


تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر سطوح پروتئین برخی از شاخص‌های آنژیوژنزی در بافت قلب موش‌های صحرایی همراه با سندروم ترک مورفین

کتایون صحرانشین^۱، عباس صارمی^{۱*}، محمد ملکی پویا^۳ 

۱- گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران
۲- گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۳- گروه تربیت بدنی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

یافته / دوره ۲۵ / شماره ۱ / بهار ۱۴۰۲ / مسلسل ۹۵

چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳

مقدمه: ورزش یک رویه درمانی در افراد معتاد است، هر چند سازوکارهای فیزیولوژیک آن به خوبی روشن نیست. هدف تحقیق حاضر بررسی اثر ۸ هفته تمرین استقامتی بر سطوح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی و اندوستاتین در بافت قلب موش‌های صحرایی نر همراه با سندروم ترک مورفین بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر استفاده شد که به صورت تصادفی در ۴ گروه ۸ تایی: کنترل سالم (HC)، تمرین استقامتی (ET)، کنترل مورفین (CM) و مورفین + تمرین استقامتی (M.ET) تقسیم شدند. دو گروه ترک مورفین توسط مورفین سولفات ۰/۴ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به مدت ۲۱ روز معتاد شدند. گروه‌های تمرین ۸ هفته دویدن روی نوارگردان را اجرا نمودند. در پایان مطالعه همه موش‌ها کشته و بافت قلب آنها خارج گردید. سطوح پروتئین شاخص‌های این مطالعه توسط کیت‌های الایزا اندازه‌گیری شد. داده‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس یک طرفه آنالیز شدند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه به طور معنی‌دار کاهش سطوح VEGF ($P < 0/001$) و افزایش ES ($P < 0/001$) را در گروه مورفین در مقایسه با گروه کنترل سالم نشان داد. همچنین افزایش سطوح VEGF ($P = 0/014$) و کاهش ES ($P = 0/026$) در گروه مورفین تمرین در مقایسه با گروه کنترل مورفین تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری: تمرین استقامتی ممکن است در جلوگیری از تغییرات منفی در پارامترهای آنژیوژنز و متابولیکی مربوط به مورفین مفید باشد که در باز توانی افراد معتاد باید در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: تمرین استقامتی، آنژیوژنز، بافت قلب، سندروم ترک مورفین.

*آدرس مکاتبه: اراک، دانشگاه اراک، دانشکده تربیت بدنی.

پست الکترونیک: a-saremi@araku.ac.ir

مقدمه

امروزه مصرف مواد مخدر یکی از بزرگترین معضلات بسیاری از کشورهای جهان است. به علت برخی باورهای غلط در جامعه، متأسفانه توصیه به مصرف مواد مخدر جهت کنترل و پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عوامل خطر آن زیاد است. اولین مشاهدات در مورد آثار بیولوژیک مورفین و دیگر آلکالوئیدهای تریاک از تأثیر قوی آنها بر سیستم قلبی عروقی حکایت دارد (۱).

پس از یک دوره وابستگی به مواد اوپیوئیدی و به دنبال آن قطع ناگهانی، بدن و سیستم عصبی مرکزی به عدم وجود ماده با مجموعه‌ای از نشانه‌ها واکنش نشان می‌دهد که در مجموع به عنوان سندروم ترک شناخته می‌شود. چونندگان علائم مختلفی را از ترک اعتیاد به نمایش می‌گذارند. از جمله نشانه‌های بروز علائم سندروم ترک، پریدن، به خود پیچیدن، اسهال و بیش‌فعالی است (۲). مواد افیونی دارای گیرنده‌های خاصی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و بسیاری از اندام‌های دیگر مانند بافت قلبی عروقی هستند و از طریق جفت شدن با پروتئین G عمل می‌کنند (۳).

مطالعات قبلی نشان داده است که بیماران وابسته به مورفین دارای اختلال در عملکرد قلب و به طور خاص سیستمولیک بطن چپ هستند (۴). مورفین اثرات پارادوکس گونه‌ای بر دستگاه قلبی عروقی از جمله آترواسکلروزیس، افزایش فشارخون و دیس لیپیدمی دارد. در افراد مبتلا به ادم حاد ریه نیز باید مورفین با احتیاط مصرف شود. البته میزان دوز مصرفی مورفین نیز در افراد مهم است (۱). همچنین مورفین به طور مستقیم و غیرمستقیم بر روی آنژیوتنژ اثر منفی دارد، با این حال، نتایج در این زمینه متناقض هستند. به نظر می‌رسد که اثر متفاوت مورفین بر روند آنژیوتنژ بستگی به دوز مصرفی و نحوه تجویز مورفین بستگی دارد (۵).

در پژوهشی نشان داده شد که مورفین به صورت مستقیم از طریق کاهش التهاب، آنژیوتنژ را مهار می‌کند (۶). از طرفی

شواهد بر این باورند که تمرینات ورزشی باعث تغییرات گوناگونی در عملکرد قلبی و عروقی می‌شود که از جمله آنها می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های هوازی و رشد فرآیند آنژیوتنژ در عضله قلبی و عضله اسکلتی اشاره کرد (۷). در میان عوامل متابولیکی اثرگذار بر این فرآیند، عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) به عنوان مهم‌ترین محرک و اندوستاتین به عنوان اصلی‌ترین عامل مهارکننده توسعه عروقی ناشی از فعالیت‌های ورزشی شناخته شده‌اند (۸). از طرفی تمرین هوازی باعث افزایش بیان mir ۱۲۶ می‌گردد که این خود می‌تواند با آنژیوتنژ قلبی به وسیله تنظیم مستقیم مسیر VEGF مرتبط باشد (۷).

سیفی (۱۳۹۹) در تحقیقی نشان داد که تمرین استقامتی با شدت متوسط از طریق افزایش فاکتورهای مرتبط با آنژیوتنژ در بافت قلب موشهای صحرایی و همچنین بهبود استرس اکسیداتیو، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی موثر است (۹). طلوعی آذر و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی نشان دادند که یک تعادل هموستاتیک بین عوامل رگ‌زایی (VEGF) و عوامل آنژیو استاتیک (ES) وجود دارد و در نتیجه هشت هفته تمرینات هوازی فیزیولوژی بدن به سمت عوامل رگ‌زایی سوق پیدا می‌کند (۱۰).

شواهد نشان می‌دهد داروهای صنعتی که برای ترک اعتیاد به مورفین به کار رفته می‌شوند، دارای عوارض جانبی ناگوار و نامطلوبی هستند (۱۱). از سویی، ورزش از طریق سیستم اعصاب مرکزی و تحریک در آزادسازی پپتیدهای شبه افیونی درون زاد به خصوص بت‌اندروفین‌ها نه تنها باعث کاهش اثر سوء مواد اعتیادآور می‌شود، بلکه به عنوان یک روش درمانی موثر و کارآمد در پیشگیری و احتمالاً درمان برخی از بیماری‌ها از جمله اعتیاد مطرح است (۱۲). غلامی و همکاران (۱۳۹۹) دریافته‌اند تمرین ورزشی منظم از نوع هوازی و مقاومتی همزمان با کاهش مصرف متادون، تأثیر مطلوبی بر عوامل التهابی و در نهایت سلامتی افراد معتاد دارد (۱۳).

شدند و حیوانات پس از انتقال به محیط آزمایشگاه و به منظور جلوگیری از استرس و تغییر شرایط فیزیولوژیکی به مدت دو هفته در شرایط جدید نگهداری و پس از وزن کشی، به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. سپس تحت پروتکل القا مورفین به چهار گروه شامل: ۱- گروه کنترل ۲- گروه تمرین استقامتی ۳- گروه سندروم ترک مورفین ۴- گروه سندروم ترک مورفین + تمرین استقامتی قرار گرفتند.

شیوه نگهداری و تغذیه

نمونه‌های این مطالعه در آزمایشگاه جوندگان در قفس‌های پلی کربنات شفاف، ساخت شرکت رازی در شرایط استاندارد، با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و میانگین درجه حرارت 22 ± 2 درجه سلسیوس و با رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار داشتند. وضعیت آلاینده‌های هوا با توجه به شاخص استاندارد آلاینده‌ها در وضعیت سالم قرارداداشت. همچنین برای ایجاد تهویه و جریان مناسب هوا از دو دستگاه تهویه هوا بدون صدا استفاده شد. تغذیه نمونه‌ها با استفاده از غذاهای توصیه‌شده توسط مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت از شرکت به‌پرور همراه با بطری‌های آب ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوانات صورت گرفت. ضمناً دسترسی به غذا و آب به صورت نامحدود بود. در تمام مراحل پژوهش، نمونه‌ها توسط یک نفر جایجا و دست کاری شدند.

پروتکل ایجاد سندروم ترک مورفین

در پژوهش حاضر برای القای سندروم ترک مورفین از روش خوراکی جهت ایجاد وابستگی به مورفین استفاده گردید. مورفین با غلظت‌های متوالی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، هرکدام برای ۴۸ ساعت، سپس ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای بقیه روزها تا روز ۲۱ به آب آشامیدنی حیوانات اضافه شد (۱۶). جهت اطمینان از وابستگی موش‌ها به مورفین در پایان روز ۲۱، با تزریق داخل صفاقی نالوکسان (شرکت سیگما آمریکا) به نمونه‌ها به میزان ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، علائم ترک

در مطالعه فدایی و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده شد که ورزش منظم شنا ممکن است روشی بالقوه برای بهبود شدت وابستگی مورفین در موش‌های صحرایی باشد (۱۴). در پژوهشی یادگاری و همکاران نشان دادند که تمرین هوازی به مدت ۸ هفته علاوه بر موش‌های سالم، اثرات ضد دردی در موش‌های وابسته به مورفین متعاقب سندروم ترک دارد. بنابراین می‌تواند برای درمان و یا کاهش درد مفید واقع شود (۱۵). همچنین ورزش می‌تواند با آزادسازی اپیوئیدهای درون‌زاد، باعث کاهش علائم وابستگی در حیوانات معتاد شود. اعتقاد بر این است که مکانیسم احتمالی آن تنظیم کاهشی حساسیت گیرنده‌های اپیوئیدی هست (۱۶).

تأثیر ورزش بر تقلیل سمیت ناشی از مورفین در دریافت‌های کبد و کلیه موش‌های صحرایی در پژوهش احمدی و همکاران (۱۳۹۱) نشان داده شد (۱۲). بنابراین با توجه به اثرات مورفین بر بافت قلب و سازوکارهای درگیر ناشی از مصرف تریاک و مضرات آن بر جنبه‌های مختلف سلامت و از طرفی توصیه متخصصان و پژوهشگران بر نقش موثر و مثبت تمرینات ورزشی در بیماری اعتیاد، این سوال مطرح است که آیا فعالیت ورزشی استقامتی بر شاخص‌های آنژیوژنزی بافت قلب در سندروم ترک مورفین تأثیر دارد؟ لذا مطالعه حاضر برای اولین بار با هدف بررسی تأثیر تمرین استقامتی بر سطوح فاکتورهای ES و VEGF در بافت قلب موش‌های صحرایی نر ویستار همراه با سندروم ترک مورفین انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از نظر هدف کاربردی و از لحاظ شیوه اجرا تجربی آزمایشگاهی می‌باشد که بصورت پس آزمون با گروه کنترل انجام گرفت. در این پژوهش از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۱۰-۸ هفته‌ای با میانگین وزنی 230 ± 30 گرم (با استفاده از ترازوی دیجیتالی آزمایشگاهی سارتریوس (مدل TE151502S) با دقت صد گرم ساخت آلمان) استفاده شد. موش‌ها از دانشگاه بقیه‌الله خریداری

۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین استقامتی انجام شد (۲۰).

تشریح ذخیره بافت‌ها و فاکتورهای بیوشیمیایی

تمامی نمونه‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با ترکیب درون صفاقی کتامین (1-75mg/kg) و زایلازین (5mg/kg-1) بی‌هوش و کشته و تشریح و بافت‌برداری انجام شد. بافت‌ها تحت شرایط استریل با نرمال سالین شسته و به سرعت در مخازن نیتروژن مایع به مدت ۲ دقیقه غوطه‌ور شدند و جهت انتقال به آزمایشگاه در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سطوح پروتئین شاخص‌های این پژوهش توسط کیت‌های الیزا مخصوص موش صحرایی مطابق دستورالعمل‌های شرکت تولیدکننده اندازه‌گیری و برای تجزیه و تحلیل بعدی نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری سطح پروتئین VEGF در بافت قلب از کیت الیزا شرکت (R&Systems) ساخت کشور آمریکا به شماره کاتالوگ RRV00 و حساسیت ۴/۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر و برای سنجش ES از کیت کازابو (CUSABIO) محصول کشور آمریکا با شماره کاتالوگ CSB-E0795r و میزان حساسیت کمتر از ۱/۵۶ نانوگرم بر میلی‌لیتر طبق دستورالعمل‌های شرکت تولیدکننده، استفاده شد. در تمامی آزمایشات مطالعه حاضر از اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته اخلاق حیوانات دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد (شماره مرجع: IR.IAU.B.REC.1401.028) پیروی شده است.

تجزیه تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات این پژوهش از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد و جهت اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیرو-ویلک و همچنین در مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی در سطح معناداری ۰/۰۵ استفاده گردید.

اعتیاد از جمله: پریدن، بالا رفتن، خاراندن، دندان قروچه، قرمزی دور چشم، اسهال، لرزش، افتادگی پلک، نعوظ و روی دو پا ایستادن برای مدت ۳۰ دقیقه مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷).

پروتکل تمرین استقامتی

۴۸ ساعت بعد از لقا سندروم ترک مورفین، آشناسازی با تردمیل به مدت یک هفته انجام شد. برای تحریک دویدن در مرحله آشناسازی موش‌های صحرایی روی نوارگردان از طریق شرطی سازی به صدا و تحریک، آموزش داده شد تا از نزدیک شدن، استراحت و برخورد با بخش شوک الکتریکی در بخش انتهای دستگاه خودداری کنند.

پس از آن تمرین استقامتی بر اساس اصل اضافه بار به مدت ۸ هفته و هر هفته سه جلسه، در ۳ روز غیرمتوالی با شدت متوسط انجام گرفت (۵۰ تا ۷۰ درصد Vo_{2max}). جهت تعیین سرعت حداکثر اکسیژن مصرفی از آزمون فزاینده استاندارد بیدفورد استفاده شد (۱۸) که به وسیله کارول گویز لیندرو جهت رت‌های نژاد ویستار استاندارد سازی گردید (۱۹). از هر موش صحرایی به صورت جداگانه آزمون گرفته شد. آزمون فزاینده موش‌های صحرایی بر روی تردمیل با سرعت ۵ متر/دقیقه شروع شد و هر سه دقیقه سرعت تردمیل ۵ متر/دقیقه افزایش یافت. سرعت نهایی موش صحرایی به عنوان سرعت بیشینه در زمان رسیدن به حداکثر اکسیژن مصرفی جهت محاسبه شدت‌های تمرینی استفاده گردید. از حیوانات هر دو هفته یک بار آزمون وامانده‌ساز گرفته شد و شدت تمرین با توجه به مقادیر جدید آزمون تعیین گردید.

تمرین شامل دویدن روی نوارگردان به مدت ۲۰ دقیقه و سرعت ۱۲ متر در دقیقه با شیب صفر درجه بود. در ادامه تمرین، هر هفته ۵ دقیقه به مدت تمرین اضافه گردید تا به ۵۰ دقیقه رسید. همچنین سرعت تردمیل در هر هفته ۱ متر در دقیقه اضافه شد تا در نهایت به ۱۸ متر در دقیقه افزایش یافت در طول دوره تمرین، گرم کردن و سرد کردن به مدت

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار مورد ارزیابی در گروه‌های مختلف و نتایج آنالیز واریانس یک طرفه متغیرهای این مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است.

جهت بررسی مفروضه توزیع نرمال نمرات متغیرهای مورد مطالعه، از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد و نتیجه این آزمون بیانگر نرمال بودن توزیع نمرات بود ($P > 0.05$) (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج آزمون شاپیرو-ویلک در مورد نحوه توزیع متغیرهای مورد مطالعه

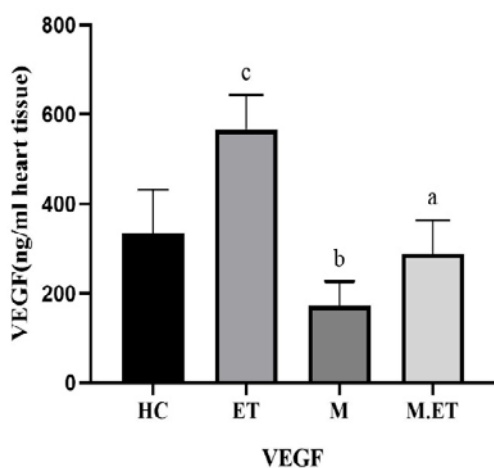
گروه‌های مورد مطالعه	P-مقدار (VEGF)	P-مقدار (ES)
کنترل سالم (HC)	۰/۴۲۴	۰/۲۸۶
تمرین استقامتی (ET)	۰/۴۳۰	۰/۱۵۸
مورفین (M)	۰/۹۹۱	۰/۵۴۹
مورفین+تمرین استقامتی (M.ET)	۰/۷۹۸	۰/۴۷۷

HC=کنترل سالم، ET=تمرین استقامتی، M=مورفین، M.ET=مورفین + تمرین استقامتی

جدول ۲. میانگین، انحراف معیار و نتایج آنالیز واریانس یک طرفه متغیرهای آنژیوژنی بافت قلب در گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	گروه‌های مورد مطالعه				
	HC	ET	M	M.ET	امراه P-مقدار
(ng/ml) VEGF	۳۳۵/۲۵±۹۵/۷۵	۵۶۶/۴۹±۷۵/۷۹	۱۷۲/۰۹±۵۴/۶۶	۲۹۸/۲۰±۷۶/۶۷	۰/۰۱۳
(ng/ml) ES	۶/۲۳ ± ۱/۹۴	۱/۸۴±۱/۰۹	۱۱/۵۵±۳/۷۷	۷/۷۹±۲/۳۷	۰/۰۱۹

HC=کنترل سالم، ET=تمرین استقامتی، M=مورفین، M.ET=مورفین + تمرین استقامتی



نمودار ۱. مقایسه سطح پروتئین VEGF در گروه‌های مورد مطالعه.

میله خطا نشان دهنده انحراف معیار است.

a. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه M

b. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه‌های HC و ET

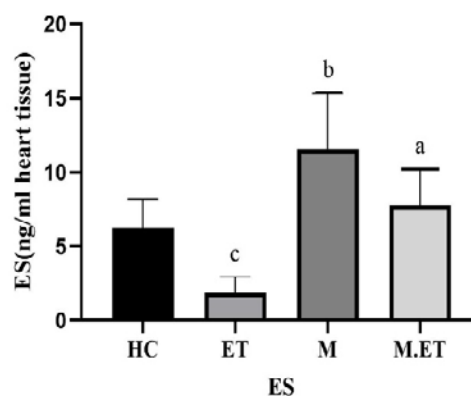
c. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) با سایر گروه‌های مورد مطالعه

نتایج و مقایسه بین گروهی متغیر VEGF در نمودار ۱ آمده است. نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که بین گروه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($F=36/431$ و $P=0/013$). سپس بعد از انجام آزمون تعقیبی توکی مشاهده شد که تمرین استقامتی منجر به افزایش معنی‌دار VEGF در گروه مورفین تمرین نسبت به گروه مورفین می‌شود ($P=0/014$). همچنین کاهش VEGF در گروه مورفین در مقایسه با گروه کنترل سالم ($P < 0/001$) و تمرین استقامتی ($P < 0/001$) معنی‌دار است. از طرفی VEGF در گروه مورفین تمرین نسبت به گروه کنترل سالم اختلاف معنی‌داری نداشت ($P=0/772$). بعلاوه تمرین منجر به افزایش معنی‌دار VEGF در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P < 0/001$).

بافت قلب موش‌های صحرایی با سندروم ترک مورفین می‌شود. نکته قابل ذکر در این مطالعه کاهش VEGF و متعاقب افزایش ES در گروه مورفین تمرین در مقایسه با گروه کنترل بود.

پیشینه تحقیقاتی زیادی در مورد تأثیر تمرینات استقامتی بر آنژیوژنز وجود دارد؛ اما بر اساس بررسی‌های انجام‌شده ما، این اولین مطالعه در مورد تأثیر تمرین استقامتی بر آنژیوژنز در بافت قلب موش‌های صحرایی همراه با سندروم ترک مورفین است. نتایج تحقیقات حاکی از آن است که فعالیت بدنی منجر به تنوعی از تغییرات در عملکرد قلبی-عروقی می‌شود که از جمله آنها می‌توان به کاهش ضربان قلب، کاهش فشارخون، افزایش حداکثر برداشت اکسیژن توسط عضله قلب و افزایش تعداد و چگالی عروقی در سطح عضله قلبی و عضله اسکلتی، اشاره کرد (۲۱). همچنین شواهد نشان می‌دهد که فعالیت‌های ورزشی بر فاکتورهای رشدی تأثیر دارند، به طوری که افزایش سطح پروتئین VEGF در هر دو مدل انسانی و حیوانی در پی تمرینات ورزشی گزارش شده است. اما شدت، مدت، تکرار و نوع ورزش می‌تواند بر پاسخ عوامل رشدی تأثیر بگذارد؛ بنابراین با توجه به پژوهش‌های انجام‌شده می‌توان گفت که VEGF عامل کلیدی مهمی در ایجاد سازگاری‌های مختلف آنژیوژنزی پس از انجام تمرینات استقامتی است (۲۲). از طرفی تمرینات ورزشی، منجر به واکنش‌های التهابی، با فعال‌سازی هیستامین یا سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین آلفا، فاکتور نکروز تومور بتا، گاما اینترفرون و رادیکال‌های آزاد مانند نیتریک اکساید می‌شوند. همچنین فاکتور القاء کننده هیپوکسی به تولید پروتئینازها، هیدروژن پراکسیداز و فسفولیپید منجر می‌شود. این عوامل باهدف شکستن بافت نکروتیک باعث تحریک فرآیند آنژیوژنز می‌گردد. در مقابل فاکتورهای ایجادکننده رگ، عواملی وجود دارند که مانع از فرآیند آنژیوژنز می‌شوند. این عوامل را آنژیو استاتیک می‌نامند که مهم‌ترین آنها اندوستاتین

همچنین در مقایسه بین گروهی متغیر ES که در نمودار ۲ آمده است با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ($F=20/806$ و $P=0/019$) بوده که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها وجود دارد. بعد از انجام آزمون تعقیبی توکی نتایج نشان داد تمرین استقامتی منجر به کاهش معنی‌دار ES در گروه مورفین تمرین نسبت به گروه مورفین می‌شود ($P=0/026$). همچنین افزایش ES در گروه مورفین در مقایسه با گروه کنترل سالم ($P<0/001$) و تمرین استقامتی ($P<0/001$) معنی‌دار است. از طرفی ES در گروه مورفین تمرین نسبت به گروه کنترل سالم اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P=0/604$). ضمناً تمرین منجر به کاهش معنی‌دار ES در گروه تمرین استقامتی نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P=0/008$).



نمودار ۲. مقایسه سطح پروتئین ES در گروه‌های مورد مطالعه. میله خطا نشان دهنده انحراف معیار است.

- a. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) با گروه M
 b. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) با گروه‌های HC و ET
 c. نشانه اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) با سایر گروه‌های مورد مطالعه

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که سطوح پروتئین VEGF در گروه‌های مورفین تمرین و تمرین استقامتی افزایش معنی‌داری داشته است. در مقابل، سطوح پروتئین ES در این گروه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد؛ بنابراین یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ۸ هفته ورزش استقامتی باعث افزایش شاخص‌های آنژیوژنزی در

است (۲۳). پروتئین اندوستاتین در مسیر آبشاری گیرنده VEGF، فاکتور رشد فیبروبلاستی و گیرنده‌ها مداخله می‌کند که در نهایت با اتصال به گیرنده‌های $\alpha 5\beta 1$ و متالوپروتئیناز-۱ مانع تخریب غشای پایه شده و آنژیوژنز را مهار می‌نماید (۲۴). این طور به نظر می‌رسد که افزایش سطح VEGF ناشی از تمرینات استقامتی، نقش مهمی در توسعه پدیده آنژیوژنز و افزایش سلول‌های بافت قلبی داشته باشد که این خود یک عامل برتری در افراد تمرین کرده نسبت به تمرین نکرده است و این هم‌سو با یافته‌های مطالعه حاضر است. علاوه بر این در مطالعه سوری و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده شد که شش هفته تمرین استقامتی منجر به افزایش سطوح پروتئین VEGF در بافت قلب موش‌های نر می‌شود (۷). همچنین یافته‌های ما نشان داد که بعد از هشت هفته تمرین استقامتی سطوح اندوستاتین به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در مطالعه سوهر و همکاران ۶ ماه فعالیت استقامتی، موجب کاهش ES در مردان دهنده شد (۲۵)؛ اما سیدا و همکاران نشان دادند که تمرینات ورزشی میزان اندوستاتین را در مردان غیرفعال تغییر نمی‌دهد (۲۶). اکثر تحقیقات کاهش مقادیر اندوستاتین را پس از تمرینات ورزشی گزارش کردند که هم‌سو با تحقیقات حاضر است. مکانیسم کاهش اندوستاتین در پاسخ به تمرینات ورزشی هنوز واضح نیست؛ اما این احتمال می‌رود که تمرینات ورزشی میزان دگرگونی را در ماتریکس برون سلولی کاهش دهد و این امر ممکن است مانع از جدا شدن اندوستاتین از کلاژن گردد (۲۳). نتایج این مطالعات نشان‌دهنده نقش مفید تمرین ورزشی از طریق افزایش VEGF و متعاقباً کاهش ES در بافت‌های مختلف بدن است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌سو هست. بر اساس یافته‌های مطالعات انجام‌شده، احتمالاً تمرینات ورزشی به‌ویژه تمرینات استقامتی می‌توانند از طریق Akt و افزایش سطح eNOS میزان VEGF را در عضله قلبی افزایش دهد (۷). در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که مورفین و تریاک با افزایش کلسترول خون، مهار

عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) و در نتیجه اسپاسم عروقی و ایسکمی میوکارد همراه است (۱). از طرفی، در پژوهشی مورفین با دوز بالا باعث اختلال در رگ‌زایی و افزایش استرس اکسیداتیو می‌شود و بر اثر مضر بالقوه مورفین با دوز بالا بر رگ‌زایی تأکید می‌کند (۲۷). نتایج تحقیقات قبلی بیانگر این موضوع است که تریاک به‌طور بالقوه به‌عنوان منبع رادیکال‌های آزاد شناخته شده است. علاوه بر این تریاک و متابولیت آن مانند مورفین با تولید مستقیم گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از طریق تحریک سلول‌های التهابی، موجب استرس اکسیداتیو می‌شود. بعلاوه، مورفین می‌تواند به‌طور مستقیم فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدانی را در بدن کاهش دهد. به نظر می‌رسد که تشکیل ROS یکی از مکانیسم‌های اصلی در پس سوءمصرف مورفین است که با کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، گلووتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مرتبط است. مورفین همچنین باعث آزاد شدن نشانگرهای پیش التهابی (مانند $TNF-\alpha$) می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث آسیب بافتی شود (۲۸). محققان در تحقیقات متعدد ریسک مواد مخدر بر روی ایسکمی قلبی را مورد مطالعه قرار داده‌اند. مارتینیک و همکاران در مطالعه خود به رابطه اعتیاد و افزایش ایسکمی قلبی اشاره کردند (۲۹). در مطالعه زینی وند (۱۳۹۴) اثرات مثبت ترک اعتیاد به مورفین در آنژیوژنز قلبی و غلظت سرمی نیتریک اکساید در موش‌های معتاد به پرفشاری خون را مشاهده کردند (۳۰). یافته‌های این تحقیق با مطالعه ما هم‌خوانی دارد که مداخله مورفین موجب کاهش رگ‌زایی در بافت قلب می‌شود. احمدی و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی مشاهده کردند که ورزش هوازی شدت علائم سندروم محرومیت از مورفین را کاهش می‌دهد (۳۱). همچنین در مطالعه حاضر تمرین استقامتی منجر به افزایش سطح پروتئین VEGF و کاهش اندوستاتین در گروه مورفین تمرین شد، اما این تفاوت در مقایسه با گروه کنترل سالم معنی‌دار نشد. با توجه به مطالعات پیشین به نظر می‌رسد که مداخله

را معرفی نماید. همچنین انجام تحقیقات بیشتر به‌ویژه روی نمونه‌های انسانی و تمرینات با شدت و مدت متفاوت در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود.

بر اساس نتایج این پژوهش چنین به نظر می‌رسد که مداخله مورفین موجب کاهش VEGF و افزایش اندوستاتین در بافت قلب می‌شود. این در حالی است که ۸ هفته تمرین استقامتی با افزایش سطوح پروتئین VEGF و متعاقباً کاهش ES در بافت قلب موش‌های مبتلا به سندروم ترک مورفین همراه است. تمرینات استقامتی احتمالاً با تأثیر مثبت بر فرآیندهای تنظیمی آنژیوژنیک موجب بهبود میزان تراکم مویرگی و کاهش استرس اکسیداتیو منجر به توسعه فرآیند آنژیوژنز می‌شود. در مجموع، مداخله تمرین استقامتی به‌عنوان یک درمان غیر دارویی کم‌هزینه، می‌تواند برای تحریک و افزایش رشد رگ‌های خونی جدید جهت خون‌رسانی به بافت قلب در افراد معتاد مدنظر قرار گیرد. این یافته‌ها موجب پیدایش راهبرد جدید در راستای توسعه روش‌های درمانی مفید در بازتوانی معتادان شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از نتایج رساله‌ی دکتری فیزیولوژی ورزشی، با کد اخلاق IR.IAU.B.REC.1401.028 بوده که با تائید معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد اجرا شده است. همچنین نویسندگان مراتب قدردانی و تشکر خود را از مسئولین دانشگاه و تمامی اساتید و مسئولین محترم آزمایشگاه سارا تبریز و افرادی که در زمینه انجام این پژوهش مساعدت نمودند، اعلام می‌داریم.

مورفین موجب آسیب به بافت قلب در مقایسه با گروه کنترل سالم شود. نتایج مطالعه صالحی و همکاران (۲۰۱۸) بیانگر این موضوع بود که تمرینات مختلف ورزشی به‌طور قابل‌توجهی استرس اکسیداتیو را در موش‌های صحرایی معتاد کاهش می‌دهد، درحالی‌که اعتیاد به مورفین به‌طور قابل‌توجهی استرس اکسیداتیو در روده را افزایش داد (۲۸) که با مطالعه ما همسو است. زیرا پژوهش ما نشان داد که تمرین استقامتی موجب افزایش شاخص‌های آنژیوژنزی بافت قلب در ترک مورفین و متعاقباً کاهش اندوستاتین می‌شود که احتمالاً به تأثیر تمرینات استقامتی در کاهش استرس اکسیداتیو و تغییرات فیزیولوژیکی و ساختاری ناشی از VEGF اشاره دارد. همچنین یافته‌های علمی حاکی از آن است که ورزش و فعالیت بدنی، نه‌تنها اثرات سوء مواد اعتیادآور را کاهش می‌دهد، بلکه به‌عنوان یک روش درمانی مناسب و کارآمد در پیشگیری و احتمالاً درمان اعتیاد مطرح است (۱۵). ازجمله می‌توان به پژوهش جلالوند و همکاران (۱۳۹۲) اشاره کرد. آنها نشان دادند که ورزش هوازی شنا به مدت ۸ هفته به‌صورت حاد در کاهش بروز تعداد علائم سندروم ترک در موش‌های صحرایی معتاد وابسته به مورفین مؤثر است. بنابراین ورزش به‌عنوان یک عامل کمک‌کننده بالارزش در درمان اعتیاد و بهبود وضعیت افراد معتاد در سندروم ترک مطرح است (۱۶).

ازجمله محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم اندازه‌گیری سایر متغیرهای درگیر در روند آنژیوژنز و میزان پروتئین شاخص مذکور است. شاید اندازه‌گیری دیگر عوامل آنژیوژنزی درک بهتری از مسیرهای سیگنالینگ آنژیوژنز در بافت قلب

References

1. Karimi A, Cheraghi M, Sedighi M. Morphine and Opium Addiction and Their Effects on the Heart and Related Heart Diseases. *Yafteh*. 2021;23(2).
2. Su L-Y, Liu Q, Jiao L, Yao Y-G. Molecular mechanism of neuroprotective effect of melatonin on morphine addiction and analgesic tolerance: An update. *Molecular neurobiology*. 2021;58(9):4628-38.
3. Sobanski P, Krajnik M, Shaqura M, Bloch-Boguslawska E, Schäfer M, Mousa SA. The presence of mu-, delta-, and kappa-opioid receptors in human heart tissue. *Heart and vessels*. 2014;29:855-63.
4. Kleinz MJ, Baxter GF. Apelin reduces myocardial reperfusion injury independently of PI3K/Akt and P70S6 kinase. *Regulatory peptides*. 2008;146(1-3):271-7.
5. Khazaei M. Morphine and Angiogenesis in Hypertensive Animals. 2012.
6. Singleton P, Mirzapioiazova T, Hasina R, Salgia R, Moss J. Increased μ -opioid receptor expression in metastatic lung cancer. *British journal of anaesthesia*. 2014;113(suppl_1):i103-i8.
7. Soori R, Choobine S. Effect of endurance training on VEGF protein level in tissue of cardiac muscle in STZ-induced diabetic Wistar rats. *Yafteh*. 2018;20(3):110-24.
8. Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis*. 2005;8(3):263-71.
9. Seyfi Askshahr F KM. The effect of moderate intensity endurance training on the expression of angiogenesis factors and oxidative stress of the heart in rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2020;20(3):361-71.
10. Tolouei Azar J, Ravasi A, Soori R, Akbarnejad A, Hemati Nafar M. The effect of 8 weeks aerobic training on angiogenesis (VEGF) and angiostatic (ES) factors in sedentary women. *Studies in Medical Sciences*. 2017;27(12):1032-40.
11. Bakhtiyari E, Yousofvand N, Hatami K. The Effects of Ethanolic Extract of Dill (*Anethum graveolens*) on Morphine Withdrawal Symptoms in Addicted Male NMRI Rats. *Armaghane Danesh*. 2016;21(4):335-47.
12. Ahmadizadeh M, Sarkaki A, Farboud Y, Mohammadian B, Rahim F. Effect of exercise on morphine-induced toxicity in rat liver and kidney. *Jundishapur scientific medical journal*. 2012;11(3):325-33.
13. Gholami M, Abed NH. The effect of aerobic and resistance training with different dose of Methadone on fibrinogen and lipid profile in addicted men. 2020.
14. Fadaei A, Gorji HM, Hosseini SM. Swimming reduces the severity of physical and psychological dependence and voluntary morphine consumption in morphine dependent rats. *European journal of pharmacology*. 2015;747:88-95.
15. Yadegari F, Heidarianpour A, Nazem F. Effects of regular swimming exercise on the pain threshold following withdrawal syndrome in morphine-dependent rats. *Physiology and Pharmacology*. 2011;15(2):288-94.

16. Jalalvand A, Heydarian Pour A and Almasi J. Acute effect of swimming exercise on withdrawal syndrome sign in addicted mice. *Journal of Medical Sciences and Sanitary-Therapeutic Services of Sabzevar*. 2013;69(3):373-9.
17. Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M, Kazemnejad A. Dependence on morphine leads to a prominent sharing among the different mechanisms of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampus. *Brain research*. 2003;963(1-2):93-100.
18. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of Applied Physiology*. 1979;47(6):1278-83.
19. Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, MANHAS-DE-CASTRO R, De-Castro CB, Curi R, et al. A program of moderate physical training for wistar rats based on maximal oxygen consumption. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2007;21(3):751-6.
20. Yousefi M-R, TaheriChadorneshin H. The effect of moderate endurance training on gastrocnemius retinol-binding protein 4 and insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic rats. *Interventional Medicine and Applied Science*. 2018;10(1):59-63.
21. Tang K, Xia FC, Wagner PD, Breen EC. Exercise-induced VEGF transcriptional activation in brain, lung and skeletal muscle. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2010;170(1):16-22.
22. Tang K, Breen EC, Gerber H-P, Ferrara NM, Wagner PD. Capillary regression in vascular endothelial growth factor-deficient skeletal muscle. *Physiological genomics*. 2004;18(1):63-9.
23. MalekiPoya M, Abedi B, Palizvan MR, Saremi A. Effect of an incremental aerobic training program on improving angiogenesis and balance in vascular endothelial growth factor and endostatinic in male rats with myocardial infarction. *KAUMS Journal (FEYZ)*. 2019;23(4):407-14.
24. Prior BM, Yang H, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *Journal of applied physiology*. 2004;97(3):1119-28.
25. Suhr F, Rosenwick C, Vassiliadis A, Bloch W, Brixius K. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short-and long-track elite runners. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2010;20(3):441-8.
26. Seida A, Wada J, Kunitomi M, Tsuchiyama Y, Miyatake N, Fujii M, et al. Serum bFGF levels are reduced in Japanese overweight men and restored by a 6-month exercise education. *International journal of obesity*. 2003;27(11):1325-31.
27. Lam C-F, Chang P-J, Huang Y-S, Sung Y-H, Huang C-C, Lin M-W, et al. Prolonged use of high-dose morphine impairs angiogenesis and mobilization of

- endothelial progenitor cells in mice. Anesthesia & Analgesia. 2008;107(2):686-92.
28. Salehi I, Zarrinkalam E, Mirzaei F, Oshaghi EA, Ranjbar K, Asl SS. Effects of resistance, endurance, and concurrent exercise on oxidative stress markers and the histological changes of intestine after morphine withdrawal in rats. Avicenna Journal of Medical Biochemistry. 2018;6(2):44-9.
29. Martiniuk AL, Lee C, Lam T, Huxley R, Suh I, Jamrozik K, et al. The fraction of ischaemic heart disease and stroke attributable to smoking in the WHO Western Pacific and South-East Asian regions. Tobacco Control. 2006;15(3):181-8.
30. Zeinivand M, Pourshanazari A, Hassanshahi G. Coronary angiogenesis during morphine and nicotine withdrawal in two-kidney one clip hypertensive (2K1C) rats. Bratislava Medical Journal. 2015;116(9):554-9.
31. Ahmadi S, Radahmadi M, Alaei H, Ramshini E. Effect of aerobic exercise on morphine self-administration and pain modulation in rats. Advanced biomedical research. 2018;7.

Effect of Eight Weeks of Endurance Training on the Protein Levels of Some Angiogenesis Indicators in the Cardiac Tissue of Rats with Morphine Withdrawal Syndrome

Sahraneshin K¹, Saremi A^{1,2*}, Malekipoouya M³

1. Department of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

2. Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran, a-saremi@araku.ac.ir

3. Department of Physical Education, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

Received: 2023/3/4 Accepted: 2023/6/20

Abstract

Background: Exercise is a therapeutic procedure for addicts; however, its physiological mechanisms are not well understood. This study aimed to investigate the effect of eight weeks of endurance training on the levels of vascular endothelial growth factor and endostatin in the heart tissue of male rats with morphine withdrawal syndrome.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 32 male rats randomly divided into four groups of eight: healthy control (HC), endurance training (ET), morphine control (CM), and morphine+endurance training (M.ET). Two morphine withdrawal groups were addicted to 0.4 mg/ml morphine sulfate for 21 days. The exercise groups performed eight weeks of treadmill running. At the end of the study, all rats were killed, and their heart tissue was removed. Protein levels of the indicators in this study were measured by ELISA kits. The data were analyzed by Tukey's one-way ANOVA test.

Results: The results of this study showed a significant decrease in VEGF levels ($P < 0.001$) and a significant increase in ES ($P < 0.001$) in the MC, compared to the HC. In addition, the increase in VEGF levels ($P = 0.014$) and the decrease in ES ($P = 0.026$) in the M.ET showed a significant difference, compared to the MC.

Conclusion: Endurance training may be useful in preventing negative changes in angiogenesis and metabolic parameters related to morphine, which should be considered in the rehabilitation of addicts.

Keywords: Angiogenesis, Cardiac tissue, Endurance exercise, Morphine withdrawal syndrome.

***Citation:** Sahraneshin K, Saremi A, Malekipoouya M. Effect of Eight Weeks of Endurance Training on the Protein Levels of Some Angiogenesis Indicators in the Cardiac Tissue of Rats with Morphine Withdrawal Syndrome. *Yafte*. 2023; 25(1):47-58.