

## Research Paper

**Effect of Aerobic Training and Eugenol on the Expression of SERCA2a and NKX2-5 Genes in Heart Tissue of Rats Poisoned with Chlorpyrifos****A. Ranjbar<sup>1</sup>, H. Matinhomae<sup>2</sup>, S. Rahmati-Ahmadabad<sup>3</sup>**

1. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Exercise Physiology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author)
3. Department of Physical Education, Pardis Branch, Islamic Azad University, Pardis, Iran.

Received: 2021/02/28

Accepted: 2021/08/30

**Abstract**

Chlorpyrifos is an organophosphate toxin used to control agricultural pests. These toxins cause oxidative stress and apoptosis in various tissues of the body, including the heart. SERCA2a and NKX2-5 are genes that regulate contractile function and heart growth. Previous studies have shown a positive effect of physical activity on the expression of these genes in heart failure, but so far, changes in these genes following the use of physical activity in chlorpyrifos poisoning have not been studied. The aim of the present study was to investigate the independent and interactive effect of aerobic exercise and eugenol supplementation on the expression of SERCA2a and NKX2-5 genes in the heart tissue of rats poisoned with chlorpyrifos. Thirty-six Wistar male rats were divided into six groups (six in each group) with the names healthy control, sham, poison control, aerobic exercise poison, eugenol poison, and toxic + aerobic exercise + eugenol. Aerobic training was performed on a rodent treadmill (five sessions per week, each session lasting 20 minutes at a speed of 26 meters per minute) for four weeks. Eugenol at a dose of 250 mg/kg body weight was fed to the rats of the supplement groups (five days a week for four weeks using gavage). Data were analyzed using one-way ANOVA with Tukey post-hoc test and  $P < 0.05$  was considered as a significant change. The results of the current study showed that poisoning significantly reduced the expression of SERCA2a and NKX2-5 genes in cardiac tissue. Exercise (no supplementation) increased the SERCA2a and NKX2-5 genes in the hearts of poisoned rats. Exercise-eugenol interaction did not cause a synergistic effect. Overall, in the present study, exercise seems to be a more important factor than eugenol in reducing the effect of chronic intoxication on the heart. Further studies with higher doses of eugenol supplementation are needed.

**Keywords:** Oxidative Stress, Apoptosis, Organophosphate Toxins, Physical Activity, Poisoning, Eugenol Supplement

---

1. Email: alibemani44@yahoo.com

2. Email: hasanmatinhomae@gmail.com

3. Email: salehrahmati@pardisiau.ac.ir

## Extended Abstract

### Background and Purpose

Chlorpyrifos is an organophosphate toxin used to control agricultural pests (1). These toxins cause oxidative stress and apoptosis in various tissues of the body including the heart. SERCA2a and NKX2-5 are genes that regulate contractile function and heart growth (2, 3). Previous studies have shown a positive effect of physical activity on the expression of these genes in heart failure (4), but so far, changes in these genes following the use of physical activity in chlorpyrifos poisoning have not been studied. The aim of the present study was to investigate the independent and interactive effect of aerobic exercise and eugenol supplementation on the expression of SERCA2a and NKX2-5 genes in the heart tissue of rats poisoned with chlorpyrifos.

### Materials and Method

Thirty-six Wistar male rats were divided into six groups (six in each group) with the names healthy control, sham, poison control, aerobic exercise poison, eugenol poison, and toxic + aerobic exercise + eugenol. Aerobic training was performed on a rodent treadmill (five sessions per week, each session lasting 20 minutes at a speed of 26 meters per minute) for four weeks (Table 1) (5). Eugenol at a dose of 250 mg/kg body weight was fed to the rats of the supplement groups (five days a week for four weeks using gavage) (6). Sampling was taken 48 hours after the last intervention with at least eight hours of fasting. After anesthetization, the tissues were rapidly isolated and washed with saline phosphate buffer solution (PBS). The apex of the heart sample was removed and placed inside the microtube. The samples were frozen using liquid nitrogen and stored in a -80 freezer until tissue analysis. SERCA2a and NKX2-5 were measured using real-time PCR (7). Data were analyzed using one-way ANOVA with Tukey post-hoc test and  $P < 0.05$  was considered as a significant change.

**Table 1. Aerobic exercise training protocol.**

Week	Warm-up	The main body of exercise	Cool down
1 <sup>st</sup>	-	20 minutes at a speed of 9 meters per minute	-
2 <sup>nd</sup>	-	20 minutes at a speed of 9 meters per minute	-
3 <sup>rd</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 16 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
4 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 20 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
5 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 26 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
6 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 26 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute

## Results

Expression of NKX2-5 gene of cardiac tissue had a significant difference between the studied groups ( $P = 0.001$ ). Pair comparisons obtained from Tukey post hoc test showed that due to chlorpyrifos poisoning (comparison of the healthy control group with the toxic control group), NKX2-5 gene expression was significantly reduced ( $P = 0.001$ ). Injection (sham) had no significant effect on the expression of this gene ( $P = 0.001$ ). Aerobic exercise increased the expression of this gene compared to the poisoned control group ( $P = 0.038$ ). Eugenol induction had no significant effect on the expression of this gene compared to the toxic control group ( $P = 0.637$ ). Simultaneous aerobic exercise and eugenol could significantly increase the expression of this gene compared to the poisoned control group ( $P = 0.001$ ). Simultaneous aerobic exercise and eugenol significantly increased the expression of this gene concerning the eugenol group ( $P = 0.003$ ), but no significant difference was observed between the aerobic exercise group and eugenol with the aerobic exercise group alone ( $P = 0.145$ ). There was no significant difference between the aerobic exercise group and the eugenol group in the expression of this gene ( $P = 0.596$ ). Regarding the expression of the SERCA2a gene in cardiac tissue, a significant difference was observed between the studied groups ( $P = 0.001$ ). Pair comparisons obtained from Tukey post hoc test showed that due to chlorpyrifos poisoning (comparison of the healthy control group with the toxic control group), expression of SERCA2a gene was significantly reduced ( $P = 0.001$ ). Injection (sham) had no significant effect on the expression of this gene ( $P = 0.983$ ). Aerobic exercise increased the expression of this gene compared to the control group ( $P = 0.001$ ). Eugenol induction had no significant effect on the expression of this gene compared to the toxic control group ( $P = 0.057$ ). Simultaneous aerobic exercise and eugenol could significantly increase the expression of this gene compared to the poisoned control group ( $P = 0.001$ ). Co-occurrence of aerobic exercise and eugenol significantly increased the expression of this gene concerning the eugenol group ( $P = 0.004$ ), but a significant difference was observed between the aerobic exercise group and eugenol with the aerobic exercise group alone ( $P = 0.131$ ). There was no significant difference in the expression of this gene between the aerobic exercise group and eugenol.

## Conclusion

The present study showed that poisoning significantly reduced the expression of SERCA2a and NKX2-5 genes in cardiac tissue. Exercise (no supplementation) increased the SERCA2a and NKX2-5 genes in the hearts of poisoned rats. Exercise-eugenol interaction did not cause a synergistic effect. Overall, in the present study, exercise seems to be a more important factor than eugenol in reducing the effect of chronic intoxication on the heart. Further studies with higher doses of eugenol supplementation are needed.

### Article Massage

The present study showed the beneficial effect of aerobic exercise on the expression of SERCA2a and NKX2-5 genes in the hearts of rats poisoned with chlorpyrifos. Considering that there was no significant difference between exercise-supplement and exercise groups and due to the lack of significant change in these genes in response to eugenol supplementation, exercise seems to be a more important factor than eugenol to reduce the effect. Chronic toxicity to the heart. However, to express this issue, other studies with higher doses of eugenol seem necessary.

**Keywords:** Oxidative Stress, Apoptosis, Organophosphate Toxins, Physical Activity, Poisoning, Eugenol Supplement

### References

1. Joko T, Dewanti NAY, and Dangiran HL. Pesticide Poisoning and the Use of Personal Protective Equipment (PPE) in Indonesian Farmers. *Journal of Environmental and Public Health*. 2020; 2020: 5379619. DOI: 10.1155/2020/5379619.
2. Zhihao L, Jingyu N, Lan L, Michael S, Rui G, Xiyun B, Xiaozhi L, and Guanwei F. SERCA2a: a key protein in the Ca(2+) cycle of the heart failure. *Heart Fail Rev*. 2020; 25(3): 523-535. DOI: 10.1007/s10741-019-09873-3.
3. Anderson DJ, Kaplan DI, Bell KM, Koutsis K, Haynes JM, Mills RJ, Phelan DG, Qian EL, Leitoguinho AR, Arasaratnam D, Labonne T, Ng ES, Davis RP, Casini S, Passier R, Hudson JE, Porrello ER, Costa MW, Rafii A, Curl CL, Delbridge LM, Harvey RP, Oshlack A, Cheung MM, Mummery CL, Petrou S, Elefanty AG, Stanley EG, and Elliott DA. NKX2-5 regulates human cardiomyogenesis via a HEY2 dependent transcriptional network. *Nature Communications*. 2018; 9(1): 1373. DOI: 10.1038/s41467-018-03714-x.
4. Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, and Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2002; 54(1): 162-74. DOI: 10.1016/s0008-6363(01)00565-x.
5. Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, Ayazi M, Karimi L, Dayani Yazdi F, Javadinejad N, and Azarbayjani MA. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. *Environmental Toxicology*. 2020; 35(7): 783-793. DOI: 10.1002/tox.22913.
6. Singh P, Jayaramaiah RH, Agawane SB, Vannuruswamy G, Korwar AM, Anand A, Dhaygude VS, Shaikh ML, Joshi RS, Boppana R, Kulkarni MJ, Thulasiram HV, and Giri AP. Potential Dual Role of Eugenol in Inhibiting Advanced Glycation End Products in Diabetes: Proteomic and Mechanistic Insights. *Scientific Reports*. 2016; 6(1): 18798. DOI: 10.1038/srep18798.
7. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Farzanegi P, and Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. *Eur J Prev Cardiol*. 2019: 2047487319887828. DOI: 10.1177/2047487319887828

## اثر تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 بافت قلب در رت‌های مسموم شده با کلروپیریفوس

علی‌بمانی رنجبر<sup>۱</sup>، حسن متین‌همایی<sup>۲</sup>، صالح رحمتی احمدآباد<sup>۳</sup>

۱. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲. گروه فیزیولوژی ورزش، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)
۲. گروه تربیت‌بدنی، واحد پردیس، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۰

### چکیده

کلروپیریفوس از سموم ارگانوفسفره است که برای کنترل آفات کشاورزی استفاده می‌شود. این سموم باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس در بافت‌های مختلف بدن از جمله قلب می‌شوند. SERCA2a و NKX2-5 از ژن‌هایی‌اند که تنظیم‌کننده عملکرد انقباضی و رشد قلب هستند. مطالعات پیشین اثر مثبت فعالیت بدنی را بر بیان ژن‌های ذکر شده در وضعیت نارسایی قلبی نشان داده‌اند، ولی تاکنون تغییرات این ژن‌ها متعاقب استفاده از فعالیت بدنی در وضعیت مسمومیت با کلروپیریفوس بررسی نشده است؛ از این رو در پژوهش حاضر به بررسی اثر مستقل و تعاملی تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در بافت قلب رت‌های مسموم شده با کلروپیریفوس پرداخته شده است. تعداد ۳۶ سر رت نر نژاد ویستار به شش گروه (شش سر در هر گروه) با نام‌های کنترل سالم، شم، کنترل مسموم، مسموم تمرین هوازی، مسموم اوژنول و مسموم + تمرین هوازی + اوژنول تقسیم شدند. تمرین هوازی روی تردمیل مخصوص جوندگان (پنج جلسه در هفته، هر جلسه ۲۰ دقیقه و با سرعت ۲۶ متر بر دقیقه) به مدت چهار هفته اجرا شد. اوژنول با دوز ۲۵۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته با استفاده از گاواژ به رت‌های گروه‌های مکمل خورانده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و تعقیبی توکی تحلیل شدند و  $P < 0.05$  به‌عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد، مسمومیت به‌طور معناداری بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 را در بافت قلب کاهش داد. همچنین تمرین (نه مکمل) بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 را در بافت قلب رت‌های مسموم افزایش داد. به‌هر حال، تعامل تمرین-اوژنول باعث ایجاد اثر سینرژیک نشد. در مجموع به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر تمرین عاملی مهم‌تر در مقایسه با اوژنول برای کاهش اثر مسمومیت مزمن بر قلب است؛ البته انجام دادن مطالعاتی در آینده با دوزهای بیشتر مکمل‌دهی اوژنول نیاز است.

**واژگان کلیدی:** استرس اکسیداتیو، آپوپتوزیس، سموم ارگانوفسفره، فعالیت بدنی، مسمومیت، مکمل اوژنول.

1. Email: alibemani44@yahoo.com
2. Email: hasanmatinhomae@gmail.com
3. Email: salehrahmati@pardisiau.ac.ir

## مقدمه

در کشورهای در حال توسعه جمعیت رو به افزایش است و در پی آن، تقاضا برای غذا بیشتر شده است. با توجه به اینکه کشاورزی عمده‌ترین مواد غذایی افراد جامعه را تأمین می‌کند، نیاز است کشاورزان محصولات را به صورت غیرارگانیک تولید کنند. بدین منظور برای مقابله با آفات کشاورزی برای افزایش تولید محصول بیشتر، سموم مختلفی استفاده می‌شوند (۱، ۲). ارگانوفسفرها جزو سموم کشاورزی محسوب می‌شود که کلروپیریفوس یک حشره‌کش از این گروه است. کلروپیریفوس از طریق پوست، مجاری تنفسی و دستگاه گوارش وارد بدن می‌شود و به سرعت در کبد و کلیه به متابولیت فعال تبدیل می‌شود (۲، ۳).

با توجه به مطالعات پیشین به نظر می‌رسد که بافت قلب از اندام‌هایی باشد که تحت تأثیر سموم با مکانیسم افزایش آپوپتوزیس<sup>۱</sup> روبه‌رو می‌شود (۴، ۵). چرخه یون کلسیم<sup>۲</sup> نقش اساسی در انقباض و استراحت کاردیومیوسیت‌ها<sup>۳</sup> دارد. شبکه سارکوپلاسمی<sup>۴</sup> به عنوان یک اندامک برای ذخیره کلسیم عمل می‌کند که عمل آزاد شدن و جذب مجدد کلسیم را در انقباض و استراحت قلب انجام می‌دهد. SERCA2a<sup>۵</sup> زیرگروه شبکه سارکوپلاسمی/آندوپلاسمی است که در قلب بیان می‌شود (۶). تنظیم فعالیت SERCA2a، انقباض و استراحت قلب را کنترل می‌کند و بر عملکرد قلب تأثیر دارد. نشان داده شده است که بیان ژن و فعالیت SERCA2a در نارسایی قلبی کاهش می‌یابد (۷، ۶). NKX2-5 (همچنین به نام Csx شناخته می‌شود) ژنی است که نقش کلیدی در ساخت یک قلب سالم از نظر ریخت‌شناسی دارد (۸، ۹). نشان داده شده است که حذف این ژن از موش‌ها در آزمایشگاه، موجب مرگ آن‌ها به دلیل تشکیل نشدن حفرات قلبی می‌شود (۹). NKX2-5 رشد عضله قلب را تنظیم می‌کند و اختلال در بیان آن موجب رشد نامتقارن بطن‌های قلب می‌شود (۱۰). نشان داده شده است که این ژن برای رشد طبیعی قلب ضروری است و جهش‌های آن موجب بیماری‌های مادرزادی قلب می‌شود (۱۱).

کلروپیریفوس بر همه بافت‌ها اثرگذار است و باعث ایجاد صدمات سلولی و ژنتیکی می‌شود. نشان داده شده است که این سم باعث آسیب در DNA در بافت‌های کبد، کلیه، مغز و طحال می‌شود (۱۲). قرارگیری در معرض کلروپیریفوس تأثیر نامطلوبی بر فشارخون و ضربان قلب استراحتی دارد (۱۳). همچنین قرارگیری در معرض این سم باعث کاهش آنتی‌اکسیدان‌های قلب، افزایش پراکسیداسیون

- 
1. Apoptosis
  2. Ca<sup>2+</sup>
  3. Cardiomyocytes
  4. Sarcoplasmic Reticulum (SR)
  5. Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> Adenosine Triphosphatase-2a (SERCA2a)

لیپیدی، افزایش آپوپتوزیس بافت قلب و نارسایی قلبی می‌شود (۱۴، ۱۵). افزایش آنزیم‌های کبدی و اکسیداتیو به واسطه قرارگیری در معرض این سم گزارش شده است (۱۶). مطالعات پیشین تأثیر فعالیت بدنی منظم و مکمل‌سازی گیاهان دارویی بر تغییر بیان ژن‌ها را در بافت‌های مختلف نشان داده‌اند (۱۹-۱۷). تأثیرات مثبت تمرین هوازی بر بهبود آثار سم کلروپیریفوس در برخی مطالعات بررسی شده است (۲۱، ۲۰). نشان داده شده است که استفاده از تمرین‌های هوازی باعث بهبود تخریب بافتی ناشی از سم کلروپیریفوس در رت‌ها می‌شود (۲۱، ۲۰). امروزه به مکمل-سازی ماده مؤثر گیاه دارویی میخک به نام اوژنول بسیار توجه شده است. پژوهش‌های زیادی اثرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضدآپوپتوزی، آنتی‌اکسیدانی و ضداسترس اکسیداتیو اوژنول را تأیید کرده‌اند (۲۲-۲۴). همچنین مطالعاتی کاهش تخریب بافتی ایجادشده به واسطه کلروپیریفوس در کبد و بیضه را متعاقب مکمل‌سازی اوژنول نشان داده‌اند (۲۱، ۲۰). اثر تمرین و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در وضعیت مسمومیت با کلروپیریفوس بررسی نشده است. تنها مطالعاتی اثر مثبت تمرین بر بیان ژن‌های SERCA2a (۲۷-۲۵) و NKX2-5 را (۲۹، ۲۸) در وضعیت بیماری قلبی نشان داده‌اند. همچنین اثر اوژنول در سرکوب درد از طریق اثر بر کانال کلسیمی  $T^1$  نشان داده شده است (۳۰).

با توجه به توضیحات ذکرشده، در پژوهش حاضر به بررسی تأثیر تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در بافت قلب رت‌های مسموم‌شده با کلروپیریفوس پرداخته شده است. هر یک از مداخلات پژوهش (تمرین و مکمل) به‌طور مستقل ممکن است اثراتی را بر بیان ژن‌های ذکرشده داشته باشند، اما تعامل دو مداخله مستقل ممکن است باعث تقویت، تعدیل یا نبود تفاوت در مقایسه با اثر مستقل یک مداخله شود؛ بنابراین در پژوهش حاضر اثر تعاملی تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در بافت قلب نیز بررسی می‌شود.

## روش پژوهش

### حیوانات

تعداد ۳۶ رت نر (نژاد ویستار، هشت هفته سن با دامنه وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم) به‌عنوان آزمودنی مطالعه شدند. رت‌ها از انستیتو پاستور تهران خریداری شدند و به پانسیون آزمایشگاه هیستوپاتولوژی انتقال داده شدند. حیوانات به‌مدت یک هفته بدون هیچ‌گونه استرس در محل جدید نگهداری شدند. حیوان‌خانه دارای شرایط استاندارد بود (دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۵ درصد، سیکل ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی). هر شش رت در یک قفس از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو

به ابعاد ۱۵ × ۴۲ × ۲۶/۵ نگهداری شدند. رت‌ها به آب (بطری ۳۰۰ میلی‌لیتری شفاف و مدرج با قابلیت اتوکلاو و همراه با کلاهک یک سانتی‌متری از جنس استنلس استیل بدون رزوه) و غذای کافی (محصول شرکت بهپرور، ایران) دسترسی داشتند. تمام اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت جمهوری اسلامی در این مطالعه رعایت شد. همچنین پژوهش حاضر دارای تأییدیه از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد گچساران به شماره Iriau.iaug.rec1398.008 است.

حیوانات با استفاده از روش تصادفی‌سازی ساده و به‌طور مساوی در شش گروه به نام‌های کنترل سالم، سم، کنترل مسموم، مسموم تمرین هوازی، مسموم اوژنول و مسموم + تمرین هوازی + اوژنول تقسیم شدند.

### القای مسمومیت

حیوانات با استفاده از سم کلروپیریفوس (ساخت شرکت سیگما آلدریچ آمریکا<sup>۱</sup>) مسموم شدند. سم کلروپیریفوس به مقدار سه میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پنج وهله در هفته و به‌مدت شش هفته به موش‌ها به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد (۳۱). برای رقیق کردن و تزریق سم از نرمال سالین ۲ درصد استفاده شد. سم و نرمال سالین با استفاده از دستگاه سونیکیتور<sup>۲</sup> کاملاً همگن شدند و تزریق به‌صورت درون‌صفاقی انجام شد. برای بررسی اثر اقدام به تزریق، به رت‌های گروه سم نرمال سالین تزریق شد.

### دستورالعمل تمرین هوازی

در ابتدا رت‌ها به‌مدت دو هفته با تردمیل مخصوص جوندگان (شش لاین، ساخت ایران) آشنا شدند (پنج جلسه در هفته، هر جلسه ۲۰ دقیقه و با سرعت ۲ متر بر دقیقه). پس از آشناسازی، تمرین هوازی با شدت متوسط (سرعت ۱۶ متر بر دقیقه) شروع شد و به‌مدت چهار هفته ادامه یافت. هر جلسه تمرینی شامل پنج دقیقه گرم کردن، ۲۰ دقیقه بدنه اصلی تمرین و پنج دقیقه سرد کردن بود. جلسه اول با سرعت ۱۶ متر بر دقیقه شروع شد و طبق پروتکل هر هفته افزایش یافت؛ به‌گونه‌ای که در جلسه آخر به ۲۶ متر بر دقیقه رسید (جدول شماره یک) (۲۱).

---

1. Sigma-Aldrich  
2. Sonicator



## جدول ۱- برنامه تمرین هوازی

Table 1- Aerobic Exercise Training Protocol

Week	Warm-up	The main body of exercise	Cool down
1 <sup>st</sup>	-	20 minutes at a speed of 9 meters per minute	-
2 <sup>nd</sup>	-	20 minutes at a speed of 9 meters per minute	-
3 <sup>rd</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 16 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
4 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 20 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
5 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 26 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute
6 <sup>th</sup>	5 minutes at a speed of 9 meters per minute	20 minutes at a speed of 26 meters per minute	5 minutes at a speed of 9 meters per minute

## القای اوژنول

مکمل اوژنول از شرکت مرک<sup>۱</sup> آلمان تهیه شد (شماره کاتالوگ: ۸۱۸۴۵۵). اوژنول با دوز ۲۵۰ میلی-گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، پنج روز در هفته و به مدت چهار هفته با استفاده از گاوژ به رت های گروه های مکمل خورنده شد (۳۲).

## بافت برداری

برای قربانی کردن و بافت برداری به منظور مطالعات سلولی و مولکولی از روش فرس استفاده شد. برای رعایت موازین اخلاقی، رت ها ۴۸ ساعت پس از آخرین مداخله با حداقل هشت ساعت ناشتایی با محلول کلروفورم بی هوش شدند. پس از شکافتن قفسه سینه از بطن چپ قلب، با استفاده از سرنگ خون گیری انجام شد. سپس به سرعت بافت ها جدا شد و به وسیله محلول بافر فسفات سالین (PBS) شست و شوی بافتی انجام شد. نمونه آپکس قلب برداشته شد و داخل میکروتیوب قرار گرفت. نمونه ها با استفاده از نیتروژن مایع فریز شدند و تا زمان آنالیز بافتی در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

---

1. Merck

### نحوه سنجش بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5

RNA با استفاده از نمونه آپکس قلب و کیت مخصوص<sup>۱</sup> استخراج شد. غلظت و خلوص مناسب RNA استخراج شد با دستگاه اسپکتوفتومتر<sup>۲</sup> ارزیابی شد. سپس با استفاده از RNA، کیت مخصوص<sup>۳</sup> و پرایمر غیراختصاصی، cDNA ساخته شد. مقدار یک میکرولیتر از cDNA ساخته شده، پنج میکرولیتر آب مقطر، یک میکرولیتر پرایمر رفت اختصاصی، یک میکرولیتر پرایمر برگشت اختصاصی (جدول شماره دو) و یک میکرولیتر از کیت سایبرگرین<sup>۴</sup> با هم پیپت شدند و در دستگاه ریل تایم پی.سی.آر.<sup>۵</sup> قرار گرفتند (۳۳). روش استفاده از تمام کیت‌ها براساس دستورالعمل شرکت سازنده بود. میزان بیان ژن‌ها به صورت نسبی با توجه به بیان GAPDH با استفاده از فرمول<sup>۶</sup> محاسبه شد (۳۴). GAPDH یک هاسکیپینگ ژن<sup>۷</sup> است. ژن‌های هاسکیپینگ ژن‌هایی هستند که به طور مستمر در سلول‌ها بیان می‌شوند؛ بنابراین بیان دیگر ژن‌ها به صورت نسبی با توجه به آن‌ها تعیین می‌شود. در ابتدا مقدار CT<sup>۸</sup> (آستانه تکثیر) ژن اصلی در هر نمونه از مقدار CT هاسکیپینگ ژن هم‌تا کم شد (ΔCT). سپس اختلاف آن نسبت به نمونه گروه کنترل تعیین شد (ΔΔCT) و با استفاده از فرمول، مقدار بیان ژن نسبی مشخص شد (2<sup>-ΔΔCT</sup>).

جدول ۲- آغازگرهای اختصاصی (رفت و برگشت) مربوط به هر ژن

Table 2- Specific Primers (Forward and Reverse) for Each Gene

نام ژن Gene Name	رفت Forward	برگشت Reverse
NKX2-5	CGAGACTGGTAGGGAAAGGG	CTGCGTAAGTGTGGGTGTGA
SERCA2a	AGTGGCTGATGGTGCTGAAA	GCACCCGAACACCCTTACAT
GAPDH	AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG	CATACTCAGCACCAGCATCACC

1. Cat. No. k3090, Bioneer, Daejeon, Republic of Korea
2. Absorbance at A260 /A280; Thermo Scientific, Waltham, MA, USA
3. AccuPower RT PreMix cDNA synthesis kit, Bioneer
4. Cat. No. 204052, Qiagen GmbH, Hilden, Germany
5. Real-Time PCR
6. 2<sup>-ΔΔCT</sup>
7. Housekeeping Gene
8. Cycle Threshold

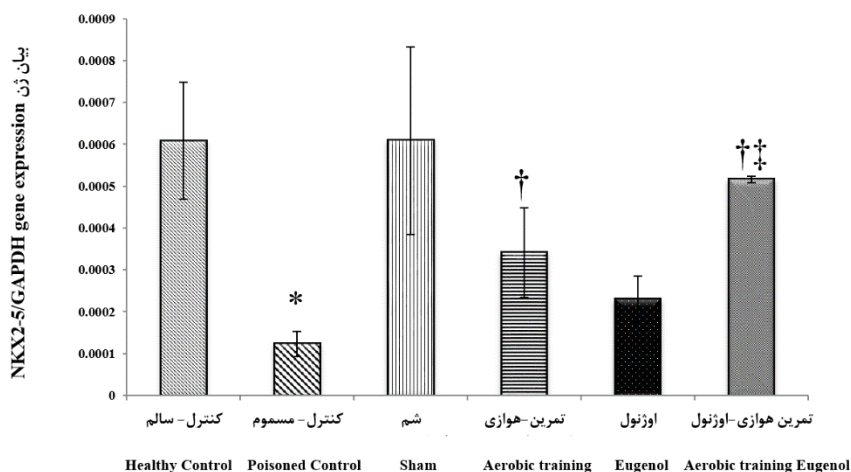
## روش آماری

در بخش توصیفی از شاخص‌های میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک<sup>۱</sup> نشان داد داده‌ها از توزیع طبیعی برخوردارند. از تحلیل واریانس یک‌راهه برای بررسی تفاوت بین گروه‌های مطالعه استفاده شد. در صورت مشاهده تفاوت معنادار، از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. توان آماری با استفاده از نرم‌افزار جی‌پاور<sup>۲</sup> محاسبه شد. میزان توان آماری بیشتر از ۰/۸۰ بود. برای تمام محاسبات  $P < 0.05$  به‌عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. تمام محاسبات با نرم‌افزار اس.پی.اس.اس<sup>۳</sup> نسخه ۲۰ انجام شد.

## نتایج

بیان ژن NKX2-5 بافت قلب بین گروه‌های مطالعه‌شده از تفاوت معناداری برخوردار بود ( $P = 0.001$ ). مقایسه‌های جفتی به‌دست‌آمده از آزمون تعقیبی توکی نشان داد، در اثر مسمومیت با کلروپیریفوس (مقایسه گروه کنترل سالم با گروه کنترل-مسموم) بیان ژن NKX2-5 به‌طور معناداری کاهش یافت ( $P = 0.001$ ). اقدام به تزریق (شم) اثر معناداری بر بیان این ژن نداشت ( $P = 0.001$ ). تمرین هوازی موجب افزایش بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مسموم شد ( $P = 0.038$ ). القای اوژنول اثر معناداری بر بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مسموم نداشت ( $P = 0.637$ ). هم‌زمانی تمرین هوازی و اوژنول توانست بیان این ژن را در مقایسه با گروه کنترل مسموم به‌طور معناداری افزایش دهد ( $P = 0.001$ ). هم‌زمانی تمرین هوازی و اوژنول بیان این ژن را در مقایسه با گروه اوژنول به‌طور معناداری افزایش داد ( $P = 0.003$ )، اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین هوازی و اوژنول با گروه تمرین هوازی به‌تنهایی مشاهده نشد ( $P = 0.145$ ). همچنین تفاوت معناداری بین گروه تمرین هوازی با گروه اوژنول در بیان این ژن مشاهده نشد ( $P = 0.596$ ). (شکل شماره یک).

- 
1. Shapiro-Wilk Test
  2. G\*Power
  3. SPSS



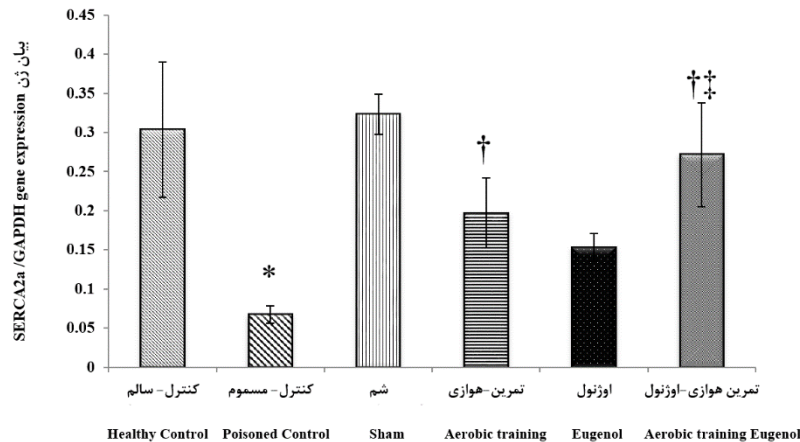
شکل ۱- مقایسه بیان ژن NKX2-5 بافت قلب در گروه‌های مطالعه‌شده

\*: کاهش معنادار در مقایسه با گروه کنترل سالم، †: افزایش معنادار در مقایسه با گروه کنترل - مسموم، ‡: افزایش معنادار در مقایسه با گروه اوژنول ( $P < 0.05$  به عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. داده‌ها براساس میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.)

**Figure 1- Expression of NKX2-5 Gene in the Studied Groups. \*: A Significant Decrease Compared to the Healthy Control Group. †: A Significant Increase Compared to the Control-Poisoned Group. ‡: A Significant Increase Compared to the Eugenol Group ( $P < 0.05$  was considered as a significant change. Data are presented on the basis of mean and standard deviation.)**

درباره بیان ژن SERCA2a در بافت قلب، تفاوت معناداری بین گروه‌های مطالعه‌شده مشاهده شد ( $F_{(3,5)} = 23.36, P = 0.001$ ). مقایسه‌های جفتی به دست آمده از آزمون تعقیبی توکی نشان داد، در اثر مسمومیت با کلروپیریفوس (مقایسه گروه کنترل سالم با گروه کنترل-مسموم) بیان ژن SERCA2a به طور معناداری کاهش یافت ( $P = 0.001$ ). اقدام به تزریق (شم) اثر معناداری بر بیان این ژن نداشت ( $P = 0.983$ ). تمرین هوازی موجب افزایش بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مسموم شد ( $P = 0.001$ ). القای اوژنول اثر معناداری بر بیان این ژن در مقایسه با گروه کنترل مسموم نداشت ( $P = 0.057$ ). هم‌زمانی تمرین هوازی و اوژنول توانست بیان این ژن را در مقایسه با گروه کنترل مسموم به طور معناداری افزایش دهد ( $P = 0.001$ ). هم‌زمانی تمرین هوازی و اوژنول بیان این ژن را در مقایسه با گروه اوژنول به طور معناداری افزایش داد ( $P = 0.004$ ), اما تفاوت معناداری بین گروه تمرین هوازی و

اوژنول با گروه تمرین هوازی به تنهایی مشاهده نشد ( $P = 0.131$ ). همچنین تفاوت معناداری در بیان این ژن بین گروه تمرین هوازی با گروه اوژنول مشاهده نشد ( $P = 0.659$ ). (شکل شماره دو).



شکل ۲- مقایسه بیان ژن SERCA2a در گروه های مطالعه شده

\*: کاهش معنادار در مقایسه با گروه کنترل سالم، †: افزایش معنادار در مقایسه با گروه کنترل-مسموم، ‡: افزایش معنادار در مقایسه با گروه اوژنول. ( $P < 0.05$  به عنوان تغییر معنادار در نظر گرفته شد. داده ها بر اساس میانگین و انحراف استاندارد ارائه شده است.)

**Figure 2 - Expression of SERCA2a Gene in the Studied Groups. \*: A Significant Decrease Compared to the Healthy Control Group. †: A Significant Increase Compared to the Control-Poisoned Group. ‡: A Significant Increase Compared to the Eugenol Group. ( $P < 0.05$  was considered as a Significant Change. Data are Presented on the Basis of Mean and Standard Deviation.)**

## بحث و نتیجه گیری

کلروپیریفوس سمی است که سمیت آن بر همه بافتها اثرگذار است. درباره اثر سمیت کلروپیریفوس بر بافت پانکراس نشان داده شده است که کلروپیریفوس در مسیر سیگنالینگ هورمونی و متابولیسم دخالت می کند (۳۵). پژوهشگران در مطالعه ای که با هدف ارزیابی آسیب DNA و سمیت سلولی در رت های مسموم شده با حشره کشها انجام شد، نشان دادند که تجویز حاد و مزمن حشره کشها باعث آسیب در DNA در بافت های کبد، کلیه، مغز و طحال می شود (۱۲). درباره اثرات مرتبط با قلب و عروق کلروپیریفوس، نشان داده شده است که قرارگیری در معرض آن تأثیر نامطلوبی بر فشارخون و ضربان قلب استراحتی دارد (۱۳). نتایج یک مطالعه درباره موش هایی که در معرض این سم قرار

گرفتند، نشان داد کلروپیریفوس باعث تداخل در قسمت‌های مختلف الکتروکاردیوگراف<sup>۱</sup> طبیعی قلب (مانند افزایش قطعه ST)، افزایش فشارخون، افزایش آنزیم‌های نشانگر آسیب بافتی قلب (مانند کراتین کیناز<sup>۲</sup> و تروپونین<sup>۳</sup>)، کاهش آنتی‌اکسیدان‌های قلب (مانند سوپر اکسید دیسموتاز<sup>۴</sup>)، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش آپوپتوزیس بافت قلب می‌شود (۱۴). نتایج مطالعه دیگر نشان داد قرارگرفتن در معرض کلروپیریفوس باعث نارسایی قلبی در خرگوش می‌شود (۱۵). کلروپیریفوس باعث القای تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو وابسته به دوز می‌شود. بیشترین تأثیر نامطلوب مسمومیت با کلروپیریفوس در کبد است که به افزایش آنزیم‌های کبدی و اکسیداتیو اعم از آسپارات آمینو ترانسفراز<sup>۵</sup>، آلانین آمینوترانسفراز<sup>۶</sup>، آلکالین فسفاتاز<sup>۷</sup>، کاتالاز<sup>۸</sup> و سوپر اکسید دیسموتاز منجر می‌شود (۱۶). مطالعات نشان داده است که کلروپیریفوس با دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، بر بیان ژن‌های کاسپاز سه و نه، BAX و BCL2 تأثیر معناداری داشته است (۳۶). این ماده سمی دارای ترکیبات آلی فسفره است که این ترکیبات قادرند با ماکرومولکول‌ها و میکرومولکول‌های سلول واکنش دهند و صدمات سلولی و ژنتیکی ایجاد کنند. برخی از پژوهشگران افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و تولید رادیکال‌های آزاد حاصل از متابولیسم سموم آلی فسفره را به‌عنوان مکانیسم اصلی تخریب در سلول و بافت‌های مختلف بدن پیشنهاد می‌کنند (۱۶). تاکنون مطالعه‌ای اثر سم کلروپیریفوس بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 قلب را بررسی نکرده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد سمیت باعث کاهش بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در قلب رت‌ها می‌شود. کاهش در بیان این ژن‌ها با اختلال در عملکرد قلب مرتبط است؛ بنابراین قرارگرفتن در معرض سم کلروپیریفوس همسو با مطالعات پیشین اختلال در عملکرد قلبی را نشان می‌دهد.

مطالعاتی به بررسی اثر تمرین بر SERCA2a (۲۵-۲۷) و NKX2-5 (۲۹، ۲۸) در وضعیت بیماری قلبی پرداخته‌اند. به‌رحال اثر تمرین بر بیان ژن‌های ذکرشده در وضعیت مسمومیت با کلروپیریفوس تاکنون بررسی نشده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از تمرین باعث تعدیل این کاهش شد. کاهش ایجادشده به‌واسطه مسمومیت در SERCA2a و NKX2-5 بود. ویزلف<sup>۹</sup> و همکاران (۲۵) نشان دادند که تمرین هوازی باعث افزایش انقباض‌پذیری و حساسیت SERCA2a در رت‌های دارای

1. Electrocardiograph
2. Creatine Kinase
3. Troponin
4. Superoxide Dismutase
5. Aspartate transaminase
6. Alanine Aminotransferase
7. Alkaline Phosphatase
8. Catalase
9. Wisløff

نارسایی قلبی می‌شود. موریست<sup>۱</sup> و همکاران (۲۶) نشان دادند که فعالیت بدنی باعث افزایش بیان و فعالیت SERCA2a در موش‌های فاقد AMPK $\alpha^2$  می‌شود. نادری و همکاران (۲۸) نشان دادند که فعالیت بدنی باعث افزایش NKX2-5 در موش‌های با نارسایی قلبی شده است. مکانیزم‌های بسیاری در ارتباط با اثرات مثبت تمرین‌های هوازی وجود دارد. تمرین‌های هوازی باعث دفع سموم از طریق افزایش جریان خون و متعاقب آن افزایش دفع سم از بدن می‌شوند. همچنین این کار را با افزایش تحریرات روده برای دفع مدفوع (۳۸، ۳۷)، افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی (۴۰، ۳۹) و ترمیم DNA، افزایش رگ‌زایی و عصب‌زایی (۴۳-۴۱)، کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش تعداد و اندازه میتوکندری‌ها انجام می‌دهند (۴۴، ۳۸، ۳۷). فعالیت هوازی باعث کاهش استرس اکسیداتیو و عوامل مربوط به آسیب DNA در رت‌های مسموم‌شده با H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> می‌شود (۴۶، ۴۵). نشان داده شده است که انجام دادن این تمرین‌ها باعث کاهش آسیب‌های ناشی از سم کلروپیریفوس می‌شود (۲۱).

مطالعات متعدد تأثیرات ضدالتهابی، ضدسرطانی، ضدآپوپتوزی، آنتی‌اکسیدانی و فاکتورهای کاهش‌دهنده استرس اکسیداتیو در مکمل اوژنول نشان داده‌اند (۲۴-۲۲). همچنین مطالعاتی که نشان‌دهنده کاهش آثار زیان‌بار کلروپیریفوس با استفاده از مکمل اوژنول بوده‌اند، وجود دارد (۲۱، ۲۰). نتایج یک مطالعه نشان می‌دهد اوژنول از طریق اثر بر کانال کلسیمی T باعث سرکوب درد می‌شود (۳۰). اثر اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 تاکنون بررسی نشده است. مطالعه حاضر تغییر معناداری را متعاقب استفاده از اوژنول در بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 در قلب رت‌های مسموم نشان نداد. ممکن است بیان این ژن‌ها (با توجه به الگوی افزایشی که در گروه‌های مکمل وجود داشته است) با دوز بیشتر مکمل اوژنول تغییر کند. برای بررسی این موضوع به انجام دادن مطالعاتی در آینده نیاز است.

### پیام مقاله

مطالعه حاضر اثر مفید تمرین هوازی بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 را در قلب رت‌های مسموم‌شده با کلروپیریفوس نشان داد. با توجه به اینکه تفاوت معناداری بین گروه‌های تمرین-مکمل و تمرین‌دیده مشاهده نشد و با توجه به نبود تغییر معنادار ژن‌های ذکرشده در پاسخ به مکمل‌دهی اوژنول، به نظر می‌رسد تمرین عاملی مهم‌تر در مقایسه با اوژنول برای کاهش اثر سمیت مزمن بر قلب است؛ البته برای بیان قطعی این موضوع، انجام دادن مطالعات دیگری با دوزهای بیشتر اوژنول ضروری به نظر می‌رسد.

- 
1. Morissette
  2. AMP-Activated Protein Kinase (AMPK)

## تشکر و قدردانی

این پژوهش نتایج بخشی از رساله دکتری است. نویسندگان از تمام افرادی که در این پژوهش مشارکت کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

## منابع

8. Joko T, Dewanti NAY, Dangiran HL. Pesticide poisoning and the use of personal protective equipment (PPE) in Indonesian farmers. *Journal of Environmental and Public Health*. 2020;2020:5379619.
9. Sidhu GK, Singh S, Kumar V, Dhanjal DS, Datta S, Singh J. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2019;49(13):1135-87.
10. González-Alzaga B, Romero-Molina D, López-Flores I, Giménez-Asensio MJ, Hernández AF, Lacasaña M. Urinary levels of organophosphate pesticides and predictors of exposure in pre-school and school children living in agricultural and urban communities from south Spain. *Environmental Research*. 2020;186:109459.
11. Reddy BS, Skaria TG, Polepalli S, Vidyasagar S, Rao M, Kunhikatta V, Nair S, Thunga G. Factors associated with outcomes in organophosphate and carbamate poisoning: a retrospective study. *Toxicol Res*. 2020; 36(3):257-66.
12. Roth A, Zellinger I, Arad M, Atsmon J. Organophosphates and the Heart. *CHEST*. 1993;103(2):576-82.
13. Zhihao L, Jingyu N, Lan L, Michael S, Rui G, Xiyun B, et al. SERCA2a: a key protein in the Ca(2+) cycle of the heart failure. *Heart Fail Rev*. 2020;25(3):523-35.
14. Lipskaia L, Chemaly ER, Hadri L, Lompre A-M, Hajjar RJ. Sarcoplasmic reticulum Ca(2+) ATPase as a therapeutic target for heart failure. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2010;10(1):29-41.
15. George V, Colombo S, Targoff KL. An early requirement for nkx2.5 ensures the first and second heart field ventricular identity and cardiac function into adulthood. *Dev Biol*. 2015;400(1):10-22.
16. Ueyama T, Kasahara H, Ishiwata T, Nie Q, Izumo S. Myocardin expression is regulated by Nkx2.5, and its function is required for cardiomyogenesis. *Mol Cell Biol*. 2003;23(24):9222-32.
17. Anderson DJ, Kaplan DI, Bell KM, Koutsis K, Haynes JM, Mills RJ, et al. NKX2-5 regulates human cardiomyogenesis via a HEY2 dependent transcriptional network. *Nature Communications*. 2018; 9(1):1373.
18. Akazawa H, Komuro I. Cardiac transcription factor Csx/Nkx2-5: its role in cardiac development and diseases. *Pharmacol Ther*. 2005;107(2):252-68.
19. Ojha A, Yaduvanshi SK, Srivastava N. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011;99(2):148-56.
20. Smith EG, Gordon CJ. The effects of chlorpyrifos on blood pressure and temperature regulation in spontaneously hypertensive rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005;96(6):503-11.



21. Azza ME, El-Sayed ME, Nashwa MB, Afaf MA, Abdelaziz MH, Intisar IA. Cardiovascular toxic effects of chlorpyrifos: a possible protective role for pomegranate extracts. *J Clin Toxicol*. 2018;8(1):1000374.
22. Cetin N, Cetin E, Eraslan G, and Bilgili A. Chlorpyrifos induces cardiac dysfunction in rabbits. *Res Vet Sci*. 2007;82(3):405-8.
23. Tuzmen N, Candan N, Kaya E, Demiryas N. Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochem Funct*. 2008;26(1):119-24.
24. Shirvani H, Ghanbari-Niaki A, Rahmati-Ahmadabad S, Sobhani VJJoAEP. Effects of endurance training and herb supplementation on tissue nesfatin-1/nucleobindin-2 and ghrelin mRNA expression. *International Journal of Applied Exercise Phusiology*. 2017;6(1):72-85.
25. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani M-A, Broom DR, and Nasehi M. Effects of high-intensity interval training and flaxseed oil supplement on learning, memory and immobility: relationship with BDNF and TrkB genes. *Comparative Exercise Physiology*. 2021;17(3):273-83.
26. Zarezadehmehrizi A, Hong J, Lee J, Rajabi H, Gharakhanlu R, Naghdi N, et al. Exercise training ameliorates cognitive dysfunction in amyloid beta-injected rat model: possible mechanisms of Angiostatin/VEGF signaling. *Metab Brain Dis*. 2021.
27. Nikbin S, Derakhshideh A, Hozouri Tarighe M, Khojasteh Z, Kanozi F, Mousavi N, et al. Synergic effects of aerobic exercise and eugenol supplement on germ cell development and testicular tissue structure in chlorpyrifos-treated animal model. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020;27(14):17229-42.
28. Nikbin S, Tajik A, Allahyari P, Matin G, Hoseini Roote SS, Barati E, et al. Aerobic exercise and eugenol supplementation ameliorated liver injury induced by chlorpyrifos via modulation acetylcholinesterase activation and antioxidant defense. *Environmental Toxicology*. 2020;35(7):783-93.
29. Jaganathan SK, Mazumdar A, Mondhe D, Mandal M. Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines. *Cell Biol Int*. 2011;35(6):607-15.
30. Júnior PL, Câmara DA, Costa AS, Ruiz JL, Levy D, Azevedo RA, et al. Apoptotic effect of eugenol involves G2/M phase abrogation accompanied by mitochondrial damage and clastogenic effect on cancer cell in vitro. *Phytomedicine*. 2016;23(7):725-35.
31. Al-Sharif I, Remmal A, Aboussekhra A. Eugenol triggers apoptosis in breast cancer cells through E2F1/survivin down-regulation. *BMC Cancer*. 2013;13:600.
32. Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2002;54(1):162-74.
33. Morissette MP, Susser SE, Stammers AN, Moffatt TL, Wigle JT, Wigle TJ, et al. Exercise-induced increases in the expression and activity of cardiac sarcoplasmic reticulum calcium ATPase 2 is attenuated in AMPK $\alpha$ (2) kinase-dead mice. *Can J Physiol Pharmacol*. 2019;97(8):786-95.
34. Melo SFS, Barauna VG, Neves VJ, Fernandes T, Lara LdS, Mazzotti DR, et al. Exercise training restores the cardiac microRNA-1 and -214 levels regulating Ca<sup>2+</sup> handling after myocardial infarction. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2015;15:166-6.

35. Naderi N, Hemmatinavar M, Gaeini AA, Bahramian A, Ghardashi-Afousi A, Kordi MR, et al. High-intensity interval training increase GATA4, CITED4 and c-Kit and decreases C/EBP $\beta$  in rats after myocardial infarction. *Life Sciences*. 2019;221:319-26.
36. Zhou X, Xu M, Bryant JL, Ma J, Xu X. Exercise-induced myokine FNDC5/irisin functions in cardiovascular protection and intracerebral retrieval of synaptic plasticity. *Cell & Bioscience*. 2019;9(1):32.
37. Seo H, Li HY, Perez-Reyes E, Lee JH. Effects of eugenol on T-type Ca<sup>2+</sup> channel isoforms. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013;347(2):310-7.
38. Nikbin S, Derakhshideh A, Karimi Jafari S, Mirzahamedani A, Moslehi A, Ourzamani S, et al. Investigating the protective effect of aerobic exercise on oxidative stress and histological damages of testicular tissue associated with chlorpyrifos in male rats. *Andrologia*. 2020;52(2):e13468.
39. Singh P, Jayaramaiah RH, Agawane SB, Vannuruswamy G, Korwar AM, Anand A, et al. Potential dual role of eugenol in inhibiting advanced glycation end products in diabetes: proteomic and mechanistic insights. *Scientific Reports*. 2016; 6(1):18798.
40. Rahmati-Ahmadabad S, Azarbayjani MA, Farzanegi P, Moradi L. High-intensity interval training has a greater effect on reverse cholesterol transport elements compared with moderate-intensity continuous training in obese male rats. *Eur J Prev Cardiol*. 2019:2047487319887828.
41. Livak KJ Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>(-Delta Delta C(T))</sup> Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8.
42. Fang B, Li JW, Zhang M, Ren FZ, Pang GF. Chronic chlorpyrifos exposure elicits diet-specific effects on metabolism and the gut microbiome in rats. *Food Chem Toxicol*. 2018;111:144-52.
43. Zhang Y, Chang Y, Cao H, Xu W, Li Z, Tao L. Potential threat of Chlorpyrifos to human liver cells via the caspase-dependent mitochondrial pathways. *Food and Agricultural Immunology*. 2018;29(1):294-305.
44. Bersaoui M, Baldew SM, Cornelis N, Toelsie J, Cornelissen VA. The effect of exercise training on blood pressure in African and Asian populations: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Prev Cardiol*. 2020; 27(5):457-72.
45. Herring MP, Puetz TW, O'Connor PJ, Dishman RK. Effect of exercise training on depressive symptoms among patients with a chronic illness: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2012;172(2):101-11.
46. Frajtabar Z, Fathi R, Nasiri K, Ahmadi F. The effect of aerobic exercise and ethanol consumption on nrf2 gene expression in heart tissue and some antioxidant indices in male rat. *Sport Physiology*. 2021;13(49):65-88. (In Persian).
47. Nazem F, Hokkamian E, Ranjbar K, Nazari A. The effects of aerobic training on renal oxidative stress in myocardial infarction rats. *Sport Physiology*. 2017;9(34):79-94. (In Persian).
48. Tolouei Azar J, Tofighi A, Arabzadeh E. The effect of 6 weeks endurance training on FSTL-1, NDNF, VEGF and vascular changes in healthy male rats. *Sport Physiology*. 2019;11(41):169-86. (In Persian).

49. Yazdani N, Asad MR, Rahimi M. The effect of high intensity interval training and moderate-intensity continuous training on PGC1A and VEGF in heart muscle of male wistar rats. *Sport Physiology*. 2018;10(38):111-24. (In Persian).
50. Ghasemi P, Gharakhanlo R, Molanouri Shamsi M, Khodadadi D. The effect of 4 weeks exercise on mRNA of GDNF in rat's hippocampus with AD induced by A $\beta$ 1-42 injection. *Sport Physiology*. 2021;13(49):169-98. (In Persian).
51. Omidi F, Hashemvarzi SA. The effect of eight weeks aerobic training with royal jelly consumption on some cardiovascular biomarkers during chronic high blood pressure induced by L-NAME in male rats. *Sport Physiology*. 2018; 9(36):143-58. (In Persian).
52. Bahramvash Shams S, Farzanegi P, Azarbayjany MA. Effects of aerobic exercise and ethanolic extract of purslane seed on markers of oxidative stress and DNA damage in cardiac tissue of rats poisoned with hydrogen peroxide. *Medical Laboratory Journal*. 2021;15(3):40-6.
53. Pirooz M, Azarbayjani MA, Peeri M, Hosseini SA. The effect of aerobic training with vitamin d on extrinsic pathway of apoptosis and anti- apoptotic indices of heart tissue of rats exposed to oxidative damage induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Report of Health Care*. 2017;3(1):30-40.

#### استناد به مقاله

رنجبر علی بمانی، متین‌همایی حسن، رحمتی احمدآباد صالح. اثر تمرین هوازی و مکمل اوژنول بر بیان ژن‌های SERCA2a و NKX2-5 بافت قلب در رت‌های مسموم‌شده با کلروپیریفوس. فیزیولوژی ورزشی. پاییز ۱۴۰۰؛ ۱۳(۵۱): ۵۸-۱۳۹. شناسه دیجیتال: 10.22089/SPJ.2020.8033.1969

A. Ranjbar, Matinhomae, H. Rahmati-Ahmadabad, S. Effect of Aerobic Training and Eugenol on the Expression of SERCA2a and NKX2-5 Genes in Heart Tissue of Rats Poisoned with Chlorpyrifos. *Fall 2021; 13(51): 139-58.* (In Persian). Doi: 10.22089/SPJ.2020.8033.1969