

## تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی بر سطوح پروتئین‌های آپوپتوزی سیتوکروم C، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۳ در بافت کلیه موش‌های صحرایی نر دیابتی همراه با سندرم ترک مرفین

بهزادآزادبخت<sup>۱</sup>، عباس صارمی<sup>۱\*</sup>، مجتبی خانسوزا<sup>۱</sup>

### چکیده

**مقدمه:** اثرات ورزش بر بافت کلیه در سندرم ترک، مبهم و نامشخص است. در این مطالعه، اثر ۸ هفته تمرین استقامتی بر سطوح پروتئین سیتوکروم C، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۳ در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی همراه با سندرم ترک مورد بررسی قرار گرفت.

**روش‌ها:** از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در این مطالعه تجربی استفاده شد. بعد از القاء دیابت موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. شامل: کنترل دیابت (D)، دیابت مرفین (D.M)، دیابت+تمرین استقامتی (D.ET)، دیابت مرفین+تمرین استقامتی (D.M.ET). سپس در گروه‌های معتاد، جهت وابستگی به مرفین از روش خوراکی استفاده شد. گروه‌های تمرین ۸ هفته پروتکل تمرین استقامتی را اجرا نمودند. در پایان مطالعه هم G موش‌های صحرایی بیهوش، تشریح و کلیه آنها جدا و در دمای ۷۰- درجه جهت بررسی‌های بعدی نگهداری شدند. سطوح پروتئین شاخص‌های این مطالعه توسط کیت‌های الیزا اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون آنوای یک راهه و تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری  $P \leq 0.05$  تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** نتایج این مطالعه کاهش معنی‌دار سطوح پروتئین کاسپاز ۳ در گروه‌های (D.ET, P=0.000), (D.M.ET, P=0.000) و سیتوکروم C در گروه‌های (D.ET, P=0.000), (D.M.ET, P=0.000) در مقایسه با گروه D را نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). همچنین سطوح پروتئین کاسپاز ۸ نیز در گروه (D.M.ET, P=0.015) در مقایسه با گروه D و گروه (D.M.ET, P=0.038) در مقایسه با گروه D.M کاهش معنی‌داری را نشان داد ( $P \leq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تمرین استقامتی احتمالاً می‌تواند بر میزان کاهش آپوپتوز بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی سندرم ترک اثر مثبت و محافظتی داشته باشد.

**واژگان کلیدی:** تمرین استقامتی، آپوپتوز، بافت کلیه، دیابت، سندرم ترک مرفین

۱- گروه تربیت‌بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران

۲- گروه فیزیولوژی و آسیب شناسی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

\* **نشانی:** اراک، میدان بسیج، بلوار کربلا، دانشگاه اراک، کد پستی ۳۸۴۸۱۷۷۰۸۴، تلفن: ۰۹۱۶۳۶۲۲۶۶۸، پست الکترونیک: a-saremi@araku.ac.ir

## مقدمه

دیابت شیرین شایع‌ترین بیماری متابولیکی است. تخمین زده می‌شود شیوع آن در سراسر جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۲۱٪ برسد. در ایران شیوع دیابت حدود ۱۴ درصد پیش‌بینی شده است. دیابت با هایپرگلیسمی ناشی از عدم دسترسی به انسولین و یا کاهش حساسیت سلول‌ها به آن و در نتیجه ایجاد آسیب پیشرونده به ارگان‌هایی مانند: چشم، کلیه، عروق خونی، قلب و مغز همراه است [۱]. افزایش قندخون در طولانی مدت باعث افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و تولید بیش از حد ROS باعث آسیب بافتی می‌شود [۲]. کلیه‌ها نقش مهمی در فیلتراسیون مواد زائد خون ایفا می‌کنند و در شرایط قند خون بالا، آسیب‌پذیرتر از دیگر بافت‌ها هستند [۳]. این احتمال وجود دارد که در بیماران ترکیبی از افزایش تشکیل ROS و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به آپوپتوز سلول‌های کلیوی شود [۴]. آپوپتوز شکلی از مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده است که این فرآیند برای بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند حفظ هموستاز بافت و حذف سلول‌های خطرناک و آسیب دیده لازم است [۵]. هر گونه اختلال در این مسیر موجب بیماری خواهد شد. کاهش فعالیت آپوپتوز ممکن است سبب رشد سلول‌های غیر عادی مانند سلول‌های سرطانی شود و افزایش غیرطبیعی فعالیت آن سبب از بین رفتن سلول‌های سالم و طبیعی خواهد شد [۶]. فرآیند آپوپتوز توسط پروتئین‌های خاصی به اصطلاح پروتئازها یا کاسپازهای آسپاراتات خاص وابسته به سیستمین، تنظیم می‌شود. کاسپازها در القای آپوپتوز و همچنین در مرحله اجرای آپوپتوز نقش دارند. آپوپتوز وابسته به کاسپاز می‌تواند توسط مسیر بیرونی یا درونی ایجاد شود [۴]. دو مسیر وابسته به کاسپاز برای تنظیم آپوپتوز مشخص شده است که شامل مسیر میتوکندریایی (داخلی) و مسیر گیرنده مرگ (خارجی) است. میتوکندری با بازکردن منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی و رهایی پروتئین‌های آپوپتوزینیک (به‌طور عمده سیتوکروم C) در فرایند آپوپتوز شرکت دارد. آزادسازی سیتوکروم C فعال شدن کاسپاز ۹ را تسهیل می‌کند. اعضای خانواده Bcl-2 (B-cell lymphoma2) مانند خود Bcl-2 (پروتئین ضدآپوپتوتیک) و پروتئین پروآپوپتوتیک (Bax) به‌طور قوی در تنظیم منافذ انتقال نفوذپذیری میتوکندریایی نقش دارند. مسیر گیرنده مرگ (خارجی) که با اتصال به لیگاندهای خارج سلولی (به‌عنوان مثال، لیگاند Fas متعلق به خانواده فاکتور نکروز

دهنده تومور آلفا) به گیرنده‌های سطحی سلول‌شان آغاز می‌شود، منجر به فعال‌سازی کاسپاز ۸ می‌شود. هر دو مسیر خارجی و داخلی، با فعال‌سازی کاسپازهای فاکتور پایین دست (از جمله کاسپاز ۳) نقش مهمی در آپوپتوز ایفا می‌نمایند [۵]. از سوی دیگر، برخی مردم عقیده دارند مصرف تریاک (با ماده مؤثر مرفین) می‌تواند در کاهش گلوکز خون در بیماران دیابت قندی کمک نماید. علاوه بر این نقش مرفین به‌عنوان یکی از عوامل تأثیرگذار بر سطح گلوکز خون نیز مطرح است، با این حال گزارش‌های متناقضی دال بر نقش مرفین در تغییرات گلوکز خون وجود دارد [۷]. مرفین یکی از موادی است که می‌تواند از طریق فعال کردن گیرنده‌های اپیوئیدی مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را راه‌اندازی کند. علاوه بر این دیده شده است که مرفین می‌تواند بیان گیرنده‌های مرگ را در سطح سلول افزایش دهد [۸]. ضمناً مطالعات قبلی بیانگر اثر مخرب اعتیاد به ماده مخدر تریاک بر روی کارکرد و ساختار دستگاه‌های مختلف بدن است [۹]. تریاک از طریق آپوپتوز باعث مرگ سلولی می‌شود و تحقیقات نشان داده است که آپوپتوز به‌طور گسترده در مغز و کبد موش‌های صحرایی معتاد به تریاک اتفاق می‌افتد [۱۰]. در بیماران دیابتی که نقص در عملکرد انسولین دارند، تمرین‌های بدنی منظم از طریق افزایش حساسیت به انسولین و همچنین در غیاب انسولین، سبب ورود قند به داخل سلول‌های عضلانی می‌شود و در نتیجه مصرف آن تسهیل می‌شود. همچنین فعالیت ورزشی با افزایش سطوح پروتئین‌های ناقل گلوکز، مقاومت به انسولین را کاهش می‌دهد. از طرفی اثرات مثبت تمرین‌های استقامتی در مطالعات علمی انکارناپذیر است [۱۱]. لذا برخلاف فعالیت ورزشی شدید، انجام تمرین‌های ورزشی با شدت متوسط و مداوم احتمالاً موجب کاهش آپوپتوز در بافت‌های مختلف می‌شود [۱]. از سوی دیگر به‌نظر می‌رسد ورزش و فعالیت فیزیکی از طریق تقویت سیستم آنتی‌اکسیدان و تسریع در دفع مرفین موجب کاهش آسیب‌های ناشی از آن در کبد و کلیه‌ی موش‌های صحرایی می‌گردد. علاوه بر این، گزارش‌های ارائه شده در این زمینه حاکی از آن است که ورزش از طریق سیستم اعصاب مرکزی و تحریک در آزادسازی پپتیدهای شبه افیونی درون‌زاد به خصوص بتآندروفین‌ها نه تنها باعث کاهش اثر سوء مواد اعتیادآور می‌شود بلکه به‌عنوان یک روش درمانی مؤثر و کارآمد در پیشگیری و احتمالاً درمان برخی از بیماری‌ها از جمله اعتیاد مطرح است [۱۲]. در مطالعه‌ی

سانتی‌گراد جهت بررسی‌های بعدی نگه‌داری شدند. چهار گروه شامل: ۱- گروه دیابتی ۲- گروه دیابتی سندرم ترک مرفین ۳- گروه دیابتی+تمرین استقامتی ۴- گروه دیابتی سندرم ترک مرفین+تمرین استقامتی بود.

### شیوه نگه‌داری و تغذیه

نمونه‌های این مطالعه در آزمایشگاه جوندگان در قفس‌های پلی‌کربنات شفاف و در شرایط استاندارد، با چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت و میانگین درجه حرارت  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس و با رطوبت ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار داشتند. از دو دستگاه تهویه‌ی هوا بدون صدا جهت ایجاد تهویه و جریان مناسب هوا استفاده شد. تغذیه نمونه‌ها با استفاده از غذاهای توصیه شده توسط مراکز تولید خوراک دام به صورت پلت از شرکت بهرپور همراه با بطری‌های آب ۵۰۰ میلی‌لیتر ویژه‌ی حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت. ضمناً دسترسی به غذا و آب به صورت نامحدود بود.

### پروتکل القاء دیابت

برای دیابتی کردن موش‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن با تزریق درون صفاقی محلول نیکوتین آمید (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول شده در نرمال سالین با دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن را بعد از ۱۵ دقیقه از محلول استرپتوزوتوسین (ساخت شرکت سیگما، آمریکا) محلول در بافر سیترات ۰/۱ مولار با دوز ۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق جهت اطمینان از دیابتی شدن، نمونه‌هایی که میزان قندخون آنها بیشتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر باشد به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند [۱۵]. سطوح قندخون توسط گلوکومتر (بیورر مدل GL42، ساخت کشور آلمان) بعد از ۱۲ ساعت ناشتا بودن و به‌وسیله خون‌گیری از انتهای دم موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد [۱۱].

### پروتکل ایجاد سندرم ترک مرفین

پس از تأیید دیابتی شدن نمونه‌های پژوهش حاضر، پروتکل سندرم ترک مرفین انجام گرفت. از روش خوراکی جهت ایجاد وابستگی به مرفین استفاده گردید. مرفین با غلظت‌های متوالی

Dostar و همکاران (۱۳۸۶) مشاهده شد که ورزش تردمیل می‌تواند باعث کاهش تغییرات پاتولوژیک و بهبودی نسبی در موارد نفروپاتی‌های دیابتی در بیماران دیابتی گردد [۱۳]. همچنین Ghosh و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که ورزش می‌تواند پیشرفت نفروپاتی دیابتی اولیه را مستقل از هیپرگلیسمی مهار کند. کاهش فعالیت‌های کاسپاز-۳ (کاسپاز عامل اصلی در آپوپتوز کلیه)، کاسپاز-۸ (کاسپاز آغازگر اصلی مسیر بیرونی)، با بهبود موازی در بیان SOD و کاهش آسیب اکسیداتیو می‌تواند زمینه‌ساز اثرات مفید ورزش در بیماری کلیوی دیابتی باشد [۱۴]. اثر ورزش در سمیت ناشی از مرفین در کبد و کلیه موش صحرایی نیز توسط Ahmadizadeh و همکاران (۱۳۹۱) مورد بررسی قرار گرفت، یافته‌های پژوهش آنها نشان داد که مرفین باعث آسیب در بافت‌های کبد و کلیه گردید. ورزش نیز موجب کاهش آثار نامطلوب مرفین در بافت‌های کبد و کلیه شد [۱۲]. بنابراین با توجه به اثرات مضر مرفین ناشی از مصرف تریاک و آسیب‌های ناشی از قند خون بالا در بافت کلیه افراد دیابتی و از طرفی اثرات مثبت و درمانی تمرین‌های ورزشی در بیماران دیابتی، تا کنون اثرات ورزش بر بافت کلیه در حیوانات دیابتی معتاد به مرفین در سندرم ترک مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا مطالعه حاضر برای اولین بار با هدف بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی بر فاکتورهای آپوپتوزی سیتوکروم C، کاسپاز ۸ و کاسپاز ۳ در بافت کلیه موش‌های صحرایی دیابتی همراه با سندرم ترک مرفین انجام شده است.

### روش‌ها

تحقیق حاضر از نظر هدف کاربردی و از لحاظ شیوه اجرا، تجربی آزمایشگاهی است که به‌صورت پس‌آزمون با گروه کنترل انجام گرفت. در این پژوهش از ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ تا ۱۰ هفته و میانگین وزن  $230 \pm 30$  گرم استفاده شد. موش‌های خریداری شده از دانشگاه بقیه‌الله در شرایط جدید به مدت دو هفته نگه‌داری شدند و بعد از القاء دیابت، براساس وزن به‌صورت تصادفی به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. سپس در گروه‌های معتاد، جهت وابستگی به مرفین از روش خوراکی استفاده شد. گروه‌های تمرین ۸ هفته پروتکل تمرین استقامتی را اجرا نمودند. در پایان مطالعه همه موش‌های صحرایی بیهوش، تشریح و کلیه آنها جدا گردید و در دمای  $70^\circ$ - درجه

اندازه‌گیری سطح پروتئین کاسپاز ۳ توسط کیت الایزا شرکت کازایبو (CUSABIO) ساخت کشور آمریکا با شماره کاتالوگ CSB-E08857r و حساسیت ۰/۰۷۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر انجام گرفت. همچنین سطح پروتئین کاسپاز ۸ با کیت الایزا شرکت لایف اسپن بایوساینس (Life Span Biosciences) محصول کشور آمریکا با شماره کاتالوگ LS-F21520 و حساسیت ۰/۰۹۴ نانوگرم در میلی‌لیتر و سطح پروتئین سیتوکروم C این پژوهش نیز توسط کیت الایزا ساخت شرکت بایوتکنی (biotechn) کشور آمریکا با شماره کاتالوگ MCTC0 با حساسیت ۰/۰۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. تمامی آزمایش‌ها در مطالعه حاضر از اصول اخلاقی مورد تأیید کمیته اخلاق حیوانات دانشکده علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد (شماره مرجع: IR.IAU.B.REC.1401.030) پیروی کردند.

### تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه تحلیل اطلاعات این پژوهش از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد و برای اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلک و همچنین در مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس آنوای یک‌راهه و سپس با توجه به معنی‌دار بودن نتایج آن از آزمون تعقیبی توکی با سطح معنی‌داری  $P \leq 0/05$  استفاده گردید.

### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار مورد ارزیابی در گروه‌های مختلف و نتایج آنالیز واریانس یک‌راهه متغیرهای این مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

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]. ضمناً به‌واسطه طعم تلخ مرفین در این مطالعه با توجه به دیابتی بودن موش‌ها از شیرین کننده مصنوعی مناسب با غلظت ۳ درصد استفاده گردید. جهت اطمینان از وابستگی موش‌ها به مرفین 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 اعتیاد از جمله: پریدن، بالا رفتن، خارانیدن، 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 القاء سندرم ترک مرفین، آشناسازی با تردمیل به مدت یک هفته انجام شد. تمرین استقامتی پس از آن براساس اصل اضافه‌بار به مدت ۸ هفته و هر هفته سه جلسه، در ۳ روز غیر متوالی انجام گرفت. که 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 ۳ دقیقه با سرعت ۷ متر در دقیقه در ابتدا و انتهای تمرین استقامتی انجام شد [۱۸].

### تشریح و ذخیره بافت‌ها و اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی

تمامی نمونه‌ها ۴۸ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، با ترکیبی از ۷۵ میلی‌گرم/کیلوگرم کتامین و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم زایلازین بی‌هوش، کشته و تشریح و بافت‌برداری انجام شد. بافت‌ها با نرمال‌سالین 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 الایزا مخصوص موش صحرايي مطابق دستورالعمل‌های شرکت تولیدکننده اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- میانگین، انحراف معیار و نتایج آنالیز واریانس یک راهه متغیرهای آپوپتوزی بافت کلیه در گروه‌های مورد مطالعه

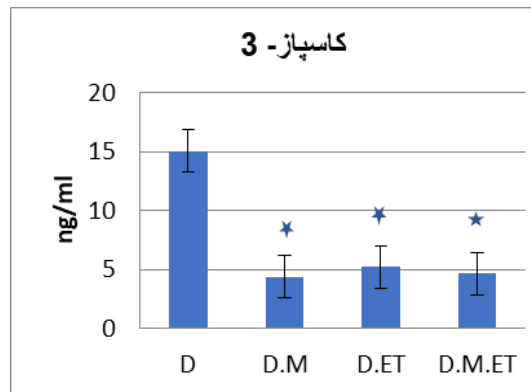
گروه‌های مورد مطالعه						متغیرها
P	F	D.M.ET (M±SD)	D.ET (M±SD)	D.M (M±SD)	D (M±SD)	
۰/۰	۱۴/۱	۴/۷±۰/۷	۵/۲±۱/۱	۴/۴±۱/۸	۱۵/۱±۵/۹	کاسپاز ۳ (ng/ml)
۰/۰	۵/۳	۵/۸±۲/۱	۹/۱±۳/۱	۱۲/۶±۱/۸۱	۱۴/۳± ۶/۰	کاسپاز ۸ (ng/ml)
۰/۰	۱۴/۲	۵۴/۶±۲۸/۴	۵۹/۲±۲۴/۲	۷۵/۸±۱۴/۸	۱۸۸/۵±۵۷/۷	سیتوکروم C (ng/ml)

D = دیابتی، D.M = دیابتی مرفینی، D.ET = دیابتی + تمرین استقامتی، D.M.ET = دیابتی مرفینی + تمرین استقامتی.

M±SD = میانگین ± انحراف معیار

گروه D با D.M (P= 0.000)، گروه D با D.ET (P= 0.000) و گروه D با D.M.ET (P= 0.000) اختلاف معنی‌دار است. در ضمن مقایسه نتایج سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

نتایج و مقایسه بین گروهی متغیر کاسپاز ۳ در نمودار ۱ آمده است. نتایج آنالیز واریانس یک‌راهه نشان داد که بین گروه‌های مورد بررسی، اختلاف معنی‌دار وجود دارد (F=14.195 و P=0.000). سپس بعد از انجام آزمون تعقیبی توکی مشاهده شد که بین



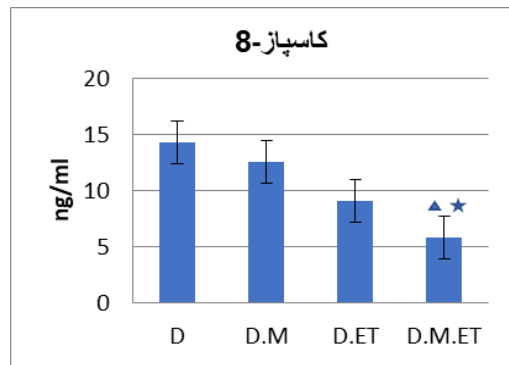
نمودار ۱- سطح پروتئین کاسپاز ۳ در گروه‌های مورد مطالعه

★ کاهش معنادار نسبت به گروه D.

D = دیابتی، D.M = دیابتی مرفینی، D.ET = دیابتی + تمرین استقامتی، D.M.ET = دیابتی مرفینی + تمرین استقامتی

همچنین گروه D.M با D.M.ET (P= 0.038) نتایج بیانگر اختلاف معنی‌داری بین این گروه‌ها است. اما سایر نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

علاوه بر این در مقایسه بین میانگین گروه‌های متغیر کاسپاز ۸ که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه F=5.378 و P=0.011 به دست آمده است که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد. پس از انجام آزمون تعقیبی توکی، بین گروه D با D.M.ET (P= 0.015) و



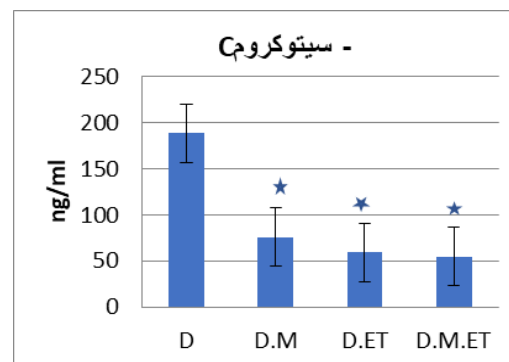
### نمودار ۲- سطح پروتئین کاسپاز ۸ در گروه‌های مورد مطالعه

★ کاهش معنادار نسبت به گروه D، ▲ کاهش معنادار نسبت به گروه D.M

D=دیابتی، D.M=دیابتی مرفینی، D.ET=دیابتی+تمرین استقامتی، D.M.ET=دیابتی مرفینی+تمرین استقامتی

تعمیقی توکی نتایج نشان داد که بین گروه D با D.M ( $P=0.002$ )، گروه D با D.ET ( $P=0.000$ ) و D با D.M.ET ( $P=0.000$ ) اختلاف معنادار است. ضمناً مقایسه نتایج سایر گروه‌ها اختلاف معناداری را نشان نداد.

همچنین در مقایسه بین گروهی متغیر سیتوکروم C که در نمودار ۳ آمده است، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌راهه  $F=14/204$  و  $P=0.000$  است که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد. بعد از انجام آزمون



### نمودار ۳- سطح پروتئین سیتوکروم C در گروه‌های مورد مطالعه

★ کاهش معنادار نسبت به گروه D، D=دیابتی، D.M=دیابتی مرفینی، D.ET=دیابتی+تمرین استقامتی، D.M.ET=دیابتی مرفینی+تمرین استقامتی

بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی همراه با سندرم ترک مرفین شده است. اما نکته قابل ذکر در این مطالعه کاهش هر سه شاخص اندازه‌گیری شده در گروه دیابت سندرم ترک مرفین (D.M) در مقایسه با گروه دیابتی (D) بود.

در جستجوی پیشینه تحقیقاتی، گزارش‌های زیادی در مورد تأثیر تمرین ورزشی بر آپوپتوز سلولی بافت‌های مختلف در دیابت وجود دارد اما براساس بررسی‌های انجام شده ما، این

### بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سطوح پروتئین کاسپاز ۳ و سیتوکروم C در گروه‌های تمرین این مطالعه (D.ET, D.M.ET) در مقایسه با گروه دیابت (D) کاهش معناداری داشته است. همچنین سطوح پروتئین کاسپاز ۸ نیز در گروه تمرین D.M.ET در مقایسه با گروه‌های D و D.M کاهش معناداری را نشان می‌دهد. بنابراین یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۸ هفته ورزش استقامتی باعث کاهش شاخص‌های آپوپتوزی

پروتئین‌ها سرنوشت سلول را تعیین می‌کند [۲۱]. کاسپازها خانواده‌ای از پروتئین‌های درون سلولی‌اند که از طریق سازگار مرگ درون سلولی و برون سلولی، آغاز کننده و اجرا کنندگان اصلی و ضروری فرآیند آپوپتوز هستند. آبشار کاسپازی به وسیله شکستن کاسپازهای به اصطلاح آغازگر (کاسپاز ۲-۸-۹ و ۱۰) و به واسطه اتوپروتئولیز<sup>۲</sup> آغاز می‌شود. کاسپازهای اجرا کننده (کاسپازهای ۳، ۶، ۷) توسط کاسپازهای آغازگر شکسته و فعال می‌شوند که این روند به آپوپتوز منجر می‌شود [۲۲]. کنترل تولید رادیکال‌های آزاد و یا افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی بدن برای مقابله با اکسیدان‌های تولید شده می‌تواند در پیشگیری از عوارض بالقوه ناشی از دیابت نقش به‌سزایی داشته باشد [۲۳]. از این‌رو تمرین ورزشی با بهبود فاکتورهای متابولیک مانند لیپیدهای پلاسما، گلوکز خون، فشار خون و وزن بدن، عملکرد کلیه را بهبود می‌بخشد. ورزش مناسب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد اگر چه ورزش بیش از حد باعث التهاب، افزایش استرس اکسیداتیو مرتبط با ROS و کاهش جریان خون کلیوی و میزان فیلتراسیون گلومرولی می‌شود [۲۴]. در تحقیقات قبلی مشاهده شده است که فعالیت ورزشی می‌تواند از طریق کاهش پروتئین پروآپوپتیک Bax و افزایش پروتئین ضدآپوپتیک Bcl-2 و در نتیجه مهار آزادسازی سیتوکروم C مانع فعال شدن کاسپاز ۹ شود. کاسپاز ۹ نیز با فعال‌سازی کاسپاز ۳ می‌تواند منجر به تنظیم مثبت روند آپوپتوز شود. در تحقیقات دیگر مشاهده شد که فعالیت ورزشی با کاهش فعالیت کاسپاز آغازگر ۹ و کاسپاز اجرایی ۳ می‌تواند از دو مسیر داخلی و خارجی مانع آپوپتوز و قطعه‌قطعه شدن DNA شود [۲۱]. براساس مطالعات قبلی، شواهد قابل توجهی در دسترس است که نشان می‌دهد تمرین استقامتی باعث کاهش شاخص‌های آپوپتوزی در موش‌های دیابتی می‌شود که می‌توان به مطالعاتی در این خصوص اشاره کرد. از جمله همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، مطالعه Mehri و همکاران (۱۳۹۹) نشان داد که القای دیابت باعث افزایش معنادار غلظت کاسپاز ۳ قلبی در مقایسه با گروه کنترل سالم شد و تمرین هوازی نیز باعث کاهش معنی‌دار غلظت کاسپاز ۳ قلبی شد [۲۵]. Chen و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که ورزش می‌تواند بیماری مزمن کلیوی را از طریق تنظیم مسیره‌های

اولین مطالعه در مورد اثرات تمرین استقامتی بر آپوپتوز بافت کلیه در موش‌های دیابتی همراه با سندرم ترک مرفین است. نتایج تحقیقات، حاکی از این است که هیپرگلیسمی مزمن یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای آسیب پیشرونده کلیه است. بیماران مبتلا به دیابت بیشتر در معرض ابتلا به میکروآلبومینوری (پروتئینوری) هستند که به‌عنوان نشانگری برای عملکرد غیرطبیعی کلیه استفاده می‌شود. گلوکز بالا نقش اساسی در ایجاد عملکرد غیرطبیعی کلیه از طریق تحریک تولید ROS دارد [۱۹]. تعداد فزاینده‌ای از شواهد نشان می‌دهد که ROS در محیط دیابتی هم در داخل بدن و هم در شرایط آزمایشگاهی افزایش می‌یابد. ROS می‌تواند چندین فاکتور رونویسی پیش‌التهابی را فعال کند که منجر به تولید سیتوکین‌ها و کموکاین‌ها و مولکول‌های چسبندگی عروقی و متعاقباً هجوم سلول‌های التهابی به کلیه می‌شود. این تشکیل التهاب کلیه که توسط ROS آغاز می‌شود، آسیب سلولی، آپوپتوز و اختلال عملکرد کلیه را با واسطه ROS طولانی‌تر و تشدید می‌کند [۴]. در مطالعه Susztak و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده شد که آپوپتوز پودوسیت<sup>۱</sup> با شروع هیپرگلیسمی در موش‌های مبتلا به دیابت نوع یک و موش‌های با چاقی و دیابت نوع دو به‌شدت افزایش می‌یابد. آپوپتوز پودوسیت هم‌زمان با شروع دفع آلبومین ادراری و از دست دادن قابل توجه سلول‌های پودوسیت در موش‌ها بود. نتایج آنها برای اولین بار نشان داد که تولید ROS ناشی از گلوکز، آپوپتوز پودوسیت و کاهش پودوسیت را در شرایط *in vivo* و *in vitro* آغاز می‌کند و نشان می‌دهد که آپوپتوز/کاهش پودوسیت نشان دهنده یک پاتومکانیسم (های) اولیه جدید است که منجر به نفروپاتی دیابتی در موش دیابتی نوع یک و مدل‌های دیابت نوع دو می‌شود [۲۰]. مسیره‌های پیام‌رسانی مختلفی سلول را به‌سوی مرگ برنامه‌ریزی شده یا آپوپتوز می‌برند که در این فرآیند پروتئین‌های ویژه‌ای به‌عنوان فاکتورهای آپوپتوزی نقش دارند، این پروتئین‌ها عاملی هستند که در نهایت ترکیبات کلیدی سلول همچون پروتئین‌های ساختاری اسکلت سلولی و پروتئین‌های هسته‌ای را تخریب می‌کنند. حساسیت سلول به آپوپتوز به تعادل و نسبت فاکتورهای پیش‌آپوپتوزی (Bax, Bid) و ضد آپوپتوزی (Bcl-) Bcl-XL (2) بستگی دارد و در حقیقت نسبت متوسط این

<sup>2</sup> Autophagy<sup>1</sup> Podocyte

تریاک و متابولیت آن مانند مرفین با تحویل مستقیم گونه‌های اسیژن فعال (ROS) و تحریک تولید ROS درون‌زا از طریق تحریک سلول‌های التهابی، استرس‌اکسیداتیو را افزایش می‌دهند. علاوه بر این، مرفین می‌تواند به‌طور مستقیم فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدانی را در بدن کاهش دهد. به‌نظر می‌رسد که تشکیل ROS یکی از سازکارهای اصلی در پس‌سوء مصرف مرفین است که با کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مرتبط است. مرفین همچنین باعث آزاد شدن نشانگرهای پیش‌التهابی (مانند TNF- $\alpha$ ) می‌شود و در نتیجه می‌تواند باعث آسیب بافتی شود [۳۰]. اثر مرفین بر سد فیلتراسیون گلوامرولی به‌طور کلی و یکپارچگی پودوسیت به‌طور خاص توسط Lan و همکاران (۲۰۱۳) مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده شد که مرفین با به خطر انداختن یکپارچگی پودوسیت‌ها باعث ایجاد آلبومینوری می‌شود [۳۱]. در مطالعه Asadikaram و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده شد که آپوتوز در سلول‌های تخمدان گروه معتاد و گروه معتاد دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه دیابتی است و همچنین آپوتوز در گروه معتاد به‌طور معنی‌داری بیشتر از موش‌های صحرائی کنترل بود. نتایج مطالعه آنها نشان می‌دهد آپوتوز سلولی تخمدان در موش‌های صحرائی دیابتی و غیردیابتی با اعتیاد به تریاک ایجاد می‌شود [۲۹]. علاوه بر این بر طبق یافته‌های مطالعه آسیابانها و همکاران (۲۰۱۱) تریاک احتمالاً نقش مهمی در آپوتوز سلول‌های مغز و کبد ایفا می‌کند و منجر به سمیت عصبی و سمیت کبدی می‌شود [۳۲]. یافته‌های این مطالعات با مطالعه ما هم‌خوانی ندارد. زیرا نتایج مطالعه حاضر در گروه دیابت سندرم ترک مرفین (D.M)، کاهش سطوح پروتئین هر سه شاخص مورد ارزیابی در مقایسه با گروه دیابت (D) را نشان داد که می‌توان از دلایل احتمالی آن به نوع بافت مورد مطالعه اشاره کرد. لذا به مطالعات بیشتری در خصوص سازکار اثر آن نیاز است. علاوه بر این با توجه به نتایج مطالعه Malekpourafshar و Zeinalinejad (۲۰۰۵) در خصوص اثرات کوتاه مرفین بر آسیب‌شناسی کلیه رت‌ها، نتایج به‌دست آمده تأثیر بسیار کمی را بر کلیه‌ها نشان داد. آنها همچنین بیان داشتند که بهتر است مطالعات بلندمدت در این دوره اجرا شود. رت‌ها در مطالعه آنها به‌صورت خوراکی به پودر مرفین معتاد شده بودند و پس از سه هفته بیهوش و تحت

آپتوز درونی و بیرونی بهبود بخشید. در مطالعه آنها تمرین مزمن دویدن روی نوارگردان (۳۰ دقیقه و یا ۶۰ دقیقه در هر جلسه و ۳ جلسه در هفته) با کاهش بیان Bax، افزایش بیان Bcl2، کاهش غلظت نسبت BAX/BCL2 (فاکتورهای تنظیمی آپوتوزی) و کاهش فعالیت کاسپاز ۹ و ۸ و ۳ در رت‌های مبتلا به بیماری مزمن کلیوی همراه بود [۲۶]. علاوه بر این Ghosh و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی مشاهده کردند که ورزش می‌تواند پیشرفت نروپاتی دیابتی اولیه را مهار کند. کاهش فعالیت‌های کاسپاز-۳ (کاسپاز عامل اصلی در آپوتوز کلیه)، کاسپاز-۸ (کاسپاز آغازگر اصلی مسیر بیرونی)، با بهبود موزی در بیان SOD (سوپراکسید دیسموتاز) و کاهش آسیب اکسیداتیو، می‌تواند زمینه‌ساز اثرات مفید ورزش در بیماری کلیوی دیابتی باشد. هر چند که در این مطالعه فعالیت کاسپاز-۹ و هم بیان پروتئین‌های تنظیم‌کننده مانند Bax و Bcl-2 بدون تغییر بودند [۱۴]. Khansooz و همکاران (۱۳۹۹) نیز تأثیر یک دوره تمرین استقامتی پیش‌رونده بر نشانگرهای تنظیم‌کننده آپوتوز در سرم موش‌های صحرائی ویستار مبتلا به انفارکتوس قلبی را بررسی نمودند که نتایج مطالعه آنها نشان داد که سطح سرمی کاسپاز-۸، سیتوکروم C-۳ و کاسپاز-۳ در گروه تمرین انفارکتوس نسبت به گروه کنترل انفارکتوس تغییر می‌کند. این تغییرات در موارد کاسپاز-۳ و سیتوکروم C بین گروه کنترل و گروه تمرین معنی‌دار نبود. اما تغییرات در مقادیر کاسپاز ۸ تفاوت معنی‌داری را نشان داد [۲۷]. نتایج این مطالعات نشان دهنده نقش حمایتی تمرین ورزشی از طریق کاهش روند آپوتوز در بافت‌های مختلف بدن است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. بر اساس یافته‌های این مطالعه، احتمالاً استرس‌اکسیداتیو ایجاد شده در اثر دیابت، باعث القای آپوتوز در بافت کلیه شده است. علاوه بر این محققان معتقدند که ورزش علاوه بر اثرات مفید بر تغییرات سیستمی دیابت نوع دوم به لحاظ پیشگیری و به تأخیر انداختن دیابت و بهبود متابولیسم گلوکز، همچنین از طریق کاهش استرس‌اکسیداتیو و آپوتوز، نقش حفاظتی را در برابر عوارض دیابت ایفا می‌کند [۲۸]. از سوی دیگر نشان داده شده است که برخی از مشتقات تریاک باعث ایجاد آپوتوز سلولی می‌شوند [۲۹]. نتایج تحقیقات قبلی بیانگر این موضوع است که تریاک به‌طور بالقوه به‌عنوان منبع رادیکال‌های آزاد شناخته شده است. علاوه بر این،



مداخله مرفین را نشان داد. فاکتور اریتروئید هسته‌ای<sup>۱</sup> (Nrf2) یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در دفاع سلول علیه آسیب‌های اکسیداتیو را ایفا می‌کند [۳۵]. در مطالعه‌ای مشاهده شد که Nrf2 در قشر پیشانی و جسم مخطط موش‌های تحت درمان با مرفین افزایش می‌یابد [۳۶]. بنابراین از دلایل کاهش شاخص‌های آپوپتوزی گروه دیابت مرفین نسبت به گروه دیابت احتمالاً می‌تواند افزایش فاکتور تنظیمی آنتی‌اکسیدانی Nrf2 به علت مصرف مرفین باشد. زیرا مرفین نیز باعث افزایش استرس اکسیداتیو [۳۰] در بافت‌ها می‌شود. اما به نظر می‌رسد تحقیقات بیشتری برای روشن شدن چنین بحثی ضروری است زیرا دلایل آن نامشخص است و بررسی سازکار آن نیاز به مطالعات بیشتری دارد. از طرفی یافته‌های ما نشان داد که میزان سطح پروتئین برخی از شاخص‌های آپوپتوزی گروه دیابت مرفین+تمرین استقامتی در مقایسه با گروه دیابت مرفین و گروه دیابت+تمرین استقامتی در مقایسه با گروه دیابت کاهش معناداری دارند. سازکار این کاهش در شاخص‌های این مطالعه ممکن است به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو به صورت تعدیل تولید ROS از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط تمرین استقامتی باشد. لذا از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. در مجموع یافته‌های ما نشان داد که احتمالاً مداخله تمرین استقامتی بر میزان کاهش آپوپتوز بافت کلیه رت‌های دیابتی و دیابتی سندرم ترک، اثر مثبت و محافظتی دارد.

### سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از قسمتی از رساله دکتری با کُد اخلاق IR.IAU.B.REC.1401.030 در رشته فیزیولوژی ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد است و با هزینه شخصی انجام گرفته است و نویسندگان از مسئولین و کادر آزمایشگاه سارا در تبریز که همکاری صمیمانه‌ای با محققین داشتند تشکر و قدردانی می‌کنند.

کالبد شکافی قرار گرفتند [۳۳]. بنابراین یکی از دلایل کاهش شاخص‌های گروه دیابت مرفین نسبت به گروه دیابت در مطالعه حاضر احتمالاً می‌تواند مدت زمان وابستگی به مرفین باشد. اما نتایج مطالعه Salehi و همکاران (۲۰۱۸) بیانگر این موضوع بود که استقامت، مقاومت و ورزش هم‌زمان به‌طور معنی‌داری استرس اکسیداتیو و تغییرات مورفولوژیک روده را در موش‌های قطع مصرف نرمال کرد، براساس یافته‌های آنها تمرین‌های مختلف ورزشی به‌طور قابل‌توجهی استرس اکسیداتیو را در موش‌های صحرایی معتاد کاهش داد در حالی که اعتیاد به مرفین به‌طور قابل‌توجهی استرس اکسیداتیو در روده را افزایش داد [۳۰] که با نتایج مطالعه ما همسو است زیرا نتایج ما نیز نشان داد که ورزش استقامتی باعث کاهش معنی‌دار برخی از شاخص‌های آپوپتوزی بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی همراه با سندرم ترک مرفین شده است که از دلایل آن می‌توان احتمالاً به کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی (۱۴،۳۰ ، ۳۴) اشاره کرد.

بنابراین وابستگی به تریاک با مشکلات سلامتی مختلفی همراه است. ورزش منظم یک راهبرد مفید برای برنامه‌های اعتیاد به مواد افیونی است و اثرات متعددی بر سلامت روحی و جسمی دارد. علاوه بر این، ورزش منظم عملکرد و سلامت بدن را تحریک می‌کند. هم آزمایش‌های انسانی و هم حیوانی گزارش کردند که فعالیت بدنی منظم باعث بهبودی از همه انواع اختلالات می‌شود [۳۰]. از جمله می‌توان به مطالعه Jalalvand و همکاران (۱۳۹۲) اشاره کرد. آنها مشاهده کردند که ورزش هوازی شنا بعد از پنج و هشت هفته، به‌صورت حاد توانست به‌طور معناداری میزان بروز علائم سندرم ترک مانند: پرش، ایستادن روی دو پا، دندان قروچه، اسهال، لرزش بدن، صعود و کشیدن بدن را کاهش دهد. لذا یافته‌های آنها نشان داد که تمرین ورزشی می‌تواند در کاهش بروز تعداد علائم رفتاری سندرم ترک در حیوانات معتاد به مرفین مؤثر و مفید باشد. بنابراین ورزش به‌عنوان یک عامل کمک‌کننده با ارزش در درمان اعتیاد و بهبود وضعیت افراد معتاد در سندرم ترک مطرح است [۱۶].

نتایج این پژوهش کاهش میزان سطح پروتئین شاخص‌های آپوپتوزی گروه دیابت مرفین نسبت به گروه دیابت بعد از

<sup>1</sup> Nuclear Factor Erythroid 2 - Related Factor 2 (or Nrf2)

## مآخذ

- Riahi S, Riyahi F, Yaribeygi H. Diabetes and Role of Exercise on its Control, A systematic Review. *Hrjbaq*. 2016; 1 (2):113-121.
- Sahraei M Abdi A, Jalal H. Protective Effect of Berberine Chloride and Aerobic Training on Liver Nrf2/Ho-1 Pathway And Pparγ In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences (Jaums)*. 2020; 20 (3): 296-306.
- Farokhi F, Kafash-Farkhad N, Asadi-Samani M. Preventive effects of hydroalcoholic extract of Prangosferulacea (L.) Lindl.on kidney damages of diabetic rats induced by alloxan. *J Sharekord Univ Med Sci*, 2013; 14(6): 72-81.
- Wagener F A, Dekker D, Berden JH, Scharstuhl A, van der Vlag J. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. *Apoptosis Dec*. 2009; 14(12): 1451-1458.
- Farzanegi P, Habibian M, Alinejad H. The Combined Effect of Regular Aerobic Exercise with Garlic Extract on Renal Apoptosis Regulatory Factors in Aged rats with chronic kidney disease. *AMUJ*. 2016; 19(108): 62-70.
- Etemadi HR, Arshadi S, Banaeifar A, Azarbayjani M. The effect of aerobic exercise and vitamin D supplementation on hepatic Apoptosis levels in rats exposed to oxygenated water. *Razi J Med Sci* 2021; 28(2):23-32.
- Momeni H, Abnosi M, Soleimani Mehranjani M. Effect of Morphine on Glucoregulatory Hormones (Insulin, Cortisol and Epinephrine) in Diabetic and Non-diabetic Mice. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012; 13 (5): 530-536.
- Razavi Y, Katebi N, Zeighamy Alamdary S, Oryan S, Khodaghali F, Haghparast A. Changes in apoptotic factors caspase-3, PARP and Bax/Bcl-2 ratio in the ventral tegmental area after the acquisition and extinction of morphine-induced conditioned place preference in the rat. *Koomesh*. 2013; 14 (4): 404-413.
- loui monfared A, mami S, salati AP. The effect of the opium addiction on histological structure of liver and kidney in rabbits. *Sjimu*. 2013; 21 (3): 39-45.
- Mirzaei A, Zendeheel K, Rashidian H, Aghaii M, Ghahestani SM, Roudgari H. The Impact of OPIUM and Its Derivatives on Cell Apoptosis and Angiogenesis. *Translational Research in Urology*. 2020; 2(4): 110-117.
- Parastesh M, Khosravi Zadeh E, Saremi A, Rekabtalae A. Effects of moderate-intensity continuous training and high-intensity interval training on serum levels of Resistin, Chemerin and liver enzymes in Streptozotocin-Nicotinamide induced Type-2 diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2019; 18: 379-387.
- Ahmadizadeh M, Sarkaki AR, Farboud Y, Mohammadian B, Rahim F. Effect of Exercise on Morphine-Induced Toxicity in Rat Liver and Kidney. *Jundishapur Sci Med J*. 2012;11(3): 325-333.
- Dostar Y, Salehi A, Mohammadi M, Mohajeri D, Hashemi M. Study of the role of treadmill exercise on experimental diabetic nephropathy in rats. *Islamic Azad University of Medical Sciences*. 2007; 17 (4): 187-192.
- Ghosh S, Khazaei M, Moien-Afshari F, Ang LS, Granville DJ, Verchere CB,"et al". Moderate exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress, and inhibits progression of diabetic renal disease in db/db mice. *American journal of physiology. Renal physiology*. 2009; 296(4): F700-F708.
- Saremi A, Yousefvand Z, Parastesh M, Bayat M, Gahreman D. Aerobic training mitigates the negative impact of diabetes on fertility. *Andrologia*. 2022; 54(1): 1-9.
- Jalalvand A, Heidarianpour A, Almasi J. Acute effects of swimming exercise on withdrawal syndrome sign in morphine-dependent rats. *Sabzevar University of Medical Sciences*. 2013; 20 (3): 373-379.
- 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 Res*. 2003; 963(1-2): 93-100.
- Yousefi MR, Taheri-chadorneshin H. The effect of moderate endurance training on gastrocnemius retinol-binding protein 4 and insulin resistance in streptozotocin-induced diabetic rats. *Interventional Medicine & Applied Science*. 2018; 10(1): 59-63.
- Fakhruddin S, Alanazi W, Jackson KE. Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *Journal of diabetes research*. 2017; 2017(1): 1- 30.
- Susztak K, Raff A C, Schiffer M, Böttinger EP. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2006; 55(1): 225-233.
- Jabbari SE, Gholami M, Nikbakht H, Shakeri N, Ghazalian F. Effect of aerobic training and L-carnitine supplementation on some apoptotic factors in diabetic rat liver. *Razi J Med Sci*. 2019; 26(7): 131-140.
- Hooshmand-Moghadam B, Gaeini AA, Eskandari M, Parseh, S, Hojjati Marvast M. Twelve weeks of resistance training intervention on serum levels of some apoptosis markers in elderly men. *Journal of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences*. 2021; 8(4): 10-19.
- Gaeini AA, Samadi A, Ravasi AA, Hedayati M, Khorram H. Effect of Eight Weeks of Resistance Training on Oxidative Stress in Diabetic Rats. *Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*. 2013; 20(3):398-407.
- Ishikawa Y, Gohda T, Tanimoto M, Omote K, Furukawa M, Yamaguchi S,"et al". Effect of exercise on kidney function, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic KK-A(y) mice. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012(8): 1-10.
- Mehri A, Hosseinpour Delaware S, Azizi M, Azarbaijani MA, Farzangi P. The effect of aerobic training and resveratrol on some regulatory and

- executive factors of cardiomyocytes apoptosis in STZ-diabetic male rats. *Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch*. 2020; 30 (1): 59-66.
26. Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. Exercise ameliorates renal cell apoptosis in chronic kidney disease by intervening in the intrinsic and the extrinsic apoptotic pathways in a rat model. *Evid Based Complement Alternat, Med* 2013; 368450:1-13.
27. Khansooz M, Abedi B, Palizvan M, Saremi A. The effect of a period of progressive endurance training on the apoptotic regulator markers in serum of wistar rats with myocardial infarction. *Sport biosciences (harakat)*. 2020; 12(1): 109-126.
28. Negharestani HR, Hosseinpour S, Azizi M, Azarbajani MA, Farzanegi P. The effect of combination of regular continuous exercise and resveratrol supplementation on some regulatory and executive factors of hepatocytic apoptosis in male diabetic rats. *Feyz*. 2019; 23 (6): 605-614.
29. Asadikaram G, Asiabanha M, Sirati Sabet M. Ovary Cells Apoptosis in Opium-Addicted Diabetic and Non-Diabetic Rats. *Int J High Risk Behav Addict*. 2013; 2(1): 3-7.
30. Salehi I, Zarrinkalam E, Mirzaei F, Abasi Oshaghi E, Ranjbar K, Soleimani asl S. 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): 44-49.
31. Lan X, Rai P, Chandel N, Cheng K, Lederman R, Saleem MA, "et al". Morphine induces albuminuria by compromising podocyte integrity. *PLoS one*. 2013; 8(3): 1-13.
32. Asiabanha M, Asadikaram G, Rahnema A, Mahmoodi M, Hasanshahi G, Hashemi M, "et al". Chronic Opium Treatment Can Differentially Induce Brain and Liver Cells Apoptosis in Diabetic and Non-diabetic Male and Female Rats. *The Korean journal of physiology & pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*. 2011; 15(6): 327-332.
33. Malekpourafshar R, Zeinalinejad H. Effect of Short Time Morphine Addiction on the Kidney Tissue in Rat. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2005; 1(4): 186-188.
34. Abbasi E, Salehi I, Zarin Kalam E, Ranjbar K, Mirzaei F, Komaki AR, et al. Protective Effect of Exercise on Liver Oxidative Stress, Inflammation and Histopathological Changes after Morphine Withdrawal in Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2022; 32(207): 26-37.
35. Cuadrado A, Pajares M, Benito C, Jiménez-Villegas J, Escoll M, Fernández-Ginés R, et al. Can activation of NRF2 be a strategy against COVID-19? *Trends Pharmacol Sci*. 2020; 41(9):598-610.
36. Yun J, Lee Y, Yun K, Oh S. Berberin decreases the morphine-induced physical dependence via antioxidative activity in mice. *Arch Pharm Res*. 2015; 38(6): 1248-1254.

## The Effect of Eight Weeks of Endurance Training on Levels of Apoptotic Proteins of Cytochrome C, Caspase 8 and Caspase 3 in Kidney Tissue of Diabetic Male Rats with Morphine Withdrawal Syndrome

Behzad Azadbakht<sup>1</sup>, Abbas Saremi<sup>1,2\*</sup>, Mojtaba Khansooz<sup>1</sup>

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

2. Research Institute for Applied Studies in Sport Sciences, Arak University, Arak, Iran

### ABSTRACT

**Background:** The effects of exercise on kidney tissue in withdrawal syndrome are unclear. In this study, the effect of 8 weeks of endurance training on the protein levels of cytochrome C, caspase 8 and caspase 3 in the kidney tissue of diabetic and diabetic rats with withdrawal syndrome was investigated.

**Methods:** 32 male Wistar rats were used in this experimental study. After the induction of diabetes, the rats were randomly divided into 4 groups of 8. Including: diabetes control (D), morphine diabetes (D.M), diabetes + endurance training (D.ET), morphine diabetes+endurance training (D.M.ET). Then, in addicted groups, the oral method was used for morphine dependence. The training groups performed 8 weeks of endurance training protocol. At the end of the study, all rats were anesthetized, dissected and their kidneys were separated and kept at -70 degrees for further investigations. Protein levels of the indicators of this study were measured by ELISA kits. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's post hoc test at a significance level of  $P \leq 0.05$ .

**Results:** The results of this study showed a significant decrease in caspase 3 protein levels in D.ET ( $P=0.000$ ), D.M.ET ( $P=0.000$ ) and cytochrome C levels in D.ET ( $P=0.000$ ), D.M.ET ( $P=0.000$ ) groups in Comparison with group D. Also, caspase 8 protein levels in D.M.ET group ( $P=0.015$ ) compared to D group and D.M.ET group ( $P=0.038$ ) compared to D.M group showed a significant decrease ( $P \geq 0.05$ ).

**Conclusion:** Endurance training can probably have a positive and protective effect on the reduction of kidney tissue apoptosis in diabetic and diabetic withdrawal syndrome rats.

**Keywords:** Endurance Training, Apoptosis, Kidney Tissue, Diabetes, Morphine Withdrawal Syndrome

\* Arak University, Karbala Boulevard, Basij Square, Arak, Iran, postal code: 3848177584. Postal code: 6815144316. Tel: +989163622668, Email: a-saremi@araku.ac.ir

