

Effect of aerobic training on the amount of paw edema and IL-6, TNF- α and CC16 levels in rats exposed to arsenic

Amir Dadashzadeh ¹, Roghayeh poozesh Jadidi*²

Receive 2022 April 10; Accepted 2022 May 10

Abstract

Aim: Exposure to arsenic through drinking water is a widespread public health problem that is associated with an increased risk of several consequences, including inflammation. The aim of the present study was to evaluate effect of aerobic training on the amount of paw edema and IL-6, TNF- α and CC16 levels in rats exposed to arsenic. **Methods:** In this experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups: control, arsenic, training and arsenic+training. Arsenic was consumed five mg/kg/day orally (gavaged) for eight weeks. Aerobic training was conducted for eight weeks (five sessions/week, each session for 10 to 30 min with a treadmill speed of 10 to 25 m/min, at slope of 5%). ELISA and plethysmometer methods were used to measure serum IL-6, TNF- α and CC16 levels and the amount of rat paw edema, respectively. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc tests at the $p < 0.05$ level. **Results:** Arsenic exposure elevated IL-6, TNF- α and CC16 levels (For all three variables $p = 0.001$) in rats exposed to arsenic, but had no significant effect on paw edema ($p = 0.8$). Training intervention decreased arsenic-induced serum levels of IL-6 (respectively $p = 0.001$, $p = 0.02$, $p = 0.001$), TNF- α (respectively $p = 0.001$, $p = 0.02$, $p = 0.03$) and CC16 (respectively $p = 0.03$, $p = 0.001$, $p = 0.008$) compared to the control, arsenic and arsenic + exercise groups ($p = 0.8$). However, training had no significant effect on rat paw edema ($p < 0.05$). **Conclusions:** While, arsenic exposure leads to an increased serum IL-6, TNF- α and CC16 levels in rats exposed to arsenic, aerobic exercise seems to can reverse this inflammatory response. However, more researches remains to be done because of the study limitations and lack of similar evidence in human population.



Scan this QR code to see the accompanying video, or visit jahssp.azaruniv.ac.ir

1. Department of Sport Physiology, Faculty of Humanities, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
*(corresponding author)
(poozesh2016@gmail.com)

Keywords: Arsenic, Inflammation, Edema, CC16, Aerobic training

Cite as: Amir Dadashzadeh, Roghayeh poozesh Jadidi. Effect of aerobic training on the amount of paw edema and IL-6, TNF- α and CC16 levels in rats exposed to arsenic. Applied Health Studies in Sport Physiology. 2022; 9(1): 136-150.

Owner and Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University

Journal ISSN (online): 2676-6507

Access Type: Open Access

DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27769.1460

DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.12.3

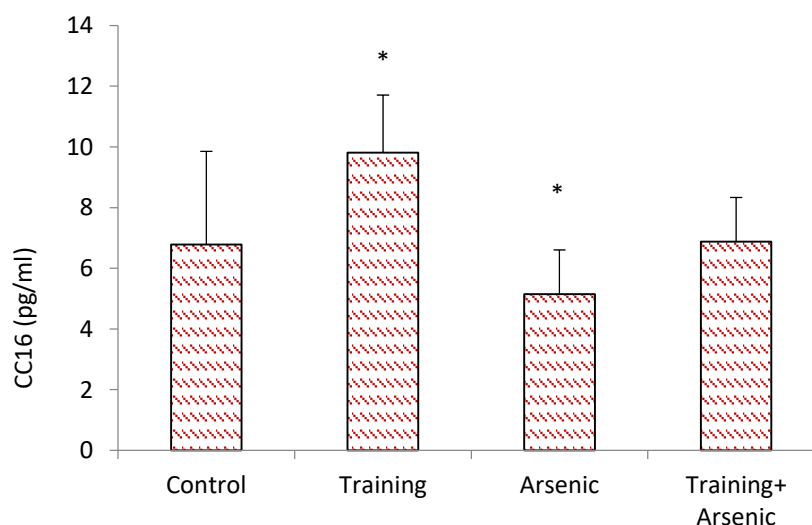
Extended abstract

Background

Arsenic is the most hazardous compound in the environment, which continues to be a major global health problem worldwide(1). The World Health Organization (WHO) lists inorganic arsenic (InAs) as one of ten chemicals of major public health concern (2). Arsenic is a naturally occurring yet life-threatening toxicant to which millions are inadvertently exposed annually (2). Arsenic contaminates the groundwater (wAs) of many countries, including Bangladesh, Chile, China, India, Mexico, Central Europe, and the United States, at levels which exceed the WHO standard of 10 $\mu\text{g/L}$ (3). Arsenic contaminated water has been reported from some parts of Iran, particularly in western regions (4). Drinking water of 25% of rural areas in a northwest province containing higher than permissible level of arsenic is reported (5). Clara cell secretory protein, also known as CC16 and CC10, is a secreted product of the respiratory epithelium that within the lung is produced primarily within the Clara cells of the distal respiratory and terminal bronchioles (6). The biological function of CC16 remains incompletely understood, although CC16 has been demonstrated to interact with multiple components of the inflammatory and coagulation cascades. CC16 inhibits phospholipase A2 activity *in vitro* and *in vivo*, suggesting it plays a role in attenuating inflammatory responses. CC16 has also been implicated in feedback inhibition of interferon gamma signaling,7–9 as well as modulation of T helper 2 responses to proinflammatory stimuli (7). CC16, a secretory protein, functions after secretion from cells. However, the molecular mechanism by which DEP regulates the secretion of CC16 is uncertain. To date, the direct effect of aerobic exercise and arsenic exposure on inflammatory markers, especially CC16 protein, has not been directly studied in any study. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of aerobic exercise on the amount of paw edema and serum levels of arsenic-exposed male IL-6, TNF- α and CC16.

Methods: In this experimental study, 32 male rats were randomly divided into four groups: control, arsenic, training and arsenic+training. Arsenic was consumed five mg/kg/day orally (gavaged) for eight weeks. Aerobic training was conducted for eight weeks (five sessions/week, each session for 10 to 30 min with a treadmill speed of 10 to 25 m/min, at slope of 5%. ELISA and plethysmometer methods were used to measure serum IL-6, TNF- α and CC16 levels and the amount of rat paw edema, respectively. Data were analyzed by one-way analysis of variance and Tukey post hoc tests at the $p < 0.05$ level

Results: Arsenic exposure elevated IL-6, TNF- α and CC16 levels (For all three variables $p = 0.001$) in rats exposed to arsenic, but had no significant effect on paw edema ($p = 0.8$). Training intervention decreased arsenic-induced serum levels of IL-6 (respectively $p = 0.001$, $p = 0.02$, $p = 0.001$), TNF- α (respectively $p = 0.001$, $p = 0.02$, $p = 0.03$) and CC16 (respectively $p = 0.03$, $p = 0.001$, $p = 0.008$) compared to the control, arsenic and arsenic + exercise groups ($p = 0.8$). However, training had no significant effect on rat paw edema ($p < 0.05$).



※: Significant Difference($P < 0.05$).

Discussion

The first part of the findings showed that arsenic increased the serum IL-6 and TNF- α of male mice exposed to arsenic. Given the role of IL-6 and TNF- α as inflammatory markers, arsenic may have activated inflammation throughout the rat body. In this regard, it has been reported that activation of the pro-inflammatory response when exposed to arsenic is associated with disruption of various important cellular processes (8). Studies show various inflammatory markers including TNF- α , IL-1a, IL6 and IL-8 (in humans), monocyte chemical adsorbent protein (MCP1), macrophage inhibitor (MIF), and other cytokines and chemokines when exposed to Low concentrations of arsenic in the blood and liver of humans and mice increase (47-45). Also, acute arsenic exposure activates NF- κ B and increases the production of inflammatory markers in the spleen and thymus of mice (1). Other findings showed that exposure to arsenic increased serum CC16 levels in mice; However, aerobic exercise increased the effect of arsenic-induced CC16 depletion; Also, serum CC16 levels in the exercise + arsenic intervention group were higher than arsenic. The biological function of CC16 is not fully understood. But evidence shows that this molecule has anti-inflammatory properties (9). Also, relatively limited studies have evaluated the impact of arsenic exposure and CC16 levels. In this regard, serum levels of CC16 have been reported to decrease upon exposure to 3 and 5-valent arsenic (10). Also, in the study of Brockert et al. (2000) and Parviz et al. (2008) it was reported that serum CC16 concentration in people with chronic lung damage caused by smoking, other air pollutants and exposure to arsenic through drinking water as a result of club cell destruction Decreases (11); Therefore, in the present study, it is possible that the decrease in serum CC16 levels in arsenic intervention was associated with the destruction of club cells and thus the decrease in serum CC16 levels.

Conclusion

It was generally concluded that exposure to arsenic could lead to inflammation; However, it had no effect on tissue edema. However, although exercise has some degree of protective effect, it may not be sufficient for people who exercise in areas exposed to arsenic to rely solely on the expected capabilities of the adaptations resulting from the exercise. Other interventions may be needed. However, due to the limitations of this study and the lack of direct evidence in the human population exercising under chronic exposure to arsenic, further studies are still needed.

تأثیر تمرین هوازی بر مقدار ادم پنجه و سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $CC16$ سرم موش‌های نر تحت

مواجهه با آرسنیک

امیر داداش‌زاده^۱، رقیه پوزش جدیدی^{۲*}

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۳

چکیده

هدف: قرار گرفتن در معرض آرسنیک از طریق آب آشامیدنی یک مشکل بهداشت عمومی گسترده است که با افزایش خطر پیامدهای متعددی از جمله التهاب همراه است. هدف از این تحقیق، تعیین تأثیر تمرین هوازی بر مقدار ادم پنجه و سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $CC16$ سرم موش‌های نر تحت مواجهه با آرسنیک بود. **روش شناسی:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر به چهار گروه شامل کنترل، آرسنیک، تمرین، و آرسنیک+تمرین تقسیم شدند. آرسنیک به مدت ۸ هفته روزانه از طریق آب آشامیدنی با دوز پنج میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن به صورت گاوآژ خوراند شد. تمرین به مدت هشت هفته با تکرار پنج روز در هفته، با سرعت ۱۰ تا ۲۵ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد و روزانه به مدت ۳۰-۱۰ دقیقه بر روی تردمیل ویژهٔ جواندگان آزمایشگاهی انجام شد. از روش‌های الایزا و حجم سنج پلتیسمومتر به ترتیب برای اندازه‌گیری سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $CC16$ سرم و مقدار ادم پنجه پای موش 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 سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و کاهش $CC16$ سرم موش‌های نر شد ($p = 0.001$) برای هر سه متغیر، اما بر ادم پنجه پای موش تأثیر معنی‌داری نداشت ($p = 0.08$). مداخله تمرین در مقایسه با گروه کنترل، آرسنیک و آرسنیک+تمرین، افزایش سطوح $IL-6$ (به ترتیب $p = 0.001$ ، $p = 0.002$ ، $p = 0.003$)، $TNF-\alpha$ (به ترتیب $p = 0.001$ ، $p = 0.002$ ، $p = 0.003$) و کاهش $CC16$ سرمی (به ترتیب $p = 0.001$ ، $p = 0.002$ ، $p = 0.003$) ناشی از آرسنیک را افزایش داد. با اینحال، تمرین بر ادم پنجه پای موش تأثیر معنی‌داری نداشت ($p = 0.08$). **نتیجه‌گیری:** در حالی که مواجهه با آرسنیک می‌تواند به افزایش سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و کاهش $CC16$ سرمی موش‌ها منجر شود، به نظر می‌رسد که تمرین هوازی این پاسخ‌های التهابی را برعکس می‌کند. با این حال، به دلیل برخی محدودیت‌ها و کمبود تحقیقات انسانی، به بررسی‌های بیشتر نیاز است.

واژه‌های کلیدی: آرسنیک، التهاب، ادم، $CC16$ ، تمرین هوازی.

نحوه ارجاع: امیر داداش‌زاده، رقیه پوزش جدیدی. "تأثیر تمرین هوازی بر مقدار ادم پنجه و سطوح $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و $CC16$ سرم موش‌های نر تحت مواجهه با آرسنیک". مطالعات کاربردی تندرستی در فیزیولوژی ورزش. ۱۴۰۱؛ ۹(۱): ۱۳۶-۱۵۰.

صاحب امتیاز و ناشر: دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

شاپای الکترونیکی: ۶۵۰۷-۲۶۷۶

نوع دسترسی: آزاد

DOI: 10.22049/JAHSSP.2022.27769.1460

DOR: 20.1001.1.26766507.1401.9.1.12.3



با اسکن QR فوق می‌توانید جزئیات مقاله حاضر را در سایت www.jahssp.azaruniv.ac.ir/ مشاهده کنید.

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم

انسانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز،

تبریز، ایران.

(نویسنده مسئول):

poozesh2016@gmail.com

CC16 در بیماران مبتلا به آسیب حاد ریوی به طور قابل توجهی پایین تر است (۲۵).

مطالعات بسیار محدودی تاثیر قرار گرفتن در معرض آرسنیک و CC16 را بررسی کرده‌اند. در این راستا، پرویز و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند قرار گرفتن در معرض آرسنیک از طریق آب آشامیدنی (۰/۱ تا ۷۶۱ میکروگرم در لیتر) موجب کاهش سطوح سرم CC16 می‌شود (۲۶). احمد و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند آرسنیک موجود در آب آشامیدنی عملکرد ریه را تغییر می‌دهد و باعث التهاب راه‌های هوایی می‌شود با این حال افزایش شاخص‌های عملکردی ریوی با افزایش سطوح CC16 همراه است (۲۱). این نتایج به وضوح نشان می‌دهد که سنجش سرمی پروتئین‌های ترشحی ریه مانند CC16 نشان‌دهنده یک رویکرد غیرتهاجمی جدید برای ارزیابی پاسخ التهابی دستگاه تنفسی است.

از سویی، تمرین هوازی منظم فواید سلامتی متعددی از جمله بهبود آمادگی قلبی تنفسی، کیفیت زندگی، کاهش چاقی، بهبود فشار خون و افزایش طول عمر را به همراه دارد (۲۷، ۲۸). در این راستا، ورزش موجب ایجاد تعادل بین عوامل پیش‌التهابی، تقویت و تولید عوامل ضدالتهابی درون‌سلولی می‌شود (۲۹) و تمرینات ورزشی منظم به عنوان مداخله‌ی درمانی ضد التهابی طولانی مدت پیشنهاد شده‌اند (۳۰، ۳۱). همچنین انجام فعالیت عضلانی باعث فعال شدن پمپ عضلانی و کاهش ادم بافتی می‌شود (۳۲، ۳۳). اگرچه که منشاء ادم در اثر مواجهه با آرسنیک معمولاً تصور می‌شود که به التهاب مرتبط باشد، اما آثار آرسنیک بر عملکرد وازوموتور عروق (۳۴-۳۶) نیز، شاید در این بین نقش داشته باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که بررسی مقدار ادم اندام‌ها در اثر تمرین بدنی در شرایط مواجهه با آرسنیک جذابیت ویژه‌ای داشته باشد.

با این حال، ممکن است انجام ورزش منظم توسط افراد در معرض آرسنیک (مثلاً جمعیت ساکن در مناطق دارای آرسنیک بالا از طریق آب آشامیدنی و در نتیجه محصولات غذایی)، چه با هدف درمانی و چه با هدف بهبود وضعیت آمادگی جسمی و عملکردی، آثار مخرب ناشی از آرسنیک بر شاخص‌های التهابی حداقل سبب شود که بیشترین فواید مورد انتظار تمرین ورزشی کسب نشود. مثلاً در افراد مبتلا به برخی بیماری‌های مرتبط با التهاب و یا دارای زمینه التهاب مانند افراد چاق (۳۷)، سندرم متابولیک (۳۸) و بیماران قلبی (۳۹)، حتی ممکن است که وضعیت التهابی موجود در اثر مواجهه با آرسنیک تشدید هم بشود. همچنین حتی شاید انجام تمرینات بدنی مورد تجویز برای اکثر بیماران (از قبیل تمرینات هوازی) هم در چنین شرایطی، خود به عنوان یک عامل استرس‌زا اضافی و تشدید کننده وضعیت التهابی عمل کند. با این حال، تاکنون مطالعه مستقیمی در این خصوص انجام نشده است و اطلاعات بسیار محدودی در این زمینه موجود است.

به علاوه، باید اشاره شود که نتایج برخی مطالعات در زمینه تاثیر تمرین هوازی بر شاخص‌التهابی نیز ناهمسو می‌باشند. مثلاً دانگر و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند ۱۰ هفته تمرین هوازی با شدت ۷۵-۷۰ درصد

مقدمه

سازمان بهداشت جهانی (WHO) آرسنیک معدنی (InAs) را به عنوان یکی از ۱۰ ماده شیمیایی مضر سلامت عمومی گزارش کرده است (۱)، آرسنیک یک ماده سمی طبیعی و در عین حال تهدید کننده زندگی است که سالانه میلیون‌ها نفر به طور ناخواسته در معرض آن قرار می‌گیرند (۳). آرسنیک آب‌های زیرزمینی بسیاری از کشورها از جمله بنگلادش، شیلی، چین، هند، مکزیک، اروپای مرکزی و ایالات متحده در سطوحی فراتر از استاندارد WHO قرار دارند (۳). همچنین، آرسنیک آب آشامیدنی برخی نقاط ایران نیز بالاتر از حد مجاز گزارش شده است (۴، ۵). شواهد نشان می‌دهد آرسنیک از طریق تنفس، آب آشامیدنی و قرار گرفتن در معرض حاد یا مزمن آرسنیک معدنی می‌تواند به کبد، کلیه‌ها، قلب و سیستم تولید مثل و عصبی آسیب برساند (۶-۸).

در این راستا، گزارش شده است مواجهه با آرسنیک با افزایش تولید سیتوکین‌های پیش التهابی در ارتباط است (۹، ۱۰). اینترلوکین ۶ (IL-6)، اینترلوکین ۱β (IL-1β) و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) مهم ترین واسطه‌ها و پاسخ‌های التهابی می‌باشند که با بسیاری از وقایع التهابی سیستمیک اولیه درگیر هستند (۱۱). شواهد نشان می‌دهد آرسنیک موجب افزایش TNF-α، IL6، IL8 و IL-1 در سلول‌های روده و سلول‌های اپیتلیال ریه انسان می‌شود (۱۲، ۱۳) و با گسترش پیوسته التهاب همراه می‌شود (۱۴، ۱۵). افزایش سطوح TNF-α و IL-6 ناشی از آرسنیک موجب اختلال عملکرد سیستم ایمنی شده و بویژه با تشدید سرکوب سیستم ایمنی همراه است (۱۶). همچنین، قرار گرفتن در معرض آرسنیک موجب افزایش حساسیت عفونت‌های تنفسی و التهاب می‌شود (۱۷). از سویی، آرسنیک استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد سیستم ایمنی و پاسخ‌های التهابی بافتی را تسریع می‌کند و ممکن است منجر به اختلال در تنظیم مسیر سیگنالینگ NF-κB شود (۱۸). در کل حاکم شدن شرایط التهابی در بدن ممکن است با ادم بافتی همراه شود (۱۹). در این راستا نشان داده شده است که آرسنیک منجر به ادم صورتی و اندام‌ها می‌شود (۲۰).

به علاوه، پروتئین ترشحی سلول کلاب^۱ (CC16) یک بیومارکر ضد التهابی است که توسط سلول‌های کلاب، سلول‌های ترشحی نایژه‌ها (کلارا سابق)، ترشح می‌شود و عمدتاً در اپیتلیوم تنفسی انسان بیان می‌شود. CC16 منحصر به ریه و نایژه‌ها بوده و نقش محافظتی مهمی در برابر استرس اکسیداتیو و پاسخ التهابی دستگاه تنفسی دارد (۲۱، ۲۲). غلظت سرمی CC16 در افراد مبتلا به آسیب مزمن ریوی ناشی از سیگار و سایر آلاینده‌های هوا در نتیجه تخریب سلول‌های کلاب کاهش می‌یابد (۲۳). تغییرات غلظت سرمی CC16 می‌تواند به عنوان نشانگر زیستی برای وضعیت‌های بیماری ریوی و استرس ریوی/پاسخ التهابی مورد استفاده قرار گیرد (۲۲). همچنین، CC16 می‌تواند نقش آنتی اکسیدانی یا التهابی در برابر فسفولیپاز A2، اینترفرون گاما و TNF-α داشته باشد (۲۴). برخی گزارش‌ها وجود دارد که نشان می‌دهد سطح

^۱- Club Cell Secretory Protein

خوابانده و دست و پاها کشیده و به حالت صلیبی بسته شد. پس از خونگیری از قلب و قرارگیری لوله حاوی خون در حمام آب گرم به مدت ۳۰ دقیقه و سانتریفیوژ نمودن به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm 20000 و جداسازی سرم، جهت سنجش $TNF-\alpha$ ، IL-6 و CC16 به روش ELISA از کیت دیالکون^۲ فرانسه به ترتیب با حساسیت کمتر از ۲، ۸ و ۰/۷۸ پیکوگرم بر میلی لیتر استفاده گردید. اندازه‌گیری ادم پنجه‌ی پای موش با استفاده از پلتیسوموتر (UGO Basile 7140، ایتالیا) و با غوطه‌ور سازی پنجه پای موش تا مفصل تیبیاتارسال^۳ در داخل آب و جابجایی حجمی بر حسب اختلاف حجم پنجه پای موش قبل و بعد از هشت هفته مداخله محاسبه شد (۴۳). لازم به ذکر است که پلتیسوموتر یک حجم سنج پر از آب می‌باشد که تغییرات جزئی سطح آب ناشی از غوطه‌وری اندام (به عنوان بازتاب از مقدار حجم) را به طور دیجیتال ثبت کرده و بر حسب میلی لیتر نمایش می‌دهد. لازم به ذکر است، این مطالعه دارای شناسه IR.IAU.TABRIZ.REC. 1398. 098 از کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز می‌باشد. همچنین، در تمام مراحل، اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد.

روش آماری: پس از ارزیابی توزیع طبیعی داده‌ها به کمک آزمون شاپیرو ویلک، در ادامه، برای مقایسه بین گروهی داده‌ها از تحلیل واریانس تک راهه استفاده شد که در صورت معنی‌دار شدن آن، در ادامه داده‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی توکی و یا جیمز هاول (بسته به نتایج آزمون لون) مقایسه شدند. تمام آزمون‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ در سطح اطمینان آماری ۹۵ درصد تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج آزمون تی همبسته در مقایسه پیش‌آزمون - پس‌آزمون وزن بدن گروه تمرین ($t=9/64$, $p=0/001$) و آرسنیک + تمرین ($p=0/001$)، نشان داد تفاوت معنی‌داری در مقدار وزن بدن بین پیش‌آزمون و پس‌آزمون گروه تمرین و آرسنیک+تمرین وجود دارد (شکل ۱)؛ همچنین، نتایج تحلیل واریانس تک راهه در مورد مقایسه بین گروهی مقدار IL-6 ($F3, 28=3/70$, $p=0/002$)، مقدار $TNF-\alpha$ ($p=0/004$)، مقدار CC16 ($F3, 28=5/60$, $p=0/001$) نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها وجود دارد (شکل ۲ تا ۴). با این حال، تفاوت معنی‌داری در مقدار ادم پنجه پای موش در بین گروه‌ها مشاهده نشد ($F3, 28=0/29$, $p=0/8$).

MHR به مدت ۳۰ تا ۵۰ دقیقه تأثیری بر روی IL-6 و TNF نداشت (۴۰). نیک نیاز و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند ۴ هفته تمرین هوازی سه بار در هفته تأثیر معنی‌داری بر پروتئین IL-6 و cc16 مردان سیگاری نداشت؛ اما تفاوت معنی‌داری در TNF مشاهده شد (۴۱). از سویی، تاکنون به طور مستقیم تأثیر همزمان تمرین هوازی و مواجهه با آرسنیک بر شاخص‌های التهابی و بویژه پروتئین CC16 در هیچ مطالعه‌ای بررسی نشده است. بنابراین، هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر تمرین هوازی بر مقدار ادم پنجه و سطوح IL-6، $TNF-\alpha$ و CC16 سرم موش‌های نر تحت مواجهه با آرسنیک بود.

روش پژوهش

نوع پژوهش در مطالعه حاضر، از لحاظ هدف کاربردی و روش پژوهش از نوع تجربی بوده و براساس میزان نظارت و درجه کنترل، از نوع پژوهش‌های آزمایشگاهی بود. تعداد ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار ۱۶ هفته‌ای با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. در مدت اجرای مداخله‌های تمرینی و جراحی، تعداد سه سر موش صحرایی 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 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد حفظ شد و شرایط نگهداری و کار با حیوانات براساس توصیه‌های قوانین حمایت از حیوانات آزمایشگاهی (NIH) انجام گرفت.

رت‌ها ابتدا به چهار گروه شامل کنترل، تمرین، آرسنیک، و آرسنیک+تمرین تقسیم شدند. دو گروه از کل موش‌های صحرایی شامل گروه‌های تمرین ورزشی و توام (شامل تمرین و آرسنیک) به مدت هشت هفته از طریق آب آشامیدنی تحت مواجهه با آرسنیک تری اکسید با دوز (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حل شده در ۴ میلی لیتر آب مقطر در روز) قرار گرفتند که هر روز دو بار (که در هر وهله نصف دوز مصرف شد) به صورت گاواژ خوراکی استفاده شد. دو گروه از موش‌ها هم شامل گروه‌های کنترل و تمرین بدون مواجهه با آرسنیک قرار گرفتند.

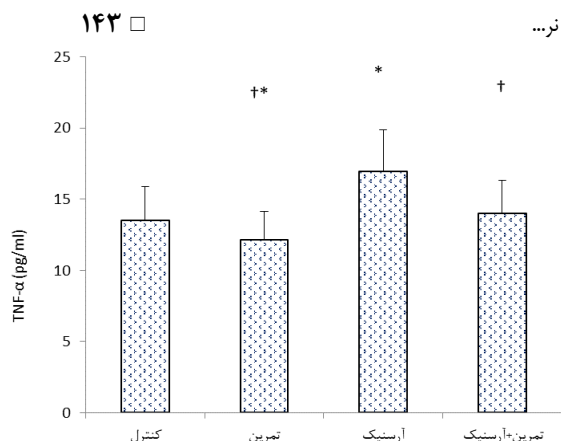
پروتکل تمرین هوازی: ابتدا، همه موش‌ها با شیب ۵ درصد، سرعت ۵ - ۱۰ متر در دقیقه و ۱۰ دقیقه در روز به مدت یک هفته با دودین روی تردمیل آشنا شدند. سپس قسمت اصلی هشت هفته تمرین هوازی با سرعت ۱۰ متر در دقیقه، شیب ۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در روز، آغاز شد. سرعت و زمان دودین به تدریج تا ۱۵ متر در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در روز افزایش یافت. به طوری که در دو جلسه آخر شدت فعالیت هوازی به ۲۵ متر در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه در روز رسید. هر جلسه پنج دقیقه گرم کردن و سرد کردن با سرعت ۱۰ متر در دقیقه انجام شد (۴۲).

سنجش شاخص‌های التهابی و ادم پنجه: ۱۲ ساعت پس از ناشتایی شبانه موش‌های صحرایی با کتامین (۱۵۰ mg/kg) و زایلانین (۱۵ mg/kg) بی‌هوش شدند و سپس به پشت روی تخته تشریح

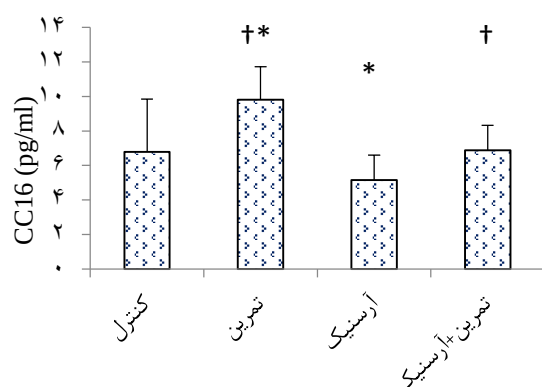
^۳- Tibiotarsal articulation

^۲- Diaclone

تاثیر تمرین هوازی بر مقدار ادم پنجه و سطوح IL-6، TNF- α و CC16 سرم موش‌های نر...



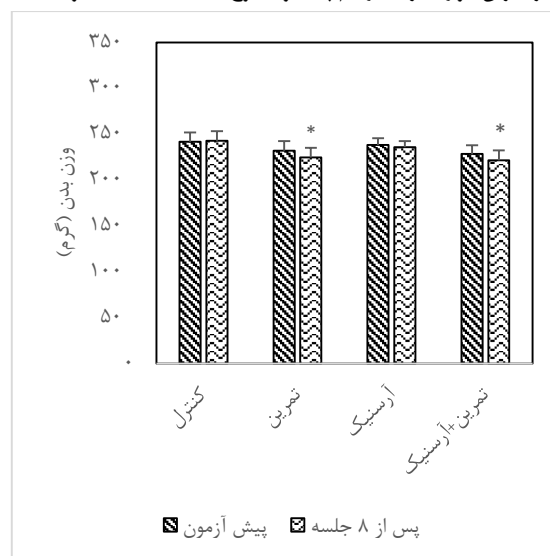
شکل ۳. مقایسه مقدار TNF- α موش‌های صحرایی پس از مداخله
 * نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/001$) و آرسنیک ($p=0/001$) نسبت به گروه کنترل
 † نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/02$) و تمرین+آرسنیک نسبت به گروه آرسنیک ($p=0/03$)



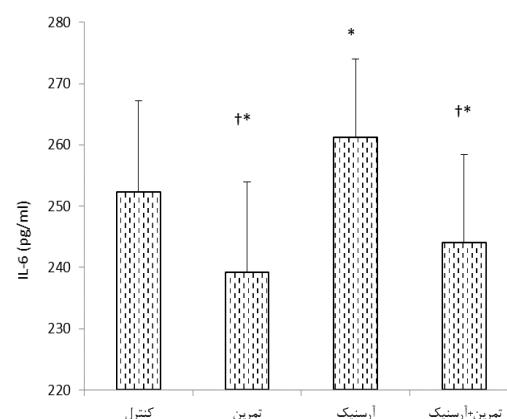
شکل ۴. مقایسه مقدار CC16 موش‌های صحرایی پس از مداخله
 * نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/03$) و آرسنیک ($p=0/04$) نسبت به گروه کنترل
 † نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/001$) و تمرین+آرسنیک نسبت به گروه آرسنیک ($p=0/008$)

بحث

اولین بخش یافته‌ها نشان داد که آرسنیک سبب افزایش IL-6 و TNF- α سرم موش‌های نر تحت مواجهه با آرسنیک شد. با توجه به نقش‌های IL-6 و TNF- α به عنوان شاخص‌های التهابی، احتمالاً آرسنیک سبب فعال شدن التهاب در کل بدن موش‌ها شده است. در این راستا، گزارش شده است که فعال سازی پاسخ پیش التهابی هنگام مواجهه با آرسنیک با اختلال فرآیندهای مختلف مهم سلولی همراه است (۴۴). مطالعات نشان می‌دهد نشانگرهای التهابی مختلفی از جمله TNF- α ، IL-1a، IL-6 و IL-8 (در انسان)، پروتئین جذب کننده شیمیایی مونوسیت ۱



شکل ۱. مقایسه وزن بدن موش‌های صحرایی در پیش‌آزمون و پس‌آزمون
 * نشانه تفاوت معنی‌دار نسبت به پیش‌آزمون



شکل ۲. مقایسه مقدار IL-6 موش‌های صحرایی پس از مداخله
 * نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/001$)، آرسنیک ($p=0/005$) و تمرین+آرسنیک ($p=0/001$) نسبت به گروه کنترل
 † نشانه تفاوت معنی‌دار تمرین ($p=0/02$) و تمرین+آرسنیک نسبت به گروه آرسنیک ($p=0/001$)

نظر می‌رسد که حداقل اطلاع رسانی و افزایش آگاهی جمعیت مورد مواجهه با آرسنیک برای اتخاذ تمهیدات جبرانی از جمله استفاده از مواد غذایی و دارویی ضدالتهابی باید حتما در اولویت سازمان‌های بهداشتی قرار گیرد.

دیگر نتایج این مطالعه نشان داد تمرین هوازی و تمرین+آرسنیک موجب کاهش سطوح IL-6 و TNF- α نسبت به گروه آرسنیک شد. با این حال، مداخله تمرین به تنهایی تأثیر بیشتری در کاهش سطوح IL-6 و TNF- α نسبت به مداخله تمرین+آرسنیک داشت. یکی از سازوکارهای احتمالی کاهش سطوح IL-6 و TNF- α پس از تمرین هوازی، کاهش چربی بدن متعاقب تمرین هوازی می‌باشد، زیرا بافت چربی یکی از منابع اصلی تولید IL-6 می‌باشد. در واقع، تمرینات ورزشی که با کاهش وزن همراه هستند ممکن است موجب کاهش سطوح IL-6 و TNF- α شوند (۵۸). این مساله با سایر داده‌های ما در مورد وزن بدن موش‌ها هم همخوانی دارد. هر چند ما فقط وزن بدن موش را اندازه‌گیری کردیم و درصد چربی دقیقاً اندازه‌گیری نشد، اما وزن بدن در گروه تمرین نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که نشان می‌دهد چاقی و به تبع آن چربی بدن پس از تمرین کاهش قابل ملاحظه‌ای داشته است. همچنین، پس از ورزش، سطوح بالای گردش خون IL-6 با افزایش دو سایتوکین ضد التهابی IL-1ra و IL-10 همراه می‌شود (۵۹). IL-6 با القای تولید IL-1ra و IL-10، همچنین، مهار تولید TNF- α موجب یک محیط ضد التهابی می‌شود، که توسط مطالعات آزمایشگاهی (۶۰) و حیوانی (۶۱، ۶۲) حمایت شده است. احتمالاً ورزش از طریق مسیرهای مستقل از IL-6 نیز TNF- α را سرکوب می‌کند. با این حال، هیچ یک از متغیرهای چربی بدن، IL-1ra و IL-10 اندازه‌گیری نشدند و شفاف سازی بیشتر این مساله نیازمند تحقیقات بیشتر آینده است.

در این راستا، رضایی و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند ۶ هفته تمرین هوازی موجب کاهش TNF- α سرمی بیماران MS شد، که با یافته مطالعه ما همسو می‌باشد (۶۳) و با نتایج فیلو و همکاران (۲۰۱۶) و کیولیدی و همکاران (۲۰۱۶) که تفاوتی در سطوح TNF- α پس از برنامه تمرین مشاهده نکردند، ناهمسو می‌باشد (۶۳)؛ احتمالاً نوع برنامه تمرینی، طول دوره مداخله، تعداد و نوع آزمودنی (حیوان یا انسان) دلیل تناقض این یافته‌ها باشد.

از سویی، گزارش شده است تمرین ورزشی جریان خروجی پاراسمپاتیک را افزایش می‌دهد، که به نوبه خود ممکن است ترشح سیتوکین را از طریق مکانیسم وابسته به گیرنده کولینرژیک کاهش دهد. این فرضیه بر اساس توصیف مسیر ضدالتهابی کولینرژیک است، مکانیزمی که به موجب آن استیل کولین آزاد شده از عصب واگ به طور خاص سنتز TNF- α و سایر سیتوکین‌ها را در مونوسیت‌ها مهار می‌کند (۶۴). همچنین، مطالعات نشان می‌دهند تحریک فعالیت عصب واگ در حیوانات باعث کاهش سطح TNF- α در طول اندوتوکسمی، سپسیس و ایسکمی می‌شود (۶۵، ۶۶). با این حال، به دلیل محدودیت‌های

(MCP1)، عامل بازدارنده ماکروفاژ (MIF)، و سایر سیتوکین‌ها و کموکاین‌ها هنگام مواجهه با غلظت‌های پایین آرسنیک در خون و کبد انسان و موش افزایش می‌یابد (۴۵-۴۷). همچنین، قرار گرفتن در معرض آرسنیک حاد موجب فعال‌سازی NF- κ B می‌شود و موجب افزایش تولید شاخص‌های التهابی در طحال و تیموس موش می‌شود (۴۸).

از سویی، گزارش شده است مواجهه با آرسنیک از طریق آب آشامیدنی باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شود و بر ترشح انواع سیتوکین‌ها تأثیر می‌گذارد (۱۵، ۴۹). علاوه بر این، این سیتوکین‌ها، از جمله TNF- α ، IL-1 β و IL-6، در تولید رادیکال‌های آزاد از طریق واکنش زنجیره‌ای تنفسی میتوکندری در پاسخ به سمیت آرسنیک نقش دارند (۱۵). این شاخص‌های پیش التهابی در اغلب فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف و تغییرات سلولی شامل فاکتورهای رشد، فاکتورهای رونویسی و فعال شدن پروتئین‌های پرواپوپتوز نقش دارند. قرار گرفتن در معرض آرسنیک فعالیت سلول‌های ایمنی (لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها) را تضعیف می‌کند و بیشتر بر پاسخ‌های ایمنی سلولی تأثیر می‌گذارد و در نتیجه باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شود (۵۰).

همچنین، آرسنیک می‌تواند تعداد سلول‌های CD4+ را کاهش، فعال شدن سلول‌های T را مختل کرده و مهاجرت سلول‌های ایمنی را در مدل‌های حیوانی مهار کند (۵۱). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های دوان و همکاران (۲۰۱۷) که نشان دادند قرار گرفتن در معرض آرسنیک به طور قابل توجهی سطوح TNF- α ، IL-1 β و IL-6 را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد (۴۸)، همچنین، با نتایج وو و همکاران (۲۰۰۳) (۵۲)، لیو و همکاران (۲۰۰۰) (۵۳) و سینگ و همکاران (۲۰۱۰) (۵۴) که گزارش دادند مواجهه حاد و مزمن با آرسنیک موجب افزایش سطوح سرمی TNF- α ، IL-1 و IL-6 در موش (۵۳، ۵۴) می‌شود، همسو می‌باشد.

با این حال، آنچه که مهم است در این تحقیق منشاء دقیق بروز التهاب موضعی و یا سیستمیک ناشی از مواجهه با آرسنیک مشخص نشد و دقیقاً معلوم نیست که IL-6 و TNF- α سرم بیشتر از کدام بافت‌ها به سمت خون گسیل شده‌اند. با این حال به نظر می‌رسد که منشاء اصلی IL-6 و TNF- α سرم بافت چربی باشد (۵۵). اگرچه که این مساله در این تحقیق مستقیم بررسی نشده است و به عنوان یک محدودیت اصلی تحقیق می‌باشد، با این حال، در این تحقیق مقدار دوز مورد استفاده آرسنیک که معمولاً در حد خیلی بالایی نمی‌باشد، با افزایش شاخص‌های التهابی همراه بود. از سویی، حداکثر حد مجاز آرسنیک تعیین شده برای آب آشامیدنی توسط سازمان بهداشت جهانی (۰/۰۱ mg/l) گزارش شده است (۵۶). در ایران نیز حداکثر حد مجاز استاندارد ملی ۰/۰۵ mg/l است (۵۷) و با توجه به دوز مورد استفاده در این تحقیق (۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) که تقریباً نزدیک به استاندارد ملی می‌باشد، تعمیم‌پذیری به شرایط واقعی آب آشامیدنی ایران را دارد. بنابراین ممکن است مواجهه با آرسنیک حتی در دوز استاندارد ملی (۰/۰۵ mg/l)، بدن را به سمت پیش التهابی سوق دهد. بنابراین، به

IL-5 و IL-13 می‌باشد (۷۰). با این حال، هیچ تحقیقی در مورد تأثیر تمرین هوازی بر CC16 سرمی موش‌های مواجهه با آرسنیک یافت نشد. فقط در یک تحقیق توسط معظمی و همکاران (۲۰۱۵) که نشان دادند ۴ هفته تمرین هوازی با شدت ۷۰ الی ۷۵ درصد VO2max به مدت ۲۰ جلسه (۵ جلسه در هفته به مدت ۴۵ تا ۵۵ دقیقه) با کاهش قابل توجهی در سطح سرمی CC16 همراه بود (۷۴)، که با نتایج مطالعه ما ناهمسو می‌باشد. احتمالاً نوع آزمودنی (حیوان یا انسان)، شدت، مدت، پروتکل تمرین و وضعیت آزمودنی‌ها که در مطالعه معظمی و همکاران افراد وابسته به مواد مخدر بودند؛ دلیل تناقض یافته مطالعه ما با آن‌ها باشد. علاوه بر این، گزارش شده کلارا سلول‌ها در ترمیم اپیتلیوم آسیب دیده، ترمیم زخم پس از آسیب آلئول‌ها فعال می‌شوند (۷۵). در کل، به نظر می‌رسد اثر محافظتی CC16 به احتمال زیاد به واسطه تنظیم التهاب از طریق مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-KB) باشد (۷۶). با این حال، علارغم نقش محافظتی CC-16 (۲۳، ۲۶، ۷۶) هنوز در مورد عملکرد بیولوژیکی CC-16 دانش کافی وجود ندارد و مشخص نیست که آیا CC-16 یک نشانگر پاتولوژیک مفید برای آسیب ریه با پیامدهای بالینی می‌باشد. بنابراین، نیازمند بررسی بیشتر در این زمینه می‌باشد.

آخرین نتایج مطالعه نشان داد هیچیک از مداخلات، نه مواجهه با آرسنیک و نه تمرین و نه تمرین + آرسنیک بر ادم پنجه پای موش تأثیر معنی‌داری نداشت. هرچند در برخی مطالعات ادم ناشی از مواجهه با آرسنیک (۷۷) و احتباس مایعات سلولی (۷۸) گزارش شده است؛ با این حال، احتمالاً در مطالعه ما دوز، شکل و طول دوره استفاده از آرسنیک به اندازه‌ای نبود تا موجب ادم شود. اصولاً باید اشاره شود که مساله اثرات التهابی ناشی از آرسنیک موضوعی بدیهی است و توسط بسیاری از محققان (۱۵، ۲۱، ۴۸) تایید شده است. اما اینکه ادم جنبه همیشگی التهاب است یا نه یا اینکه فقط در شدت‌های بالای التهاب ادم روی می‌دهد نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد. با این حال، حداقل نتایج ما نشان داد که مواجهه با آرسنیک در دوز و مدت مورد بررسی در این تحقیق با اینکه سبب افزایش شاخص‌های التهابی TNF- α و IL-6 سرمی شد، اما در حدی نبود که از لحاظ ریختی به تغییرات بارز در ادم اندامها منجر شود. اگر چه که بارز نشدن ادم در اثر مواجهه با آرسنیک شاید به دلیل کاهش وزن و توده عضله و چربی مربوط باشد (۷۹). به بیان دیگر شاید ادم هم روی داده است اما از یک طرف مقدار ادم افزایش یافته با مقدار آتروفی عضله و چربی جایگزین شده است و در نتیجه تغییر بارز فنوتیپی توسط حجم سنج ثبت نشده است. بنابراین به نظر می‌رسد که سایر روش‌های ارزیابی ادم از قبیل استفاده از بررسی هیستولوژی برای ارزیابی دقیق سلول‌ها (۸۰) و یا روش‌های دیگر (۸۱) ضروری باشد. همچنین شاید پس از استفاده از داروهای مدر (۸۲) و یا غرق کردن اندام در آب سرد مدر (۸۳) و یا سایر تکنیک‌های دارای اثر گذرا بر ادم می‌توانستیم نتایج بهتری در این زمینه به دست آوریم که برای تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود. در هر حال، فعلاً نتایج نشان می‌دهد که مواجهه با آرسنیک در حدی نیست که به ادم بارز اندام‌ها منجر شود و بنابراین التهاب در اثر مواجهه با آرسنیک حالت

مطالعه حاضر و عدم اندازه‌گیری تون واگی و استیل کولین شفاف سازی بیشتر در این زمینه نیازمند بررسی بیشتر بوده و برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود. از سویی، هرچند تمرین + آرسنیک تا حدودی افزایش TNF- α و IL-6 ناشی از آرسنیک را تعدیل کرد، اما به نظر می‌رسد مداخله تمرین + آرسنیک قادر به جبران کامل اثرات التهابی آرسنیک نبوده است و اثر التهابی آرسنیک در مقابل اثرات مثبت تمرین بر کاهش TNF- α و IL-6 سرمی تداخل ایجاد کرده است.

سایر یافته‌های تحقیق نشان داد مواجهه با آرسنیک موجب افزایش سطوح سرمی CC16 موش‌ها شد؛ با این حال تمرین هوازی اثر کاهش CC16 ناشی از آرسنیک را افزایش داد؛ همچنین، سطوح سرمی CC16 در گروه مداخله تمرین + آرسنیک نیز نسبت به آرسنیک بیشتر بود. عملکرد بیولوژیکی CC16 به طور کامل روشن نیست. اما شواهد نشان می‌دهد که این مولکول خاصیت ضدالتهابی دارد (۶۷). همچنین، مطالعات نسبتاً محدودی تأثیر قرار گرفتن در معرض آرسنیک و سطوح CC16 را ارزیابی کرده‌اند. در این راستا، گزارش شده است سطوح سرمی CC16 هنگام قرار گرفتن در معرض آرسنیک ۳ و ۵ ظرفیتی کاهش می‌یابد (۶۸). همچنین، در مطالعه بروکرت و همکاران (۲۰۰۰) و پرویز و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است غلظت سرمی CC16 در افراد مبتلا به آسیب مزمن ریوی ناشی از سیگار، سایر آلاینده‌های هوا و مواجهه با آرسنیک از طریق آب آشامیدنی در نتیجه تخریب سلول‌های کلاب کاهش می‌یابد (۲۳، ۲۶)؛ بنابراین، احتمالاً در مطالعه حاضر کاهش سطوح سرمی CC16 در مداخله آرسنیک با تخریب سلول‌های کلاب و در نتیجه کاهش سطوح سرمی CC16 همراه بوده است. از سویی، مواجهه با آرسنیک غیر آلی در ریه‌ها ممکن است تأثیر بیشتری بر سطوح CC16 نسبت به قرار گرفتن در معرض آرسنیک سیستمیک داشته باشد (۶۹). در مطالعه بیمر و همکاران (۲۰۱۶) نیز، ارتباط مثبتی بین سطوح CC16 و غلظت آرسنیک موجود در خاک، آب و گرد و غبار مشاهده شد (۶۹)؛ این یافته‌ها، با نتایج مطالعه ما در یک راستا می‌باشند؛ این شواهد نشان می‌دهند که قرار گرفتن در معرض آرسنیک موضعی در ریه‌ها می‌تواند به اپیتلیوم راه هوایی آسیب برساند و موجب کاهش عملکرد ریه شود.

از سویی، هرچند عملکرد بیولوژیکی CC16 ناشی از تمرین ورزشی به طور کامل روشن نیست، با این حال، به نظر می‌رسد CC16 می‌تواند از طریق مهار آنزیم فسفولیپاز A2 و رها سازی پروتئین پروستاگلاندین D2 که هر دو در آبشار التهابی اسید آراشیدونیک دخیل هستند، خواص ضد التهابی مستقیم داشته باشد (۷۰). همچنین، توضیحات احتمالی برای افزایش CC16 در پلاسما از طریق افزایش نفوذپذیری در اپیتلیوم راه‌های هوایی، افزایش تولید/ترشح CC16 در ریه‌ها یا کاهش کلیرسن کلوی می‌باشد (۷۱).

از سویی، شواهد تجربی نشان می‌دهد CC16 در مکانیسم‌های تنظیم ایمنی و سرکوب سیستم ایمنی اپیتلیوم مواجهه شده با عوامل سمی نقش دارد (۷۲، ۷۳). CC16 در مایع پوششی اپیتلیال به عنوان محافظ دستگاه تنفسی در برابر واکنش‌های التهابی شناخته شده و دارای پتانسیل مهار بر روی چندین سایتوکین، از جمله اینترلوکین IL-4،

Drinking Well Water in a Rural Area. Iranian Journal of Toxicology. ۲۰۱۷; ۱۱(۶): ۲۳-۲۶. [In Persian]

5. Mosaferi M, Taghipour H, Hassani A, Borghai M, Kamali Z, Ghadirzadeh A. Study of arsenic presence in drinking water sources: a case study. Iranian Journal of Health and Environment. 2008;1(1):19-28. [In Persian]

6. Sun X, He Y, Guo Y, Li S, Zhao H, Wang Y, et al. Arsenic affects inflammatory cytokine expression in Gallus gallus brain tissues. BMC veterinary research. 2017;13(1):1-10.

7. Cheng Y-Y, Chang Y-T, Cheng H-L, Shen K-H, Sung J-M, Guo H-R. Associations between arsenic in drinking water and occurrence of end-stage renal disease with modifications by comorbidities: a nationwide population-based study in Taiwan. Science of The Total Environment. 2018;626:581-91.

8. Pichler G, Grau-Perez M, Tellez-Plaza M, Umans J, Best L, Cole S, et al. Association of arsenic exposure with cardiac geometry and left ventricular function in young adults: evidence from the Strong Heart Family Study. Circulation: Cardiovascular Imaging. 2019;12(5):e009018.

9. Singh MK, Yadav SS, Yadav RS, Chauhan A, Katiyar D, Khattri S. Protective effect of Emblica-officinalis in arsenic induced biochemical alteration and inflammation in mice. Springerplus. 2015;4(1):1-8.

10. Islam LN, Nurun Nabi A, Rahman MM, Zahid MSH. Association of respiratory complications and elevated serum immunoglobulins with drinking water arsenic toxicity in human. Journal of Environmental Science and Health, Part A. 2007;42(12):1807-14.

11. Liu Y, Liang Y, Zheng B, Chu L, Ma D, Wang H, et al. Protective Effects of crocetin on arsenic trioxide-induced hepatic injury: Involvement of suppression in oxidative stress and inflammation through activation of Nrf2 signaling pathway in rats. Drug design, development and therapy. 2020;14:1921.

12. Calatayud M, Gimeno-Alcañiz J, Vélez D, Devesa V. Trivalent arsenic species induce changes in expression and levels of proinflammatory cytokines in intestinal epithelial cells. Toxicology letters. 2014;224(1):40-6.

13. Xu Y, Zhao Y, Xu W, Luo F, Wang B, Li Y, et al. Involvement of HIF-2 α -mediated inflammation in arsenite-induced transformation of human bronchial epithelial cells. Toxicology and applied pharmacology. 2013;272(2):542-50.

14. Duan X, Xu G, Li J, Yan N, Li X, Liu X, et al. Arsenic Induces Continuous Inflammation and Regulates Th1/Th2/Th17/Treg Balance in Liver and

تحت بالینی و نه چندان شدید دارد. با این حال، بایستی اشاره شود که التهاب تحت بالینی خفیف خود منشاء بسیاری از حالات پاتولوژیک و از جمله دارای قابلیت افزایش استعداد به سرطان‌ها (۸۴-۸۷) می‌باشد. بنابراین این مساله با سایر گزارشات مربوط به بالا بودن شیوع انواع سرطان‌ها در جمعیت‌های تحت مواجهه با آرسنیک نیز به نوعی همخوانی دارد.

مهم‌ترین محدودیت‌های مطالعه ما عدم بررسی تون واگی، استیل کولین، عدم اندازه‌گیری مستقیم CC16 اپیتلیوم راه‌های هوایی، عدم اندازه‌گیری درصد چربی بدن، تعداد اندک آزمودنی‌ها، عدم اندازه‌گیری شاخص‌های منعکس کننده وضعیت آمادگی جسمانی و مقدار مسافت طی شده و سایر شاخص‌های بیوشیمیایی مربوط به پایش اثرات حاصل از تمرین بدنی، در نظر نگرفتن گروه تمرین بدون مواجهه با آرسنیک از سایر محدودیت‌های آن بودند که برای شفاف‌سازی بیشتر باید در تحقیقات آینده در نظر گرفته شوند.

نتیجه‌گیری

در کل نتیجه‌گیری شد که مواجهه با آرسنیک می‌تواند به بروز التهاب منجر شود؛ اما، بر ادم بافتی تأثیری نداشت. با این حال، هر چند تمرین ورزشی به درجانی دارای اثرات محافظتی می‌باشد، اما شاید در افراد در حال ورزش ساکن در مناطق تحت مواجهه با آرسنیک، فقط اتکا به قابلیت‌های مورد انتظار از سازگاری‌های حاصل از تمرین کافی نباشد. شاید نیاز به سایر مداخلات نیز وجود داشته باشد. اما به دلیل محدودیت‌های موجود در این تحقیق و کمبود شواهد مستقیم در جمعیت انسانی در حال ورزش تحت مواجهه مزمن با آرسنیک، هنوز نیاز به بررسی‌های بیشتر باقی است.

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که ما را در اجرای این تحقیق یاری رساندند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

تضاد منافع

نویسندگان این مقاله، هیچ نفع متقابلی از انتشار آن ندارند.

Reference

1. Sanchez TR, Perzanowski M, Graziano JH. Inorganic arsenic and respiratory health, from early life exposure to sex-specific effects: A systematic review. Environmental research. 2016;147:537-55.
2. WHO. Ten Chemicals of Major Public Health Concern. WHO. ۲۰۱۶ ;
3. WHO. Exposure to cadmium: a major public health concern. World Health Organization (WHO). 2010.
4. Kazemifar AM, Mojdehipanah H, Arami M, Khamesi S. Chronic Arsenic Toxicity from

Publisher: Azarbaijan Shahid Madani University



exposure from drinking water among never-smokers in Bangladesh. *Environmental health perspectives*. ۲۰۰۸;۱۱۶(۲):۵-۱۹۰.

27. Vieira RdP, Toledo AC, Silva LB, Almeida FM, Damaceno-Rodrigues NR, Caldini EG, et al. Anti-inflammatory effects of aerobic exercise in mice exposed to air pollution. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(7):1227-34.

28. Kokkinos P, Myers J. Exercise and physical activity: clinical outcomes and applications. *Circulation*. 2010;122(16):1637-48.

29. Dimauro I, Paronetto MP, Caporossi D. Exercise, redox homeostasis and the epigenetic landscape. *Redox biology*. 2020;35:101477.

30. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature reviews immunology*. 2011;11(9):607-15.

31. Allen J, Sun Y, Woods JA. Exercise and the regulation of inflammatory responses. *Progress in molecular biology and translational science*. 2015;135:337-54.

32. Giancesini S, Tessari M, Bacciglieri P, Malagoni AM, Menegatti E, Occhionorelli S, et al. A specifically designed aquatic exercise protocol to reduce chronic lower limb edema. *Phlebology*. 2017;32(9):594-600.

33. Menegatti E, Pagani A, Avruscio G, Mucignat M, Giancesini S. The effects of thermal water physical exercise in patients with lower limb chronic venous insufficiency monitored by bioimpedance analysis. *Diagnostics*. 2020;10(11):889.

34. Farzan SF, Eunus HM, Haque SE, Sarwar G, Hasan AR, Wu F, et al. Arsenic exposure from drinking water and endothelial dysfunction in Bangladeshi adolescents. *Environmental Research*. 2022;112697.

35. Lee M-Y, Jung B-I, Chung S-M, Bae O-N, Lee J-Y, Park J-D, et al. Arsenic-induced dysfunction in relaxation of blood vessels. *Environmental health perspectives*. 2003;111(4):513-7.

36. Cai Z, Zhang Y, Zhang Y, Miao X, Li S, Yang H, et al. Use of a mouse model and human umbilical vein endothelial cells to investigate the effect of arsenic exposure on vascular endothelial function and the associated role of calpains. *Environmental health perspectives*. 2019;127(7):077003.

37. Karczewski J, Śledzińska E, Baturo A, Jończyk I, Maleszko A, Samborski P, et al. Obesity and inflammation. *European cytokine network*. 2018;29(3):83-94.

38. Grandl G, Wolfrum C, editors. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic

Kidney In Vivo. *Mediators of Inflammation*. 2022;2022.

15. Yan N, Xu G, Zhang C, Liu X, Li X, Sun L, et al. Chronic arsenic exposure induces the time-dependent modulation of inflammation and immunosuppression in spleen. *Cell & Bioscience*. 2020;10.۱۰-۱:(۱)

16. Yu N-H, Pei H, Huang Y-P, Li Y-F. (-)-Epigallocatechin-3-Gallate inhibits arsenic-induced inflammation and apoptosis through suppression of oxidative stress in mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;41(5):1788-800.

17. Ramsey KA, Foong RE, Sly PD, Larcombe AN, Zosky GR. Early life arsenic exposure and acute and long-term responses to influenza A infection in mice. *Environmental Health Perspectives*. 2013;121(10):1187-93.

18. Hunt KM, Srivastava RK, Elmets CA, Athar M. The mechanistic basis of arsenicosis: pathogenesis of skin cancer. *Cancer letters*. 2014;354(2):211-9.

19. Chirasuthat P, Chirasuthat S, Suchonwanit P. Acute Inflammatory Edema: A Case Report with Histopathological and Immunohistochemical Findings. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:4877.

20. Zhang P. On arsenic trioxide in the clinical treatment of acute promyelocytic leukemia. *Leukemia research reports*. 2017;7:29-32.

21. Ahmed S, Akhtar E, Roy A, von Ehrenstein OS, Vahter M, Wagatsuma Y, et al. Arsenic exposure alters lung function and airway inflammation in children: a cohort study in rural Bangladesh. *Environment international*. 2017;101:108-16.

22. Lakind J, Holgate S, Ownby DR, Mansur A, Helms P, Pyatt D, et al. A critical review of the use of Clara cell secretory protein (CC16) as a biomarker of acute or chronic pulmonary effects. *Biomarkers*. 2007;12(5):445-67.

23. Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;923(1):68-77.

24. Hu T, Sun F, Yu X, Li Q, Zhao L, Hao W, et al. CC16-TNF- α negative feedback loop formed between Clara cells and normal airway epithelial cells protects against diesel exhaust particles exposure-induced inflammation. *Aging (Albany NY)*. 2021;13(15):19442.

25. Kropski JA, Fremont RD, Calfee CS, Ware LB. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury. *Chest*. 2009;135(6):1440-7.

26. Parvez F, Chen Y, Brandt-Rauf PW, Bernard A, Dumont X, Slavkovich V, et al. Nonmalignant respiratory effects of chronic arsenic

49. Zeng Q, Luo P, Gu J, Liang B, Liu Q, Zhang A. PKC θ -mediated Ca^{2+} /NF-AT signalling pathway may be involved in T-cell immunosuppression in coal-burning arsenic-poisoned population. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2017;55:44-50.
50. Zhao H, Wang Y, Shao Y, Liu J, Wang S, Xing M. Oxidative stress-induced skeletal muscle injury involves in NF- κ B/p53-activated immunosuppression and apoptosis response in copper (II) or/and arsenite-exposed chicken. *Chemosphere*. 2018;210:76-84.
51. Xiaoxu D, Gao S, Li J, Wu L, Zhang Y, Li W. Acute arsenic exposure induces inflammatory responses and CD4⁺ T cell subpopulations differentiation in spleen and thymus with the involvement of MAPK, NF- κ B, and Nrf2/Nrf2. *Molecular Immunology*. 2017;81:160-72.
52. Wu M-M, Chiou H-Y, Ho I-C, Chen C-J, Lee T-C. Gene expression of inflammatory molecules in circulating lymphocytes from arsenic-exposed human subjects. *Environmental health perspectives*. 2003;111(11):142. ۳۸-۹
53. Liu J, Liu Y, Goyer RA, Achanzar W, Waalkes MP. Metallothionein-I/II null mice are more sensitive than wild-type mice to the hepatotoxic and nephrotoxic effects of chronic oral or injected inorganic arsenicals. *Toxicological Sciences*. 2000;55. ۷-۴۶۰: (۲)
54. Singh N, Kumar D, Lal K, Raisuddin S, Sahu AP. Adverse health effects due to arsenic exposure: modification by dietary supplementation of jaggery in mice. *Toxicology and applied pharmacology*. 2010;242(3):247-55.
55. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Adipose tissue as a source of inflammatory cytokines in health and disease: focus on end-stage renal disease. *Kidney International*. 2003;63:S65-S8.
56. Choong TS, Chuah T, Robiah Y, Koay FG, Azni I. Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview. *Desalination*. 2007;217(1-3):139-66.
57. Fallahzadeh RA, Almodaresi SA, Dashti MM, Fattahi A, Sadeghnia M, Eslami H, et al. Zoning of nitrite and nitrate concentration in groundwater using Geographic information system (GIS) ,case study: drinking water wells in Yazd City. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 2016;4(3):91-6.
58. Córdova C, Lopes-e-Silva Jr F, Pires AS, Souza VC, Brito CJ, Moraes CF, et al. Long-term resistance training is associated with reduced circulating levels of IL-6, IFN- γ and TNF- α in elderly women. *Neuroimmunomodulation*. 2011;18(3):165-70.
59. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Møller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-syndrome. *Seminars in immunopathology*; 2018: Springer.
39. Wang X, Guo Z, Ding Z, Mehta JL. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(9):e008024.
40. Donges C, Duffield R, Drinkwater E. Effect of Resistance or aerobic exercise training on interleukin-6, C-reactive protein, and body. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42(2):304-13.
41. Nikniaz L, Ghojzadeh M, Nateghian H, Nikniaz Z, Farhangi MA, Pourmanaf H. The interaction effect of aerobic exercise and vitamin D supplementation on inflammatory factors, anti-inflammatory proteins, and lung function in male smokers: a randomized controlled trial. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*. 2021;13(1):1-8.
42. Badkoubbeh-Hezaveh M, Abedi B, Rahmati-Ahmadabad S. The Effect of Regular Aerobic Exercise Training and Pumpkin Seed Extract on the Heart and Aorta Apoptosis Biomarkers in Arsenic-Intoxicated Rats. *Gene, Cell and Tissue*. 2021;8.(۲)
43. Shejawal N, Menon S, Shailajan S. A simple, sensitive and accurate method for rat paw volume measurement and its expediency in preclinical animal studies. *Human & experimental toxicology*. 2014;33(2):123-9.
44. Escudero-Lourdes C. Toxicity mechanisms of arsenic that are shared with neurodegenerative diseases and cognitive impairment :Role of oxidative stress and inflammatory responses. *Neurotoxicology*. 2016;53:223-35.
45. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco smoke: involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *International journal of environmental research and public health*. 2009;6(2):445-62.
46. Wu J, Liu J, Waalkes MP, Cheng M-L, Li L, Li C-X, et al. High dietary fat exacerbates arsenic-induced liver fibrosis in mice. *Experimental biology and medicine*. 2008;233(3):377-84.
47. Yang C, Wu J, Zhang R, Zhang P, Eckard J, Yusuf R, et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents transformation of human cells by arsenite (As) and suppresses growth of As-transformed cells. *Toxicology*. 2005;213(1-2):81-96.
48. Duan X, Gao S, Li J, Wu L, Zhang Y, Li W, et al. Acute arsenic exposure induces inflammatory responses and CD4⁺ T cell subpopulations differentiation in spleen and thymus with the involvement of MAPK, NF- κ B, and Nrf2. *Molecular immunology*. 2017;81:160-72.



- (CC16) in plasma and urine after exercise challenge in asthmatics and healthy controls, and correlations to exhaled breath temperature and exhaled nitric oxide. *Respiratory medicine*. 2013;107(11):1675-81.
72. Bernard A, Lauwerys R. Low-molecular-weight proteins as markers of organ toxicity with special reference to Clara cell protein. *Toxicology letters*. 1995;77(1-3):145-51.
73. Johnston CJ, Mango GW, Finkelstein JN, Stripp BR. Altered pulmonary response to hyperoxia in Clara cell secretory protein deficient mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 1997;17(2):147-55.
74. Moazami M, Abbasian S, AttarzadeHosseini R, Fathi M. The effect of aerobic training on Clara Cell protein 16 (CC16) and cortisol in addicts. *Razi Jou of Med Sci*. 2015;1(22):132-40. [In Persian]
75. Crosby LM, Waters CM. Epithelial repair mechanisms in the lung. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2010;298(6):L71-L31.
76. Milne S, Li X, Cordero AIH, Yang CX, Cho MH, Beaty TH, et al. Protective effect of club cell secretory protein (CC-16) on COPD risk and progression: a Mendelian randomisation study. *Thorax*. 2020;75(11):934-43.
77. Alam M, Allinson G, Stagnitti F, Tanaka A, Westbrooke M. Arsenic contamination in Bangladesh groundwater: a major environmental and social disaster. *International journal of environmental health research*. 2002;12(3):235-53.
78. Arai A, Kitano A, Kurosu T, Yamamoto K, Miki T, Murakami N, et al. Fluid retention during arsenic trioxide treatment in acute promyelocytic leukemia. *American journal of hematology*. 2005;79(3):247-8.
79. Chen C-M, Chung M-N, Chiu C-Y, Liu S-H, Lan K-C. Inorganic Arsenic Exposure Decreases Muscle Mass and Enhances Denervation-Induced Muscle Atrophy in Mice. *Molecules*. 2020;25(13):3057.
80. Kim KH, Im H-W, Karmacharya MB, Kim S, Min B-H, Park SR, et al. Low-intensity ultrasound attenuates paw edema formation and decreases vascular permeability induced by carrageenan injection in rats. *Journal of Inflammation*. 2020;17(1):1-8.
81. Esmaili A, Kamyab M, Fatemikia H, Ahmadzadeh H, Movahed A, Kim E, et al. Experimental Evaluation of Mouse Hind Paw Edema Induced by Iranian Naja oxiana Venom. *Archives of Razi Institute*. ۱۳۹۶;(۱)۷۶:۲۰۲۱. [In Persian]
82. Vouri SM, Morris EJ, Jiang X, Hofer A-K, Schmidt S, Pepine C, et al. Evaluation of a Beta-10, and cortisol in humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 2003;285(2):E433-E7.
60. Fiers W. Tumor necrosis factor characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS letters*. 1991;285(2):199-212.
61. Matthys P, Mitera T, Heremans H, Van Damme J, Billiau A. Anti-gamma interferon and anti-interleukin-6 antibodies affect staphylococcal enterotoxin B-induced weight loss, hypoglycemia, and cytokine release in D-galactosamine-sensitized and unsensitized mice. *Infection and Immunity*. 1995;63(4):1158-64.
62. Mizuhara H, O'Neill E, Seki N, Ogawa T, Kusunoki C, Otsuka K, et al. T cell activation-associated hepatic injury: mediation by tumor necrosis factors and protection by interleukin 6. *The Journal of experimental medicine*. 1994;179(5):1529-37.
63. Rezaee S, Kahrizi S, Nabavi SM, Hedayati M. VEGF and $\text{TNF-}\alpha$ Responses to Acute and Chronic Aerobic Exercise in the Patients with Multiple Sclerosis. *Asian J Sports Med*. 2020;11:98312. [In Persian]
64. Sloan RP, Shapiro PA, DeMeersman RE, McKinley PS, Tracey KJ, Slavov I, et al. Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. *Journal of applied physiology*. 2007;103(3):1007-11.
65. Tracey KJ. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(2):289-96.
66. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853-9.
67. Almunashiri S, Han Y, Zhu Y, Dutta S, Niazi S, Wang X, et al. CC16 Regulates Inflammation, ROS Generation and Apoptosis in Bronchial Epithelial Cells during Klebsiella pneumoniae Infection. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(21):11459.
68. Halatek T, Sinczuk-Walczak H, Janasik B, Trzcinka-Ochocka M, Winnicka R, Wasowicz W. Health effects and arsenic species in urine of copper smelter workers. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2014;49(7):787-97.
69. Beamer PI, Klimecki WT, Loh M, Van Horne YO, Sugeng AJ, Lothrop N, et al. Association of children's urinary CC16 levels with arsenic concentrations in multiple environmental media. *International journal of environmental research and public health*. 2016;13(5):521.
70. Ma Y-N, Wang J, Lee YL, Ren W-H, Lv X-F, He Q-C, et al., editors. Association of urine CC16 and lung function and asthma in Chinese children. *Allergy & Asthma Proceedings*; 2015.
71. Tufvesson E, Svensson H, Ankerst J, Björmer L. Increase of club cell (Clara) protein

- blocker-Edema-Loop Diuretic Prescribing Cascade: A Prescription Sequence Symmetry Analysis. American Journal of Hypertension. 2022.
83. Dolan MG ,Thornton RM, Fish DR, Mendel FC. Effects of cold water immersion on edema formation after blunt injury to the hind limbs of rats. Journal of Athletic Training. 1997;32(3):233.
84. Jasso-Pineda Y, Díaz-Barriga F, Calderón J, Yáñez L, Carrizales L, Pérez-Maldonado IN. DNA damage and decreased DNA repair in peripheral blood mononuclear cells in individuals exposed to arsenic and lead in a mining site. Biological trace element research. 2012;146(2):141-9.
85. Gamiño-Gutiérrez SP, González-Pérez CI, Gonsbatt ME, Monroy-Fernández MG. Arsenic and lead contamination in urban soils of Villa de la Paz (Mexico) affected by historical mine wastes and its effect on children's health studied by micronucleated exfoliated cells assay. Environmental Geochemistry and Health. 2013;35(1):37-51.
86. McDermott S, Bao W, Tong X, Cai B, Lawson A, Aelion CM. Are different soil metals near the homes of pregnant women associated with mild and severe intellectual disability in children? Developmental Medicine & Child Neurology. 20۰۹۷-۸۸۸:(۹)۵۶;۱۴
87. Heck JE, Park AS, Qiu J, Cockburn M, Ritz B. Risk of leukemia in relation to exposure to ambient air toxics in pregnancy and early childhood. International journal of hygiene and environmental health. 2014;217(6):662-8.