: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی، اتانول- کنترل، آرسنیک و آرسنیک - تمرین در سطح p<۰/۰۵.

طبق اطلاعات شکل ۳، مواجهه با آرسنیک (در مقایسه با گروه کنترل)، سبب افزایش بیان کاسپاز-۳ کبد شد (p=۰/۰۰۱)، اما فقط در گروه آرسنیک-کورکومین (p=۰/۰۰۱) و گروه مداخله توام (p=۰/۰۰۱) مقدار بیان کاسپاز-۳ کبد نسبت به گروه آرسنیک کمتر بود و گروه تمرین با گروه آرسنیک، تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۷۰). با این‌حال، مقدار بیان کاسپاز-۳ کبد تنها در گروه توام با گروه کنترل معمولی، تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۱۰) که نشان می دهد اثر آرسنیک کاملا جبران شده است.

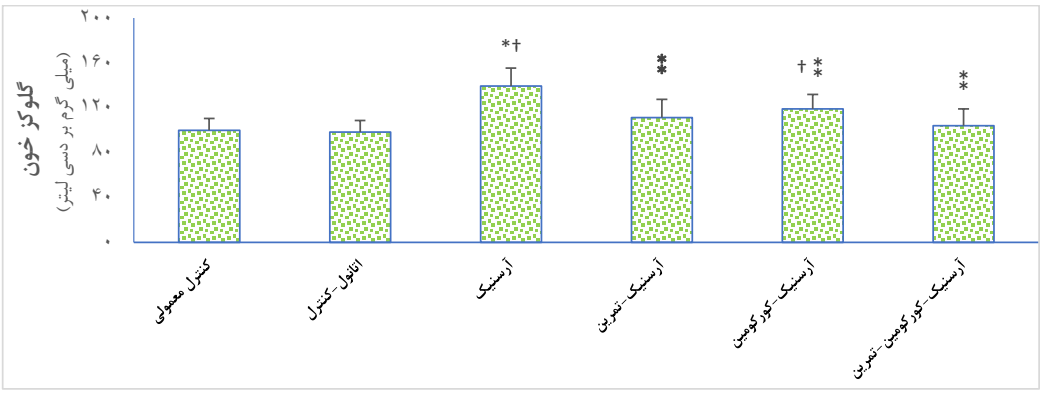
علاوه براین ها، آرسنیک (در مقایسه با گروه کنترل) سبب افزایش معنی دار گلوکز خون شد (p=۰/۰۰۱)، اما در مقایسه با گروه آرسنیک، فقط در گروه‌های تمرین - آرسنیک (p=۰/۰۰۳) و مداخله توام (p=۰/۰۰۱)، این شاخص نسبت به گروه آرسنیک کمتر بود. با این‌حال، در هر سه گروه تمرین (p=۰/۵۶)، کورکومین (p=۰/۰۸) و توام (p=۰/۹۹)؛ گلوکز خون به سطوح معادل با گروه کنترل طبیعی رسید (شکل ۴).

شکل ۵ نشان می دهد که آرسنیک کاهش مختصری در HDL خون (نسبت به گروه کنترل معمولی) ایجاد کرده است (p=۰/۰۳) و فقط در گروه توام مقدار آن نسبت به گروه آرسنیک (p=۰/۰۲) بیشتر است. از طرف دیگر، HDL خون در هر سه گروه تمرین (p=۰/۹۹)، کورکومین (p=۰/۹۷) و همچنین مداخله توام (p=۰/۷۸)؛ تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل طبیعی نداشت.

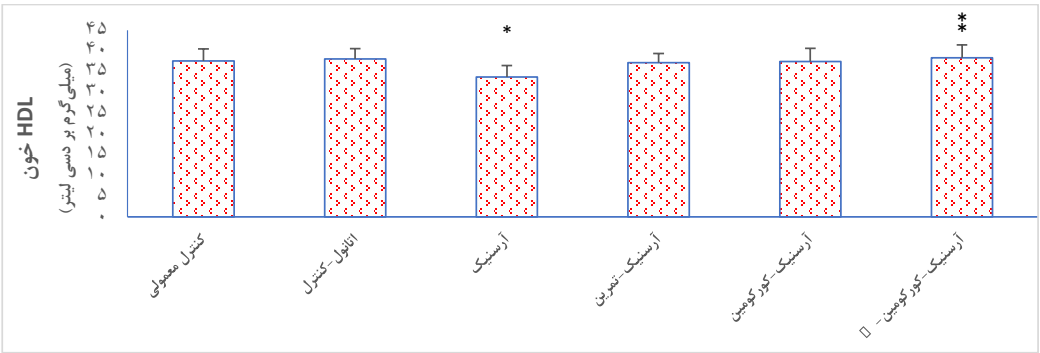
در نهایت (شکل ۶)، مواجهه با آرسنیک سبب افزایش مقدار TG خون شد (p=۰/۰۰۱)، ضمن این که در گروه‌های تمرین (p=۰/۰۰۱)، کورکومین (p=۰/۰۰۱) و توام (p=۰/۰۰۱)؛ مقادیر آن از گروه آرسنیک کمتر بود. در این مورد، مداخله توام اثری بهتر از اثر خالص کورکومین داشت (p=۰/۰۰۱)؛ با این‌حال، در پایان مداخله در هر سه گروه (به ترتیب با p =۰/۰۰۱، p =۰/۰۰۱ و p=۰/۰۳) هنوز مقدار TG خون به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل معمولی بود.



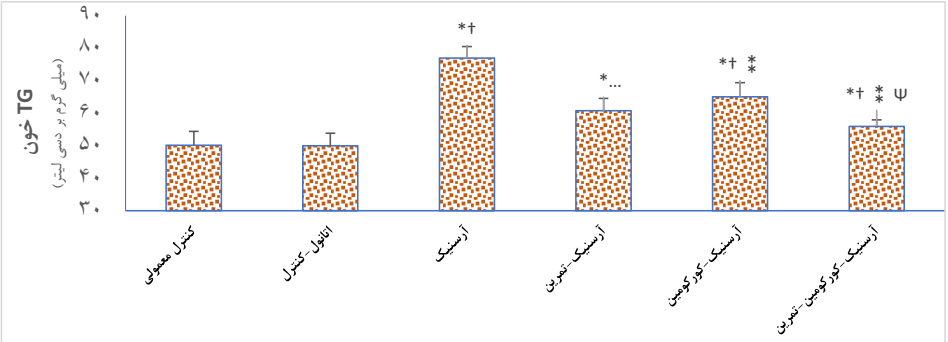
شکل ۳. مقایسه نسبت بیان پروتئین کاسپاز ۳ به بتا اکتین در بافت کبد موش ها. *،†، ‡ و ⇑: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی، اتانول- کنترل، آرسنیک و آرسنیک - تمرین در سطح p<۰/۰۵ .



شکل ۴. مقایسه گلوکز خون موش ها. *،† و ‡: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی، اتانول- کنترل و آرسنیک در سطح p<۰/۰۵.



شکل ۵. مقایسه HDL خون موش ها. * و ‡: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی و آرسنیک در سطح p<۰/۰۵.



شکل ۶. مقایسه TG خون موش ها. ❋، ✝، ‡ و Ψ: به ترتیب نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل معمولی، اتانول کنترل، آرسنیک و آرسنیک کورکومین در سطح p<۰/۰۵.

بحث

طبق اولین بخش یافته‌ها، آرسنیک سبب کاهش TAC خون شد؛ اما هر سه مداخله انجام شده سبب بازگشت آن به سطوح مشابه با موش های گروه کنترل شدند. اثر مداخله توام با این که بهتر از اثر تمرین به تنهایی بود، ولی بر کورکومین مزیتی نداشت. این یافته ها با نتایج فلاح و دیگران (۲۰۱۹) در مورد تاثیر کورکومین بر افزایش TAC در کبد موش های تحت مواجهه با آرسنیک، همخوانی دارد و دال بر آن است که آثار مطلوب تمرین بر TAC خون در مواجهه با آرسنیک، پس از مصرف همزمان کورکومین خیلی بیشتر خواهد بود. این اثر خیلی بیشتر کورکومین با ظرفیت جذب اکسیژن رادیکال[1] (ORAC) نسبتا بالای کورکومین (کارلسن[2] و دیگران، ۲۰۱۰) قابل توجیه است. ولی تمرین بیشتر از مسیر آنزیمی، سیستم ضداکسایشی بدن را تقویت می‌کند (پاورز[3] و دیگران، ۱۹۹۹). بنابراین، برای افراد ورزشکار و یا در حال تمرین منظم ساکن در مناطق دارای آرسنیک بالا، مصرف کورکومین در کنار تمرین بدنی و به ویژه HIIT، احتمالاً سبب تقویت TAC بدن می شود. مطالعات قبلی مکانیسم تاثیر کورکومین بر TAC کبد را به فعال‌سازی مسیر NRF2 (رنجبر و دیگران، ۲۰۲۰) و محافظت از آسیب اکسایشی نسبت داده‌اند (اشرفی‌زاده و دیگران، ۲۰۲۰).

در بخش دیگر یافته‌ها، با این که آرسنیک تاثیری بر مقدار بیان NRF2 کبدی نداشت، فقط کورکومین توانست موجب افزایش این شاخص شود؛ رهیافتی که با نتایج رهامن[4] و دیگران (۲۰۲۰) همسو است. پروتئین‌های بیان‌شونده توسط ژن‌های مورد هدف NRF2 در کبد، از آسیب‌های ناشی از سموم (شاید هم آرسنیک) جلوگیری می‌کنند (شین[5] و دیگران، ۲۰۱۳). همچنین افزایش‌های تکراری گذرا در استرس اکسایشی ناشی از هر جلسه تمرین، به ویژه در حین اجرای HIIT که شدت بالاتری دارد؛ سبب فعال‌شدن NRF2 می‌گردد (وارگاس مندوزا[6] و دیگران، ۲۰۱۹). این شرایط در نهایت به افزایش عوامل ضداکسایشی درون‌زا منتهی می‌شوند (دون[7] و دیگران، ۲۰۱۶). به نظر می‌رسد که عدم تاثیرگذاری HIIT در موش های تحت مواجهه با آرسنیک، از ظرفیت محدود سازگارپذیری کبد (در شرایط افزوده شدن فشار و استرس تمرین بدنی) به فشار حاصل از آرسنیک حکایت دارد؛ موضوعی که به دلیل کمبود شواهد، نیاز به بررسی بیشتر دارد. به‌هرحال، افزایش NRF2 کبدی موش های در معرض آرسنیک در اثر مصرف کورکومین و رسیدن آن به سطوح بالاتر از گروه کنترل، بر اهمیت تجویز آن برای افراد در حال فعالیت تحت مواجهه با آرسنیک، دلالت دارد؛ با این حال، باید این نتایج در جمعیت انسانی هم مطالعه و تایید شوند.

در بخشی دیگر از نتایج، آرسنیک سبب افزایش کاسپاز-۳ کبد شد، اما فقط مصرف کورکومین مقدار آن را نسبت به گروه آرسنیک کاهش داد و HIIT کارآیی کمتری (بر اساس عدم تفاوت معنی‌دار با گروه آرسنیک) در تعدیل آن داشت. مهم‌تر آن که تنها اثر مداخله توام افزایش کاسپاز-۳ کبدی ناشی از آرسنیک را به سطوح مشابه با گروه کنترل برگرداند؛ تغییری که بر اهمیت استفاده توام از کورکومین و تمرین بدنی برای کاهش آپوپتوزیس کبدی ناشی از مواجهه با آرسنیک، تاکید می‌کند. القای آپوپتوزیس ناشی از آرسنیک در کبد انسان، به جای تخلیه ذخایر ضد اکسایشی درون‌زا، بیشتر به تولید رادیکال‌های آزاد نسبت داده شده است (وانگ[8] و دیگران، ۲۰۰۹). اگر

1. Oxygen radical absorbance capacity
2. Carlsen
3. Powers
4. Rahaman
5. Shin
6. Vargas-Mendoza
7. Done
8. Wang

چه قبلا نقش تمرین بدنی به تنهایی (حبیب و دیگران، ۲۰۲۰؛ میردار هریجانی و دیگران، ۲۰۱۴؛ رمضانی و دیگران، ۲۰۲۰) و اخیرا در ترکیب با مکمل‌های گیاهی (فرزانگی و دیگران، ۲۰۲۰)، بر کاهش احتمال آپوپتوزیس کبدی و حتی در مواجهه با آرسنیک (فرخی و دیگران، ۲۰۲۰) تایید شده است. همان‌طور که پیش‌تر نیز بیان شد، معمولاً تمرین بدنی بیشتر از طریق مسیر آنزیمی سبب افزایش فعالیت ضداکسایشی می‌شود؛ بنابراین در مقایسه با قابلیت بالای ضداکسایشی کورکومین، عدم کارآیی HIIT در کاهش کاسپاز-۳ کبدی ناشی از آرسنیک، تاحدی قابل انتظار است و بر اهمیت بیشتر تجویز توام کورکومین برای افراد در حال تمرین تحت مواجهه با آرسنیک، با هدف کاهش احتمال آپوپتوزیس کبدی تاکید کرده و دال بر آن است که تنها نمی‌توان به HIIT اکتفا کرد.

در بخش دیگر یافته‌ها، آرسنیک سبب افزایش گلوکز خون شد؛ اثری که قبلا در انسان هم تایید شده است. در واقع آرسنیک از طریق استرس اکسایشی و تغییر بیان ژن، عملکرد سلول های بتا را از طریق مهار تولید و یا ترشح انسولین تغییر می‌دهد (لیو و دیگران، ۲۰۱۴). آنچه که مهم است، هر سه مداخله در اصلاح افزایش گلوکز خون ناشی از مواجهه با آرسنیک، تاثیر مشابهی داشتند. تمرین ورزشی می‌تواند از طریق افزایش در معرض قرار گرفتن گیرنده‌های انسولینی عضلات و تغییر فعالیت آنزیم‌های سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها، به کاهش گلوکز خون بینجامد (پن[1] و دیگران، ۲۰۱۸). تاثیر کورکومین هم بر کاهش گلوکز خون در افراد سالم (یانگ[2] و دیگران، ۲۰۲۰) و هم دیابتی (سو[3] و دیگران، ۲۰۱۷)، تایید شده است؛ نقشی که به تنظیم ترشح پپتاید شبه گلوکاگون-۱[4] به عنوان کاهش دهنده گلوکاگون و تولید گلوکز کبدی (کاتو[5] و دیگران، ۲۰۱۷)، مهار گلوکونئوژنز کبدی، و مهار آنزیم‌های گوارشی آلفا -گلوکوزیداز[6] و آلفا - آمیلاز[7] (تهوتا[8] و دیگران، ۲۰۱۸) نسبت داده شده است. در مورد تاثیر کورکومین و HIIT بر کاهش هایپرگلیسمی ناشی از مواجهه با آرسنیک، اثر توام مشاهده نشد. این موضوع با نتایج اکبرزاده و فلاحی (۲۰۱۸) مبنی بر عدم هم افزایی تاثیر کورکومین و تمرین بر گلوکز خون موش های دیابتی نوع دو، همخوانی دارد. با توجه به این که تاثیر تمرین بر بهبود گلوکز خون عمدتا به برداشت و سوخت و ساز بیشتر در عضله و در عوض، تاثیر کورکومین بیشتر به تولید و رهایش گلوکز از دستگاه گوارش و کبد نسبت داده شده است؛ شاید عدم مشاهده تاثیر تعاملی بین این دو مداخله در موش های در معرض آرسنیک، چندان هم تعجب آور نباشد. اما در کل این یافته‌ها بیان کننده آن است که احتمالا هم کورکومین و هم HIIT، افزایش گلوکز خون ناشی از آرسنیک را جبران می‌کنند و تجویز آن ها می‌تواند در جلوگیری از اختلال گلوکز خون ناشی از مواجهه با آرسنیک موثر واقع شود.

طبق سایر یافته‌های بدست آمده، آرسنیک سبب کاهش HDL خون شد، به گونه ای که در هر سه گروه تمرین، کورکومین و مداخله توام؛ این اثر خنثی گردید. اختلال در چربی های خون (کاهش HDL و افزایش TG) ناشی از آرسنیک با شواهد موجود همخوانی دارد و به کاهش پیام‌رسانی گیرنده X کبدی[9] (LXR) توسط آرسنیک (LXR می‌تواند سبب افزایش HDL شود) ربط داده شده است (واگ[10] و دیگران، ۲۰۱۷). شرایط مختلف بالینی مرتبط با التهاب، اکسایش، گلیکوزیله‌شدن[11] (در شرایط گلوکز خون بالا) و اکسایش پروتئین که همه در مواجهه با آرسنیک قابل انتظار هستند؛ می‌توانند با تغییر عملکرد HDL طبیعی، آن را به HDL ناکارآمد[12] تبدیل کنند که دارای قابلیت‌های پیش‌اکسایشی و به ویژه پیش‌آپوپتوزی است؛ اما ممکن است هم تحت تاثیر کورکومین، HDL به شکل ناکارآمد تبدیل نشود (گنجعلی و دیگران، ۲۰۱۷). همسو با مشاهدات ما، گزارش شده است که تمرین ورزشی موجب افزایش در مقدار و عملکرد HDL می‌شود (بلازک[13] و دیگران، ۲۰۱۳). تصور بر آن است که HIIT و کورکومین بیشتر عملکرد HDL را تغییر می‌دهند؛ این در حالی است که آثار جدیدا کشف شده HDL بر افزایش ترشح انسولین و برداشت گلوکز توسط عضله (لیتی و دیگران، ۲۰۱۳)، بر اهمیت بسیار بیشتر حفظ سطوح مناسب HDL تأکید دارد. بدین‌ترتیب، به نظر می‌رسد که افزایش مقدار و شاید هم عملکرد HDL در جمعیت ساکن در مناطق دارای آرسنیک بالا، از طریق کورکومین و تمرین، می‌تواند بر افزایش گلوکز خون نیز موثر باشد؛ ضمن آن که این مساله نیاز به بررسی مستقیم و بیشتر در پژوهش‌های آینده دارد. به علاوه، آرسنیک سبب افزایش TG خون شد که با نتایج تحقیقات گذشته (ریواس-سانتیاگو[14] و دیگران، ۲۰۱۹) همسو است. نکته قابل تامل آن است که این اختلال ماندگار بود و هیچ یک از مداخلات قادر به برطرف

1. Pan
2. Young
3. Su
4. Glucagon-like peptide1-
5. Kato
6. Alpha-Glucosidase
7. Alpha-Amylase
8. Thota
9. Liver X receptor
10. Vaghe
11. Glycosilation
12. Dysfunctional HDL
13. Blazek
14. Rivas-Santiago

کردن افزایش TG خون ناشی از آرسنیک نبودند. نقش آرسنیک در اختلال TG و متابولیسم چربی‌ها قطعی است (پادوانی[1] و دیگران، ۲۰۱۰)؛ و جالب آن که تاثیر تمرین (بروورز[2] و دیگران، ۲۰۱۶) و کورکومین (لی[3] و دیگران، ۲۰۱۷) در کاهش TG کبدی هم تقریبا بدیهی است. با این‌حال، در مطالعه حاضر برگشت نکردن مقادیر TG به سطوح مشابه با گروه کنترل پس از اجرای تمرین و یا مصرف مکمل کورکومین؛ نشان از آن دارد که اثر مواجهه با آرسنیک به سادگی برطرف نمی‌شود. این وضعیت را می توان به تغییر در میکروبیوتای روده[4] ربط داد، زیرا تحت تاثیر آرسنیک قرار گرفته و سبب افزایش TG می‌شود (چی[5] و دیگران، ۲۰۱۹). دلیل این تصور آن است که پس از مواجهه با آرسنیک، در هیچ یک از گروه‌ها برای اصلاح میکروبیوتای روده اقدام خاصی انجام نشد؛ اما عموما فهم تغییر مسیرهای متابولیکی تحت تاثیر آرسنیک هم پیچیده است و مدل حیوانی مناسبی برای مطالعه اثرات سمی آرسنیک در دسترس نیست (استیتز[6] و دیگران، ۲۰۱۱). تحقیق حاضر با محدودیت هایی مواجه بود. جذب کورکومین از راه دهانی کم است و سریع از بدن جوندگان دفع می‌شود (ماهیشواری[7] و دیگران، ۲۰۰۶)؛ تعداد آزمودنی‌ها کم بود؛ مرگ سلولی، شاخص‌های ایمنی شناختی و یا نشانگرهای بروز استرس اکسایشی در بافت کبد هم دقیقا بررسی نشدند. بنا به وجود این محدودیت‌ها و کمبود شواهد مشابه در مورد جمعیت انسانی؛ به تحقیق بیشتر در این زمینه نیاز است.

نتیجه‌گیری: اگرچه یافته‌های بدست آمده باید در تحقیقات انسانی هم تایید شوند، آثار سوء مواجهه با آرسنیک بر افزایش TG خون با مداخله صورت گرفته (پروتکل تمرین و مصرف کورکومین)، اصلاح نشد. با این‌حال، HIIT و کورکومین به تنهایی و توام با همدیگر، سبب اصلاح افزایش گلوکز و کاهش HDL و TAC خون ناشی از آرسنیک شدند. از طرف دیگر، تنها اثر توام این دو مداخله توانست افزایش کاسپاز-۳ کبدی ناشی از آرسنیک را اصلاح کند، ضمن این که آرسنیک تاثیر سوئی بر مقدار بیان NRF2 کبدی، به عنوان عامل اصلی تنظیم دفاع ضداکسایشی بدن ایجاد نکرد. ولی مکمل کورکومین (در هر دو گروه آرسنیک-کورکومین و گروه مداخله توام) توانست آن را حتی به بیش از گروه کنترل طبیعی افزایش دهد. مجموع این یافته‌ها بر تاثیر بهتر اثر ترکیبی HIIT و کورکومین (با وجود فواید قابل توجه هر یک به‌تنهایی) دلالت دارد.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافعی در قبال انتشار این مقاله ندارند.

قدردانی و تشکر

بدینوسیله مراتب سپاس و قدردانی از زحمات و مساعدت های پرسنل دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز اعلام می‌گردد.

منابع

Abdul, K.S.M., Jayasinghe, S.S., Chandana, E.P., Jayasumana, C., & De Silva, P.M.C. (2015). Arsenic and human health effects: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology, 40***(3), 828-846.**

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.**

Akbarzadeh, A., & Fattahi bafghi, A. (2018). The effect of high intencity interval training combined with curcumin supplementation on Plasma glucose concentration and insulin resistance in diabetic rats. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, 25***(12), 961-969. [In Persian]**

Ashrafizadeh, M., Ahmadi, Z., Mohammadinejad, R., Farkhondeh, T., & Samarghandian, S. (2020). Curcumin activates the Nrf2 pathway and induces cellular protection against oxidative injury. *Current Molecular Medicine 20***(2), 116-133.**

1. Padovani
2. Brouwers
3. Lee
4. Gut microbiota
5. Chi
6. States
7. Maheshwari

Binu, P., Priya, N., Abhilash, S., Vineetha, R.C., & Nair, R.H. (2017). Studies on curative efficacy of monoterpene eugenol on anti- leukemic drug arsenic trioxide induced cardiotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 91*, **559-566.**

Brouwers, B., Hesselink, M.K., Schrauwen, P., & Schrauwen-Hinderling, V.B.J.D. (2016). Effects of exercise training on intrahepatic lipid content in humans. *Diabetologia, 59*(**10**), **2068-2079.**

Carlsen, M.H., Halvorsen, B.L., Holte, K., Bøhn, S.K., Dragland, S., Sampson, L., … & Sanada, C.J.N.J. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutrition Journal, 9*(**1**), **3.**

Chi, L., Lai, Y., Tu, P., Liu, C.-W., Xue, J., Ru, H., & Lu, K. (2019). Lipid and cholesterol homeostasis after arsenic exposure and antibiotic treatment in mice: potential role of the microbiota. *Environmental Health Perspectives, 127*(**9**), **097002.**

Curtin, J.F., & Cotter, T.G. (2003). Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cellular Signalling, 15*(**11**), **983-992.**

Dadban Shahamat, M., Dabidi Roshan, V., & Farazmandfar, T. (2018). Effect of continuous aerobic exercise on bax/ bcl-2 ratio and doxorubicin-induced liver toxicity in aging model rats. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 28*(**165**), **36-46. [In Persian]**

Dkhil, M.A., Moneim, A.E.A., Bauomy, A A., Khalil, M., Al-Shaebi, E.M., & Al-Quraishy, S. (2020). Chlorogenic acid prevents hepatotoxicity in arsenic-treated mice: Role of oxidative stress and apoptosis. *Molecular Biology Reports, 47*(**2**), **1161-1171.**

Done, A.J., & Traustadóttir, T.J. R.B. (2016). Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. *Redox Biology, 10*, **191-199.**

Fallah, M., Moghble, N., Javadi, I., & Shahriary, A. (2019). The hepatoprotective and antioxidant effects of Curcumin and N-acetylcysteine in rats exposed to arsenic. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 15*(**2**), **17-26. [In Persian]**

Farkhondeh, T., Samarghandian, S., & Azimi-Nezhad, M. (2019). The role of arsenic in obesity and diabetes. *Journal of Cellular Physiology, 234*(**8**), **12516-12529.**

Farokhi, F., Peeri, M., Azarbayjani, M.A., & Hosseini, S.A. (2020). Effects of endurance training and tribulus terrestris extract on oxidative stress and apoptosis markers in the liver tissue of rats exposed to arsenic. *Journal of Nutrition, Fasting and Health, 9*(**2**), **171-179. [In Persian]**

Farzanegi, P., Abbaszadeh, H., Farokhi, F., Rahmati-Ahmadabad, S., Hosseini, S.A., Ahmad, A., … & Azarbayjani, M.A. (2020). Attenuated renal and hepatic cells apoptosis following swimming exercise supplemented with garlic extract in old rats. *Clinical Interventions in Aging, 15*, **1409–1418.**

Ferrario, D., Gribaldo, L., & Hartung, T. (2016). Arsenic exposure and immunotoxicity: a review including the possible influence of age and sex. *Current Environmental Health Reports, 3*(**1**), **1-12.**

Frediani, J. K., Naioti, E. A., Vos, M. B., Figueroa, J., Marsit, C. J., & Welsh, J. A. (2018). Arsenic exposure and risk of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) among US adolescents and adults: an association modified by race/ethnicity, NHANES 2005–2014. *Environmental Health, 17*(**1**), **1-8.**

Ganjali, S., Blesso, C. N., Banach, M., Pirro, M., Majeed, M., & Sahebkar, A. (2017). Effects of curcumin on HDL functionality. *Pharmacological Research, 119*, **208-218.**

Gao, S., Duan, X., Wang, X., Dong, D., Liu, D., Li, X., … & Li, B. (2013). 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 and Chemical Toxicology, 59*, **739-747.**

García-Niño, W., & Pedraza-Chaverrí, J. (2014). Protective effect of curcumin against heavy metals-induced liver damage. *Food and Chemical Txicology: an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 69*, **182-201.**

Garciafigueroa, D.Y., Klei, L.R., Ambrosio, F., & Barchowsky, A.J.T.S. (2013). Arsenic-stimulated lipolysis and adipose remodeling is mediated by G-protein-coupled receptors. *Toxicological Sciences, 134*(**2**), **335-344.**

Habib, M., Bhatti, S., ur Rehman, S., Javed, N., Shahbaz Aslam, M., Shahzad, N., & Abbas, Z. (2019). Hepatoprotective role of swimming against arsenic induced oxidative stress in mice. *Journal of King Saud University – Science, 32*(**1**), **822-827 doi: https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.02.011**

Kato, M., Nishikawa, S., Ikehata, A., Dochi, K., Tani, T., Takahashi, T., … & Research, F. (2017). Curcumin improves glucose tolerance via stimulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Molecular Nutrition & Food Research, 61*(**3**), **1600471.**

Korsmeyer, S. (1999). Programmed cell death and the regulation of homeostasis. *Harvey Lectures, 95*, **21-41.**

Lee, H.Y., Kim, S.W., Lee, G.H., Choi, M.K., Chung, H.W., Lee, Y.C., … & Chae, H.J.J.S.R. (2017). Curcumin and Curcuma longa L. extract ameliorate lipid accumulation through the regulation of the endoplasmic reticulum redox and ER stress. *Scientific Reports, 7*(**1**), **1-14.**

Lehti, M., Donelan, E., Abplanalp, W., Al-Massadi, O., Habegger, K., Weber, J., … & Trivedi, C. (2013). High-density lipoprotein maintains skeletal muscle function by modulating cellular respiration in mice. *Circulation, 128*(**22**), **2364-2371.**

Liu, S., Guo, X., Wu, B., Yu, H., Zhang, X., & Li, M. (2014). Arsenic induces diabetic effects through beta-cell dysfunction and increased gluconeogenesis in mice. *Scientific Reports, 4*(**1**), **6894. doi: 10.1038/srep06894**

Majumdar, S., Karmakar, S., Maiti, A., Choudhury, M., Ghosh, A., Das, A.S., & Mitra, C. (2011). Arsenic-induced hepatic mitochondrial toxicity in rats and its amelioration by dietary phosphate. *Environmental Toxicology and Pharmacology, 31*(**1**), **107-118.**

Miltonprabu, S., & Muthumani, M. (2014). Dimethoxycurcumin potentially protects arsenic induced oxidative hepatic injury, inflammation and apoptosis via Nrf2-Keap1 signaling in rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition, 4*(**4**), **561-577.**

Mirdar Harijani, S., Asgharzade Oliaei, H. A., Hamidian, G., & Musavi, N. (2014). The effect of swimming endurance training and silymarin supplementation during pregnancy on maternal cadmium exposure – induced apoptosis in hepatocytes of rat neonates. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 2*(**3**), **9-18. [In Persian]**

Muthumani, M., & Miltonprabu, S. (2015). Ameliorative efficacy of tetrahydrocurcumin against arsenic induced oxidative damage, dyslipidemia and hepatic mitochondrial toxicity in rats. *Chemico-Biological Interactions, 235*, **95-105.**

Muthumani, M., & Prabu, S.M. (2012). Silibinin potentially protects arsenic-induced oxidative hepatic dysfunction in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods, 22*(**4**), **277-288.**

Padovani, A.M., Molina, M.F., & Mann, K.K. (2010). Inhibition of liver X receptor/retinoid X receptor–mediated transcription contributes to the proatherogenic effects of arsenic in macrophages in vitro. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 30*(**6**), **1228-1236.**

Pan, B., Ge, L., Xun, Y.-q., Chen, Y.-j., Gao, C.-y., Han, X., … & Tian, J. H. (2018). Exercise training modalities in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and network meta-analysis. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity, 15***(1), 72.**

Powers, S.K., Ji, L.L., & Leeuwenburgh, C. (1999). Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 31***(7), 987-997.**

Prabu, S. M., & Muthumani, M. (2012). Silibinin ameliorates arsenic induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Molecular Biology Reports, 39***(12), 11201-11216.**

Rahaman, M. S., Banik, S., Akter, M., Rahman, M.M., Sikder, M.T., Hosokawa, T., ... & Kurasaki, M. (2020). Curcumin alleviates arsenic-induced toxicity in PC12 cells via modulating autophagy/apoptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 200***, 110756.**

Ramazani, S., Peeri, M., Azarbayjani, M.A., & Dehghan, F. (2020). Effects of aerobic exercise and vitamin D supplementation on the expression of apoptosis genes BCL2, BAX, Caspase3 and BCL2/BAX ratio on lung in male rats exposed to hydrogen peroxide. *Journal of Practical Studies of Biosciences in Sport, 8***(16), 86-100. [In Persian]**

Ranjbar, A., Gholami, L., Ghasemi, H., & Kheiripour, N. (2020). Effects of nano-curcumin and curcumin on the oxidant and antioxidant system of the liver mitochondria in aluminum phosphide-induced experimental toxicity. *Nanomedicine Journal, 7***(1), 58-64.**

Renu, K., Saravanan, A., Elangovan, A., Ramesh, S., Annamalai, S., Namachivayam, A., … & Maruyama, M. (2020). An appraisal on molecular and biochemical signalling cascades during arsenic-induced hepatotoxicity. *Life Sciences, 260***, 118438.**

Rivas-Santiago, C., González-Curiel, I., Zarazua, S., Murgu, M., Ruiz Cardona, A., Lazalde, B., … & López-Hernández, Y. (2019). Lipid metabolism alterations in a rat model of chronic and intergenerational exposure to arsenic. *BioMed Research International, 2019***, 4978018.**

Shin, S.M., Yang, J.H., & Ki, S.H. (2013). Role of the Nrf2-ARE pathway in liver diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013***, 763257.**

Singh, A.P., Goel, R.K., & Kaur, T. (2011). Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicology International, 18***(2), 87–93.**

States, J.C., Barchowsky, A., Cartwright, I.L., Reichard, J. F., Futscher, B.W., & Lantz, R.C. (2011). Arsenic toxicology: translating between experimental models and human pathology. *Environmental Health Perspectives, 119(***10), 1356-1363.**

Su, L.-q., & Chi, H.Y. (2017). Effect of curcumin on glucose and lipid metabolism, FFAs and TNF-α in serum of type 2 diabetes mellitus rat models. *Saudi Journal of Biological Sciences, 24***(8), 1776-1780.**

Thota, R.N., Dias, C.B., Abbott, K.A., Acharya, S.H., & Garg, M.L. (2018). Curcumin alleviates postprandial glycaemic response in healthy subjects: a cross-over, randomized controlled study. *Scientific Reports, 8(***1), 1-8.**

Vargas-Mendoza, N., Morales-González, Á., Madrigal-Santillán, E.O., Madrigal-Bujaidar, E., Álvarez-González, I., García-Melo, L.F., … & Morales-Gonzalez, J. A. (2019). Antioxidant and adaptative response mediated by NRF2 during physical exercise. *Antioxidants (Basel, Switzerland), 8***(6), 196.**

Wang, Y., Xu, Y., Wang, H., Xue, P., Li, X., Li, B., … & Sun, G. (2009). Arsenic induces mitochondria-dependent apoptosis by reactive oxygen species generation rather than glutathione depletion in Chang human hepatocytes. *Archives of Toxicology, 83***(10), 899-908.**

Young, H., Clayton, D., Masis, N., Gaylor, C., & Benton, D. (2020). Effects of a cinnamon, curcumin/turmeric dietary supplement on glucose. *Lipid, and Cognitive Measures, 4***(Supplement_2), 493-493.**