

تأثیر تمرین استقامتی و مصرف متادون بر سطح سرمی اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۷ در موش های صحرایی وابسته به مورفین در دوره سندروم ترک

علی حیدریان پور^{۱*}، مجید وحیدیان رضازاده^۲، علیرضا زمانی^۳

۱- دانشیار دانشگاه بوعلی سینا همدان

۲- دانشجوی دکتری دانشگاه بوعلی سینا همدان

۳- استاد دانشگاه علوم پزشکی همدان

*نشانی نویسنده مسئول: دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه بوعلی سینا همدان

Email: heidar_a@yahoo.com

پذیرش: ۹۳/۹/۲۴

اصلاح: ۹۳/۹/۱۲

وصول: ۹۳/۵/۲۵

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر ۸ هفته تمرین استقامتی و مصرف متادون به عنوان جایگزین مورفین بر سطح سرمی سایتوکاین های اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۷ بود.

مواد و روش ها: تعداد ۲۴ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن 22.0 ± 1.0 گرم به چهار گروه کنترل، ورزیده، مصرف کننده متادون، و ورزیده مصرف کننده متادون تقسیم شدند. همه گروه ها به وسیله مورفین سولفات 0.4 mg/mL در طی ۲۱ روز معتاد شدند. برای اطمینان از وابستگی به مورفین، به تعدادی از حیوانات نالوکسان (3 mg/kg, ip) تزریق شد. به آب آشامیدنی گروه مصرف کننده متادون و گروه ورزیده مصرف کننده متادون پودر متادون هیدروکلراید اضافه شد. گروه ورزیده و گروه ورزیده مصرف کننده متادون به مدت ۸ هفته بر روی تردمیل دویدند. مدت زمان و سرعت به صورت تدریجی افزایش یافت. پیش از شروع تمرینات و ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین، نمونه خونی از همه حیوانات تهیه و از سرم خون به روش الایزا میزان سطح سرمی اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۷ اندازه گیری شد.

یافته ها: سطح سرمی اینترفرون گاما گروه ورزیده مصرف کننده متادون در مقایسه با گروه مصرف کننده متادون افزایش ($P < 0.001$) و سطح سرمی اینترلوکین ۱۷ کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0.01$). همچنین افزایش معنی داری در سطح سرمی اینترفرون گاما ($P < 0.01$) و کاهش معنی داری در سطح اینترلوکین ۱۷ ($P < 0.001$) در گروه ورزیده نسبت به گروه مصرف کننده متادون مشاهده شد.

نتیجه گیری: تمرین استقامتی در دوره سندروم ترک باعث افزایش اینترفرون گاما و کاهش اینترلوکین ۱۷ در گروه های فعال نسبت به گروه های غیر فعال شده و تأثیر بیشتری بر این سایتوکاین ها گذاشت. بنابراین این نوع ورزش می تواند باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی در دوره سندروم ترک گردد.

واژه های کلیدی: اینترفرون گاما، اینترلوکین ۱۷، سندروم ترک، تمرین استقامتی، متادون

مقدمه

است. هر یک از سیستم ها به حفظ هومئوستاز خود و دیگر

سیستم ها کمک می کنند. سیستم ایمنی در میان سایر سیستم های

بدن انسان از سیستم های تعاملی بسیاری تشکیل شده

نتایج پژوهش‌های گوناگون نشان می‌دهد که سیستم ایمنی در دوره‌ی مصرف مواد مخدر و همچنین در دوره سندروم ترک اعتیاد، تضعیف شده و عملکرد آن دچار نقص می‌گردد (۸). از جمله عوامل سیستم ایمنی که تحت تأثیر سندروم ترک قرار می‌گیرند، «سایتوکاین‌ها» می‌باشند. سایتوکاین‌ها پروتئین‌هایی هستند که موجب واکنش‌های التهابی و ایمنی شده و واسطه‌های اصلی در ارتباط متقابل سلول‌های سیستم ایمنی به شمار می‌آیند. سایتوکاین‌ها توسط بسیاری از سلول‌های سیستم ایمنی بدن از جمله لئوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، ماکروفاژها و همچنین سلول‌های غیر ایمنی بدن ترشح می‌شوند (۹). لئوسیت‌ها به عنوان یکی از سلول‌های سیستم ایمنی باعث تولید سلول‌های $CD4^+$ T شده که این سلول‌ها خود منجر به تولید انواع سلول‌های T کمکی گردیده که $Th1$ و $Th17$ از این دسته می‌باشند. سلول‌های $Th1$ تولیدکننده سایتوکاین‌های متنوعی نظیر اینترفرون گاما هستند.

اینترفرون گاما ($IFN-\gamma$) یک سایتوکاین پیش التهابی با یک نقش مهم در تنظیم پاسخ‌های ایمنی است و به عنوان یکی از فعال‌کننده‌های ماکروفاژها با عملکردهای مختلف ضد باکتریایی و ضد ویروسی در نظر گرفته شده است (۱۰). اینترفرون گاما ممکن است باعث افزایش در پارامترهای پیش التهابی مانند $IL-12$ و $TNF-\alpha$ شود. اما همه فعالیت‌های پیش التهابی این سایتوکاین در تضاد با جنبه‌های بیولوژیک آن بوده و حمایت و عملکردهای ضد التهابی آن نیز در مطالعات مختلف ثابت شده است. $IFN-\gamma$ علاوه بر سلول‌های $Th1$ و $CD4^+$ T، توسط سلول‌های کشنده طبیعی (NK) و سلول‌های $CD8^+$ T نیز تولید می‌شود (۱۱). شیمیزو و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر تمرینات استقامتی با شدت متوسط در سلول‌های T کمکی در افراد مسن، نشان دادند که انجام این تمرینات به مدت شش ماه باعث افزایش سطح $IFN-\gamma$ می‌شود (۱۲).

گروهی دیگر از سایتوکاین‌ها اینترفرون‌ها هستند. این پروتئین‌ها از نظر نوع و عملکرد، دارای تنوع و فراوانی بسیاری می‌باشند. سلول‌های $Th17$ سایتوکاین‌هایی ترشح می‌کنند که موجب حرکت لوکوسیت‌ها و به ویژه نوتروفیل‌ها به محل‌های التهاب می‌شوند که اکثر اعمال التهابی این سلول‌ها توسط

عملکردی بدن از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. عوامل متعددی می‌توانند در جهت تقویت و یا تضعیف دستگاه ایمنی بدن عمل نمایند. اطلاع از این عوامل و آگاهی از تأثیرات آن‌ها بر سیستم ایمنی موجب شناخت بیشتر از عملکرد آن‌ها می‌شود. در میان این عوامل ورزش و فعالیت بدنی از اهمیت خاصی برخوردار است. فعالیت‌های ورزشی بستگی به شدت، مدت و نوع فعالیت، تأثیرات متفاوتی بر سیستم ایمنی می‌گذارند. برای مثال استینزبرگ و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که درصد سلول‌های T نوع یک در اثر ورزش شدید در جریان خون کاهش پیدا می‌کنند که این امر اثرات منفی متعددی در سیستم ایمنی افراد ایجاد می‌کند (۱). از سوی دیگر ژائو و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی نشان دادند تمرین استقامتی با شدت متوسط برای هشت هفته باعث تنظیم بهتر عملکرد سلول‌های $T1$ و $T2$ در پاک‌سازی ویروسی در موش‌های جوان و بالغ در زمان‌های متفاوت پس از تمرین می‌شود (۲).

یکی دیگر از عواملی که سیستم ایمنی بدن را تضعیف می‌کند، مصرف مواد مخدر می‌باشد. مصرف اوبیوئیدها از جمله مورفین باعث بروز اعتیاد در بسترهای مشترک عصبی و مولکولی می‌شود (۳). مورفین ماده‌ای است که مصرف مزمن آن باعث بروز مشکلات عمده «تحمل» و «وابستگی» در فرد مصرف‌کننده می‌گردد (۴). پس از یک دوره وابستگی به مواد اوبیوئیدی به دنبال 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 شده است. جوندگان علائم مختلفی از ترک اعتیاد را به نمایش می‌گذارند که شواهدی برای وابستگی به مواد مخدر هستند. از جمله این علائم می‌توان به پریدن، به خود پیچیدن، کشش شکم، حرکت سگ خیس، اسهال، دندان قروچه و بیش‌فعالی اشاره کرد (۵). وجود سه علامت از این موارد، نشانه بروز سندروم ترک است. امروزه درمان بیماران معتاد به علت بروز علائم سندروم ترک دشوار است. در حال حاضر درمان شیمیایی مانند استفاده از متادون، مناسب‌ترین راه درمان به نظر می‌رسد (۶). متادون یک آگونیست مواد مخدر و یک داروی مخدر مصنوعی برای درمان اعتیاد می‌باشد که استفاده اصلی درمانی آن در تسکین درد، سم زدایی و یا درمان نگهدارنده اعتیاد است (۷).

اینترلوکین ۱۷ (IL-17) میانجی گری می شود. این سایتوکاین پیش التهابی می تواند تولید دیگر فاکتورهای پیش التهابی نظیر IL-6 و TNF- α را تحریک کند (۱۳). زیر مجموعه ای از سلول های TCD4+، سلول های Th17 و سلول های ایمنی ذاتی مانند $\gamma\delta$ T، تولید کنندگان عمده اینترلوکین ۱۷ هستند (۱۴). نتایج تحقیقات سوگاما و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تمرین استقامتی با شدت متوسط باعث کاهش سطح IL-17 بر روی مردان ورزشکار می شود (۱۵). همچنین والش و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی با عنوان عملکرد ایمنی و ورزش به این نتیجه رسیدند که ورزش منظم استقامتی می تواند اثرات ضد التهابی را نشان دهد (۱۶). اید و همکاران (۲۰۰۹) نیز در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که افزایش میزان ترشح IFN- γ باعث سرکوب تمایز سلول های Th17 می شود (۱۷). همچنین گلزاری و همکاران (۲۰۱۰) در نتایج تحقیق خود نشان دادند که کاهش در تولید IL-17 اثرات ضد التهابی مفیدی دارد (۱۸).

با توجه به یافته های تحقیقات مذکور و تناقض در برخی از نتایج، این سؤال مطرح شد که آیا تمرین در دوره سندروم ترک می تواند باعث افزایش اینترفرون گاما و کاهش اینترلوکین ۱۷ گردد؟ همچنین در بیمارانی که از متادون به عنوان ماده نگهدارنده و جایگزین مورفین استفاده می کنند تا عوارض و علائم سندروم ترک را تجربه نکنند، از دو متغیر ورزش و متادون کدام یک می تواند تأثیر بهتری بر عملکرد مناسب دو سایتوکاین IFN- γ و IL-17 داشته باشند؟ بر همین اساس در مطالعه حاضر تأثیر هشت هفته تمرین استقامتی و مصرف متادون بر سطح سرمی IFN- γ و IL-17 در موش های وابسته به مورفین در دوره سندروم ترک مورد بررسی قرار گرفت.

روش شناسی

حيوانات: این آزمایش بر روی ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۸ هفته و وزن 220 ± 10 گرم انجام شد. موش ها از انستیتو رازی تهران خریداری شدند. آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی به مقدار مورد نیاز در دسترس حیوانات قرار گرفت. موش های صحرایی در قفس هایی از جنس پلی کربنات شفاف (۳ سر موش در هر قفس) قرار داده شدند.

حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای کنترل شده محیط ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد و رطوبت ۷۰-۵۰ درصد نگه داری شدند. تمامی دستورالعمل ها بر طبق پروتکل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بو علی سینا همدان انجام گردید. حیوانات به چهار گروه ۶ تایی: کنترل معتاد (Addicted Control:AC)، معتاد ورزیده (Addicted Trained:AT)، معتاد مصرف کننده متادون (Addicted Methadone:AM) و معتاد ورزیده مصرف کننده متادون (Addicted Methadone Trained:AMT) تقسیم و مورد آزمایش قرار گرفتند. در این تحقیق از روش خوراکی جهت ایجاد وابستگی به مورفین استفاده شد. روش معتاد کردن موش ها به این صورت بود که مورفین با غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم در هر میلی لیتر و هر دوز به مدت ۴۸ ساعت (در مجموع ۶ روز) در آب خوراکی حیوانات ریخته شد. سپس مورفین با غلظت ۰/۴ میلی گرم در هر میلی لیتر به مدت ۱۵ روز به حیوانات خوراندند. برای از بین بردن مزه ی تلخ مورفین، ساکاروز با غلظت ۳ درصد به آب آشامیدنی حیوانات اضافه شده و برای جلوگیری از تجزیه ی مورفین توسط نور، شیشه های حاوی آب و مورفین به وسیله ی ورق های نازک آلومینیومی پوشانده شد. جهت اطمینان از وابستگی موش ها به مورفین در پایان روز ۲۱، نالوکسان با غلظت ۳ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم از راه داخل صفاقی به صورت تصادفی به تعدادی از موش ها تزریق گردید. پس از تزریق، علائم سندروم ترک در حیوان توسط محقق مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور از اتاقک آینه ای استفاده گردید. حیواناتی که نالوکسان دریافت کردند را به مدت ۳۰ دقیقه در داخل این اتاقک قرار داده و رفتار حیوان مورد ارزیابی کیفی قرار گرفت. به دنبال تزریق نالوکسان، حیوان شروع به بروز علائم ترک شامل اسهال، به هم خوردن دندان ها، کشش شکم و افتادگی پلک نمود. پس از قطع مورفین و شروع سندروم ترک، برای دو گروه از موش ها از محلول پودر متادون هیدروکلراید در آب آشامیدنی به عنوان ماده جایگزین مورفین استفاده شد. از آن جایی که دوز متادون برای یک انسان بالغ روزانه معادل ۱۰ میلی گرم برای یک فرد ۶۰ کیلوگرمی می باشد، برای محاسبه میزان متادون مصرفی در دو گروه آزمودنی، از روش زیر استفاده گردید: متوسط وزن موش ها در هر گروه به تفکیک محاسبه شد. با توجه به این که

سی‌سی محلول متادون آماده مصرف برای دو گروه فوق با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۹):

سرعت سوخت و ساز بدن موش‌های صحرائی ۱۰ برابر بیشتر از بدن انسان است، میزان متادون مورد نیاز برای تهیه ۱۰

$$\frac{(10 \times \text{weight} \times 10 \times 10)}{(60 \times 1000)} = \text{Methadone dose for Rats}$$

میانگین وزن موش (gf) میانگین وزن انسان بالغ (mg) دوز متادون در انسان بالغ (mg)
 متابولیسم موش نسبت به انسان حجم محلول (cc) وزن انسان (gf)

محاسبات آماری: از آزمون شاپیروویک برای تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها و برای تعیین اختلاف بین میانگین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و از آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه میانگین بین دو گروه استفاده شد. برای مشخص شدن تغییرات هر گروه در ابتدا و پایان پروتکل تمرینی، آزمون t همبسته استفاده شد. آنالیز آماری نتایج به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. اطلاعات به صورت میانگین \pm خطای انحراف از میانگین ارائه شده و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

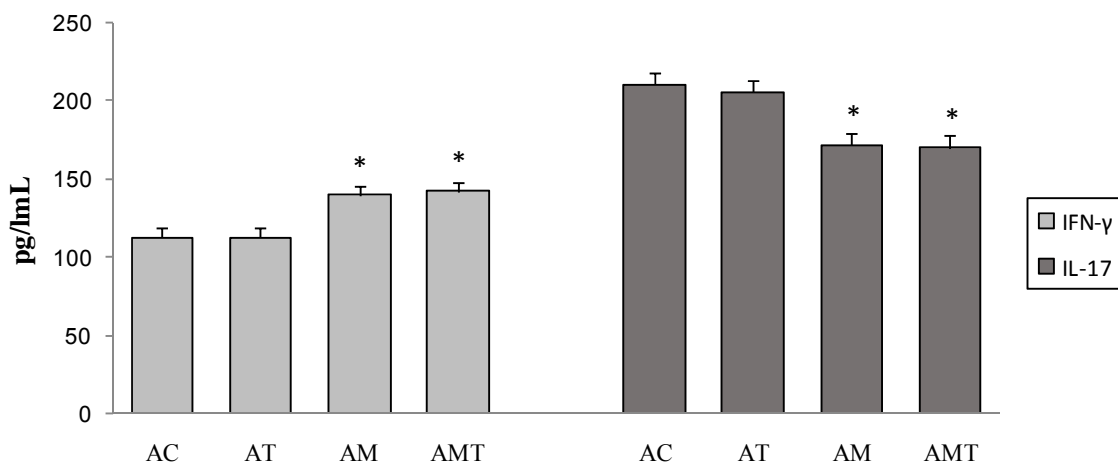
دوز متادون مورد نیاز برای حیوانات در پایان هر هفته با توجه به میانگین تغییرات وزن بدن تعیین می‌گردید.

پروتکل ورزشی: موش‌ها بر روی تردمیل مخصوص حیوانات بر اساس برنامه اقتباس شده از کالگاری و همکاران (۲۰۱۱)، دویدند (۲۰). گروه‌های کنترل معتاد (AC) و معتاد مصرف کننده متادون (AM) کم تحرک باقی مانده و تنها اجازه داشتند در داخل قفس حرکت کنند. گروه‌های معتاد ورزیده (AT) و معتاد ورزیده و مصرف کننده متادون (AMT) به دویدن بر روی تردمیل پرداختند. موش‌ها ۵ روز در هفته و در هر روز یک بار، برای مدت ۸ هفته تمرین کردند. آن‌ها در هفته اول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۹ m/min دویدند که به تدریج مدت زمان و سرعت افزایش یافت به طوری که در هفته پایانی این مقدار به ۶۰ دقیقه با سرعت ۳۰ m/min رسید.

یافته‌ها

در راستای پاسخ‌دهی به سوالات پژوهش، نتایج آزمون ANOVA نشان داد که پیش از شروع پروتکل تمرین استقامتی، افزایش معنی‌داری در سطح سرمی IFN- γ در گروه‌های معتاد مصرف کننده متادون (AM) و معتاد ورزیده مصرف کننده متادون (AMT) نسبت به کنترل معتاد (AC) وجود دارد ($P < 0/05$). همچنین سطح سرمی IL-17 در گروه‌های AM و AMT کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل معتاد (AC) داشت ($P < 0/05$). در گروه‌های AM و AMT نسبت به گروه معتاد ورزیده (AT) افزایش معنی‌داری در سطح سرمی IFN- γ و کاهش معنی‌داری در سطح سرمی IL-17 مشاهده شد ($P < 0/05$). در مقایسه بین دو گروه کنترل معتاد (AC) و معتاد ورزیده (AT) اختلاف معنی‌داری در سطح سرمی سایتوکاین‌های IFN- γ و IL-17 مشاهده نشد. نتایج در شکل (۱) ارائه شده است.

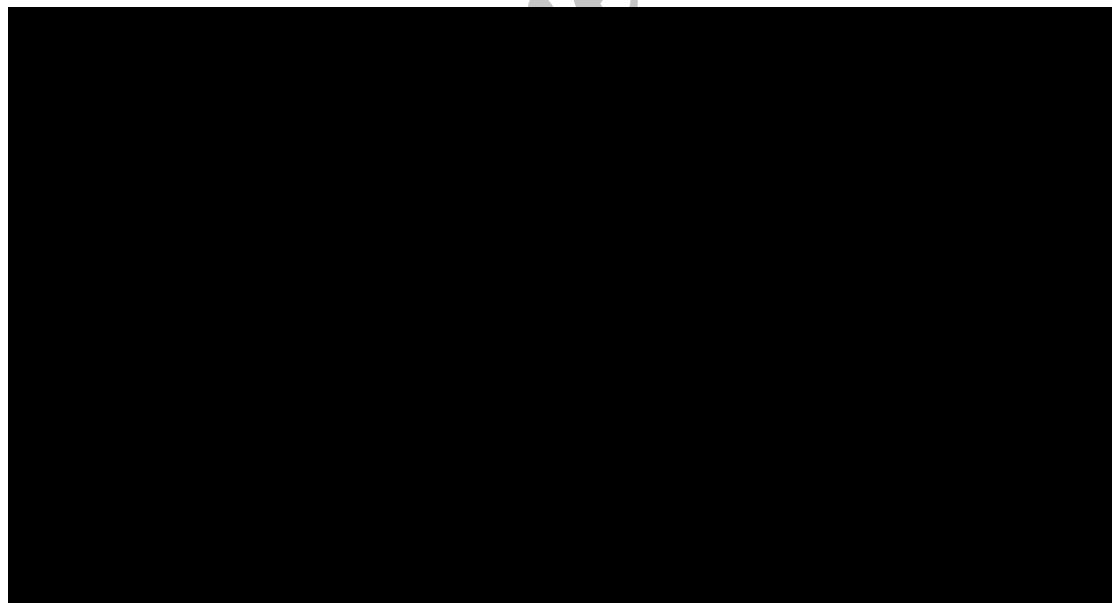
آزمایشات: پس از تأیید وابستگی به مورفین در بین حیوانات از تمام ۴ گروه تحقیق، نمونه خونی تهیه گردید و نمونه‌های خون در لوله‌های جدا کننده ی سرم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شدند. پس از آن نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم به دست آمده بلافاصله در دمای ۲۰- درجه منجمد گردید. فرایند نمونه‌گیری خون در پایان هفته‌ی هشتم پروتکل ورزشی و ۲۴ ساعت پس از آخرین تمرین مجدداً انجام گردید. برای اندازه‌گیری سایتوکاین‌های مترشحه از کیت‌های الیزا ایترفرون گاما شرکت R&D و ایترفرون گاما ۱۷ شرکت Cusabio استفاده گردید. از دستگاه الیزا ریدر تمام اتوماتیک Elisis UNO ساخت کمپانی Human آلمان به منظور قرائت نتایج تست الیزا استفاده شد.



شکل ۱. مقایسه سطح سرمی IFN- γ و IL-17 در بین گروه های تحقیق پیش از شروع پروتکل تمرینی. *P<0.05. (Means \pm S.E.M.)

AT افزایش معنی داری در میزان این سایتوکاین نسبت به گروه AMT مشاهده شد ($P<0/01$). این افزایش در گروه AMT نسبت به گروه AM نیز وجود داشت ($P<0/01$). نتایج در شکل (۲) ارائه شده است.

همچنین نتایج آزمون ANOVA نشان داد که پس از ۸ هفته تمرین استقامتی، افزایش معنی داری در سطح سرمی IFN- γ در گروه AT نسبت به گروه AC مشاهده می شود ($P<0/01$). میزان IFN- γ در گروه AT نسبت به گروه AM افزایش معنی داری را نشان داد ($P<0/001$). همچنین در گروه



شکل ۲. مقایسه سطح سرمی IFN- γ در بین گروه های تحقیق در پایان پروتکل تمرین

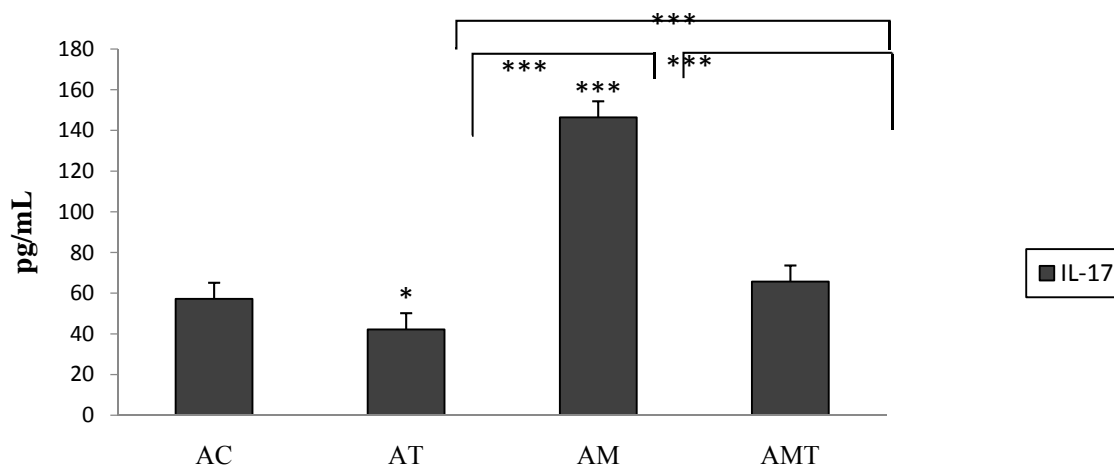
(Means \pm S.E.M.) * P<0.05, ** P<0.01, ***P<0.001

معنی داری داشت ($P<0/05$). در گروه AT نسبت به گروه های AM و AMT سطح سرمی IL-17 کاهش معنی داری نشان داد

از سوی دیگر سطح سرمی IL-17 در گروه معتاد ورزشی (AT) در مقایسه با گروه کنترل معتاد (AC) کاهش

($P < 0.001$). نتایج در شکل (۳) ارائه شده است.

($P < 0.001$). همچنین سطح سرمی این سایتوکاین در گروه AMT نسبت به AT کاهش معنی‌داری را نشان داد



شکل ۳. مقایسه سطح سرمی IL-17 در بین گروه‌های تحقیق در پایان پروتکل تمرینی.

(Means±S.E.M), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

(Mean=۱۴۶/۴، S.E.M=۳/۸) تعلق داشت.

در مقایسه بین وزن گروه‌ها در پایان هفته هشتم پروتکل تمرینی، در بین گروه‌های AC با AM و AT با AMT اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن گروه‌ها مشاهده نشد. در جدول شماره (۱) وضعیت وزن گروه‌های چهارگانه ارائه شده است:

یافته‌های تحقیق نشان داد که بیشترین افزایش IFN- γ پس از ۸ هفته تمرین استقامتی در گروه AT (Mean=۲۱۸/۳۳، S.E.M=۲/۱۱) و کمترین افزایش در گروه AM (Mean=۱۶۰، S.E.M=۶/۷۴) مشاهده شد. همچنین بیشترین کاهش IL-17 به گروه AT (S.E.M=۳/۰۳، Mean=۴۲/۱۷) و کمترین تغییرات سطح سرمی به گروه AM

جدول ۱. وزن موش‌های صحرایی در پایان پروتکل تمرین استقامتی

Groups	Mean	S.E.M
AC	۳۰۶	۴/۸
AT	۲۵۷	۴
AM	۳۱۲	۵/۱
AMT	۲۷۱	۴

گاما مربوط به گروه‌های معتاد ورزیده (AT) و معتاد ورزیده مصرف کننده متادون (AMT) می باشد. همچنین کمترین سطح سرمی اینترلوکین ۱۷ در گروه معتاد ورزیده (AT) مشاهده شد.

به دنبال مطالعات تجربی سندروم ترک در جوندگان، افزایش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک (SNS) گزارش شده

بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام این تحقیق شناسایی تأثیر تمرین استقامتی و مصرف متادون بر سطح سرمی اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱۷ موش‌های صحرایی وابسته به مورفین در دوره سندروم ترک بوده است. بر اساس یافته‌های تحقیق، پس از ۸ هفته تمرین استقامتی بیشترین میزان سطح سرمی اینترفرون

است. در نتیجه‌ی این افزایش، ترشح نورآدرنالین از پایانه‌های عصب سمپاتیک و بخش مرکزی غدد فوق کلیوی اتفاق می افتد که موجب سرکوب سیستم ایمنی می گردد. محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) نیز ممکن است یکی از دلایل سرکوب سیستم ایمنی ناشی از ترک اعتیاد باشد. مطالعات تجربی در حیوانات، فعالیت زیاد در سطوح مختلف محور HPA را در طول دوره ترک گزارش کرده اند. افزایش فعالیت لوکوس سرولئوس (LC) از طریق اعصاب آوران به هسته اطراف بطنی هیپوتالاموس باعث بیش فعالی این محور می شود. فعالیت زیاد محور HPA باعث افزایش تولید نورآدرنالین می گردد (۲۱). بر همین اساس یکی از مکانیسم‌های علمی که در مرحله ترک باعث مهار سیستم ایمنی می شود، ممکن است فعالیت زیاد SNS و محور HPA ناشی از قطع ماده مخدر باشد.

کلشنباخ و همکاران (۲۰۰۵) در پژوهشی که بر روی موش‌ها انجام دادند به این نتیجه رسیدند که تولید IFN- γ ، ۲۴ ساعت پس از ترک مورفین دچار سرکوب شد (۲۲). همچنین رحیم و همکاران (۲۰۰۳) نیز در تحقیق خود به نتایج مشابهی اشاره کردند (۲۳)، که این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد. از سوی دیگر وست و همکاران (۱۹۹۹) سرکوب IFN- γ را ۱۲ ساعت پس از ترک مورفین گزارش کردند و این در حالی بود که میزان این سایتوکاین پس از ۲۴ ساعت به حالت طبیعی باز گشت (۲۱) که این نتیجه با نتایج پژوهش حاضر همسو نیست. تناقض در یافته‌های این محقق با پژوهش حاضر ممکن است به این دلیل باشد که او تحقیق خود را بر روی موش‌های نژاد Lewis انجام داد، در صورتی که حیوانات به کار گرفته شده در پژوهش حاضر از نژاد Wistar بودند. در پژوهش حاضر به دنبال ورزش با شدت متوسط افزایش IFN- γ مشاهده شد. در همین راستا، گزارش‌های زیادی وجود دارد که نشان داده ورزش استقامتی با شدت متوسط، سیستم ایمنی را بیشتر به سمت پاسخ‌های سایتوکاینی نوع Th1 مانند IFN- γ ، IL-2 و IL-12 سوق می دهد. ژائو و همکاران در مجموعه‌ای از مقالات به این نکته اشاره کردند که پس از انجام ورزش با شدت متوسط IFN- γ افزایش معنی‌داری داشت (۲). شیمیزو و همکاران نیز در پژوهش خود به نتیجه مشابهی رسیدند (۱۲). بسیاری از

یافته‌های دیگر محققان نیز با یافته‌های پژوهش حاضر یکسان است؛ اما برخی پژوهش‌ها به نتایج متضادی دست یافتند که در آن پس از فعالیت ورزشی کاهش IFN- γ مشاهده گردید. برای مثال زر و همکاران (۲۰۱۲) پس از ۸ هفته فعالیت بر روی تردمیل با شدت ۷۰-۵۰٪ Vo $_{2}$ max کاهش سطح IFN- γ را در ۴۸-۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین اعلام کردند؛ البته این کاهش معنی‌دار نبود (۲۴). وایت و همکاران (۲۰۰۸) نیز کاهش سایتوکاین IFN- γ را پس از تمرینات هوازی بیان کردند (۲۵). در تبیین این تفاوت‌ها می توان نوع، شدت و مدت پروتکل ورزشی، برخی تفاوت‌های ژنتیکی و نژادی و یا تفاوت بین نمونه‌های آزمودنی از جمله نمونه‌های انسانی و حیوانی را دخیل دانست. همچنین شرایط متفاوت جسمی و روانی و وضعیت گوارشی آزمودنی‌ها نیز می توانند در این زمینه تأثیرگذار باشند.

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که پس از ۸ هفته تمرین استقامتی، سطح سرمی IL-17 کاهش یافت. یکی از مکانیسم‌های علمی احتمالی این تغییرات، ممکن است پاسخ‌های قوی Th1 از جمله IFN- γ باشد که تمایل دارند تکامل Th17 را مهار نمایند (۲۶)، اما سرکوب سیستم ایمنی ناشی از سندروم ترک، باعث کاهش IFN- γ می شود. این کاهش موجب می شود تا احتمال فعالیت باکتری‌ها و قارچ‌ها بر روی سلول‌های دندریتیک زیاد شده و تولید سایتوکاین‌هایی از قبیل IL-6، IL-1 و IL-23 تحریک شود. TGF- β نیز که توسط بسیاری از سلول‌های دستگاه ایمنی تولید می شود، در صورت وجود سایتوکاین‌هایی از قبیل IL-6 یا IL-1 به تکامل سلول‌های پیش التهابی Th17 کمک می کند. TGF- β با همکاری IL-6 و IL-1 موجب القاء تولید فاکتور رونویسی ROR γ t می شود. IL-6 فاکتور رونویسی STAT3 را نیز فعال می کند که همراه با ROR γ t موجب تحریک تمایز سلول‌های TCD4 $^{+}$ اولیه به زیر گروه Th17 می شوند. IL-23 نیز در تکثیر و بقای سلول‌های Th17 نقش مهمی دارد (۹). در نتیجه این فرایند سلولی، IL-17 از سلول‌های Th17 تولید می شود. در تبیین افزایش IL-17 در سندروم ترک می توان گفت که در این زمان احتمال بروز عفونت به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می یابد (۲۷). پاسخ‌های ایمنی مربوط به IL-17 شامل به خدمت گرفتن نوتروفیل‌ها و محافظت در

میزان این سایتوکاین التهابی باشد. همچنین بین زیر مجموعه Th1 و Th17 تضاد در تولید سایتوکاین به چشم می خورد (۱۷) که افزایش میزان IFN- γ پس از تمرین استقامتی در پژوهش حاضر و تأثیر مهاری این سایتوکاین بر تکامل Th17 را می توان یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش IL-17 دانست.

نتیجه گیری

در مجموع بر اساس آزمون سوالات تحقیق و با توجه به یافته‌های تحقیق و یافته‌های دیگران می توان چنین نتیجه گرفت که پاسخ سیستم ایمنی بدن به ورزش و مواد مخدر متفاوت می باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که به کارگیری فعالیت استقامتی با شدت متوسط در مرحله ترک اعتیاد ممکن است بتواند با افزایش سایتوکاین IFN- γ و تأثیر آن بر سایتوکاین التهابی IL-17 از اثرات منفی بروز التهاب بکاهد. همچنین مصرف متادون تنها در ابتدای دوره ترک مورفین مانع از بروز علائم سندروم ترک شد؛ اما در ادامه این نقش ورزش بود که توانست به بهبود عملکرد سیستم ایمنی کمک نماید. آن چه از نتایج این پژوهش قابل استناد می باشد این است که حتی در گروه مصرف کننده متادون که به فعالیت استقامتی پرداخت (گروه AMT) نیز تغییرات سایتوکاینی به مراتب بهتر از گروه‌های غیر فعال (AM و AC) بود. نتایج حاصله این فرضیه را قوت می بخشد که انجام فعالیت استقامتی با شدت متوسط حتی در دوران مصرف مواد مخدر می تواند به تقویت سیستم ایمنی کمک نماید.

برابر عفونت‌های باکتریایی و قارچی خارج سلولی است (۱۷). کاهش IL-17 پس از تمرین استقامتی را شاید بتوان ناشی از تأثیر فعالیت بدنی دانست؛ چرا که تأثیر مثبت ورزش با شدت متوسط بر سیستم ایمنی، مورد تأیید محققان زیادی قرار گرفته است. یافته‌های لوودر و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که ورزش با شدت متوسط باعث کاهش تولید سایتوکاین‌های Th2 و Th17 در موش‌های سالم و مبتلا به آسم گردید (۲۸). همچنین برخی محققان بیان کردند که به نظر می رسد ورزش با شدت متوسط می تواند باعث کاهش سطح سرمی اینترلوکین ۱۷ گردد (۱۵ و ۱۸). همان‌گونه که مشاهده می شود این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد. اما دوزوا (۲۰۰۹) اعلام کرد که در گروه ورزش با شدت متوسط نسبت به گروه کنترل، افزایشی در اینترلوکین ۱۷ مشاهده شد که این افزایش معنی دار نبود (۲۹).

برخی سلول‌های مولد سایتوکاین IL-17 مانند سلول‌های $\gamma\delta$ T در بافت چربی شناسایی شده اند (۳۰). در همین راستا نتایج پژوهشی نشان داد که IL-17 و IL-23 موجود در خون افراد چاق نسبت به افراد لاغر بالاتر بود (۳۱). همچنین وینر و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهش خود که بر روی موش‌ها انجام شد، افزایش توسعه سلولی Th17 و تولید IL-17 در موش‌هایی که با رژیم غذایی پر انرژی چاق شده بودند را گزارش کردند (۳۲). در تبیین مکانیسم علمی تغییرات ایجاد شده در میزان IL-17 در گروه‌های تمرینی نسبت به گروه‌های کنترل در تحقیق حاضر می توان گفت که احتمالاً کاهش بافت چربی ناشی از تمرین استقامتی، می تواند یکی از عوامل کاهش

منابع

1. Steensberg A, Toft AD, Bruunsgaard H, Sandmand M, Halkjær-Kristensen J, Pedersen BK. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation. *J Appl Physiol* 2001; 91 (4): 1708-1712.
2. Zhao G, Zhou S, Davie A, Su Q. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance. *Exerc Immunol Rev* 2012; 18: 98-114
3. Nestler EJ. Historical review: molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25 (4): 210-218.
4. 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): 288-294.
5. Eisenstein TK, Rahim RT, Feng P, Thingalaya NK, Meissler J J. Effects of opioid tolerance and withdrawal on the immune system. *J Neuroimmune Pharmacol* 2006; 1 (3): 237-249.
6. Khalili M, Ghosian MH, Niknam A. Study and comparison of the effect of oral administration of Peganum harmala seeds and methadone on morphine withdrawal syndrome in rats. *Modares Journal of Medical Sciences*:

Pathobiology 2010; 13 (1): 37-46

7. Roxane Laboratories Inc, United States of America. Dolophine® Hydrochloride (Methadone Hydrochloride Tablets, USP), -Drug Safety Sheet 2006.
8. Greenelch KM, Kelly-Welch AE, Shi Y, Keegan AD. Chronic morphine treatment promotes specific Th2 cytokine production by murine T cells in vitro via a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. *J Immunol* 2005; 175 (8): 4999-5005.
9. Farrell PA, Joyner MJ, Caiozzo V. ACSM's advanced exercise physiology. *ACSM* 2012; 512-523
10. Kohara H, Kitaura H, Fujimura Y, Yoshimatsu M, Morita Y, Eguchi T, et al. IFN- γ directly inhibits TNF- α -induced osteoclastogenesis in vitro and in vivo and induces apoptosis mediated by Fas/Fas ligand interactions. *Immunol Lett* 2011; 137 (1): 53-61.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. Abdolhosein Keihani, Mohammad Mahdi Mohammadi, Gholamreza Ansari, Mousa Mohammadia Afrouzi, Mohammad Hosein Ghorbani, Omid Gouran Orimi, et al. Tehran, Nasle Farda Publication, 1391.
12. Shimizu K, Kimura F, Akimoto T, Akama T, Tanabe K, Nishijima T, et al. Effect of moderate exercise training on T-helper cell subpopulations in elderly people. *Exerc Immunol Rev* 2008; 14: 24-37.
13. Huckans M, Fuller BE, Olavarria H, Sasaki, AW, Chang M, Flora KD, et al. Multi-analyte profile analysis of plasma immune proteins: altered expression of peripheral immune factors is associated with neuropsychiatric symptom severity in adults with and without chronic hepatitis C virus infection. *Brain Behav* 2014; 4 (2): 123-142.
14. Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10 (7): 479-489.
15. Sugama K, Suzuki K, Yoshitani K, Shiraishi K, Kometani T. IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. *Exerc Immunol Rev* 2012; 18:115-126
16. Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev* 2011; 17: 6-63.
17. Eid RE, Rao DA, Zhou J, Sheng-fu LL, Ranjbaran H, Gallo A, et al. Interleukin-17 and Interferon- γ are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Cir Res* 2009; 119 (10): 1424-1432.
18. Golzari Z, Shabkhiz F, Soudi S, Kordi MR, Hashemi SM. Combined exercise training reduces IFN- γ and IL-17 levels in the plasma and the supernatant of peripheral blood mononuclear cells in women with multiple sclerosis. *Int Immunopharmacol* 2010; 10 (11): 1415-1419
19. Pathirana W, Abhayawardhana P, Kariyawasam H, Ratnasooriya WD. Transcranial route of brain targeted delivery of methadone in oil. *Indian J Pharm Sci* 2009; 71(3): 264.
20. Calegari VC, Zoppi CC, Rezende LF, Silveira LR, Carneiro EM, Boschero AC. Endurance training activates AMP-activated protein kinase, increases expression of uncoupling protein 2 and reduces insulin secretion from rat pancreatic islets. *J Endocrinol* 2011; 208 (3): 257-264.
21. West JP, Dykstra LA, Lysle DT. Immunomodulatory effects of morphine withdrawal in the rat are time dependent and reversible by clonidine. *Psychopharmacology* 1999; 146 (3): 320-327.
22. Kelschenbach J, Barke RA, Roy S. Morphine withdrawal contributes to Th cell differentiation by biasing cells toward the Th2 lineage. *J Immunol* 2005; 175 (4): 2655-2665.
23. Rahim RT, Meissler Jr JJ, Zhang L, Adler MW, Rogers TJ, Eisenstein TK. Withdrawal from morphine in mice suppresses splenic macrophage function, cytokine production, and costimulatory molecules. *J Neuroimmunol* 2003; 144 (1): 16-27.
24. Zar A, Ebrahim K, Hovanloo F, Amani D. Effects of An 8-Week Endurance Training Course on Changes in Interferon Gamma and Leukocyte Subsets. *Journal of Isfahan Medical School* 2012; 30 (5): 28-34
25. White LJ, Castellano V. Exercise and Brain Health-Implications for Multiple Sclerosis. *Sports Med* 2008; 38(3): 179-186.
26. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* 2007; 8 (9): 950-957.
27. Roy S, Ninkovic J, Banerjee S, Charboneau RG, Das S, Dutta R, et al. Opioid drug abuse and modulation of immune function: consequences in the susceptibility to opportunistic infections. *J Neuroimmune Pharmacol*

2011; 6 (4): 442-465.

28. Lowder T, Dugger K, Estell K, Deshane J, Schwiebert L. Exercise increases regulatory T cell function and decreases Th2 and Th17 cytokine production in healthy and asthmatic mice. *J Immunol* 2010; 184: 97-115.

29. Duzova H, Karakoc Y, Emre MH, Dogan ZY, Kilinc E. Effects of acute moderate and strenuous exercise bouts on IL-17 production and inflammatory response in trained rats. *J Sports Sci Med* 2009; 8(2): 219-224.

30. Ishigame H, Nakae S. The Roles of IL-17A and IL-17F in Infection and Inflammatory Disorders. *Cytokine Frontiers*. Springer Japan 2014; 79-101.

31. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes* 2009; 33 (1): 151-156.

32. Winer S, Paltser G, Chan Y, Tsui H, Engleman E, Winer D, et al. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol* 2009; 39(9): 2629-2635.

Archive of SID

Effect of Endurance Training and Methadone Abuse on Interferon-Gamma and Interleukin-17 Serum Levels in Morphine-dependent Rats during Withdrawal Syndrome

Ali Heidarianpour^{1*}, Majid Vahidian Rezazadeh¹, Alireza Zamani²

1- Bu-Ali Sina University

2- Hamedan University of Medical Sciences

Received: 16/08/2014

Revised: 03/12/2014

Accepted: 15/12/2014

*Correspondence:

Ali Heidarianpour PhD,
Associate Professor of
Exercise Physiology Faculty of
Physical Education and Sport
Sciences, Bu-Ali Sina
University, Hamedan, Iran

E-mail:

heidar_a@yahoo.com

Abstract

Objective: The aim of this study was to investigate the effect of 8 weeks of endurance training and methadone as an alternative to morphine on serum levels of interferon-gamma and interleukin-17.

Materials & Methods: Twenty four male Wistar rats (220 ± 10 g) were divided into four groups of Addicted Control (AC), Addicted Trained (AT), Addicted Methadone (AM) and Addicted Methadone Trained (AMT). All groups were made addicted with morphine sulfate 0.4mg/mL (in 21 days). To ensure their dependence on morphine, Naloxone (3mg/kg, i.p.) was injected into a number of the rats.

Methadone hydrochloride powder was added to the drinking water AM and AMT groups. AT and AMT groups were made to run on treadmill for 8 weeks. Running time and speed gradually increased. Both prior to the exercises and 24 hours after the last training session, blood samples were collected from all the animals and the IFN- γ and IL-17 serum levels were measured using the ELISA method.

Results: Serum levels of interferon-gamma increased in the AMT group compared with AM ($P < 0.001$) and serum levels of IL-17 showed a significant decrease ($P < 0.01$). Also, a significant increase in serum levels of interferon-gamma ($P < 0.01$) and a significant decrease in the levels of IL-17 ($P < 0.001$) was observed in the AT compared with the AMT.

Conclusion: Endurance training caused increased interferon-gamma and decreased interleukin-17 in the active groups compared with the sedentary groups, and it had a greater effect on these cytokines during withdrawal. Therefore, this type of exercise can improve the function of the immune system during withdrawal syndrome.

Key Words: Interferon-Gamma, Interleukin-17, Withdrawal Syndrome, Endurance Training, Methadone